

# Société Ouest Africaine de Chimie

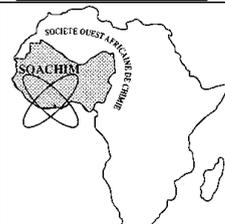
## S.O.A.CHIM

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 2021

Université Abdou Moumouni de Niamey



Tél./Fax : (226) 50 30 39 67  
Email : [soachimsp1994@yahoo.fr](mailto:soachimsp1994@yahoo.fr)  
site : [www.soachim.org](http://www.soachim.org)

## 21<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM

**10 – 13 Août 2021, Niamey– NIGER**

### THEME :

**Chimie et assurance qualité en Afrique de l'Ouest**

Document de travail :

Résumés des communications orales et des affiches



Sous le Haut Patronage de son Excellence Monsi

M, Président de la République du Niger

Sous le parrainage du :

Université Abdou Moumouni de Niamey

- Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche

Edité avec l'appui financier du FONRID



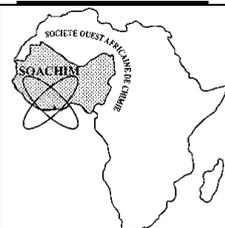
# Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.CHIM

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 2021

Université Abdou Moumouni de Niamey



Tél./Fax : (226) 50 30 39 67  
Email : [soachimsp1994@yahoo.fr](mailto:soachimsp1994@yahoo.fr)  
site : [www.soachim.org](http://www.soachim.org)

## 21<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM

**10 – 13 Août 2021, Niamey– NIGER**

### Comité d'Organisation

<b>Président :</b> Mamane ALMOU		
<b>Vice-Présidente :</b> Mme Sabo Haoua		
<b>Membres:</b>		
<ul style="list-style-type: none"><li>- Abdelkarim Sani Souna,</li><li>- Sahabi Bakasso,</li><li>- Ayouba Mahamane Abdoukadi,</li><li>- Sanda Bawa Ali Trésorière,</li><li>- Mme Salifou Maimouna,</li><li>- Ibrahim Natatou,</li><li>- Trapsida Jean Marie,</li><li>- Mme Maimouna Salifou,</li><li>- Mme Sabo Haoua,</li><li>- Daouda Hamani,</li><li>- Khalid Ikhiri,</li><li>- Almou Mamane,</li><li>- Hassimi Sadou,</li><li>- Amadou Tidjani Ilagouma</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Manzola Abdoul Salam,</li><li>- Boukari Issaka,</li><li>- Ousmane Mahamane Sani,</li><li>- Ousmaila Sanda Mamane,</li><li>- Karimoun Massalatchi Illyassou,</li><li>- Moussa souley Rabilou,</li><li>- Moustapha Itina,</li><li>- Malam Alma Mousbahou,</li><li>- Yaou Chaibou,</li><li>- Mamadou Lewamy,</li><li>- Moustapha Moussa,</li><li>- Ibrahim Grema</li><li>- Mamane Fadjimata Salifou,</li><li>- Mme Zeinabou Mounkaila</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Marou Gourouza Membres,</li><li>- Hassane Adamou Hassane,</li><li>- Souley Kallo Moutari,</li><li>- Hassidou Seydou,</li><li>- Alhassane Yayé,</li><li>- Daouda Kimba Noufou,</li><li>- Ibrah Landi Ali,</li><li>- Mijitaba Laouali Mamane</li><li>- Mme Maimouna Salifou</li><li>- Mme Hamidou Zeinabou,</li><li>- Ali Nouhou,</li><li>- Ousseini Zakaria,</li><li>- Chaibou Yacouba Abdoulrachid,</li><li>- Mme Ramatoulaye Marou Hima,</li></ul>
<b>Commission secrétariat :</b>		
<ul style="list-style-type: none"><li>- Mohamed Seynou</li><li>-</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Moustapha Sawadogo</li><li>- Claire Somda</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Ignace Sawadogo</li><li>-</li></ul>

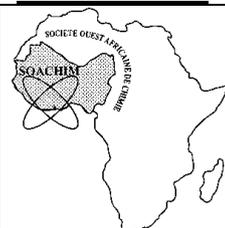
# Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.CHIM

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 2021

Université Abdou Moumouni de Niamey



Tél./Fax : (226) 50 30 39 67  
Email : [soachimsp1994@yahoo.fr](mailto:soachimsp1994@yahoo.fr)  
site : [www.soachim.org](http://www.soachim.org)

## 21<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM

**10 – 13 Août 2021, Niamey– NIGER**

### Comité Scientifique

**Président** : Pr Gnon BABA (Togo)

**Vice-Président** : Pr Abdoulaye DIOP (Sénégal)

**Membres:**

- |   |  |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Félicien AVLESSI (Bénin),</li> <li>- Pr Mousbahou MALAN ALMA,</li> <li>- Pr Eloï PALE (Burkina Faso),</li> <li>- Pr Gado TCHANGBEDJI (Togo),</li> <li>- Pr Gustave BEDI (Côte d'Ivoire),</li> <li>- Dr Michel TOLNO (Guinée Conakry),</li> <li>- Pr Lassine SIDIBE (Mali),</li> <li>- Pr Mamane ALMOU (Niger),</li> <li>- Pr Pélagie YETE,</li> <li>- Pr ZIAO Nahossé,</li> <li>- Dr Véronique MAMBO (Côte d'Ivoire),</li> <li>- Pr Yves-Alain BEKRO (Côte d'Ivoire) ,</li> <li>- Pr Lassiné OUATTARA (Côte d'Ivoire),</li> <li>- Pr Benjamin YAO (Côte d'Ivoire) ,</li> <li>- Pr Yaya SORO (Côte d'Ivoire) ,</li> <li>- Dr Bernadette Bilé AVO (Côte d'Ivoire),</li> <li>- Pr Drissa SISSOUMA,</li> <li>- Dr Nah TRAORE (Mali),</li> <li>- Dr Amadou MAIGA,</li> <li>- Pr Urbain KUEVI,</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Adama TOLOFOUDYE (Mali),</li> <li>- Dr Kafui KPEGBA (Togo),</li> <li>- Dr Lamine ZERBO (Burkina Faso),</li> <li>- Pr Karifa BAYO (Burkina Faso),</li> <li>- Dr Adama HEMA (Burkina Faso) ,</li> <li>- Dr Constantin DABIRE (Burkina Faso) ,</li> <li>- Pr Younoussa MILLOGO (Burkina Faso) ,</li> <li>- Dr Christelle N'GAMAN Epse KOUASSI,</li> <li>- Dr Landry KABLAN,</li> <li>- Dr Daouda TOURE,</li> <li>- Pr Moussa DIENG,</li> <li>- Pr Nicolas AYEISSOU,</li> <li>- Dr Bienvenue GLINMA,</li> <li>- Pr Mady CISSE(Sénégal),</li> <li>- Pr Serigne Omar SARR(Sénégal),</li> <li>- Pr Abdoulaye GASSAMA(Sénégal),</li> <li>- Pr Hassimi SADOU (Niger),</li> <li>- Dr Moussa HAROUNA (Niger),</li> <li>- Dr Halidou HIMA IBRAHIM (Niger)</li> </ul> |
|---|--|

**Commission du rapport général**

**Président:** Atchibri Louise ANIN

**Vice-Président** : Tambi RAMDE

**Membres:** Rapporteurs des Groupes Thématiques

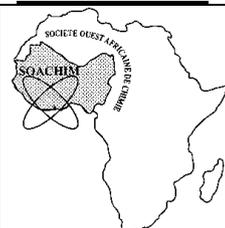
# Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.CHIM

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 2021

Université Abdou Moumouni de Niamey



Tél./Fax : (226) 50 30 39 67  
Email : [soachimsp1994@yahoo.fr](mailto:soachimsp1994@yahoo.fr)  
site : [www.soachim.org](http://www.soachim.org)

## 21<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM

**10 – 13 Août 2021, Niamey– NIGER**

### Commission du Jury

**Président :** Pr Valentin WOTTO

**Vice-Président :** Représentant PASRES

#### Membres :

- |  |   |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"><li>- Siakka SORHO,</li><li>- Alice KPOTA,</li><li>- Emmanuel ASSIDJO,</li><li>- BIDIE Alain Philippe,</li><li>- Brice BOTTI,</li><li>- Koffi Barthelemy ATTIOUA,</li><li>- Aime SOMBORO,</li><li>- Paul Fidel TCHOBO,</li><li>- Guevara NONVIHO,</li><li>- Sékou BOUARE,</li><li>- Mamadou BADIAGA,</li><li>- Cheick DEMBELE,</li><li>- Moussa TAMBOURA,</li><li>- Kalifa KEITA,</li><li>- Ibrahim TCHAKALA,</li><li>- Kwamivi SEGBEAYA,</li><li>- Bintou SESSOUMA,</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>- Mabinty BAYO-BANGOURA,</li><li>- Momar NDIAYE,</li><li>- Wilfried, KANHOUNNON,</li><li>- Farba Bouyagui TAMBOURA,</li><li>- Issa SAMB,</li><li>- Mayoro DIOP,</li><li>- Fatou Dieng FAYE,</li><li>- Mbaye Diagne MBAYE,</li><li>- Brahim SORGHO,</li><li>- Ahmadou Sadio DIALLO,</li><li>- Adamou RABANI,</li><li>- Amadou Tidjani ILLAGOUMA,</li><li>- Zanguina ADAMOU,</li><li>- Malam Alma MOUSBAHOU,</li><li>- Haoua AMADOU,</li><li>- Maman Sani LAOUALI</li></ul> |
|--|---|

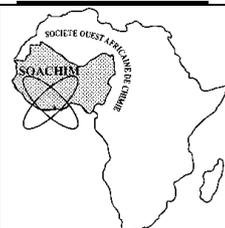
# Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.CHIM

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 2021

Université Abdou Moumouni de Niamey



Tél./Fax : (226) 50 30 39 67  
Email : [soachimsp1994@yahoo.fr](mailto:soachimsp1994@yahoo.fr)  
site : [www.soachim.org](http://www.soachim.org)

## 21<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM

**10 – 13 Août 2021, Niamey– NIGER**

### SOMMAIRE

<b>CONFERENCES PLENIERES .....</b>	<b>1</b>
<b>Capteurs électrochimiques à base du phosphate naturel et de l'argile pour la détection immédiate du staphylocoque aureus.....</b>	<b>2</b>
Bernadette Avo Bile Ehui, <sup>1*</sup> Koffi Olivier François Aristide Bertrand, <sup>1,2</sup> Chtaini Abdelilah, <sup>2</sup> .....	2
<b>Electrochimie en milieux non-traditionnels .....</b>	<b>3</b>
Moussa Bougouma <sup>ab</sup> , Fousséni Soma <sup>a</sup> , Alassane Sorgho <sup>a</sup> , Adama Kindo <sup>a</sup> , Françoise Diendéré, Claudine Buess-Herman, Thomas Doneux <sup>b</sup> .....	3
<b>X-TechLab, première plateforme dédiée aux techniques de rayons x au Bénin, une solution brillante pour l'Afrique.....</b>	<b>5</b>
Sidoine Bonou, <a href="mailto:sobonou@semecity.com">sobonou@semecity.com</a> / <a href="mailto:souroualb@yahoo.fr">souroualb@yahoo.fr</a> .....	5
<b>Groupe thématique 1 (ReMOA): Chimie des matériaux naturels et de synthèse .....</b>	<b>6</b>
<b>Influence de l'activation sur la qualité des charbons actifs en vue de l'élimination de molécules bio-récalcitrantes .....</b>	<b>7</b>
AMADOU KIARI Mahamane Nassirou <sup>1, 2</sup> , FANOU Guy Didier <sup>1</sup> , MALAM ALMA Maman Mousbahou <sup>2</sup> , YAO Kouassi Benjamin <sup>1</sup> .....	7
<b>Etude et mise en œuvre des solutions écologiques pour le traitement des déchets électriques et électroniques, leur valorisation et leur élimination, cas de la Côte d'Ivoire .....</b>	<b>10</b>
LAMAH Labilé <sup>1*</sup> , Pr. HABA Cissé Théodore <sup>1</sup> .....	10
<b>Synthèse et caractérisation des catalyseurs aluminosilicates, ZSM-5, en utilisant les matériaux locaux du Niger. ....</b>	<b>13</b>
Adamou Ibro Abdourahamane <sup>1,2 *</sup> , Yao Kouassi Benjamin <sup>1</sup> , Manzola Abdou Salam <sup>2</sup> .....	13

<b>Etude thermodynamique et quantique de l'inhibition de la corrosion du cuivre en milieu acide nitrique molaire par le céfadroxil.</b> .....	17
Diki N'guessan Yao Silvère <sup>1*</sup> , Coulibaly Nagnonta Hippolyte <sup>2</sup> , Ehouman Ahissan Donatien <sup>3</sup> , Trokourey Albert <sup>1</sup> .....	17
<b>Synthèse et caractérisation de potentiels agents décontaminant à base de salicyaldéhyde et ses dérivés : Comportement vis-à-vis du Zinc (Zn<sup>2+</sup>), du cadmium (Cd<sup>2+</sup>) et du mercure (Hg<sup>2+</sup>)</b> .....	21
Ndèye Fatou NDIAYE <sup>1*</sup> , Fatou BARR <sup>1</sup> , Aissatou Alioune GAYE <sup>1</sup> , Diéry DIOUF <sup>2</sup> , Moussa DIENG <sup>1</sup> , Mouhamadou Moustapha SOW <sup>1</sup> , Farba Bouyagui TAMBOURA <sup>1</sup> .....	21
<b>Procédé de création d'un biomatériau combinant un gel de fibrine plasmatique avec un extrait aqueux de la plante <i>Ageratum conyzoides</i> Linn.: mise en jeu d'activateurs biochimiques et d'inhibiteurs phytochimiques. Contrôle microbiologique, efficacités antibactérienne et cicatrisante.</b> .....	25
Amivi Edéfia AKPALO, Issa Kouassi SALOUFOU, Akoua Okpeh Viviane KOTOUTOU, Kodjo ELOH, Fekandine Victoire DOUTI, Halidatou SIBABI, Gnikmin Claire WOUTE, Kafui KPEGBA, Kwami Lumo AWAGA.....	25
<b>Synthèses et caractérisation par spectroscopie IR, RMN {1H, 13C} et UV-visible du complexe de cobalt (III) issu du ligand L<sub>6</sub> (H<sub>2</sub>L<sub>6</sub>)</b> .....	29
Alassane Saidou DIALLO, Moussa DIENG, Farba Bouyagui TAMBOURA, Mouhamadou M. SOW ....	29
<b>Etude électrochimique et quantique de l'effet du biopolymère chitosan sur la corrosion du cuivre en milieu NaCl 3,5 %</b> .....	32
<b>Caractérisation de quelques argiles locales du togo en vue de leur valorisation</b> .....	37
ANOVE Komla Mawoulikplim <sup>1*</sup> , TCHEGUENI Sanonka <sup>1</sup> , DEGBE Koffi Agbegnigan <sup>1</sup> , KORIKO Moursalou <sup>1</sup> , TCHANGBEDJI Gado <sup>1</sup> .....	37
<b>Optimisation de la Delignification de la Cosse de Cabosse de Cacao en Vue de la Valoriser en Bioproduits.</b> .....	41
Ouattara Leygnima Yaya <sup>1</sup> , Yao Kouassi Benjamin <sup>1</sup> .....	41
<b>Caractérisation et valorisation des différents composants issus des traitements des phosphates naturels de Hahotoé-Kpogamé du Togo par formulation des agrégats légers</b> .....	48
ZOUNON Dodji <sup>1</sup> , KORIKO Moursalou <sup>1</sup> , TCHEGUENI Sanonka <sup>1</sup> , DEGBE Koffi Agbegnigan <sup>1</sup> , TCHANGBEDJI Gado <sup>1</sup> .....	48
<b>Valorisation des biomasses locales en biochar : amendement des sols avec du biochar</b> .....	56
Ibrahim Grema Maman Hamissou <sup>1,2*</sup> , Yao Kouassi Benjamin <sup>1</sup> , Brou Yao Casimir <sup>2</sup> .....	56
<b>Réactivité de la poudre de verre en milieu cimentaire</b> .....	60
Tognonvi Tohoué Monique <sup>1*</sup> , Tagnit-Hamou Arezki <sup>2</sup> , Konan Koffi Léon <sup>3</sup> .....	60
<b>Etude électrochimique et quantique de l'effet du biopolymère chitosan sur la corrosion du cuivre en milieu NaCl 3,5 %</b> .....	67

<b>CARACTERISATION DE QUELQUES ARGILES LOCALES DU TOGO EN VUE DE LEUR VALORISATION</b> .....	72
<i>ANOVE Komla Mawoulikplim<sup>1*</sup>, TCHEGUENI Sanonka<sup>1</sup>, DEGBE Koffi Agbegnigan<sup>1</sup>, KORIKO Moursalou<sup>1</sup>, TCHANGBEDJI Gado<sup>1</sup></i> .....	72
<b>Etude de la formulation des biocomposites a partir des polyhydroxyalcanoates (PHA) et des fibres issues de la biomasse</b> .....	76
<b>BAMBA Massé, YAO Kouassi Benjamin</b> .....	76
<b>Etude thermodynamique et quantique de l'inhibition de la corrosion du cuivre en milieu acide nitrique molaire par le céfadroxil.</b> ....	80
Diki N'guessan Yao Silvére <sup>1*</sup> , Coulibaly Nagnonta Hippolyte <sup>2</sup> , Ehouman Ahissan Donatien <sup>3</sup> , Trokourey Albert <sup>1</sup> .....	80
<b>POSTER : Synthèse et etude d'une espèce hybride phtalocyanine de Zinc-nanoparticule d'argent [ZnPc(CO3H) 4ATP4@AgNPs] pour une application antibactérienne</b> .....	85
<b>Groupe thématique 2 (ReSBOA) :</b> .....	86
<b>Chimie des Substances Biologiquement Actives extraites des plantes médicinales en zone sahélo-saharienne</b> .....	86
<b>Identification de quatre isomères anthocyaniques d'une variété de <i>Ipomoea batatas L.</i> à chair pourpre par HPLC-MS/MS produite au Burkina Faso</b> .....	87
Dominique Saga Kaboré <sup>1</sup> , Adama Héma <sup>1(*)</sup> , Raoul Bazié <sup>2</sup> , Koussao Somé <sup>4</sup> , Elie Kabré <sup>2</sup> , Eloi Palé <sup>1</sup> , Issa T. Somé <sup>5</sup> , Pierre Duez <sup>6</sup> , Mouhoussine Nacro <sup>1</sup> .....	87
<b>Composition chimique des sels végétaux produits traditionnellement au Togo : intérêt nutritionnel et pharmacologique</b> .....	95
AMEYRAN Koami <sup>1,2*</sup> , MELILA Mamatchi <sup>1</sup> , AWILLI Tetouwala <sup>1,3</sup> , PAYAGUELE Kodjo <sup>4</sup> , PAKOUSSI Tcha <sup>2</sup> , METOWOGO Kossi <sup>2</sup> .....	95
<b>Etude comparée de la phytochimie et de l'activité biologique des spécimens des écorces de la tige de <i>Cassia sieberiana</i> du Bénin et du Niger</b> .....	101
Oumarou Maman Noura <sup>1,2</sup> , Gbêdossou Sophie Reine Bogninou <sup>1*</sup> , Amadou Tidjani Ilagouma <sup>2</sup> , Yaya Alain Koudoro <sup>1</sup> , Bossou Annick Arlette Flore Dohoué <sup>1</sup> , Cokou Pascal Agbangnan Dossa <sup>1</sup> , Félicien Avlessi <sup>1</sup> , Dominique C. K. Sohounhloue <sup>1</sup> .....	101
<b>Effet du degré de maturation et de la torréfaction des arilles de <i>blighia sapida</i> sur la constitution phytochimique et l'activite antioxydante de LEUR HUILE</b> .....	110
Ezi Novignon <sup>1</sup> , Melila Mamatchi <sup>2</sup> , Novidzro Kosi Mawuéna <sup>3</sup> , Kanabyia Essodjolon, Kolor Kwami Aldo Eric <sup>a</sup> , Kpoezoun Amavi <sup>b</sup> , Abli Gnimdou Issanga <sup>a</sup> , Koumaglo Kossi Honoré <sup>a</sup> .....	110
<b>Choix d'un meilleur prétraitement à appliquer à la pomme de cajou pour l'élaboration d'une confiture</b> .....	118
Marie Louise Degni .....	118

<b>Arsenic and cadmium availability assessment by BCR sequential extraction procedure in wetlands sediment around three gold mines in central-southern and southeastern Côte d'Ivoire, West Africa</b>	123
Kakou Charles Kinimo <sup>1</sup> , Koffi Marcellin Yao <sup>2</sup> , Kouassi Louis Bérenger N'guessan <sup>1</sup> , Albert Trokourey <sup>3</sup>	123
<b>Exploration phytochimique du tandem <i>Sargassum natans</i> (L.) Gaillon et <i>Sargassum fluitans</i> (Børgesen) Børgesen de Côte d'Ivoire</b>	130
Kabran Guy Roger Mida*, Asseke Eba Amandine, Mamyrbékova-Békro Janat Akhanovna et Békro Yves-Alain	130
<b>Phytochimie et activités antiradicalaires de <i>Acridocarpus monodii</i> : une plante endémique médicinale du pays dogon (Mali)</b>	137
Dougnon J. <sup>1</sup> ; Konaré M. <sup>1</sup> ; Diarra N. <sup>1</sup> ; Togola I. <sup>1</sup>	137
<b>Etude de la variation de la temperature de cuisson sur le degre Alcoolique de la biere locale (tchoukoutou)</b>	144
Adjo cynthia kouakou <sup>1</sup> , kokou agbékonyi agbodan <sup>2</sup> , lumo awaga <sup>3</sup> , koffi jondo <sup>4</sup>	144
<b>Etude pharmacognostique et activité antibactérienne de trois plantes utilisées dans la prise en charge des infections urinaires au Mali.</b>	150
Dembele Daouda L <sup>1</sup> , Haidara Mahamane <sup>1</sup> , Kone Claire <sup>2</sup> , Denou Adama <sup>1</sup> , Diarra Mamadou L <sup>1</sup> , Sanogo Rokia <sup>1-2</sup>	150
<b>Les plantes médicinales utilisées dans la prise en charge des maladies respiratoires en Afrique de l'Ouest.</b>	157
*Haidara Mahamane <sup>1</sup> , Diarra Mamadou L <sup>1</sup> , Dembele Daouda L <sup>1</sup> , Doumbia Sékou <sup>1</sup> , Diarra Birama <sup>2</sup> , Denou Adama <sup>1</sup> , Sanogo Rokia <sup>1-2</sup>	157
<b>Etude pharmacognostique et activité antiradicalaire de plantes de la famille des Combretaceae</b>	162
Haidara Mahamane <sup>1*</sup> , Denou Adama <sup>1</sup> , Marie Hortense Tienou <sup>2</sup> , Sanogo Rokia <sup>1-2</sup>	162
<b>Etude phytochimique et activite antiradicalaire de plantes et d'une recette utilisees dans le traitement traditionnel des affections hepatiques</b>	167
<sup>1</sup> Sékou DOUMBIA, <sup>2</sup> Birama DIARRA, <sup>2</sup> Daouda DIARRA, <sup>3</sup> Abdoulaye DOLO, <sup>1,2</sup> Rokia SANOGO	167
<b>News and know compounds from the leaves of <i>Lannea acida</i></b>	173
Koffi Kouamé Jean-Michel <sup>1</sup> , Yao-Kouassi Akoua Philomène <sup>1</sup> , Abdulmagid Alabdul Magid <sup>2</sup> , Laurence Voutquenne-Nazadioko <sup>2</sup>	173
<b>Effet des extraits hydro-éthanoliques des feuilles de <i>Desmodium ramosissimum</i> sur les contractions utérines chez le rat wistar</b>	177
Madjalani Hèzouwè <sup>1*</sup> , Melila Mamatchi <sup>2</sup> , Pakoussi Tcha <sup>1</sup> , Kanabiya Essodjolon <sup>3</sup> , Nabede Aklesso <sup>4</sup> , Metowogo Kossi <sup>1</sup>	177
<b>Etude de l'influence de la basicité sur l'enthalpie de réaction des sels N-méthoxycarbonyl-(oxy)-pyridiniums</b>	183

Kokou Agbékonyi Agbodan <sup>1</sup> , Oudjaniyobi Simalou <sup>2</sup> , Whad Gneiny Tchani <sup>2</sup> , Adjo Cynthia Kouakou <sup>1</sup> , Bakpo Awédèwou <sup>1</sup> Et Koffi Jondo <sup>1</sup> .....	183
<b>Rendement d'extraction et composition des huiles essentielles des feuilles de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf. Poaceae de quatre zones du Mali</b> .....	188
Brahima Coulibaly <sup>1</sup> , Cheickna Daou <sup>2*</sup> , Fassé Samake <sup>2</sup> , Rokia Sanogo <sup>3</sup> .....	188
<b>Rendement d'extraction et composition des huiles essentielles des zestes d'orange de quatre zones du Mali</b> .....	195
Brahima Coulibaly <sup>1</sup> , Cheickna Daou <sup>2*</sup> , Fassé Samake <sup>2</sup> , Rokia Sanogo <sup>3</sup> .....	195
<b>Activités antioxydantes des extraits de cinq légumes-feuilles du Mali-sud</b> .....	201
Cheickna Daou <sup>1</sup> , Ousmane Keita <sup>2</sup> , Julien Coulibaly <sup>2</sup> , Mamadou Wele <sup>2</sup> .....	201
<b>Activités antioxydantes des extraits de cinq légumes-feuilles sauvages du Mali-sud</b> .....	206
Cheickna Daou <sup>1</sup> , Ousmane Keita <sup>2</sup> , Julien Coulibaly <sup>2</sup> , Mamadou Wele <sup>2</sup> .....	206
<b>Activités biologiques des huiles essentielles de citronnelle et de zeste d'orange sur les micro-organismes responsables de l'altération des jus de tamarin et de fleurs d'oseille</b> .....	211
Brahima Coulibaly <sup>1</sup> , Cheickna Daou <sup>2*</sup> , Fassé Samake <sup>2</sup> , Rokia Sanogo <sup>3</sup> .....	211
<b>Étude phytochimique et activités antifongiques, antibactériennes des extraits des feuilles de <i>Stylosanthes erecta</i> de Konobougou Segou Mali</b> .....	217
Mamadou Wele <sup>2</sup> Singou Keita <sup>*1</sup> , Lassina Sissoko, Ousmane Keita, Checkiné Cissé, Moriba Doumbia	217
<b>Identification de flavonoïdes majoritaires par HPLC-MS/MS et potentiel antioxydant des extraits graines de <i>Vigna radiata</i></b> .....	224
Mahamadi Ouedraogo <sup>1</sup> , Adama Hema <sup>1(*)</sup> , Bazoin Sylvain Raoul Bazié <sup>2</sup> , Elie Kabré <sup>2</sup> , Serge W. F. M. Zida <sup>3</sup> , Benoit Joseph T. Batiéno <sup>3</sup> , Eloi Palé <sup>1</sup> , Mouhoussine Nacro <sup>1</sup> .....	224
<b>Amélioration de la qualité du « tchoukoutou » et utilisation de deux techniques d'évaluation du degré alcoolique : densimétrie et réfractométrie</b> .....	234
Awèdèéou Bakpo*, Agbékonyi Koukou Agbodan, Kwami Lumo Awaga, Koffi Jondo.....	234
Effet de la poudre et des extraits acétonique et éthanolique de <i>Ritchiea reflexa</i> sur <i>Amitermes evuncifer</i> .....	241
Kodjo Adande <sup>1*</sup> , Boris Dodji Kassény <sup>2</sup> , Oudjaniyobi Simalou <sup>1</sup> , Eyabana Mollong <sup>2</sup> , Kafui Kpegba <sup>1</sup> ...	241
<b>Effets des huiles essentielles des feuilles de <i>Ritchiea reflexa</i> sur <i>Amitermes evuncifer</i></b> .....	248
Denis Sènouwa Dossouvi <sup>1</sup> , Boris Dodji Kassény <sup>2</sup> , Oudjaniyobi Simalou <sup>1*</sup> , Kodjo Elo <sup>3</sup> , Eyabana Mollong <sup>2</sup> .....	248
Etude phytochimique et activité antioxydante comparative des trois variétés de <i>Catharanthus roseus</i> (L.) G. Don.....	255
Hèzouwè Kagnou <sup>1*</sup> , Gneiny Whad Tchani <sup>1</sup> , Oudjaniyobi Simalou <sup>1</sup> , Sabrina Sanvee <sup>1</sup> , Kokou Agbékonyi Agbodan <sup>2</sup> , Kafui Kpegba <sup>1</sup> .....	255
<b>Les plantes antidiabétiques en Côte d'Ivoire et modes d'action des molécules antidiabétiques</b> .....	262

Harouna Diète Souleymane <sup>1,2*</sup> , Kouakou N'goran David Vincent <sup>1</sup> , Soro Yaya <sup>2</sup> .....	262
<b>Pigments et autres métabolites secondaires dans les feuilles de <i>Xanthosoma mafaffa</i> : intérêt nutritionnel et pharmacologique</b> .....	266
Kanabiya Essodjolon <sup>1*</sup> , Mélila Mamatchi <sup>2</sup> , Novidzro Kosi Mawuéna <sup>1</sup> , Dotse Kokouvi <sup>1</sup> , Koumaglo Kossi Honoré <sup>1</sup> .....	266
<b>Caractéristiques physico-chimiques et composition en acides gras de la matière grasse extraite des graines fermentées de <i>Parkia biglobosa</i></b> .....	272
Koffi N'dri Emmanuel <sup>1,2*</sup> , Cissé Ibrahima <sup>2</sup> , Kouadio Konan Boniface <sup>3</sup> , Anin Atchibri Anin Louise <sup>3</sup> ....	272
<b>Composition phytochimique et activité antibactérienne des extraits aqueux et éthanoliques de <i>Desmodium triflorum</i> (L.) DC. (Fabaceae) de Côte d'Ivoire.</b> .....	277
N'Guessan Alain Hugues Olivier <sup>1</sup> , Douzo Arsène Demisère <sup>2</sup> , Atsain Marie Rosine <sup>3</sup> , Bekro Yves Alain <sup>4</sup> . .....	277
<b><i>Carissa edulis</i>, une plante de la pharmacopée béninoise riche en polyphénols, induit une relaxation dépendante de l'endothélium sur des artères coronaires de porcs, médiée par le monoxyde d'azote</b> .....	284
U. Houngue <sup>a,B</sup> , A.B. Chaker <sup>b</sup> , J.M. Tokoudagba <sup>a</sup> , L. Remila <sup>b</sup> C. Bruckert <sup>b</sup> , S.H. Park <sup>b</sup> , E. Belcastro <sup>b</sup> , I. Bouchakour <sup>b</sup> , C. Auger <sup>b</sup> , V.B. Schini-Kerth <sup>b</sup> , F. Gbaguidi.....	284
<b>Composition chimique et activité larvicide de l'huile essentielle de <i>cymbopogon nardus</i> (L.) Rendle sur <i>anopheles gambiae</i></b> .....	290
Ahouansou C. Ayidé <sup>1,2*</sup> , Médégan Fagla Sèdami <sup>1</sup> , Badou K. Yvette Yvette <sup>1</sup> , Toukourou K. Habib <sup>1,3</sup> , Gbaguidi A. Fernand <sup>1,2</sup> .....	290
<b>Etude phytochimique et capacité antiradicalaire comparatives des extraits des parties aériennes de <i>Chenopodium ambrosioides</i> Linn. (Chenopodiaceae)</b> .....	296
Gneiny Whad Tchani*, Kossi Sitsopé Agbeme, Oudjaniyobi Simalou, Gnon Baba, Kafui Kpegba .....	296
<b>Identification par GC-MS de molécules bioactives de deux plantes présumées anti hypertensives de la pharmacopée nigérienne : <i>Ximenia americana</i> L. et <i>Acanthospermum hispidum</i> DC.</b> .....	301
Djamilatou Zakari Seybou <sup>1,2*</sup> , Djibo Alfa Keita <sup>1</sup> , David Virieux <sup>2</sup> , Jean Luc Pirat <sup>2</sup> , Haoua Seini Sabo <sup>1</sup>	301
<b>Étude de la composition chimique et de l'activité antidiabétique et antioxydante de l'extrait des feuilles de <i>Bridelia ferruginea</i> (Benth.)</b> .....	310
Oudjaniyobi Simalou <sup>1*</sup> , Sabrina Sanvee <sup>1</sup> , Gneiny Whad Tchani <sup>1</sup> , Hèzouwè Kagnou <sup>1</sup> , Kokou Agbékonyi Agbodan <sup>2</sup> , Kafui Kpegba <sup>1</sup> .....	310
<b>Identification par HPLC-MS de deux flavonoïdes majeurs dans l'extrait colorant textile des feuilles fraîches de <i>Mangifera indica</i></b> .....	319
Benjamin Bazié <sup>1</sup> , Adama Hema <sup>1(*)</sup> , Bazoin Sylvain Raoul Bazié <sup>2</sup> , Elie Kabré <sup>2</sup> , Eloi Palé <sup>1</sup> , Pierre Duez <sup>3</sup> , Mouhoussine Nacro <sup>1</sup> .....	319
<b>Fractionnement bio-guidé et activités anthelminthiques des feuilles de <i>Mitragyna inermis</i> (Willd.) Kuntze (Rubiaceae) sur la migration des larves L<sub>3</sub> de <i>Haemonchus contortus</i></b> .....	327

<b>Bio-assay guided and anthelmintic activities of leaves of <i>Mitragyna inermis</i> (Willd.) Kuntze (Rubiaceae) on the migration larvae of <i>Haemonchus contortus</i> .....</b>	<b>327</b>
Toklo Placide Mahougnan <sup>1,2,3</sup> ; Ladekan Yayi Eléonore <sup>1*</sup> ; Kouam F. Siméon <sup>3</sup> ; Sakirigui Amoussatou <sup>1</sup> ; Hounzangbe Adote Sylvie <sup>2</sup> ; Gbenou Joachim Djimon <sup>1</sup> .....	327
<b>Etat de connaissance et analyse phytochimique du piment (<i>Capsicum annum</i>), type « Ahalimancou » consommé dans la région indénié-juablin (Centre-est de la Côte d'Ivoire) .....</b>	<b>330</b>
Antoinette Régina Ohouo DON <sup>1*</sup> , Chépo Ghislaine DAN <sup>1</sup> et Pascal Amédée AHI <sup>1</sup> .....	330
<b>Identification d'anthocyanes par HPLC-MS/MS, et détermination des teneurs en micronutriments et de l'activité antiradicalaire du fruit de <i>Hexalobus monopetalus</i> .....</b>	<b>341</b>
Arrounan Noba <sup>1</sup> , Adama Hema <sup>1*</sup> , Bazoin Sylvain Raoul Bazie <sup>4</sup> , Remy K. Bationo <sup>1,3</sup> , Moumouni Koala <sup>1,2</sup> , Constantin M. Dabiré <sup>1</sup> , Eloi Palé <sup>1</sup> Et Mouhoussine Nacro <sup>1</sup> .....	341
<b>Poster : Activité acaricide des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques acclimatées au Burkina Faso sur la tique <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> .....</b>	<b>348</b>
<b>Poster : Efficacité des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du Burkina Faso sur les larves de la tique <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> .....</b>	<b>349</b>
<b>Groupe Thématique 3 (ReSAOA) : Sciences agroalimentaires .....</b>	<b>350</b>
Production des jujubes et tamarins au Mali : ravageurs et maladies affectant la qualité des fruits de <i>Ziziphus mauritiana</i> (L.) et <i>Tamarindus indica</i> (L.) de la pépinière génétique de Samanko .....	351
<b>Criblage des Variétés Améliorées de Sorgho à Usage Multiple Sous Infestation Artificielle de <i>Colletotrichum Sublineolum</i> à la Station Agronomique de Sotuba, Mali. ....</b>	<b>359</b>
Halimatou Timbiné <sup>1</sup> , Karim Dagno <sup>1</sup> , Abdoulaye Diallo <sup>1</sup> , Baloua Nébié <sup>2</sup> .....	359
<b>Amélioration de la valeur nutritionnelle d'une farine infantile à base de mil destinée aux enfants en âge de sevrage .....</b>	<b>364</b>
TRAORE Sékou, AKAKI Koffi David .....	364
<b>Profil sensoriel et caractéristiques physico-chimiques du jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé au cours de sa conservation .....</b>	<b>370</b>
Kouassi Kan Kouassi Parfait <sup>1*</sup> , Soro Doudjo <sup>1</sup> , Kone Youssouf Kisselmina Youssouf <sup>1</sup> , Cisse Mady <sup>2</sup> , Assidjo Nogbou Emmanuel <sup>1</sup> , Yao Kouassi Benjamin <sup>1</sup> .....	370
<b>Modélisation et commande d'un procédé d'extraction d'huile végétale par extrudeuse baxis .....</b>	<b>380</b>
Droguy Yves <sup>1*</sup> , Soro Yaya <sup>2</sup> , Sissoko Amara <sup>3</sup> .....	380
<b>Clarification du jus de pomme de cajou avec la gomme d'anacardier [<i>anacardium occidentale</i> (L.)] .....</b>	<b>384</b>
Toure Naka <sup>1</sup> , Soro Pégnonsienrè Lacina <sup>1</sup> Et Dabonne Soumaïla <sup>2</sup> .....	384
<b>Evaluation des conditions de production, de la qualité physico-chimique et microbiologique des cossettes de manioc (<i>Manihot esculanta</i> Crantz) dans la commune de Bassila (Nord-Bénin) .....</b>	<b>389</b>
Christian T. R. Konfo <sup>1,2*</sup> , René G. Degnon, Edwige Dahouenon-Ahoussi <sup>2</sup> Dominique C.K. Sohounhloue <sup>1*</sup> .....	389

<b>Table de composition de cinq légumes-feuilles domestiques du Mali-sud</b> .....	400
*Cheickna Daou <sup>1</sup> , Ousmane Keita <sup>2</sup> , Julien Coulibaly <sup>2</sup> , Mamadou Wele <sup>2</sup> .....	400
<b>Table de composition de cinq légumes-feuilles sauvages du Mali-sud</b> .....	406
*Cheickna Daou <sup>1</sup> , Ousmane Keita <sup>2</sup> , Julien Coulibaly <sup>2</sup> , Mamadou Wele <sup>2</sup> .....	406
<b>Impact de l'utilisation des sous- produits agricoles et agro-industriels dans l'alimentation des poules pondeuses sur la qualité des œufs</b> .....	412
G. M. Agbo <sup>1,2,3</sup> , S. S. Toleba <sup>3</sup> , F. P. Tchobo <sup>1</sup> , C. F. A. Salifou <sup>4</sup> , S. L. Dedome <sup>1</sup> , P. G. Guidigbi <sup>2</sup> , U. R. Adjalian <sup>1</sup> , E. Gangbedji <sup>2</sup> , M. F. Houndonougbo <sup>2</sup> .....	412
<b>Contrôle post-récolte de l'antracnose de la mangue par 4 biopesticides à base d'huiles essentielles</b> .....	422
Kassi Koffi Fernand Jean Martial <sup>1*</sup> , Camara Brahim <sup>2</sup> , Kouame Koffi Gaston <sup>3</sup> , N'goran N'dri Sévérin <sup>4</sup> , Coulibaly Kolan Pierre-Marie <sup>5</sup> , Kone Daouda <sup>6</sup> .....	422
<b>Détoxification de la farine d'épluchures de manioc en produit de haute qualité nutritionnelle</b> .....	426
KOBENAN Kouakou N'guessan Stanislas <sup>1*</sup> , KOUAKOU N'goran David Vincent <sup>1</sup> .....	426
<b>Champignons sauvages comestibles du Mali : Evaluation préliminaire de la production des sporophores de 4 espèces sur substrats lignicoles</b> .....	431
Mahamoudou Traoré <sup>1,2</sup> , Karim Dagno <sup>1</sup> , Moussa Kanté <sup>3</sup> Alassane Dicko <sup>4</sup> .....	431
<b>Efficacité fongicide de trois biopesticides à base d'huiles essentielles sur les principaux champignons associés aux semences de niébé au Burkina Faso</b> .....	437
Toe Mahomed <sup>1*</sup> , Sawadogo Ignace <sup>1</sup> , Zida P. Elisabeth <sup>2</sup> , Soalla W. Romain <sup>2</sup> , Nebie H. Ch. Roger <sup>1</sup> ....	437
<b>Amélioration de la production de la cucurbitacée oléagineuse <i>Citrullus lanatus</i> (Matsum. &amp; Nakai Thunb) par l'identification de la masse appropriée des semences</b> .....	445
Gore bi boh Nestor <sup>1*</sup> , Yao Kouakou Abessika Georges <sup>1</sup> , Yao Affoue Sonia Anabelle <sup>1</sup> , Akaffou Doffou selastique <sup>1</sup> .....	445
<b>Nutritional Potential of Co-products of Two Species of Benin Cucurbits</b> .....	450
Pélagie Yete <sup>1,2*</sup> , Alexis Togbe <sup>1</sup> , Franck Yovo <sup>1</sup> , Honorat Wekpon <sup>1</sup> , Daniel Ahlonsou <sup>1</sup> , Valentin Wotto <sup>1,2</sup> , Dominique Sohounhloue <sup>2</sup> .....	450
<b>Etude de la variation des teneurs antioxydantes en fonction de la variété et de la position de la cueillette du fruit (mangue) sur la plante à partir de cinq variétés de mangue au Sénégal.</b> .....	458
Ba Ibrahima <sup>1</sup> , Fofana Mohamadou, Diouf Elhadji Gorgui, Diop Moussoukhoye .....	458
<b>Caractérisation et valorisation des graines de <i>Vitex doniana</i> en produits alimentaires</b> .....	468
Anien Marcelle Ghislaine <sup>1</sup> , Kone Kisselmina Youssouf <sup>1</sup> .....	468
<b>Diversité morphologique et génétique des géniteurs de <i>Oreochromis niloticus</i> de trois fermes piscicoles de la région du Haut Sassandra (Côte d'Ivoire)</b> .....	471
Yoboue Ahou Nicole Epse Kouame <sup>1*</sup> , Kouame Kouamé Martin <sup>1</sup> , Boussou Koffi Charles <sup>1</sup> , Adepo-Gourene Béatrice <sup>2</sup> .....	471

<b>Groupe Thématique 4 (ReCMOA) :</b> .....	477
<b>Modélisation en Chimie, Chimie Théorique</b> .....	477
<b>Développement de modèles QSPR pour la prédiction des valeurs de pK<sub>A</sub> de quelques acides carboxyliques dans les mélanges eau-éthanol à partir des descripteurs quantiques déterminés par la DFT</b> .....	478
Assouma Dagri Cyrille <sup>1</sup> , Edith Kouassi Kwa-Koffi <sup>2</sup> , Niamien Paulin Marius <sup>2</sup> , Avo Bilé Ehui Bernadette <sup>2</sup> et Henri Aka Kouassi <sup>2</sup> .....	478
<b>Etude DFT de la coordination de la phenformine et du proguanil avec le fer(II).</b> .....	497
Aidote François <sup>(1)</sup> , Kuevi Urbain Amah <sup>(1)</sup> , Kpotin Assongba Gaston <sup>(1)</sup> , Kpota-Houngue Tata Alice <sup>(1)</sup> , Atohoun Guy Sylvain Yacolé <sup>(1)</sup> , Mensah Jean-Baptiste <sup>(1)</sup> , Badawi Michaël <sup>(2)</sup> .....	497
<b>Etude quanto-chimique des propriétés antioxydantes de l'urée, du thiourée et de certains de leurs dérivés</b> .....	509
R. Chabi Doco <sup>1</sup> , Wilfried G. Kanhounon <sup>1</sup> , Simplicie Koudjina <sup>1</sup> , M. T. A. Kpota Houngue <sup>1</sup> , Michael Badawi <sup>2</sup> et Y. G. S. Atohoun <sup>1</sup> .....	509
<b>Etude DFT de l'adsorption de quelques résidus médicamenteux des eaux usées hospitalières sur les surfaces de kaolinite</b> .....	519
Jean Wilfried Hounfodji <sup>1</sup> , Wilfried G. Kanhounon <sup>1</sup> , Gaston Kpotin <sup>1</sup> , U.A. Kuevi <sup>1</sup> , Michael Badawi <sup>2</sup> , Guy Sylvain Atohoun <sup>1</sup> .....	519
<b>Empreintes digitales de nanostructures chirales/helicoïdales des helices fonctionnalisées pour des guides d'ondes chiraux.</b> .....	528
Simplicie Koudjina <sup>1,2</sup> , Wilfried G. Kanhounon <sup>1</sup> , Gaston A. Kpotin <sup>1</sup> , David Beljonne <sup>2</sup> , Guy Y. S. Atohoun <sup>1</sup> .....	528
<b>Synthèse, études spectroscopiques et structures cristallines de la N, N'-bis (4-méthoxybenzylidène) éthylènediamine et d'un nouveau complexe de cadmium (II)</b> .....	535
Adrienne Ndiolene <sup>a</sup> , Tidiane Diop <sup>a*</sup> , Mouhamadou Sembene Boye <sup>a</sup> , Thierry Maris <sup>b</sup> And Aminata DIASSE-Sarr <sup>a</sup> .....	535
<b>Groupe Thématique 5 (GT5) : Eau, Mines et Environnement.</b> .....	540
<b>Effet de traitement thermique sur la solubilité de phosphate naturel de Tahoua dans l'acide sulfurique et dans l'acide citrique</b> .....	541
Abdoul Bari Idi Awali <sup>1*</sup> , Zanguina Adamou <sup>1</sup> , Manzola Abdou Salam <sup>1</sup> , Laouali Mahaman Sani <sup>1</sup> , I. Hima Halidou <sup>1</sup> ,.....	541
<b>Elimination des ions fluorure des eaux souterraines destinées à la consommation humaine à partir de la poudre de coquilles de <i>Corbula trigona</i> régénérée</b> .....	547
<b>Yapo N'zébo Sylvestre<sup>1*</sup>, Briton Bi Gouessé Henri<sup>1</sup>, Aw Sadat<sup>1</sup>, Reinert Laurence<sup>2</sup>, Drogui Patrick<sup>3</sup>, Yao Kouassi Benjamin<sup>1</sup>, Adouby Kopoin<sup>1</sup></b> .....	547
<b>Caractérisation de trois pesticides (Dicofol, Deltamethrine, Lambda Cyhalothrine) dans l'eau par Hplc au Laboratoire National de la Santé de Bamako, Mali</b> .....	559

Tidiane Diallo <sup>1,2*</sup> , Abdourahamane Diara <sup>1,3</sup> , Cheick Abou Coulibaly <sup>4</sup> , Samba Bagayogo <sup>1</sup> , Kadidiatou Coumaré <sup>2</sup> , Seydou Moussa Coulibaly <sup>2</sup> , Benoit Yaranga Koumaré <sup>1,2</sup> , Ababacar Maïga <sup>1,3</sup> .....	559
<b>Recherche de résidus de Propanil dans le riz par spectrophotométrie UV-Visible et FTIR au Laboratoire national de la santé de Bamako, Mali</b> .....	570
T. Diallo <sup>1,2*</sup> , B. B. Traoré <sup>1,3</sup> , A. Diara <sup>1</sup> , H. Coulibaly <sup>2,3</sup> , K. Coumaré <sup>2</sup> , A. Diallo <sup>2</sup> , S. M. Coulibaly <sup>2</sup> , B. Y. Koumaré <sup>1,2</sup> .....	570
<b>Etude du comportement de l'Atenolol lors de l'inhibition de la corrosion du cuivre en milieu acide.</b> .....	574
Ehouman Ahissan Donatien <sup>1*</sup> , Tigori Mougout André <sup>2</sup> , Diki N'guessan <sup>3</sup> , Bamba Amara <sup>3</sup> , Kouakou Adjoumani Rodrigue <sup>1</sup> , Kogbi Guy Roland <sup>1</sup> , Diarrassouba Fatogoma <sup>1</sup> , Bamba Kafoumba <sup>1</sup> , Niamien Paulin Marius <sup>3</sup> .....	574
<b>Phytoremédiation : Effet de synergie entre <i>Thalia geniculata</i> et l'<i>Eichhornia Crassipes</i> (Jacinthe d'eau) dans le traitement des eaux usées domestiques</b> .....	582
Franck Yovo <sup>1,2*</sup> , Amoussatou Sakirigui <sup>1</sup> , Pélagie Yete <sup>2</sup> , Alexis F. C. Togbe <sup>2</sup> , Nikita Topanou <sup>1</sup> , Sèmiyou A. Osseni <sup>1</sup> , Valentin D. Wotto, Jacques K. Fatombi <sup>1</sup> .....	582
<b>Impacts des résidus polluants des effluents de l'usine de production de l'alcool sur les eaux de la rivière Klou à Logozohè au Bénin</b> .....	590
<sup>1</sup> Mickaël Vitus Martin Kpessou Saizonou, <sup>1</sup> Léonce Firmin Comlan Dovonon, <sup>1</sup> Magloire Acakpo Nonvignon Gbaguidi, <sup>2</sup> Olphiz Mahuena Mensah, <sup>1</sup> Calixte Akotegnon, <sup>2</sup> Samson Agossou, <sup>2</sup> Azim Abibou, <sup>2</sup> Daouda Mama .....	590
<b>Contrôle de qualité de l'eau minérale Miniji produite par la société espagnole MAPRAM SARL (Matières Premières Africaines et Mondiales) de Kabala-Mali</b> .....	599
Bouare Y <sup>1</sup> , Togola M <sup>2</sup> , Cisse A <sup>3</sup> , Garcia-Blanch J <sup>4</sup> , Tolofoudye A <sup>5</sup> .....	599
<b>Contribution à l'amélioration de la dépollution métallique de la lagune de Porto-Novo par phytoremédiation</b> .....	605
<b>Dépollution des effluents des industries de teintureriers de la ville d'Abidjan utilisatrices de colorants à travers une colonne d'adsorption à lit fixe de lichens désactivés</b> .....	606
Kouassi Kouadio Dobi Brice*, Yacouba Zoungran, Ekou Lynda, Ekou Tchirioua .....	606
<b>Développement de nouveaux capteurs chimiques à base de verre chalcogénure spécifique aux ions plomb</b> .....	615
Gaoussou Cisse <sup>1*</sup> , Marc Essi <sup>1</sup> .....	615
<b>Traitement des ions nitrates par le procédé d'électrocoagulation: criblage et optimisation des paramètres par les plans d'expériences</b> .....	619
Judicaël Ano <sup>1</sup> , Kopoin Adouby <sup>1</sup> , Drogui Patrick <sup>2</sup> , Benjamin Kouassi Yao <sup>1</sup> .....	619
<b>Influence de la température de calcination du matériau d'anode de RuO<sub>2</sub> sur l'oxydation du méthanol</b> .....	624
Kambire Ollo <sup>1</sup> , Kouya Tyeoula Monnequimond Arnaud <sup>2</sup> , Pohan Lemeyonouin Aliou Guillaume <sup>3</sup> And Ouattara Lassine <sup>2*</sup> .....	624

<b>Détermination de la composition des déchets et estimation de leurs potentiels énergétiques récupérables comme outil essentiel pour améliorer le plan de gestion des déchets : cas de l'université Nangui Abrogoua en Côte d'Ivoire.....</b>	<b>630</b>
Kouakou Adjoumani Rodrigue <sup>1</sup> ; Abolle Abollé <sup>1</sup> ; Kouadio Marc Cyril <sup>2</sup> ; Kouassi Konan Edmond <sup>1</sup> Et Akotto Gaëtan Achiepo <sup>1</sup> .....	630
<b>Détermination de la demande en chlore de l'eau des puits traditionnels du quartier marais de Daloa. ....</b>	<b>638</b>
Kouamé Victor Kouamé*, Marie Jeanne Ohou-Yao, Kouakou Séraphin Konan, Bini Kouamé Dongui.	638
<b>Evaluation des risques sanitaires liés aux nitrates dans les eaux de puits consommées : cas de la ville de M'bahiakro (Centre-Est de la Côte d'Ivoire). ....</b>	<b>643</b>
N'cho Achié Hervé*, Kouame Kouassi Innocent <sup>1</sup> , Baï Ruth <sup>1</sup> , Konan Kouakou Séraphin <sup>2</sup> , Kouassi Konan David <sup>1</sup> , Kouassi Kouakou Lazare <sup>2</sup> . ....	643
<b>Etats des lieux des sols pollués par l'exploitation artisanale et semi mécanisée de l'or à Nebiah....</b>	<b>648</b>
Rose Yamma <sup>1</sup> , Jocelyne B Sawadogo <sup>2</sup> , Martine Diallo/Kone <sup>1</sup> , Arsène H Yonli <sup>2</sup> , Adrien Wanko <sup>3</sup> .....	648
<b>La détermination des éléments traces métalliques par la voltamétrie à redissolution anodique....</b>	<b>659</b>
Mijitaba Sahirou B*, Laouali M. S., Ayouba Mahamane A, Souley Kallo M .....	659
<b>Etude du marché de faisabilité de mise en place d'une station de traitement des boues de vidange dans la commune de Kozah 1 .....</b>	<b>666</b>
Piyabalo Kodom <sup>1</sup> , Edem Komi Koledzi <sup>2</sup> .....	666
<b>Evaluation de l'efficacité du traitement chimique des effluents hospitaliers universitaires du département du littoral en République du Bénin .....</b>	<b>673</b>
Judicaël NounagnonTodedji <sup>1</sup> , Justin Somadje Okambawa <sup>2</sup> , Waris Kéwouyèmi Chouti <sup>2,3</sup> , Comlan Cyriaque Degbey <sup>1</sup> , Achille Dedjiho <sup>2</sup> et Daouda Mama <sup>2</sup> .....	673
<b>Valorisation des argiles de Katiola (Côte d'Ivoire) dans la synthèse de photocatalyseur pour la dégradation de colorant organique .....</b>	<b>684</b>
Pohan Lemeyonouin Aliou Guillaume <sup>1*</sup> , Hervé Gouré-Boubi <sup>1</sup> , Amadou Kouyaté <sup>2</sup> , Lassiné Ouattara <sup>3</sup> ..	684
<b>Etude de la synthèse du charbon actif à partir de la dreche de brasserie : Application a l'élimination du colorant cationique bleu de méthylène .....</b>	<b>694</b>
Samadou SANNI, Ibrahim TCHAKALA, Tomkouani KODOM, Moctar Limam BAWA.....	694
<b>Elimination simultanée du nickel et de l'orange de méthyle en solution aqueuse par du charbon actif issu des fibres de noix de coco .....</b>	<b>702</b>
Kouassi N'guessan Louis Bérenger <sup>1*</sup> , Abollé Abollé <sup>2</sup> , Kouakou Adjoumani Rodrigue <sup>2</sup> , Kouamé Komessa Léa <sup>2</sup> , Trokourey Albert <sup>3</sup> .....	702
<b>Performances comparées de la latérite et du granite dans l'élimination de la pollution organique et des nutriments par traitement des eaux usées mixtes de la ville de Ouagadougou sur filtres hybrides plantés de <i>Canna generalis</i>. ....</b>	<b>708</b>

Sawadogo Bienvenue Joceline <sup>1</sup> , Kone Martine <sup>2</sup> , Yamma Rose <sup>1,2</sup> , Nonet Stéphane <sup>3</sup> , Walhain Philippe <sup>3</sup> , Kabore Roseline <sup>4</sup> , Sanou Toltama <sup>4</sup> , Yonli H. Arsène <sup>1</sup> .....	708
<b>Etude de l'efficacité et de la cinétique d'élimination de l'ammonium des eaux usées domestiques par un système des zones humides artificielles à écoulement vertical souterrain</b> .....	713
Dègninou Houndedjihou <sup>1</sup> , Tomkouani Kodom <sup>1</sup> , Delmira Beatriz Wolff <sup>2</sup> , Luis Gustavo Marchioro <sup>2</sup> .....	713
<b>Evaluation de la contamination des sédiments marins de la côte de Dakar par des pesticides</b> .....	721
<b>Auteurs et ..... ?</b> .....	721
<b>Qualité hydrochimique et microbiologique des eaux de forages d'hydraulique villageoise dans la préfecture de la Binah au Togo</b> .....	727
Kodom Tomkouani <sup>1</sup> , Soudoukou Eyazama Fabrice <sup>2</sup> , Mande Alfa-Sika Seyf-Laye <sup>2</sup> .....	727
<b>Elimination biologique du fer dans les eaux souterraines dans une colonne pilote</b> .....	739
<b>Elimination par des argiles naturelles de polluants organiques et inorganiques des déchets liquides d'une unité de production de sucre en Côte d'Ivoire</b> .....	746
Kedi Atolé Brice Bienvenu <sup>1*</sup> , Kouame Yao Francis <sup>1</sup> , Kouassi Seka Simplicite <sup>1</sup> , Abry Alike Odile <sup>1</sup> .....	746
<b>Contamination fécale et risques potentiels associés aux usages d'une rivière urbaine :</b> .....	750
<b>Rivière Djibi, Côte d'Ivoire</b> .....	750
Cyr-Kevin Yao Kouame <sup>1</sup> , Nouho Koffi Ouattara <sup>1</sup> , Allassane Ouattara <sup>1</sup> Et Germain Gourene <sup>1</sup> .....	750
<b>Caractérisation physique et quantification des ordures ménagère de la ville de Tsévié</b> .....	758
Essowè Kondoh*, Magnoudéwa Bassaï Bodjona, Koffi Ani Kili, Koledzi K. Edem, Gado Tchangbedji	758
<b>Production et utilisation de lipases immobilisées pour la production de biodiesel</b> .....	764
Akossi Moya Joëlle Carole <sup>1*</sup> , Yao Kouassi Benjamin <sup>1</sup> .....	764
<b>Métaux lourds dans l'eau et leur transfert dans le tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) d'élevage</b> .....	768
Sanou Ali <sup>1,2,3*</sup> , Coulibaly Safiatou <sup>4</sup> , Coulibaly Mariame <sup>3</sup> , Dable Pierre Jean-Marie Richard <sup>2</sup> Et Atse Boua Célestin <sup>4</sup> .....	768
<b>Présence de pesticides dans les sols agricoles et ressources hydriques du bassin versant agricole de Sinani (94 km<sup>2</sup>) en zone soudanienne du Mali</b> .....	773
Amadou M <sup>1</sup> , Amadou F <sup>1</sup> , Ibrahima M D <sup>2</sup> , Habi S <sup>2</sup> , Amakon D <sup>3</sup> , Hamadoun B M <sup>3</sup> , Keletigui D <sup>1</sup> , Aboudou D <sup>4</sup> et Issiaka K <sup>2</sup> .....	773
<b>Valorisation des biomasses locales en biochar : amendement des sols avec du biochar</b> .....	774
Ibrahim Grema Maman Hamissou <sup>1,2*</sup> , Yao Kouassi Benjamin <sup>1</sup> , Brou Yao Casimir <sup>2</sup> .....	774
<b>Mono-digestion anaérobie des eaux usées de l'abattoir principal de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire) : Évaluation du potentiel de biogaz et élimination de la pollution organique</b> .....	778
Kouakou Eric Adou <sup>a*</sup> , Okon Albert Alle <sup>a</sup> , Adjoumani Rodrigue Kouakou <sup>b</sup> , Kopoin Adouby <sup>a</sup> ,.....	778
Patrick Drogui <sup>c</sup> , Rajeshwar Dayal Tyagi <sup>c</sup> .....	778
<b>Valorisation des résidus de feuilles de <i>Lippia multiflora</i> après extraction de l'huile essentielle</b> .....	786

Sibiri Ferdinand Sanou <sup>1*</sup> , Yaya Soro <sup>2</sup> .....	786
<b>Dépollution des sols contaminés du site d’orpillage à Komabangou (Niger)</b> .....	792
<sup>1*</sup> Alassane Boukari Soumaila ; <sup>1</sup> soro Yaya ; <sup>2</sup> Tankari Dan Badjo Abdourahamane .....	792
<b>Optimisation de la production du biométhane à partir des déchets organiques du Niger pour une valorisation énergétique</b> .....	795
Karidio Daouda I. Oumoul-Kairou <sup>1*</sup> , Tsuanyo David <sup>2</sup> , Kouakou Adjoumani <sup>3</sup> , Yao Kouassi Benjamin <sup>1</sup>	795
<b>Elimination des ions fluorure des eaux souterraines destinées à la consommation humaine à partir de la poudre de coquilles de <i>Corbula trigona</i> régénérée</b> .....	799
Yapo N’zébo Sylvestre <sup>1*</sup> , Briton Bi Gouessé Henri <sup>1</sup> , Aw Sadat <sup>1</sup> , Reinert Laurence <sup>2</sup> , Drogui Patrick <sup>3</sup> , Yao Kouassi Benjamin <sup>1</sup> , Adouby Kopoin <sup>1</sup> .....	799
<b>Caractérisation et valorisation des graines de <i>Vitex doniana</i> en produits alimentaires</b> .....	804
Anien Marcelle Ghislaine <sup>1</sup> , Kone Kisselmina Youssouf <sup>1</sup> .....	804

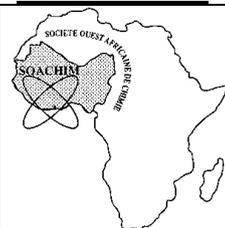
# Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.CHIM

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 2021

Université Abdou Moumouni de Niamey



Tél./Fax : (226) 50 30 39 67  
Email : [soachimsp1994@yahoo.fr](mailto:soachimsp1994@yahoo.fr)  
site : [www.soachim.org](http://www.soachim.org)

## 21<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM

**10 – 13 Août 2021, Niamey– NIGER**

### Note introductive

Par leurs études, les Chercheurs et Enseignants Chercheurs de la SOACHIM s'investissent de plus en plus dans les processus de développement de nos pays. Pour incarner cette orientation, des Groupes Thématiques ont été créés au sein de notre société savante. En rappel ce sont :

- Groupe Thématique 1 : Chimie des matériaux naturels et de synthèse (ReMOA) ;
- Groupe Thématique 2 : Substances Biologiquement Actives (ReSBOA) ;
- Groupe Thématique 3 : Sciences Agroalimentaires (ReSAOA) ;
- Groupe Thématique 4 : Modélisation en chimie, Chimie Théorique (ReCMOA) ;
- Groupe Thématique 5 : Eau, Energie, Environnement et Mines (R3EMOA).

La mise en œuvre des Groupes Thématiques a été possible à l'issue d'ateliers et / ou de séminaires spécifiques organisés par les adhérents au Groupe. Les 21<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques Annuelles seront encore une fois, animées par les Groupes Thématiques. Les 21<sup>èmes</sup> Journées connaîtront encore l'attribution des prix aux meilleures communications présentées par nos jeunes chercheurs. C'est le lieu de renouveler toute notre gratitude au Programme d'Appui Stratégique à la Recherche Scientifique (PASRES), le Recteur de l'Université Abdou Moumouni pour son appui à l'organisation et à l'attribution de précieux prix. Cette année, l'attribution du prix Baldé Saïdouba devrait être une continuité après Bamako et cela relèvera encore l'éclat des journées scientifiques. C'est l'occasion de saluer de nouveaux donateurs que sont le Directeur Général du Fonds national de la recherche et de l'innovation pour le Développement (FONRID) et le Président de l'Université Nazi Boni du Burkina Faso qui octroient chacun un prix à la meilleure communication féminine et masculine respectivement.

Compte tenu du contexte de crise sanitaire, la spécificité c'est que toute les conférences communications se passeront en virtuel et tout a été mis en euvre par la section organisatrice pour tenir le pari, mes sincères remerciement et encouragement à la section soeure du Niger.

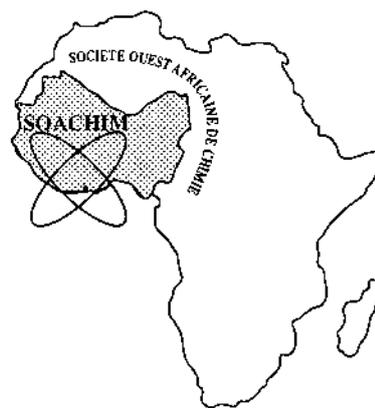
Bonnes journées scientifiques et que l'excellence l'emporte !

**Le Président de la SOACHIM**

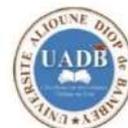
*Professeur Emérite Dominique C.K. SOHUONHLOU*



PASRES-  
Côte  
d'Ivoire



SOACHIM 2021



## **CONFERENCES PLENIERES**

## Capteurs électrochimiques à base du phosphate naturel et de l'argile pour la détection immédiate du staphylocoque aureus

Bernadette Avo Bile Ehui,<sup>1\*</sup> Koffi Olivier François Aristide Bertrand,<sup>1,2</sup> Chtaini Abdelilah,<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Chimie Physique, Université Félix Houphouët Boigny de Cocody, Côte d'Ivoire, BP .....

<sup>2</sup>Laboratoire d'électrochimie moléculaire et matériaux inorganiques, Université Sultan Moulay Slimane, FST Béni Mellal, BP 523, 23000 Béni Mellal, Maroc  
\*behuiavobile@yahoo.fr

Les staphylocoques sont des bactéries impliquées dans des pathologies de degré de gravité divers. Cette bactérie est une des principales causes de toxi-infections alimentaires. Une action préventive est donc indispensable pour réduire leurs effets néfastes sur la santé. Cette prévention passe par une analyse des substances à risque et cela nécessite un détecteur capable d'y identifier la présence de la bactérie. L'objectif de notre recherche a donc consisté à élaborer des capteurs électrochimiques susceptibles de détecter le staphylocoque. Pour atteindre cet objectif, nous avons élaboré d'abord les électrodes à partir du phosphate naturel et de l'argile, ensuite nous avons procédé à leur fonctionnalisation par l'amoxicilline et enfin nous les avons testées en présence de la bactérie. Les résultats obtenus nous montrent que les électrodes élaborées sont particulièrement capables de détecter le staphylocoque aureus à de faibles densités optiques dans la zone de potentiel allant de -1 à 0 V. En conclusion, nous disons que le phosphate naturel et l'argile mélangés à de l'amoxicilline selon des paramètres précis sont capables de détecter le staphylocoque aureus. En perspectives, nous comptons tester ces capteurs électrochimiques dans des milieux biologiques et élaborer d'autres capteurs pour la détection de bactéries causant des maladies d'origine hydrique

**Mots clés :** Electrodes modifiées, capteur électrochimique, amoxicilline, le staphylocoque aureus

## Electrochemical sensor based of natural phosphate and clay for the immediate detection of the staphylococcus aureus

Staphylococci are bacteria involved in pathologies of varying degrees of severity. This bacterium is one of the main causes of food poisoning. Preventive action is therefore essential to reduce their harmful effects on health. This prevention involves an analysis of the substances at risk and this requires a detector capable of identifying the presence of the bacteria. The objective of our research was therefore to develop electrochemical sensors capable of detecting staphylococcus. To achieve this goal, we first developed the electrodes from natural phosphate and clay, then we proceeded to functionalize them with amoxicillin and finally we tested them in the presence of the bacteria. The results obtained show us that the elaborate electrodes are particularly capable of detecting Staphylococcus aureus at low optical densities in the potential zone ranging from -1 to 0 V. In conclusion, we say that natural phosphate and clay mixed with of amoxicillin according to precise parameters are able to detect Staphylococcus aureus. In the future, we plan to test these electrochemical sensors in biological media and develop other sensors for the detection of bacteria causing water-borne diseases.

**Key words:** Modified electrodes, electrochemical sensor, amoxicillin, the staphylococcus aureus

### Bibliographie

- [1] [www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/fiches-info/staphylocoque](http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/fiches-info/staphylocoque). Site visité le 17/10/16
- [2] Fitzgerald, J. R., Sturdevant, D. E., Mackie, S. M., Gill, S. R., & Musser, J. M. (2001). Evolutionary genomics of Staphylococcus aureus: insights into the origin of methicillin-resistant strains and the toxic shock syndrome epidemic. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98: 8821-8826.
- [3] Le Loir, Y., Baron, F., & Gautier, M. (2003). Staphylococcus aureus and food poisoning. *Genetics and Molecular Research : GMR*, 2 : 63-76.
- [4] [www.msss.gouv.qc.ca](http://www.msss.gouv.qc.ca) unité de laboratoire de biologie médicale. Site visité le 17/10/16
- [5] Nelson, D.L., Cox, M.M. (2008). *Enzymes Lehninger Principles of biochemistry* 5th edition. New York, NY, États-Unis. W.H. Freeman and Compagny. Ch.4:pp. 183-233.
- [6] A. McLaren (1963) « Biochemistry and soil science », *Science*, 141: 1141–1147

## Electrochimie en milieux non-traditionnels

Moussa Bougouma<sup>ab</sup>, Fousséni Soma<sup>a</sup>, Alassane Sorgho<sup>a</sup>, Adama Kindo<sup>a</sup>, Françoise Diendéré, Claudine Buess-Herman, Thomas Doneux<sup>b</sup>

<sup>a</sup> *Laboratoire de Chimie des Matériaux et de l'Environnement (LCME), Université Norbert ZONGO UFR/Sciences et Technologies (ST), BP 376 Koudougou, Burkina Faso*

<sup>b</sup> *Chemistry 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 milieux électrolytiques aqueux conventionnels présentent des limitations majeures, pour différentes investigations électrochimiques. Outre ces inconvénients, ils reposent aussi sur une chimie classique utilisant des solutions concentrées d'acides ou de bases inorganiques, ainsi que d'additifs oxydants et de tensio-actifs qui posent de nombreuses questions concernant le traitement des effluents dans une optique de chimie verte. Le présent travail consiste à présenter des approches alternatives novatrices et respectueuses de l'environnement fondées sur l'utilisation des milieux électrolytiques non-traditionnels notamment les liquides ioniques (Room Temperature Ionic Liquids (RTIL), en anglais).

**Objectif:** Utiliser les solvants eutectiques profonds (Deep Eutectics Solvents), une classe particulière de liquides ioniques, aux propriétés intéressantes pour l'étude de la corrosion, l'électrodéposition, l'électroreduction de CO<sub>2</sub>, l'électroraffinage, etc.

**Méthodologie:** Pour montrer l'efficacité des RTILs, une revue de la littérature est réalisée. En outre, des études électrochimiques fondées sur l'utilisation de différentes techniques électrochimiques ont été réalisées à l'aide de dispositifs expérimentaux.

**Résultats acquis:** Divers résultats intéressants portant sur l'utilisation des RTILs comme inhibiteurs de corrosion pour le Cuivre, l'électrodéposition de l'argent, l'or et le palladium...et l'électroreduction de CO<sub>2</sub> ont été obtenus.

**Conclusion:** Il est possible d'utiliser les RTIL pour l'étude de l'électrodéposition, l'électroreduction de CO<sub>2</sub> et la corrosion en milieux non-traditionnels par l'utilisation des RTILs.

**Perspectives:** Remplacer les milieux électrolytiques aqueux non compatibles avec un environnement durables par les RTILs pour diverses applications chimiques et électrochimiques (extraction des métaux sur dans les extraits de minerai issus dans l'exploitation minière par exemple).

**Mots clés:** Electrochimie, électrolytes non-conventionnels, liquides ioniques

## Electrochemistry in non-traditional electrolytes

### Abstract

**Context:** Conventional aqueous electrolytic media have major limitations for various electrochemical investigations. In addition to these drawbacks, they are also based on a classic chemistry using concentrated solutions of inorganic acids or bases, as well as oxidizing additives and surfactants which raise many questions concerning the treatment of effluents from a green chemistry perspective. The present work consists of presenting innovative and environmentally friendly alternative approaches based on the use of non-traditional electrolytic media, in particular Room Temperature Ionic Liquids (RTIL).

**Object :** Use Deep Eutectics Solvents, a particular class of ionic liquids, with interesting properties for the study of corrosion, electroplating, CO<sub>2</sub> electroreduction, electrorefining, etc.

**Methodology:** To show the effectiveness of RTILs, a review of the literature is carried out. In addition, electrochemical studies based on the use of different electrochemical techniques were carried out using experimental devices.

**Achieved results:** Various interesting results relating to the use of RTILs as corrosion inhibitors for Copper, the electroplating of silver, gold and palladium ... and the electro-reduction of CO<sub>2</sub> have been obtained.

**Conclusion:** It is possible to use RTILs for the study of electrodeposition, CO<sub>2</sub> electroreduction and corrosion in non-traditional

environments through the use of RTILs.

**Perspectives:** Replace aqueous electrolytic media that are incompatible with a sustainable environment by RTILs for various chemical and electrochemical applications (extraction of metals from ore extracts from mining, for example).

**Keywords:** Electrochemistry, non-traditional electrolytes, Room temperature ionic liquids

**References :**

1. Electrochemical aspects of Ionic Liquids, *H. Ohno*, 1<sup>st</sup> ed. 2005, 2<sup>nd</sup> ed. 2011, John Wiley & Sons.
  2. Electrodeposition from Ionic Liquids, *Frank Endres, Andrew Abbott and Douglas Mac Farlane* 1<sup>st</sup> ed. 2008, 2<sup>nd</sup> ed., 2017, Wiley-VCH.
  3. Electrochemical Reactivity in Room-Temperature Ionic Liquids, *Philippe Hapiot et Corinne Lagrost*, *Chem. Rev.* 2008, 108, 2238-2264.
  4. S. Vanderaspolden, J. Christophe, Th. Doneux, C. Buess Herman, *Electrochimica Acta*, 162, (2015) 156-162.
- Palladium electrochemistry in the choline chloride-urea deep eutectic solvent at gold and glassy carbon electrodes, Foussemi Soma, Quentin Rayée, Moussa Bougouma, Christophe Baustert, Claudine Buess-Herman and Thomas Doneux, *Palladium electrochemistry in the choline chloride-urea deep eutectic*, *Electrochimica Acta* 345 (2020) 136-165

## **X-TechLab, première plateforme dédiée aux techniques de rayons x au Bénin, une solution brillante pour l’Afrique.**

Sidoine Bonou, [sobonou@semecity.com](mailto:sobonou@semecity.com) / [souroualb@yahoo.fr](mailto:souroualb@yahoo.fr)

X-TechLab Team, Agence de Développement de Sèmè City (ADSC), Cotonou, Bénin.

[www.xtechlab.co](http://www.xtechlab.co) ; [contact@xtechlab.co](mailto:contact@xtechlab.co) ; [+\(229\) 98 13 01 01](tel:+22998130101)

Investir davantage dans la formation, la recherche et l’innovation constitue un impératif pour les pays en voie de développement. Cet impératif se justifie par la récurrence des nombreux défis qui compromettent le développement, notamment dans les domaines de la santé, de l’agriculture, de l’énergie et de l’environnement. Du fait de leur nature transdisciplinaire et de leur capacité à explorer la microstructure et les propriétés de la matière, les techniques du rayonnement X représentent de puissants outils pour l’élaboration de solutions innovantes à différentes problématiques. Les plateformes dédiées à la formation, à la caractérisation et à l’analyse aux rayons X sont rares dans la sous-région. X-TechLab a été établie au sein de l’Agence de Développement de Sèmè City au Bénin, pour répondre aux besoins des communautés scientifiques de la sous-région et au-delà afin de les accompagner dans l’élaboration de solutions concrètes pour le développement. Ses principales missions sont :

- former la communauté des chercheurs aux techniques de rayons X afin qu’ils les intègrent à leurs outils de recherche pour améliorer la qualité et l’impact de leurs travaux ;
- accompagner les porteurs de projets de recherche et d’innovation à travers la médiation scientifique ;
- assurer la vulgarisation des techniques de rayons X à travers la participation aux conférences, colloques, aux manifestations scientifiques et aussi par la mise en œuvre de travaux pratiques communications orales, des conférences.

En dehors de ses propres équipements, X-TechLab dispose d’un réseau de laboratoires partenaires à l’international pour la caractérisation des matériaux par diverses techniques d’analyse complémentaires.

**Mots-clés** : rayons X, plateforme, laboratoires partenaires, solutions innovantes

## **X-TechLab, the 1<sup>st</sup> X-rays Techniques platform in Benin, a bright solution for Africa!**

Investing more in training, research and innovation is imperative for developing countries. This imperative is justified by the recurrence of the many challenges that compromise development, particularly in the areas of health, agriculture, energy and the environment. Due to their transdisciplinary nature and their ability to explore the microstructure and properties of matter, X-ray techniques represent powerful tools for developing innovative solutions to various problems. Platforms dedicated to training, characterization and X-ray analysis are rare in the Sub-Saharan Africa. X-TechLab was established within the Sèmè City Development Agency in Benin, to meet the needs of scientific communities in the sub-region and beyond in order to support them in the elaboration of concrete solutions for development. Its main missions are:

- train the research community in X-ray techniques so that they can integrate them into their research tools to improve the quality and impact of their work;
- support the promoters of research and innovation projects through scientific mediation;
- ensure the dissemination of X-ray techniques through participation in conferences, seminars, scientific events and also through the implementation of practical work oral communications, conferences.

Apart from its own equipment, X-TechLab has a network of international partner laboratories for the characterization of materials by various complementary analysis techniques.

**Keywords:** X-rays, platform, partner laboratories, innovative solutions

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

## Influence de l'activation sur la qualité des charbons actifs en vue de l'élimination de molécules bio-récalcitrantes

AMADOU KIARI Mahamane Nassirou<sup>1, 2</sup>, FANOUE Guy Didier<sup>1</sup>, MALAM ALMA Maman Mousbahou<sup>2</sup>, YAO Kouassi Benjamin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), l'Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY (INP-HB), BP 1093 Yamoussoukro/Cote d'Ivoire

<sup>2</sup>Laboratoire Matériaux, Eaux et Environnement (LAMEE), Faculté des Sciences et Techniques, Université Abdou Moumouni (UAM), BP 10662 Niamey/Niger

### Résumé :

Le charbon actif est un matériau adsorbant utilisé pour l'élimination des polluants présents dans les eaux usées. Malheureusement ces matériaux utilisés par les industriels sont très coûteux. C'est pourquoi des recherches sont menées dans le but de produire des charbons actifs à faible coût à partir de biomasses naturelles. L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de l'activation sur la capacité des charbons actifs à éliminer de molécules biorécalcitrantes. Les différentes techniques utilisées pour la caractérisation sont : le rendement massique et l'indice du Bleu de Méthylène [1]–[4]. Les résultats ont montré des rendements massiques de **20,90 %** pour les charbons actifs obtenus par activation en deux étapes et **40,70 %** pour ceux obtenus en une seule étape. L'indice du Bleu de Méthylène de **82,171** et **147,236 mg/g** ont été obtenues respectivement pour les charbons actifs préparés en une seule et deux étapes. Ainsi, les capacités d'adsorption du bleu de méthylène des charbons actifs préparés en deux étapes étaient plus élevées que celles des charbons actifs préparés en une seule étape. En vue d'optimiser les performances des charbons actifs, un plan composite sera utilisé.

**Mots clés : charbons actifs ; adsorption ; activation ; bleu de méthylène.**

### Influence of activation on the quality of activated carbons for the removal of bio-recalcitrant molecules

#### Abstract:

Activated carbon is an adsorbent material used for the removal of pollutants from wastewater. Unfortunately, these materials used by industry are very expensive. Therefore, research is conducted in order to produce low cost activated carbons from natural biomasses. The objective of this work is to study the effect of activation on the capacity of activated carbons to eliminate bio-recalcitrant molecules. The different techniques used for the characterization are: mass yield and Methylene Blue Index (Ahmed et al., 2012; Bestani et al., 2008; Konan et al., 2020; Koné et al., 2021). The results showed mass yields of **20.90%** for activated carbons obtained by two-step activation and **40.70%** for those obtained in a single step. The Methylene Blue index of **82.171** and **147.236 mg/g** were obtained for activated carbons prepared in one and two activation steps, respectively. Thus, the methylene blue adsorption capacities of activated carbons prepared in two steps were higher than those of activated carbons prepared in one step. In order to optimize the performance of activated carbons, a design of experiment will be used.

Key words: activated carbons; adsorption; activation; methylene blue.

## 1. Introduction

Les activités industrielles, civiles et militaires de la plupart des pays rejettent de plus en plus de matières toxiques surtout au cours de ces dernières décades. La qualité de l'eau notamment est en train de diminuer ; ce qui représente une menace sérieuse pour toutes les espèces vivantes [5].

Depuis ces derniers temps, les chercheurs travaillent sur de nouvelles technologies analytiques, physicochimiques et biochimiques pour caractériser et éliminer les matières dangereuses des eaux tels les micropolluants organiques ou inorganiques qui sont plus ou moins difficilement biodégradables et d'autres toxiques [6].

Même si des procédés conventionnels, comme les traitements biologiques, permettent aux industriels de traiter une grande variété d'effluents pollués, il est souvent nécessaire de faire appel préférentiellement à des procédés physico-chimiques pour plusieurs raisons :

- ✓ les sous-produits toxiques formés peuvent inhiber l'action des microorganismes,
- ✓ l'effluent est composé de molécules organiques peu ou pas biodégradables, persistantes en sortie de filière,
- ✓ les effluents contiennent une importante quantité de sels, néfastes aux microorganismes. Toutes les molécules qui correspondent à ces critères sont appelées bio-récalcitrantes [7]. La résistance de ces molécules bio-récalcitrantes nécessite des traitements spécifiques plus efficaces qui s'appuient sur des procédés très performants et variés notamment physicochimiques, en particulier, la technique de l'adsorption sur charbons actifs, matériaux poreux à grande surface spécifique.

Les charbons actifs sont des matériaux peu coûteux, ils peuvent être obtenus par carbonisation et activation de précurseur contenant déjà une part importante de carbone et un faible pourcentage en matière inorganique. Leur

fabrication peut se faire de deux façons : soit par activation physique, soit activation chimique. De nombreux travaux de recherches ont été ainsi consacrés à la préparation de charbons actifs à partir de nouvelles sources de productions telles que les déchets d'origine végétale en Afrique comme : les branches ou pétioles du palmier rônier, les tiges ou cannes de bambou [8], *le noix de coco* [9], *le bois d'eucalyptus* [10], *flamboyant* [11].

Malgré la disponibilité de la biomasse lignocellulosique dans la sous-ouest africain, les pays africains continuent d'importer les charbons actifs (CAs) en grande quantité pour diverses applications notamment pour le traitement des eaux de rejets industriels, le traitement de minerai, etc. C'est pourquoi, il paraît nécessaire de préparer et caractériser des charbons actifs à partir de biomasses lignocellulosiques localement disponibles.

L'objectif général de la présente étude est d'étudier l'effet de l'activation sur la capacité des charbons actifs à éliminer les molécules bio-récalcitrantes.

## 2. Matériel et méthodes 2.1. Matériel

Les coques de noix de coco constituent la matière première de fabrication de nos charbons actifs.

### 2.2. Méthodes

#### 2.2.1. Collecte et prétraitement

Les coques ont été collectées au niveau du centre (Yamoussoukro/Abijan). Ces derniers ont été dénoyautés, concassés, lavés à l'eau distillée et séchés à l'étuve à 105 °C pendant 24 heures.

#### 2.2.2. Préparation des charbons actifs

La méthode utilisée est l'activation chimique.

#### 2.2.3. Caractérisation chimique

##### 2.2.3.1. Rendement de pyrolyse

Le rendement de pyrolyse est le rapport entre la masse finale ( $m_f$ ) et la masse initiale ( $m_i$ ).

##### 2.2.3.2. Capacité d'adsorption de Bleu de méthylène (BM)

La capacité d'adsorption de bleu de méthylène (BM) exprimé en mg/g représente la capacité d'adsorption de la molécule de grande taille en vue d'évaluer les mésopores et les macropores [9].

Les tests d'adsorption du bleu de méthylène ont été réalisés en mélangeant de charbon actif avec une solution de bleu de méthylène à 1000 mg.L<sup>-1</sup>. Après agitation, la suspension est filtrée et la concentration résiduelle de BM est mesurée en utilisant un spectrophotomètre UV/VIS.

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Rendement massique

Les résultats de rendement massique après la pyrolyse sont illustrés dans le tableau I :

Tableau I : Rendement massique après pyrolyse des charbons actifs préparés

N <sup>o</sup> Expérience	Rendement massique %
1	20.90
2	28.60
3	36.50
4	25.20
5	38.90
6	40.40
7	28.50
8	40.70

Les résultats de rendement massique après la pyrolyse varient de 20.90 à 40.70 %

### 3.2. Indice de bleu de méthylène

Les résultats de la meilleure capacité de l'indice de bleu de méthylène sont représentés à la figure 1.

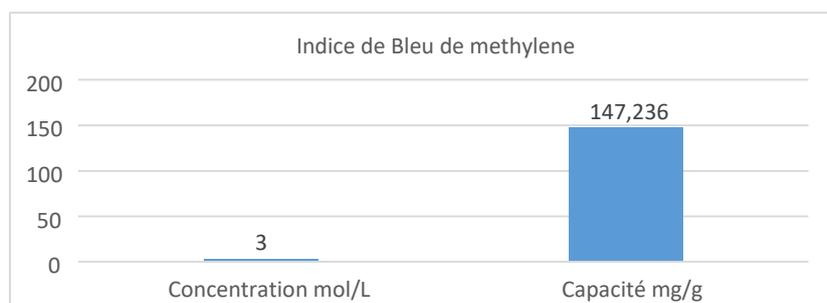


Fig. 1. : Indice de Bleu de méthylène

La meilleure capacité pour cette étude est de 147.236 mg/g. Cette valeur est supérieure à celle obtenue par Koné *et al.*, 2021 ; Bestani *et al.*, 2008. Ces derniers ont obtenus des valeurs de 28 et 23 mg/g respectivement.

#### 4. Conclusion

Ce travail porte sur l'effet de l'activation sur la capacité des charbons actifs à éliminer la molécule bleue de méthylène. Il ressort de cette étude que :

- le rendement massique après la pyrolyse de l'ordre de 20,90 et 40,70% ; □ la meilleure capacité de bleu de méthylène est de 147.236 mg/g.

#### 5. Références bibliographiques

- [1] M. J. Ahmed et S. K. Dhedan, « Equilibrium isotherms and kinetics modeling of methylene blue adsorption on agricultural wastes-based activated carbons », *Fluid Phase Equilibria*, vol. 317, p. 9-14, mars 2012, doi: 10.1016/j.fluid.2011.12.026.
- [2] B. Bestani, N. Benderdouche, B. Benstaali, M. Belhakem, et A. Addou, « Methylene blue and iodine adsorption onto an activated desert plant », *Bioresource Technology*, vol. 99, n° 17, p. 8441 -8444, nov. 2008, doi: 10.1016/j.biortech.2008.02.053.
- [3] A. T. S. Konan, R. Richard, C. Andriantsiferana, et K. B. Yao, « Recovery of borassus palm tree and bamboo waste into activated carbon: application to the phenolic compound removal », p. 15, 2020.
- [4] H. Koné, K. E. Kouassi, A. S. Assémian, K. B. Yao, et P. Drogui, « Investigation of breakthrough point variation using a semi-industrial prototype packed with low-cost activated carbon for water purification », p. 20, 2021.
- [5] G. D. FANOU, « Photocatalyseurs nanocomposites à base d'oxyde de titane préparés dans un réacteur sol-gel à micromélange », These de Doctorat en Genie des procedés, Université Paris XIII et Institut National Polytechnique Felix HOUPHOUET BOIGNY, 2017.
- [6] O. SANDA MAMANE, « Valorisation de déchets agro-alimentaires pour l'élaboration de charbons actifs ; caractérisation et application dans la dépollution des eaux usées chargées en chrome issues de la Tannerie Malam Yaro de Zinder-Niger », These de Doctorat Chimie Minerale de Metaux, Université Abdou Moumouni de Niamey, 2019.
- [7] T. Merle, « Couplage des procédés d'adsorption et d'ozonation pour l'élimination de molécules bio-récalcitrantes », These de Doctorat Genie des Procedés et de l'Environnement, Université de Toulouse, 2009.
- [8] A. T. S. KONAN, « COUPLAGE ADSORPTION/PROCÉDÉS D'OXYDATION AVANCÉE POUR L'ÉLIMINATION DU 2,4-DIMÉTHYLPHÉNOL EN MILIEU AQUEUX », These en Genie des Procedés, Institut National Felix HOUPHOUET BOIGNY et Université de Toulouse, 2019.
- [9] D. BAMBA, « ELIMINATION DU DIURON DES EAUX PAR DES TECHNIQUES UTILISANT LES RESSOURCES NATURELLES DE LA CÔTE D'IVOIRE : PHOTOCATALYSE SOLAIRE ET CHARBON ACTIF DE COQUES DE NOIX DE COCO », These de Doctorat Chimie-Physique, Université de Cocody Abijan, 2009.
- [10] M. GUEYE, « Développement de charbon actif a partir de biomasses lignocellulosiques pour des applications dans le traitement de l'eau », These de Doctorat en Energie, Institut International de l'Ingenierie de l'Eau et de l'Environnement, 2015.
- [11] N. ABOUA KOUASSI, « OPTIMISATION PAR LE PLAN FACTORIEL COMPLET DES CONDITIONS DE PRODUCTION DE CHARBON ACTIF ET SON UTILISATION POUR L'ÉLIMINATION DE COLORANTS ET MÉTAUX LOURDS EN SOLUTIONS AQUEUSES », These de Doctorat Chimie-Physique, Université Felix HOUPHOUET BOIGNY, 2013.

## Etude et mise en œuvre des solutions écologiques pour le traitement des déchets électriques et électroniques, leur valorisation et leur élimination, cas de la Côte d'Ivoire

LAMAH Labilé<sup>1\*</sup>, Pr. HABA Cissé Théodore<sup>1</sup>

*Département Génie Electrique et Electronique, Institut National Polytechnique Félix Houphouët BOIGNY, Yamoussoukro, BP : 1093, Côte d'Ivoire*

### Résumé

La gestion des déchets déquipements électriques et électroniques est aujourd'hui une préoccupation pour les pays sous-développés [1]. Les technologies mises en place dans ces pays sont non conventionnelles et celles industrielles ne sont pas applicables. Il est important de trouver une méthode ou technologie économiquement réalisable et écologique. Dans le plan de gestion de ces déchets, le démontage est la première phase et doit respecter certaines conditions. Dans la présente étude, il était question de chercher une méthode de démontage des composants électroniques. Nous avons orienté notre recherche sur deux méthodes. Le démontage manuel et celui par broyage [2]. Les résultats montrent que le démontage manuel conserve l'état des composants et peuvent être réutilisés, mais le temps mis pour cette activité est très long. Le démontage par broyage quant à lui, détruit les composants. Ces techniques même si elles sont utilisées par plusieurs auteurs, nous les trouvons non profitables sur le plan économique, sanitaire et écologique.

**Mots clés :** E-déchets, Ecologie, Valorisation, élimination.

### Abstract

The management of waste electrical and electronic equipment is now a concern for underdeveloped countries [1]. The technologies used in these countries are unconventional and industrial ones are not applicable. It is important to find an economically feasible and environmentally friendly method or technology. In the waste management plan, dismantling is the first phase and must meet certain conditions. In the present study, the aim was to find a method for dismantling electronic components. We focused our research on two methods. The manual disassembly and the crushing method [2]. The results show that manual disassembly preserves the condition of the components and can be reused, but the time taken for this activity is very long. Shredding, on the other hand, destroys the components. Although these techniques are used by several authors, we find them unprofitable from an economic, health and environmental point of view.

**Keywords:** E-waste, Ecology, Recovery, elimination

### I. Introduction

Aujourd'hui, le monde a connu une évolution considérable dans les domaines de la technique et de la technologie, qui parle de développement économique ou social fait allusion à la technique et à la technologie. En conséquence, nous nous retrouvons avec des milliers de déchets d'équipements électroniques et électriques (le parlement européen, 2003), avec pour dépotoir le continent africain.

Même si ces déchets ne représentent que 2% du flux total des déchets solides, ils constituent une source secondaire de matières premières, mais surtout ils incarnent jusqu'à 70% des flux de déchets dangereux constitués des composés toxiques qui aboutissent aux décharges et contribuent à l'augmentation des niveaux de toxicité de l'écosystème [2]. Dans les pays sous-développés, leurs valorisation se fait par des méthodes non conventionnelles qui favorisent la dégradation de l'environnement et la santé humaine.

La fraction la plus importante des déchets d'équipements électriques et électroniques où sont concentrés les métaux, est la carte de circuits imprimés, constituée en moyenne d'environ 30% de métaux, comme le Cu (~16%), Sn (~4%), Fe (~3%), Ni (~2%), Pb (~ 2 %), Zn (~ 1 %), Ag (0,05 %), Au (0,03 %), Pd (0,01 %), (Bi, Sb, Ti, etc. <0,01%). Et de 70 % de non-métaux [3]. [4]. Sur ces cartes sont montés des composants analogiques comme les résistances, les condensateurs, les inductances, les diodes, les transistors bipolaires, les transistors à effet de champ. Mais aussi des circuits intégrés analogiques comme des amplificateurs opérationnels [4].

Le traitement de ces cartes de circuits imprimés se focalise plus sur l'extraction de certains de ces métaux précieux tout en détruisant ces composants électroniques. Ces composants électroniques ont en moyenne une durée de vie de fonctionnement de 500.000 heures. Mais à cause de l'obsolescence programmée de ces équipements, ils sont abandonnés parfois après juste 20.000 heures de fonctionnement, soit 96 % de temps d'utilisation restant [5].

Retirer avec prudence ces composants sans les endommager serait un frein pour la pollution atmosphérique des industries de leurs production. Ils serviront de pièces de change, et peuvent même être introduites dans les travaux pratiques des lycées et collèges.

Ces composants électroniques sont liés à la carte mère par une soudure. Aujourd'hui dans certains pays développés comme l'Allemagne, des techniques automatisées sont utilisées. Des techniques semi automatisées comme le broyage, les réactifs chimiques, les radiateurs infrarouges, les fers chauffants, l'application d'une force extérieure

(par jet de gaz, balayage, force centrifuge.) sont employées dans le but de détruire cette soudure [6]. Elles ne peuvent pas être transférées dans des pays sous-développés pour des raisons d'investissement. Dans ces pays les artisans de ce secteur utilisent des techniques archaïques comme le démontage manuel en utilisant des marteaux, des burins, des tournevis, ou comme l'incinération ou des plaques chauffantes par le biais du charbon de bois [7] [8]. De ces procédés ou méthodes, les composants toxiques sont libérés et les pertes de métaux sont enregistrées [9].

Il faut alors trouver une méthode simple, moins coûteuse, écologique et non énergivore pour faciliter cette première étape de traitement des déchets d'équipements électriques et électroniques.

Ce travail de recherche s'inscrit dans la logique de résoudre ce fléau par une méthode écologiquement innovante par la séparation à courant de Foucault [10]. Cela va du déchiquetage, du broyage, de la séparation magnétique et de la valorisation de chaque fraction.

A la fin de cette étude, les DEEE en Côte d'Ivoire seront valorisés.

## II. Matériel et méthodes

Cette présente étude concerne les cartes de circuits imprimées issues des ordinateurs. Il s'agissait de chercher une méthode écologique pour le démontage des composants électroniques.

Deux options étaient étudiées. Les cartes de circuits imprimées ont été retirées manuellement.

Dans un premier temps nous avons procédé au démontage manuel des composants par un fer à dessouder préalablement chauffé. Par la suite, ces composants ont été testés pour statuer sur leurs états de fonctionnalité.

Dans un second temps, les cartes étaient broyées puis triées pour récupérer les composants.

Pour la réalisation de cette activité nous avons utilisé deux cartes mères, un fer à souder, un broyeur à métaux.

## III. Résultats et discussion

Le démontage manuel nous a donné accès à une extraction non destructive des composants électroniques, mais la méthode est très lente si elle est appliquée sur une quantité importante de circuits imprimés. Elle est en outre une source de contamination à cause de la manipulation.

Le broyage quant à lui, détruit complètement les composants électroniques.

Même si ces méthodes sont beaucoup plus utilisées généralement par des auteurs, elles ne sont pas appréciables à notre niveau.



Figure 3: carte de circuits imprimés

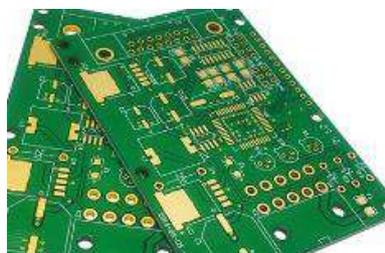


Figure 2: carte vierge après extraction manuelle des composants



Figure 1: composants électroniques en bon état



Figure 5: Epoxyde sans composants électroniques après broyage



Figure 4 : composants électroniques détruits après broyage

## IV. Conclusion et perspectives

Les DEEEs constituent une menace économique, sanitaire et écologique pour le continent africain.

Le démontage sans destruction des composants électroniques sera un élément clé pour la valorisation des DEEEs.

En perspective, nous souhaitons mettre en place un dispositif utilisant l'énergie solaire thermique comme source

d'alimentation pour la production d'un air chaud à la température de fusion de l'étain liant les composants à la carte.

#### V. Références bibliographies

- [1] Parlement européen, « DIRECTIVE 2002/96/CE DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL, relative aux déchets d'équipements électriques et électroniques (DEEE) », janv. 2003.
- [2] L. Meng, L. Guo, et Z. Guo, « Separation of metals from metal-rich particles of crushed waste printed circuit boards by low-pressure filtration », *Waste Management*, vol. 84, p. 227-234, févr. 2019, doi: 10.1016/j.wasman.2018.11.046.
- [3] J. Lee, Y. Kim, et J. Lee, « Disassembly and physical separation of electric/electronic components layered in printed circuit boards (PCB) », *Journal of Hazardous Materials*, vol. 241-242, p. 387-394, nov. 2012, doi: 10.1016/j.jhazmat.2012.09.053.
- [4] B. Debnath, P. Roychowdhury, et R. Kundu, « Electronic Components (EC) Reuse and Recycling – A New Approach towards WEEE Management », *Procedia Environmental Sciences*, vol. 35, p. 656-668, janv. 2016, doi: 10.1016/j.proenv.2016.07.060.
- [5] M. Chen *et al.*, « Electronic Waste Disassembly with Industrial Waste Heat », *Environ. Sci. Technol.*, vol. 47, n° 21, p. 12409-12416, nov. 2013, doi: 10.1021/es402102t.
- [6] J. Wang et Z. Xu, « Disposing and Recycling Waste Printed Circuit Boards: Disconnecting, Resource Recovery, and Pollution Control », *Environ. Sci. Technol.*, vol. 49, n° 2, p. 721-733, janv. 2015, doi: 10.1021/es504833y.
- [7] M. Chen *et al.*, « Electronic Waste Disassembly with Industrial Waste Heat », *Environ. Sci. Technol.*, vol. 47, n° 21, p. 12409-12416, nov. 2013, doi: 10.1021/es402102t.
- [8] D. Huabo, H. Kun, L. Jinhui, et Z. Xiaodong, « Electronic Waste Disassembly with Industrial Waste Heat | Environmental Science & Technology », 2011. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es402102t> (consulté le juill. 07, 2021).
- [9] H. Richter, W. Lorenz, et M. Bahadir, « Examination of organic and inorganic xenobiotics in equipped printed circuits », *Chemosphere*, vol. 35, n° 1, p. 169-179, juill. 1997, doi: 10.1016/S0045-6535(97)00148-3.
- [10] L. Zhang et Z. Xu, « A review of current progress of recycling technologies for metals from waste electrical and electronic equipment », *Journal of Cleaner Production*, vol. 127, p. 19-36, juill. 2016, doi: 10.1016/j.jclepro.2016.04.004.

## Synthèse et caractérisation des catalyseurs aluminosilicates, ZSM-5, en utilisant les matériaux locaux du Niger.

Adamou Ibro Abdourahamane<sup>1,2\*</sup>, Yao Kouassi Benjamin<sup>1</sup>, Manzola Abdou Salam<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), Institut National Polytechnique Felix Houphouët Boigny (INP-HB) -Ecole Doctorale Polytechnique (EDP), Yamoussoukro-BP : 1093, Côte D'Ivoire.

<sup>2</sup> Laboratoire Matériaux, Eaux et Environnement (LAMEE), Université Abdou Moumouni (UAM)- Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Niamey-BP : 10896/237, Niger.

\* aadamouibro@yahoo.fr

### Résumé :

Les catalyseurs ZSM-5 sont les plus utilisés en raffinage. Au Niger, les matériaux argileux et sableux demeurent sous valorisés. L'objectif de ce travail est de synthétiser des catalyseurs aluminosilicates, ZSM-5, en utilisant les matériaux locaux du Niger. La méthode de synthèse est la méthode hydrothermale par traitement alcalin en appliquant un plan de criblage. La caractérisation sera faite en utilisant les méthodes suivantes : la Diffraction des rayons-X (DRX), la Fluorescence des Rayons-X (FRX), la Spectroscopie Infrarouge à Transformer de Fourier (FT-IR), l'Analyse Brunauer, Emmet et Teller (BET) et la Microscopie Electronique à Balayage (MEB).

La caractérisation de l'argile a montré qu'elle contient 81, 8% de kaolinite, 14,2 % de l'illite et 4 % d'un minéral intermédiaire smectite/chlorite. Les catalyseurs synthétisés doivent avoir un rapport  $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$  compris entre 30 et 50, une teneur massique en silice comprise entre 25 et 75% poids, une teneur massique en aluminium comprise entre 50 et 70% poids, un diamètre des pores de 30 Å, un volume des micropores < 0,05 ml/g, une surface spécifique BET ( $S_{\text{BET}}$ ) comprise entre 100 et 550 m<sup>2</sup>/g et une forme sphérique, pastille ou extrudée.

Nous envisageons réaliser une réaction d'oligomérisation afin de déterminer la performance catalytique de ZSM-5.

**Mots Clés** : Argile ; caractérisation ; synthèse ; ZSM-5.

### Synthesis and characterization of aluminosilicate catalysts, ZSM-5, using local materials from Niger.

ZSM-5 catalysts are the most widely used in refining. In Niger, clay and sand materials remain under-utilized. The objective of this work is to synthesize aluminosilicate catalysts, ZSM-5, using local materials from Niger. The synthesis method is the hydrothermal method by alkaline treatment using a screening scheme. The characterization will be done using the following methods: X-ray Diffraction (XRD), X-ray Fluorescence (XRF), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR), Brunauer, Emmet and Teller Analysis (BET) and Scanning Electron Microscopy (SEM).

The characterization of the clay showed that it contains 81, 8% of kaolinite, 14.2% of illite and 4% of an intermediate mineral smectite/chlorite. The synthesized catalysts should have a  $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$  ratio between 30 and 50, a silica mass content between 25 and 75% by weight, an aluminum mass content between 50 and 70% by weight, a pore diameter of 30 Å, a micropore volume < 0.05 ml/g, a BET specific surface area ( $S_{\text{BET}}$ ) between 100 and 550 m<sup>2</sup>/g and a spherical, pellet or extruded shape.

We plan to perform an oligomerization reaction to determine the catalytic performance of ZSM-5.

**Keywords** : Clay; characterization; synthesis; ZSM-5.

## 1. 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], [4]. Ils sont utilisés dans plusieurs procédés du raffinage dont, entre autres, l'oligomérisation [5]–[12] et le craquage catalytique [13]–[21]. 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 C<sub>5+</sub> à 200°C ou 220°C [22]. Quant au procédé d'oligomérisation, il consiste à additionner les oléfines entre elles pour produire des essences à haut indice d'octane [22].

Les catalyseurs ZSM-5 peuvent être synthétisés à partir des matériaux industriels comme le Tetrapropylammonium (TPA), le 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 [23]. 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 [24]. C'est ainsi que des chercheurs comme Pan. F et al, 2017 [25] ; Xing. Y et al, 2017 [26] ; Nanzhe et al, 2019 [27]; Yue. Y et al, 2020 [28] et Wu. M et al, 2020 [29] ; pour ne citer que ceux-là ; ont respectivement utilisés de la kaolinite, de l'attapulgite, de l'illite, de la rectorite et de la palygorskite pour synthétiser les catalyseurs zéolites

aluminosilicates ZSM-5. La synthèse de ces catalyseurs est réalisée généralement par deux voies : la voie sèche qui n'utilise pas de solvant [30]–[32] et la voie hydrothermale qui utilise le solvant dans le protocole expérimental [25], [27], [33]. 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 [29].

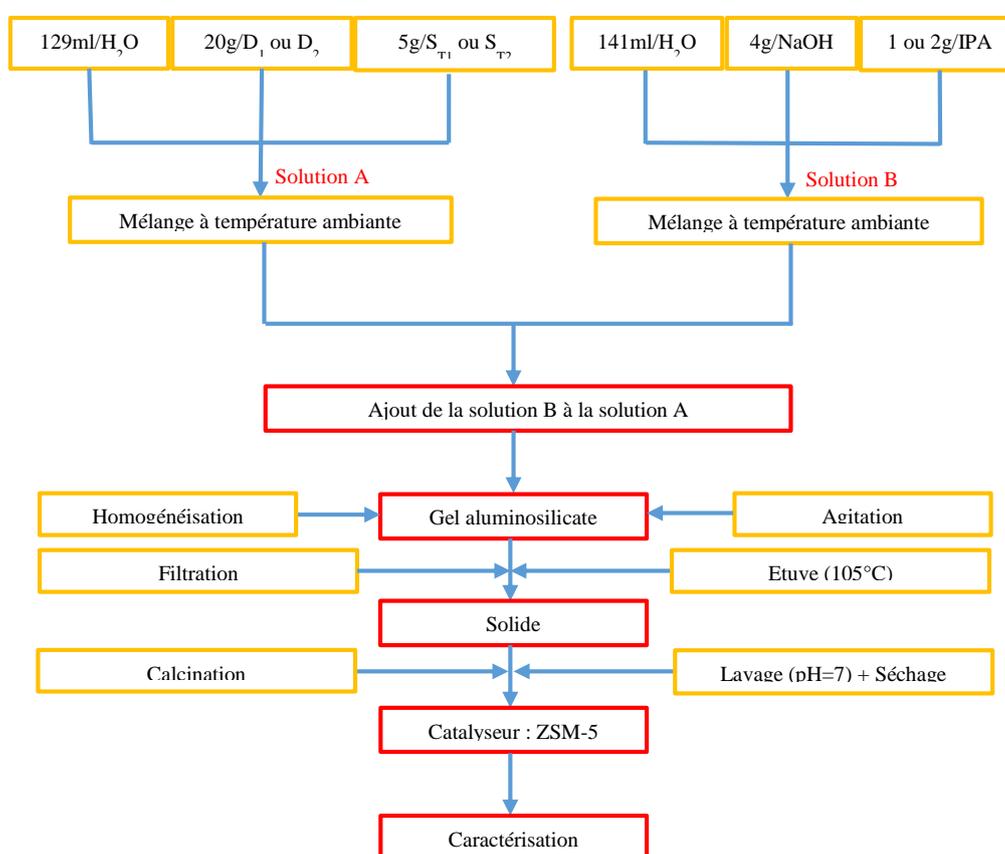
Le besoin en catalyseurs de raffinage du Niger et du Nigeria ne cesse d'augmenter avec le projet d'extension de la Société de Raffinage de Zinder (SORAZ) au Niger et avec la mise en exploitation de la plus grande raffinerie au monde (650.000 barils/jour), la RAFFINERIE DANGOTE, au Nigeria. Or, le Niger 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 [2], [34]–[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 du Niger-Maradi (Djirataoua) afin de discuter de la possibilité de son utilisation dans la synthèse des catalyseurs aluminosilicates ZSM-5.

## 2. Matériel et méthodes

### ➤ Méthode hydrothermale de synthèse des catalyseurs ZSM-5 par traitement alcalin :

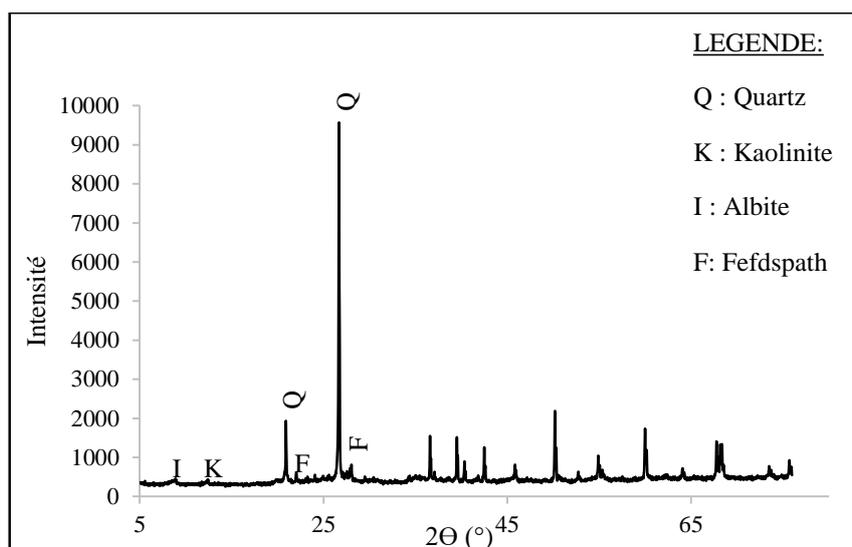
L'organigramme suivant compile les étapes de cette méthode :



**Figure 1 :** Méthode hydrothermale de traitement alcalin des catalyseurs ZSM-5.

## 1. Résultats et discussion.

### 3.1. Diffraction des rayons-X (DRX) sur l'argile brute (D<sub>1</sub>)



**Figure 2 :** Diagramme-RX de l'argile brute (D<sub>1</sub>).

D'après ce diagramme on constate que D<sub>1</sub> contient de l'illite autour de 9° (2θ), de la kaolinite autour de 12° (2θ), du quartz autour de 21° et 26° (2θ) et du feldspath autour de 22° et 28° (2θ). Or, Selon les travaux de Pan. F et al, 2017 ; Yue. Y et al, 2020, ce sont les minéraux argileux uniquement qui sont utilisés pour la synthèse des catalyseurs ZSM-5, sans le quartz et le feldspath. Il faudra alors procéder à l'extraction de la fraction argileuse (D<sub>2</sub>) avant la synthèse des catalyseurs.

### 3.3. Diffraction des rayons-X (DRX) sur fraction argileuse (D<sub>2</sub>)

**TABLEAU I :** Composition minéralogique de D<sub>2</sub>  
**Composition minéralogique de la fraction argileuse (D<sub>2</sub>)**

(D <sub>2</sub> )	Kaolinite	Illite	Smectite\Chlorite
%	81,8	14,2	4

## 4. Conclusion :

Un échantillon d'argile (D<sub>1</sub>) a été caractérisé, en vue d'utiliser ses minéraux argileux (D<sub>2</sub>) comme matériau de base pour la synthèse des catalyseurs ZSM-5, par la Diffraction des Rayons-X (DRX). A l'issue de ces analyses, il s'avère que l'échantillon d'argile (D<sub>1</sub>) est un matériau aluminosilicate qui contient des minéraux dont les proportions sont les suivantes : 81,8% de la kaolinite, 14,2 % de l'illite et 4% d'un minéral argileux irrégulier smectite\chlorite soit 96% d'argiles non gonflantes (kaolinite et illite) et 4% d'argiles gonflantes (smectite).

Au regard des résultats ci-haut obtenus, nous pouvons affirmer que l'échantillon d'argile du Niger-Maradi (Djirataoua) possède les caractéristiques minéralogiques requises pour être utilisé dans la synthèse des catalyseurs zéolitiques aluminosilicates ZSM-5.

## 5. Bibliographie :

- [1] T. F. Degnan, G. K. Chitnis, et P. H. Schipper, « History of ZSM-5 fluid catalytic cracking additive development at Mobil », *Microporous and Mesoporous Materials*, vol. 35-36, p. 245-252, avr. 2000, doi: 10.1016/S1387-1811(99)00225-5.
- [2] M. Abdoukader, I. Malam Salmanou Souleymane, H. Bouba, A. Toure Amadou, G. Zibo, et W. Ibrahim, « Caractérisation Physico-Chimique Et Minéralogique Des Argiles De La Carrière De Mirriah, Région De Zinder, Utilisées Dans La Poterie », *ESJ*, vol. 17, n° 03, janv. 2021, doi: 10.19044/esj.2021.v17n3p120.
- [3] « 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 ». <https://patents.google.com/patent/EP2333031B1/zh-cn> (consulté le oct. 18, 2019).
- [4] W. Luo *et al.*, « Synthesis of ZSM-5 aggregates made of zeolite nanocrystals through a simple solvent-free method », *Microporous and Mesoporous Materials*, vol. 243, p. 112-118, mai 2017, doi: 10.1016/j.micromeso.2017.01.040.
- [5] A. de Klerk, « Oligomerization of 1-Hexene and 1-Octene over Solid Acid Catalysts », *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 44, n° 11, p. 3887-3893, mai 2005, doi: 10.1021/ie0487843.

- [6] N. G. Grigor'eva, D. V. Serebrennikov, S. V. Bubennov, et B. I. Kutepov, « Oligomerization of 1-Pentene on Zeolite Catalysts », *Catal. Ind.*, vol. 12, n° 1, p. 47-55, janv. 2020, doi: 10.1134/S2070050420010079.
- [7] C. M. Halmenschlager, M. Brar, I. T. Apan, et A. de Klerk, « Oligomerization of Fischer–Tropsch Tail Gas over H-ZSM-5 », *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 55, n° 51, p. 13020-13031, déc. 2016, doi: 10.1021/acs.iecr.6b03861.
- [8] A. de Klerk, « Oligomerization of Fischer–Tropsch Olefins to Distillates over Amorphous Silica–Alumina », *Energy Fuels*, vol. 20, n° 5, p. 1799-1805, sept. 2006, doi: 10.1021/ef060169j.
- [9] S. V. Bubennov, I. I. Zainullin, V. S. Bayteriakov, et G. M. Bashirova, « OLIGOMERIZATION OF ISOPENTENE MIXTURES: ANALYSIS OF THE CURRENT STATE AND PROSPECTS FOR THE DEVELOPMENT OF HETEROGENEOUS OLIGOMERIZATION CATALYSTS », *OGBUS*, n° 1, p. 170, févr. 2020, doi: 10.17122/ogbus-2020-1-170-194.
- [10] S. Moon, H.-J. Chae, et M. B. Park, « Oligomerization of light olefins over ZSM-5 and beta zeolite catalysts by modifying textural properties », *Applied Catalysis A: General*, vol. 553, p. 15-23, mars 2018, doi: 10.1016/j.apcata.2018.01.015.
- [11] W. Monama, E. Mohiuddin, B. Thangaraj, M. M. Mdleleni, et D. Key, « Oligomerization of lower olefins to fuel range hydrocarbons over texturally enhanced ZSM-5 catalyst », *Catalysis Today*, p. S0920586119300860, févr. 2019, doi: 10.1016/j.cattod.2019.02.061.
- [12] G. Bellussi, F. Mizia, V. Calemma, P. Pollesel, et R. Millini, « Oligomerization of olefins from Light Cracking Naphtha over zeolite-based catalyst for the production of high quality diesel fuel », *Microporous and Mesoporous Materials*, vol. 164, p. 127-134, déc. 2012, doi: 10.1016/j.micromeso.2012.07.020.
- [13] S. Suganuma et N. Katada, « Innovation of catalytic technology for upgrading of crude oil in petroleum refinery », *Fuel Processing Technology*, vol. 208, p. 106518, nov. 2020, doi: 10.1016/j.fuproc.2020.106518.
- [14] E. Y. Emori, F. H. Hirashima, C. H. Zandonai, C. A. Ortiz-Bravo, N. R. C. Fernandes-Machado, et M. H. N. Olsen-Scaliante, « Catalytic cracking of soybean oil using ZSM5 zeolite », *Catalysis Today*, vol. 279, p. 168-176, janv. 2017, doi: 10.1016/j.cattod.2016.05.052.
- [15] H. Huang, H. Zhu, S. Zhang, Q. Zhang, et C. Li, « Effect of silicon to aluminum ratio on the selectivity to propene in methanol conversion over H-ZSM-5 zeolites », *Journal of Fuel Chemistry and Technology*, vol. 47, n° 1, p. 74-82, janv. 2019, doi: 10.1016/S1872-5813(19)30005-2.
- [16] A. Ishihara, « Preparation and reactivity of hierarchical catalysts in catalytic cracking », *Fuel Processing Technology*, vol. 194, p. 106116, nov. 2019, doi: 10.1016/j.fuproc.2019.05.039.
- [17] M. Pan, J. Zheng, Y. Liu, W. Ning, H. Tian, et R. Li, « Construction and practical application of a novel zeolite catalyst for hierarchically cracking of heavy oil », *Journal of Catalysis*, vol. 369, p. 72-85, janv. 2019, doi: 10.1016/j.jcat.2018.10.032.
- [18] M. A. Sanhoob, O. Muraza, E. N. Shafei, T. Yokoi, et K.-H. Choi, « Steam catalytic cracking of heavy naphtha (C12) to high octane naphtha over B-MFI zeolite », *Applied Catalysis B: Environmental*, vol. 210, p. 432-443, août 2017, doi: 10.1016/j.apcatb.2017.04.001.
- [19] A. Talebian-Kiakalaieh et S. Tarighi, « Synthesis of hierarchical Y and ZSM-5 zeolites using post-treatment approach to maximize catalytic cracking performance », *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 88, p. 167-177, août 2020, doi: 10.1016/j.jiec.2020.04.009.
- [20] Y. Wang, J. Song, N. C. Baxter, G.-T. Kuo, et S. Wang, « Synthesis of hierarchical ZSM-5 zeolites by solid-state crystallization and their catalytic properties », *Journal of Catalysis*, vol. 349, p. 53-65, mai 2017, doi: 10.1016/j.jcat.2017.03.005.
- [21] T. Zhao *et al.*, « Synthesis of mesoporous ZSM-5 zeolites and catalytic cracking of ethanol and oleic acid into light olefins », *Applied Catalysis A: General*, vol. 575, p. 101-110, avr. 2019, doi: 10.1016/j.apcata.2019.02.011.
- [22] L. PIERRE, *Procédés de transformation*, EDITIONS TECHNIP., vol. Vol 3. France, IFP, 1998.
- [23] T. Biliget *et al.*, « Al distribution and catalytic performance of ZSM-5 zeolites synthesized with various alcohols », *Journal of Catalysis*, vol. 353, p. 1-10, sept. 2017, doi: 10.1016/j.jcat.2017.06.026.
- [24] Y. Yue *et al.*, « Seed-assisted, template-free synthesis of ZSM-5 zeolite from natural aluminosilicate minerals », *Applied Clay Science*, vol. 158, p. 177-185, juin 2018, doi: 10.1016/j.clay.2018.03.025.
- [25] F. Pan, X. Lu, T. Wang, et Y. Yan, « Submicron ZSM-5 synthesized by green and fast route », *Materials Letters*, vol. 196, p. 245-247, juin 2017, doi: 10.1016/j.matlet.2017.03.060.
- [26] L. Xing-Yang, J. Yao, L. Xiao-Qin, S. Li-Ying, Z. Dong-Yuan, et S. Lin-Bing, « Direct Synthesis of Zeolites from a Natural Clay, Attapulgitite », *ACS sustainable Chemistry Engineering*, China, p. 6, 2017.
- [27] Y. Liu *et al.*, « Rapid green synthesis of ZSM-5 zeolite from leached illite clay », *Microporous and Mesoporous Materials*, vol. 280, p. 324-330, mai 2019, doi: 10.1016/j.micromeso.2019.02.027.
- [28] Y. Yue *et al.*, « Mesoscale depolymerization of natural rectorite mineral via a quasi-solid-phase approach for zeolite synthesis », *Chemical Engineering Science*, vol. 220, p. 115635, juill. 2020, doi: 10.1016/j.ces.2020.115635.
- [29] M. Wu *et al.*, « Synthesis of ZSM-5 zeolites using palygorskite as raw material under solvent-free conditions », *Bull Mater Sci*, vol. 43, n° 1, p. 289, déc. 2020, doi: 10.1007/s12034-020-02263-8.
- [30] Y. Wang, H. Duan, Z. Tan, X. Meng, et F.-S. Xiao, « Illuminating solvent-free synthesis of zeolites », *Dalton Trans.*, vol. 49, n° 21, p. 6939-6944, 2020, doi: 10.1039/D0DT00142B.
- [31] Y. Ji, Y. Wang, B. Xie, et F.-S. Xiao, « Zeolite Seeds: Third Type of Structure Directing Agents in the Synthesis of Zeolites », *Comments on Inorganic Chemistry*, vol. 36, n° 1, p. 1-16, janv. 2016, doi: 10.1080/02603594.2015.1031375.
- [32] X. Meng et F.-S. Xiao, « Green Routes for Synthesis of Zeolites », *Chem. Rev.*, vol. 114, n° 2, p. 1521-1543, janv. 2014, doi: 10.1021/cr4001513.
- [33] L. Zhang, Z. Bao, S. Xia, Q. Lu, et K. Walters, « Catalytic Pyrolysis of Biomass and Polymer Wastes », *Catalysts*, vol. 8, n° 12, p. 659, déc. 2018, doi: 10.3390/catal8120659.
- [34] M. Gourouza, A. Zanguina, I. Natatou, et A. Boos, « CARACTERISATION D'UNE ARGILE MIXTE DU NIGER CHARACTERIZATION OF A MIXED CLAY NIGER », vol. 1, p. 11, 2013.
- [35] O. D. M. Abdoulaye, B. K. Yao, A. M. Ahmed, K. Adouby, D. M. K. Abro, et P. Drogui, « Mineralogical and morphological characterization of a clay from Niger », p. 8, 2019.
- [36] M. Gourouza, I. Natatou, K. Bayo, et A. Boos, « Etude de l'adsorption d'ions fluorures par une bentonite du Niger . », p. 7, 2013.

## Etude thermodynamique et quantique de l'inhibition de la corrosion du cuivre en milieu acide nitrique molaire par le céfadroxil.

Diki N'guessan Yao Silvère<sup>1\*</sup>, Coulibaly Nagnonta Hippolyte<sup>2</sup>, Ehouman Ahissan Donatien<sup>3</sup>, Trokourey Albert<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR SSMT, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

<sup>2</sup>UFR Sciences et Technologies, Université de Man, BP 20 Man, Côte d'Ivoire.

<sup>3</sup>Laboratoire de Thermodynamique et de Physico-Chimie du Milieu, UFR SFA, UNA, Côte d'Ivoire.

\*Courriel de l'auteur correspondant : [dickiensil2@gmail.com](mailto:dickiensil2@gmail.com)

### RESUME

La corrosion des métaux est un fléau industriel important qui contribue à la pollution de l'environnement. Parmi les solutions proposées, il y a l'utilisation d'inhibiteurs de corrosion. L'objectif de notre étude est de tester la molécule organique hétérocyclique céfadroxil, un antibiotique de la famille des céphalosporines de première génération comme inhibiteur de la corrosion du cuivre en milieu acide nitrique 1M. Les études ont été menées en utilisant la méthode de perte de masse et la théorie de la fonctionnelle densité (DFT) au niveau B3LYP avec la base 6-31G (d, p). L'inhibiteur étudié a montré une excellente efficacité inhibitrice allant jusqu'à 94,44 % à 298 K pour sa concentration optimale (2 mM). Les grandeurs thermodynamiques d'adsorption et d'activation indiquent un processus d'adsorption spontanée qui relève principalement de la physisorption. Les résultats fournis par l'étude théorique sont cohérents avec les données expérimentales. Des études électrochimiques sont envisagées afin d'apprécier les différentes étapes du mécanisme d'inhibition

**Mots clés** : corrosion ; cuivre ; DFT.

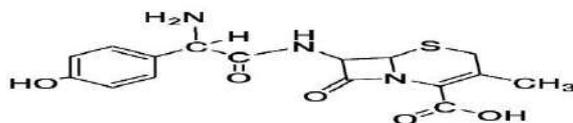
### INTRODUCTION

Les métaux sont une classe de [matériaux](#) issus de minerais. Ils sont très utilisés dans de nombreux domaines tels que le bâtiment (charpentes métalliques, menuiserie métallique, plomberie, tuyauterie, robinetterie et électricité) [1, 2], les ouvrages de transport (voie ferrée, pipeline, gazoduc...), les moyens de locomotion (véhicules, bicyclettes, navires avions,...), les machines industrielles, l'industrie militaire. De ce fait, leur importance s'est considérablement accrue.

Cependant, les métaux ont tendance à retourner irréversiblement à l'état de minerais c'est à dire à leur état naturel (état le plus stable conféré par une énergie plus basse) par des processus de dégradation nommés corrosion.

Vu les pertes et désagréments causés par la corrosion des métaux, il urge de songer à leur protection provisoire permanente. Aussi, les technologies développées de nos jours visent-elles à court et moyen termes la résistance des matériaux métalliques aux agents corrosifs. Les méthodes usuelles de lutte contre la corrosion, basées sur les composés minéraux, ne se sont pas montrées assez efficaces et sont d'ailleurs soumises de nos jours à des restrictions d'ordre environnemental. Par conséquent, il y a un besoin pressant de trouver des moyens de lutte efficaces et compatibles avec les normes environnementales [3]. L'utilisation des inhibiteurs de corrosion est l'une des meilleures techniques qui assure la protection des métaux lorsqu'ils sont en contact avec des milieux très agressifs tels que le milieu acide nitrique [4]. Ce sont des composés qui, ajoutés en faible proportion dans le milieu réactionnel, permettent une diminution notable de la vitesse de corrosion des métaux. Ces dernières années, les restrictions d'ordre environnemental limitent l'usage d'un grand nombre d'inhibiteurs parmi lesquels les inhibiteurs inorganiques [5]. Ainsi, plusieurs travaux de recherche au sein de notre laboratoire [6-9] se focalisent sur l'usage des molécules organiques éco-compatibles qui garantissent une efficacité élevée à bas coût. Ces types d'inhibiteurs ont l'avantage indéniable de ne pas contenir des métaux lourds, ni des composés toxiques et d'être biodégradables [10]. Ainsi, il sera question dans notre étude d'utiliser comme inhibiteur de corrosion un antibiotique de la famille des céphalosporines de première génération : le céfadroxil (**schéma 1**).

Cette molécule possède une grande taille, une grande surface moléculaire avec plusieurs hétéroatomes (O, N et S) ainsi que plusieurs liaisons  $\pi$ , éléments favorables à une bonne adsorption sur la surface du cuivre par formation d'une couche protectrice qui isole le métal du milieu corrosif [11].



**Schéma 1 : Structure du céfadroxil.**

### MATERIEL ET METHODES

#### Matériel :

**Cuivre** : les échantillons de cuivre utilisés dans cette étude se présentaient sous la forme de tiges cylindriques de 10 mm de longueur et de 2,2 mm de diamètre, de pureté 95 %.

**Solution corrosive** : acide nitrique 1M préparée par dilution avec de l'eau distillée d'une solution commerciale d'acide nitrique (de pureté supérieure à 65 %) achetée chez Sigma-Aldrich Chemicals ;

**Inhibiteur** : la molécule de céfadroxil, de formule  $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ , de couleur blanche a également été acquise auprès de Sigma-Aldrich Chemicals.

#### Méthodes :

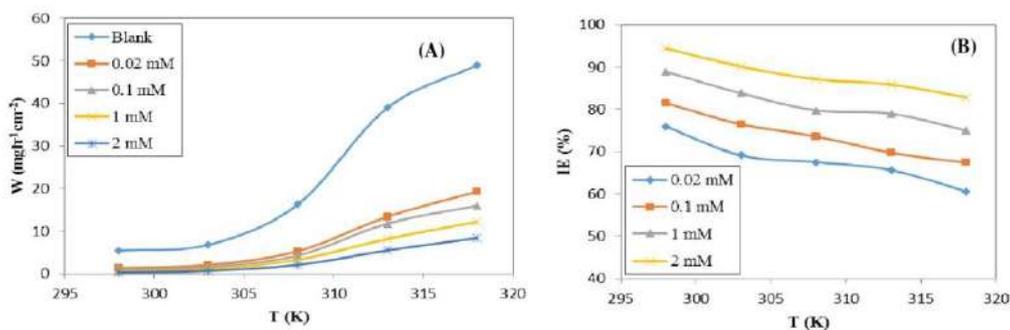
✚ **Gravimétrie** : elle consiste à évaluer grâce à une balance de précision, une étuve et un bain, la perte de masse de l'échantillon de cuivre ayant séjourné pendant 1h dans le milieu  $HNO_3$  1M en l'absence puis en présence de différentes concentrations de céfadroxil sur la plage de température 298-318 K.

✚ **Chimie quantique** : approche théorique, DFT/B3LYP dans la base 6-31G (d, p). On calcule les paramètres électroniques de la molécule pour en interpréter les résultats afin d'établir une corrélation avec les résultats expérimentaux.

## Resultats et discussion

### Gravimétrie

La vitesse de corrosion du cuivre a fait l'objet d'études dans une solution molaire d'acide nitrique sans inhibiteur puis avec des concentrations en céfadroxil de 0,02 mM ; 0,1 mM ; 1 mM et 2 mM dans une plage de température allant de 298 à 318 K d'une part et l'efficacité inhibitrice en fonction de la température pour ces quatre concentrations en céfadroxil (**Figure 1 A&B**).



**Figure 1 A&B** : vitesse de corrosion du cuivre en fonction de la température (A) et efficacité inhibitrice du céfadroxil en fonction de la température (B).

La **figure 1A** montre que la vitesse de corrosion du cuivre augmente avec la température. Cependant, cette augmentation est de plus en plus faible lorsque la concentration en inhibiteur augmente. Cela explique que la corrosion est beaucoup atténuée par la présence de céfadroxil. La **figure 1B** montre que, l'efficacité inhibitrice du céfadroxil diminue lorsque la température augmente pour la plage de concentration étudiée. Selon la littérature [12], cette diminution de l'efficacité l'inhibitrice avec l'augmentation de la température indique que le processus d'adsorption de l'inhibiteur sur la surface métallique est régi par la physisorption. Cet effet peut également être attribué à l'accroissement de la solubilité des films protecteurs englobant les molécules inhibitrices et les produits de corrosion initialement précipités à la surface du métal [13], augmentant ainsi l'exposition de la surface du cuivre à l'attaque corrosive lorsque la température augmente.

De nos jours, avec le développement des moyens de calculs informatiques d'une part et les restrictions environnementales souvent défavorables aux expérimentations d'autre part, nous avons eu recours à la modélisation pour soit confirmer soit infirmer les résultats expérimentaux.

### Chimie quantique

L'étude théorique a été menée en calculant à l'aide du logiciel Gaussian 09 W les paramètres suivant deux axes : les paramètres de réactivité globale et ceux de réactivité locale.

### Paramètres de réactivité globale

Les valeurs des différents paramètres descripteurs du céfadroxil sont consignées dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : Paramètres descripteurs de réactivité globale du céfadroxil au niveau B3LYP/6-31G (d, p).

Descripteur	Valeur	Descripteur	Valeur
$E_{HOMO}$ (eV)	-6,0965	I (eV)	6,0965
$E_{LUMO}$ (eV)	-1,4525	A (eV)	1,4525
$\Delta E$ (eV)	4,6440	$\mu$ (Debye)	4,5054
$\Delta N$	0,1089	$\eta$ (eV)	2,3220
S (eV) <sup>-1</sup>	0,4306	$\omega$	2,0780
$\chi$ (eV)	3,7745	TE (a.u)	-1558,5177

L'énergie de la plus haute orbitale moléculaire occupée ( $E_{HOMO}$ ) est un paramètre de réactivité des molécules qui traduit l'aptitude d'une molécule à fournir des électrons. Une valeur élevée de  $E_{HOMO}$  pour une molécule, favorise sa tendance à fournir des électrons à un accepteur approprié doté d'une orbitale vacante de basse énergie [14]. La valeur trouvée de  $E_{HOMO}$  du céfadroxil (-6,0965 eV) est élevée, comparativement à d'autres molécules dans la littérature.

L'aptitude d'une molécule à former des liaisons avec une surface métallique dépend aussi de la valeur de l'énergie de l'orbitale moléculaire la plus basse vacante ( $E_{LUMO}$ ). Dans le cas de ce travail, la valeur de ( $E_{LUMO}$ ) de l'inhibiteur est de -1,4525 eV, prouvant ainsi que cette molécule a tendance à accepter des électrons.

Le gap d'énergie ( $\Delta E = E_{LUMO} - E_{HOMO}$ ) est aussi un paramètre de réactivité important pour les molécules organiques. Plus  $\Delta E$  est faible, plus les échanges entre la molécule et le métal sont favorisés pour chaque inhibiteur. En effet, des valeurs plus basses du gap d'énergie conduisent à une bonne efficacité inhibitrice, car l'énergie nécessaire pour retirer un électron de la dernière orbitale occupée sera faible. Dans notre cas, la faible valeur de  $\Delta E$  du céfadroxil (4,6440 eV) justifie les fortes efficacités inhibitrices obtenues expérimentalement (jusqu'à 94,44 % à 298 K et à 2 mM). Plusieurs équipes de chercheurs [11, 15] en sont arrivées à des conclusions similaires.

#### Paramètres de réactivité locale

Ils sont essentiellement basés sur les fonctions de Fukui. Ils permettent de calculer les indices de réactivité locale ; une grande valeur de la fonction de Fukui pour un atome dans la molécule indique que cet atome est un site de grande réactivité [16]. Le site privilégié pour une attaque nucléophile est l'atome qui possède la plus grande valeur de  $f_k^+$  et  $\Delta f > 0$  au sein de la molécule alors que le site privilégié pour une attaque électrophile est l'atome qui possède dans la molécule la plus grande valeur de  $f_k^-$  et  $\Delta f < 0$ .

L'application de la théorie de Fukui et du descripteur dual (Tableau 2) ont montré que pour le céfadroxil, l'atome (3 C) est le site le plus probable pour une attaque nucléophile quand l'atome (39 C) est le site le plus probable pour une attaque électrophile.

Tableau 2 : charges de Mulliken, fonctions de Fukui et descripteur dual des principaux atomes du céfadroxil au niveau B3LYP/6-31G (d, p).

Atom	$q_k(N+1)$	$q_k(N)$	$q_k(N-1)$	$f_k^+$	$f_k^-$	$\Delta f$
1 C	-0.101	-0.095	-0.110	-0.006	0.015	-0.021
2 C	-0.320	0.330	0.354	-0.650	-0.024	-0.626
<b>3 C</b>	<b>0.136</b>	<b>-0.129</b>	<b>-0.077</b>	<b>0.265</b>	<b>-0.052</b>	<b>0.317</b>
4 C	-0.142	-0.151	-0.103	0.009	-0.048	0.057
5 C	0.115	0.090	0.102	0.025	-0.012	0.037
6 C	-0.124	-0.119	-0.084	-0.005	-0.035	0.030
11 O	-0.574	-0.555	-0.477	-0.019	-0.078	0.059
13 C	-0.085	-0.089	-0.078	0.004	-0.011	0.015
14 N	-0.612	-0.588	-0.636	-0.024	0.048	-0.072
21 C	-0.075	-0.043	-0.051	-0.032	0.008	-0.040
22 C	-0.030	-0.073	-0.086	0.043	0.013	0.030
23 C	0.595	0.575	0.599	0.020	-0.024	0.044
26 O	-0.484	-0.452	-0.395	-0.032	-0.057	0.025
27 N	-0.503	-0.512	-0.489	0.009	-0.023	0.032
28 C	0.205	0.243	0.256	-0.038	-0.013	-0.025
29 C	0.530	0.553	0.554	-0.023	-0.001	-0.022
30 O	-0.484	-0.477	-0.426	-0.007	-0.051	0.044
31 O	-0.523	-0.473	-0.476	-0.050	0.003	-0.053
33 C	0.153	0.085	0.093	0.068	-0.008	0.076
34 C	-0.273	-0.406	-0.423	0.133	0.017	0.116
35 S	-0.515	0.110	0.174	-0.625	-0.064	-0.561
<b>39 C</b>	<b>-0.36</b>	<b>0.085</b>	<b>-0.362</b>	<b>-0.445</b>	<b>0.447</b>	<b>-0.892</b>

La figure 2 montre les régions présentant les plus fortes densités électroniques. Ces zones sont les plus favorables aux échanges d'électrons avec le cuivre.

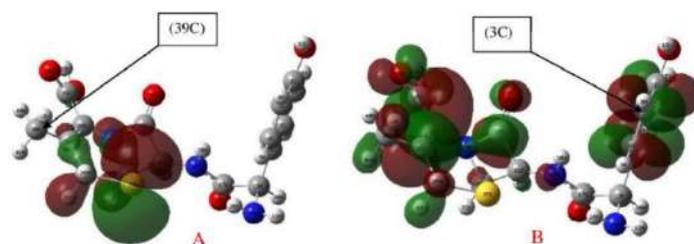


Figure 2 : Orbitales HOMO (A) et LUMO (B) du céfadroxil au niveau B3LYP/6-31G (d, p).

### Conclusion

De ce travail, nous pouvons retenir que le céfadroxil est un très bon inhibiteur de corrosion pour le cuivre en milieu  $\text{HNO}_3$  1M. Cet inhibiteur s'adsorbe plus physiquement que chimiquement sur le cuivre. La chimie théorique a permis d'obtenir des informations utiles sur la molécule inhibitrice tant au niveau de la réactivité globale que locale. En somme, une bonne corrélation a été trouvée entre les résultats expérimentaux et les résultats théoriques.

### Références

- [1] H. Z. Lopez-Calvo, P. Montes-García, V. G. Jiménez-Quero, H. G. Barranco, T. W. Bremner, and M. D. A. Thomas. Influence of crack width, cover depth and concrete quality on corrosion of steel in HPC containing corrosion inhibiting admixtures and fly ash. *Cem. Concr. Compos.* **2018**, 88, 200-210.
- [2] N. Y. S. Diki, N. H. Coulibaly, O. Kambiré, and A. Trokourey. Experimental and Theoretical Investigations on Copper Corrosion Inhibition by Cefixime Drug in 1M  $\text{HNO}_3$  Solution. *J. Mater. Sci. Chem. Eng.* **2021**, 9, 11-28.
- [3] N. Kip and J. A. v. Veen. The dual role of microbes in corrosion. *The ISME Journal.* **2015**, 9, 542-551.
- [4] P. Bommersbach. Evolution des propriétés d'un film inhibiteur de corrosion sous l'influence de la température et des conditions hydrodynamiques. *Thèse de doctorat, INSA-Lyon (France).* **2005**, 147 p.
- [5] M. Wiczerzak, B. Kudlak, G. Yotova, S. Tsakovski, V. Simeonov, and J. Namieśnik. Impact of inorganic ions and pH variations on toxicity and endocrine potential of selected environmentally relevant pharmaceuticals. *Environ. Pollut.* **2018**, 237, 549-558.
- [6] N. Y. S. Diki, G. G. D. Diomandé, S. J. Akpa, A. Ouédraogo, L. A. G. Pohan, P. M. Niamien, et al. Aluminum Corrosion Inhibition by 7-(Ethylthiobenzimidazolyl) Theophylline in 1M Hydrochloric Acid: Experimental and DFT Studies. *Int. J. Appl. Pharm. Sci. Res.* **2018**, 3, 41-53.
- [7] A. A. KOFFI. Inhibition de la corrosion de l'acier et de l'aluminium en milieu acide fort : études théorique et thermodynamique comparatives du comportement du 2-thiobenzylbenzimidazole, de vitamines et d'extraits de plante. *Thèse de doctorat en Chimie Physique, Université Félix HOUPQUET-BOIGNY, Côte d'Ivoire.* **2017**, 252 p.
- [8] A. A. Koffi, S. Muralidharan, and A. Trokourey. Musssaenda erythrophylla Leaves as Effective Green Corrosion Inhibitor of Carbon Steel. *Chem. Sci. Rev. Lett.* **2015**, 4, 1188-1198.
- [9] N. Y. S. Diki, N. H. Coulibaly, K. F. Kassi, and A. Trokourey. Mild steel corrosion inhibition by 7-(ethylthiobenzimidazolyl) theophylline. *J. Electrochem. Sci. Eng.* **2021**, 11, 97-106.
- [10] D. B. Left, M. Zertoubi, A. Irhzo, and M. Azzi. Review: oils and extracts plants as corrosion inhibitors for different metals and alloys in hydrochloric acid medium. *J. Mater. Environ. Sci.* **2013**, 4, 855-866.
- [11] N. Y. S. DIKI, K. V. BOHOUSOU, M. G.-R. KONE, A. OUEDRAOGO, and A. TROKOUREY. Cefadroxil Drug as Corrosion Inhibitor for Aluminum in 1 M HCl Medium: Experimental and Theoretical Studies. *IOSR J. Appl. Chem.* **2018**, 11, 24-36.
- [12] R. Saratha and R. Meenakshi. Corrosion inhibitor: A plant extract. *Pharma Chem.* **2010**, 2, 287-294.
- [13] N. Santhini and T. Jeyaraj. "The inhibition effect of [3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-1- phenyl-propenone] on the corrosion of the aluminium in alkaline medium". *J. Chem. Pharm. Res.* **2012**, 4, 3550-3556.
- [14] G. Gece and S. Bilgic. Quantum chemical study of some cyclic nitrogen compounds as corrosion inhibitors of steel in NaCl media. *Corros. Sci.* **2009**, 51, 1876-1878.
- [15] M. Yeo, P. M. Niamien, E. B. A. Bilé, and A. Trokourey. Thiamine Hydrochloride as a Potential Inhibitor for Aluminium Corrosion in 1.0M HCl: Mass Loss and DFT Studies. *J. Comput. Methods Mol. Des.* **2017**, 7, 13-25.
- [16] F. Mendez and J. L. Gazquez. Chemical Reactivity of Enolate Ions: The Local Hard and Soft Acids and Bases Principle Viewpoint. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 9298-9301.

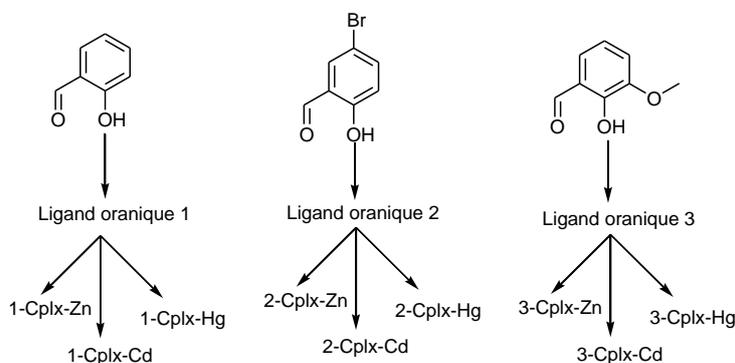
## Synthèse et caractérisation de potentiels agents décontaminant à base de salicyaldéhyde et ses dérivés : Comportement vis-à-vis du Zinc ( $Zn^{2+}$ ), du cadmium ( $Cd^{2+}$ ) et du mercure ( $Hg^{2+}$ )

Ndèye Fatou NDIAYE<sup>1\*</sup>, Fatou BARR<sup>1</sup>, Aissatou Alioune GAYE<sup>1</sup>, Diéry DIOUF<sup>2</sup>, Moussa DIENG<sup>1</sup>, Mouhamadou Moustapha SOW<sup>1</sup>, Farba Bouyagui TAMBOURA<sup>1</sup>

1-Equipe de Recherche Chimie des Matériaux Inorganiques et Organiques, Université Alioune Diop de Bambey, Sénégal 2- Laboratoire de photochimie et d'analyses, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal.

**Résumé :** Les complexes de coordination constituent, avec les composés organométalliques, le groupe le plus important et le plus varié des composés inorganiques. Ils établissent un lien entre la chimie minérale et la chimie organique [1]. Ainsi ces types de ligands à base de Schiff contiennent des agents décontaminant vis-à-vis des métaux lourds comme le Zinc (Zn), le cadmium (Cd) et le mercure (Hg).

Compte tenu du fait que ces deux derniers métaux présentent des toxicités reconnues via la nourriture (2<sup>nd</sup> facteur d'exposition après le tabac), effets négatifs à long terme sur les reins, facteur de risque d'ostéoporose. Les effets négatifs sur la biodiversité (organismes aquatiques et terrestres) et obligations de respect de l'environnement, les Etats membres doivent réduire les émissions de cadmium et de mercure dans les eaux de surface et souterraines [2]. Le but de notre travail consiste en la synthèse de potentiels agents décontaminant à partir du salicyl-aldéhyde et ses dérivés. Ces derniers ont été utilisés comme des agents complexant vis-à-vis du zinc (Zn II), du cadmium (Cd II) et du mercure (Hg II). La caractérisation structurale des agents complexants ainsi que leurs complexes est faite par spectroscopie infrarouge, par Résonance Magnétique Nucléaire et spectrophotométrie UV-vis [3].



**Mots clés :** Ligands, Complexes, IR, RMN, UV

### *Synthesis and characterization of potential decontaminating agents based on salicylaldehyde and its derivatives: Behavior towards mercury ( $Hg^{2+}$ ) cadmium ( $Cd^{2+}$ ) and Zinc ( $Zn^{2+}$ )*

**Abstract:** Coordination complexes, together with organometallic compounds, constitute the largest and most diverse group of inorganic compounds. They establish a link between mineral chemistry and organic chemistry [1]. Thus these types of Schiff-based ligands contain agents which decontaminate heavy metals such as Zinc (Zn), cadmium (Cd) and mercury (Hg).

Considering the fact that these last two metals present toxicities recognized via food (2<sup>nd</sup> exposure factor after tobacco), long-term negative effects on the kidneys and risk factor for osteoporosis. The negative effects on biodiversity (aquatic and terrestrial organisms) and obligations to respect the environment, Member States must reduce emissions of cadmium and mercury in surface and groundwater [2]. The aim of our work consists in the synthesis of potential decontaminating agents from salicylaldehyde and its derivatives. The latter have been used as complexing agents vis-à-vis zinc (Zn), cadmium (Cd) and mercury (Hg). The structural characterization of complexing agents as well as their complexes is done by infrared spectroscopy, by Nuclear Magnetic Resonance and UV-vis spectrophotometry [3].

**Keywords:** Ligands, Complexes, IR, NMR, UV

#### **1. Introduction** (Times New Roman 11 normal)

Le développement de la chimie organométallique des éléments de transition est beaucoup plus récent, malgré que quelques composés organométalliques soient connus depuis plus d'un siècle. L'étude des composés organométalliques a souvent contribué d'une façon notable au développement à la fois pratique et théorique de la chimie [4].

Ces dernières années, les composés organométalliques sont devenus les intermédiaires actifs dans la synthèse organique, ils sont employés aussi bien comme catalyseurs que comme réactifs.

Le but de notre travail c'est la synthèse et l'étude des propriétés des complexes à base de mercure II, cadmium II et de zinc II coordonnés avec le salicyaldéhyde et ses dérivées. Aussi, une étude par spectroscopie IR, UV, conductimétrie et fluorescence de ses complexes est également envisagée pour la détermination des leurs caractéristiques de décontamination.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1 Matériaux de mesures

Le salicyaldéhyde, ces dérivées et les sels métalliques étaient des produits commerciaux de la plus haute qualité chimique (Aldrich). Les solvants ont été purifiés selon des procédures standard. Les spectres FTIR ont été enregistrés avec un spectrophotomètre FT-IR Nicolet 5SXC en utilisant des pastilles de KBr. Les spectres UV-Vis ont été exécutés sur un spectrophotomètre UV Jenway 6505 (1100-200 nm) sur des solutions de DMF 10<sup>-3</sup> M des complexes. La mesure de la conductance molaire a été effectuée à l'aide d'un conductimètre WTW LF-330 avec une cellule de conductivité WTW sur environ 1 mmol de solution de diméthylformamide dm-3 à température ambiante. Les techniques utilisées pour la caractérisation des composés (ligands et complexes) obtenus sont celles spectroscopiques infrarouge et de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN <sup>1</sup>H et du <sup>13</sup>C) [5].

### 2.2 Méthodes de Synthèse des complexes obtenus avec des motifs à base de salicyaldéhyde et de ces dérivées :

Le salicyaldéhyde et ces dérivés (4 g, 30 mmol) dans 20 mL d'éthanol a été ajoutée une solution de diamine (1,3-diaminopropan-2-ol) à 2n dans 10 ml d'éthanol. Le mélange a été chauffé au reflux pendant 5 heures, donnant une solution jaune. En refroidissant 2n mmol du HgCl<sub>2</sub>, CdCl<sub>2</sub>, et du ZnCl<sub>2</sub> (avec un rapport 1 :2) a été ajouté. La solution a été agitée pendant deux heures. Après filtration, la solution est laissée en évaporation lente à température ambiante pendant des semaines.

**Tableau I : les différents ligands et ces caractéristiques**

Ligands à base de :	Rendement (%)	Point de fusion (°C)	Aspect	Fréquence $\nu(\text{C}=\text{N})$
salicyaldéhyde	86	112	Solide jaune	1632
Hydroxy-acétophénone	76	175	Solide jaune	1607
5-bromo-salicyaldéhyde	89	140	Solide jaune	1660
Ortho vanilline	92	120	Solide jaune	1634

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Exploitations des données IR, UV et conductimétrie des complexes

Les bandes de vibration de valence relevées sur les spectres des complexes montrent une diminution vers les basses fréquences de la bande de vibration de valence  $\nu(\text{C}=\text{N})$  pour tous les complexes synthétisés. Cela suggère la participation de la liaison dans la sphère de coordination.

Les mesures de conductivité molaire des complexes sont prises à partir d'une solution milli molaire de DMF. Les valeurs obtenues avec les solutions fraîches sont conformes à l'électrolyte de type neutre. Après quinze jours de conservation, les valeurs restent à l'électrolyte de type neutre. Ce résultat montre la stabilité de ces complexes en solution et suggère une non-substitution d'un anion par une molécule de DMF **Tab2**.

Les spectres UV-visible des complexes montrent les bandes de transitions  $\pi \rightarrow \pi^*$  et  $n \rightarrow \pi^*$  respectivement dans les régions (281-294) et (322-376) nm. Les bandes de transfert de charge ligand  $\rightarrow$  métal sont observées dans la région (417-431) nm **Tab2**.

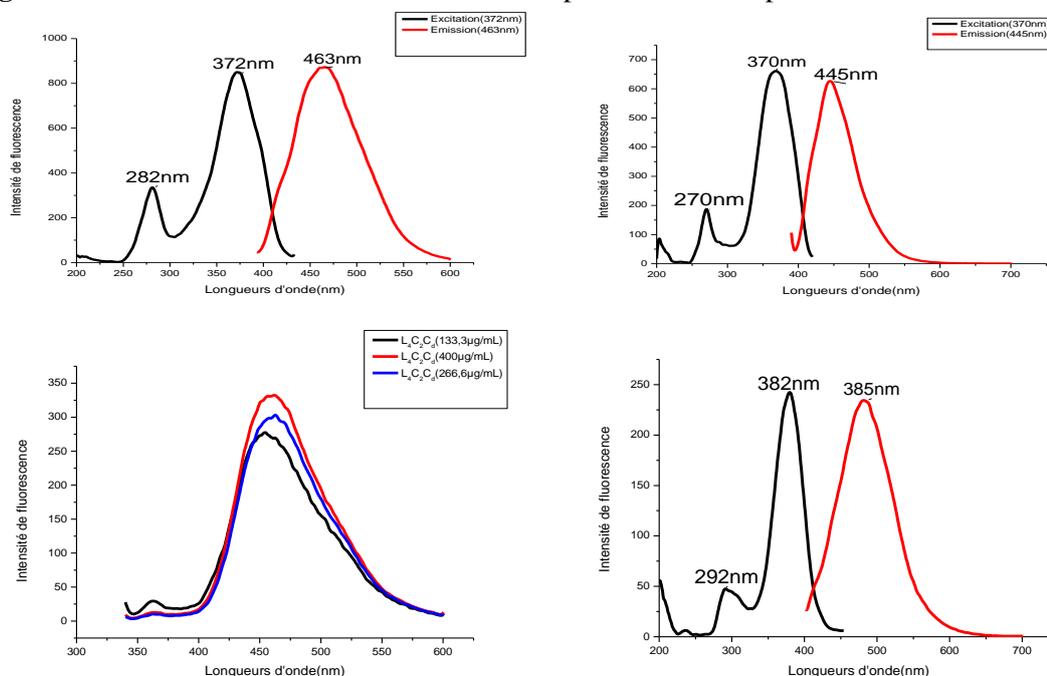
**Tableau 2:** Résultats des complexes avec leurs caractérisations en IR, UV et conductimétrie

Complexes		conductimétrie		UV-Visible	
Fréquence	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\Lambda (\Omega^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1})$	Electrolyte	$\lambda$ (nm)	Attributions
L3C3Cd	1541	08-20	neutre	432	TCLM
L4C2Cd	1643	29-32	neutre	383	TCLM
L6C2Cd	1610	33-38	neutre	427	TCLM
L6C3Hg	1609	04-28	neutre	427	TCLM
L6C4Zn	1549	15-18	neutre	595	TCLM

### 3.2. Etude de la fluorescence de ces complexes :

L'étude des complexes par méthodes fluorimétrique permet de détecter les longueurs d'onde d'excitation et d'émission du complexe métallique. Elle permet de prévoir les longueurs d'onde que l'on peut utiliser lors de la détection des polluants. En réponse fluorimétrique, nous constatons que les complexes absorbent bien dans le domaine de l'ultraviolet. Cette technique sera suggérée pour tester des eaux usées sur les ligands et de prendre les mesures fluorimétriques à des longueurs d'onde d'excitation ou d'émission pour les métaux tels que le Cadmium, le Mercure et le Zinc. La contamination mesurée lors de la caractérisation environnementale a révélé la présence d'hydrocarbures pétroliers, d'hydrocarbures aromatiques polycycliques et de certains métaux. Parmi ces substances, des critères ont retenu des métaux, à savoir le cadmium, le mercure et le zinc. Ainsi des spectres d'absorptions et d'émission de quelques complexes avec ces métaux ont été obtenus et à différents concentrations. Cela suggère qu'à une longueur d'onde donnée les complexes ont une forte émission.

**Figure 1 :** Résultats des fluorescences obtenues à partir de ces complexes



## 4. Conclusion

La formation des ligands est démontrée en utilisant les techniques spectroscopiques telles que l'infrarouge, la RMN (RMN 1H, 13C, DEPT), et les méthodes physico-chimiques telles que les mesures de point de fusion. En plus des techniques de caractérisation précitées, la spectrophotométrie UV-visible, et la conductimétrie sont utilisées pour démontrer la formation des complexes. La spectrophotométrie UV-visible permet de prévoir l'environnement autour des ions métalliques de transition ; Quant à la conductimétrie, elle permet de savoir l'électroneutralité des complexes et de conclure sur leur stabilité en solution.

#### **5. Bibliographie :**

[1]S. Cherrat, Etude du pouvoir complexant du ligand P2, 6CL4 vis-à-vis du cation Ca(II), mémoire de DEUA, université de Bejaia,1999 .

[2]KHIATI Zoulikha, « Etude de la complexation et de l'extraction des métaux de transition tel le Ni(II), Zn(II), Cd (II), Hg (II) et Pb(II) avec l'acide salicylique et ces dérivés ».Thèse de magistère, Université des sciences et de la technologie Mohamed Boudiaf d'Oran, (2004).

[3]F. Touri, Synthèse de nouveaux matériaux moléculaires par phosphorylation des dérivés aminés et étude de leurs propriétés électrochimiques et complexantes, mémoire de magister, université de Sétif, 2012.

[4] Benmebarek Sabrina « Synthèse,étude structurale par diffraction des RX et propriétés denouveaux complexes à base de palladium ». Mémoire de magister, universite mentouri Constantine faculté des sciences exactes, (2005).

[5] 6- D Lo et al, Vol 042 (2016) 43-51.

## **Procédé de création d'un biomatériau combinant un gel de fibrine plasmatique avec un extrait aqueux de la plante *Ageratum conyzoides* Linn.: mise en jeu d'activateurs biochimiques et d'inhibiteurs phytochimiques. Contrôle microbiologique, efficacités antibactérienne et cicatrisante.**

Amivi Edéfia AKPALO , Issa Kouassi SALOUFOU, Akoua Okpeh Viviane KOTOUTOU, Kodjo ELOH, Fekandine Victoire DOUTI, Halidatou SIBABI, Gnikmin Claire WOUTE, Kafui KPEGBA, Kwami Lumo AWAGA

Département de Biochimie, Université de Lomé, BP 1515 Lomé, TOGO

[\\*edefia@gmail.com](mailto:*edefia@gmail.com)

### **Résumé**

Le gel de fibrine étant extrêmement modulable, cette capacité lui confère la fonction d'un biomatériau adaptable et applicable pour la cicatrisation et la délivrance de biomolécules.

Cette étude a pour objectif la réalisation d'un biomatériau à base de fibrine plasmatique supplémenté d'un extrait bactéricide de la plante *Ageratum conyzoides* Linn.

Du plasma pauvre en plaquettes est utilisé et des tests de Clauss ont été réalisés. Les temps de gel sont déterminés avec un coagulomètre et les résultats analysés par le test de Student. Les réseaux protéiques sont étudiés par électrophorèse. Quatre différents modes d'extraction ont été utilisés suivis d'analyses par CCM et HPLC.

Les tests de Clauss ont conduit à une concentration en fibrinogène satisfaisante. Les tests statistiques ont donné le temps de gel le plus court : 13 minutes pour 4M de calcium. L'ajout de l'extrait conduit à un temps de gel de 65 minutes pour 2M de calcium. Les extraits contiennent essentiellement des flavonoïdes (serines protéases inhibitrices de la thrombine) et des fibrinogénases.

Cette étude a permis la création d'un biomatériau combinant les propriétés du gel de fibrine avec celles antibactériennes d'extrait des feuilles de la plante *Ageratum Conyzoides* Linn. Des tests d'hydratation /déshydratation sont à entreprendre.

**Mots Clés :** *Biomateriau; gel fibrine; Ageratum conyzoides* Linn.; *inhibiteurs / activateurs*

### **Abstract:**

High degree of fibrin tunability make it a versatile biomaterial that is used in a wide range of applications to facilitate wound repair and biologics delivery.

We propose to formulate plasma material supplemented with a bactericide plant extract, *Ageratum conyzoides* Linn.

Platelet poor plasma were used and Clauss fibrinogen assays were done. Coagulometer was used and all clotting time results obtained with calcium were analyzed by the Student test. Fibrin networks were also studied by electrophoresis analysis. Four digestive extraction methods were used followed by CCM and HPLC analysis.

Clauss fibrinogen assays reflected satisfactory fibrinogen concentration. The statistical method used was very helpful to determine the shortest clotting time: 13 minutes for 4M calcium concentration. When mixed with the plasma, the extract led to 65 minutes clotting time obtained for 2 M calcium concentration. Our extracts contained mainly flavonoids: phytochemicals class flavonoids which are thrombin inhibitors and plant serine proteases, specifically a fibrinogenase which hydrolyzed fibrinogen but not like thrombin.

This study succeeded in creating a new fibrin sealant biomaterial combining the properties of fibrin gel with antibacterial and analgesic properties of *Ageratum Conyzoides* Linn. leaves extract. We have then to characterize hydratation/dehydratation properties.

**Keywords:** *Biomaterial; fibrin sealant; Ageratum conyzoides* Linn.; *inhibitors/actvators*

### **Introduction**

*Ageratum conyzoides* Linn. (Asteraceae), a well-known west african plant for its wound healing properties, is an annual herb with a long history of traditional medicinal used in the tropical and sub-tropical region of the world. The

mature plant is used for its haemostatic, and anti-inflammatory, properties for the treatment of wounds in bacterial infections. However, *Ageratum conyzoides* Linn. aqueous leaves extracts prevent coagulation in the whole blood. It is true thrombin plays a pivotal role in thrombogenesis. Indeed, in the last decade knowledge, flavonoids were found to belong to a class of serine proteases inhibitors and thrombin is a serine protease.

Proteases also known as proteolytic enzymes or peptidases, are a large group of enzymes which play a significant role in many biochemical mechanisms to maintain metabolic processes of all organisms. Proteases may be used for pharmacological purposes, such as blood coagulation and fibrinolysis. Several plant enzymes belonging to the classes of serine proteases were observed to be active on the cascade of coagulation pathways.

Fibrin's high degree of tunability make it a versatile biomaterial that is used in a wide range of applications to facilitate wound repair, tissue engineering and regeneration, and biologics delivery. Fibrin is an appealing drug delivery vehicle because it can be injected where it gels in situ, it is naturally degraded and it stimulates the body's own wound healing response. However, working with poor platelets plasma (PPP), means working in absence of platelets, allowing growth factors and plasma proteins (fibrinogen, fibronectin) rich environment, without cellular biomaterials conservation troubles and difficulties (cryoprecipitation, limit of conservation time).

The main objective of this study was to create a biomaterial combining plasma-fibrin sealant and aqueous extract of *Ageratum conyzoides* Linn. The latest was declined in three specific ones. The first aim was to propose four methods of soft aqueous extraction of leaves of *Ageratum conyzoides* Linn. and search to know which of them allows us to obtain specifically tannins and flavonoids. The second was to determine if even *Ageratum conyzoides* Linn. aqueous leaves extract obtained in our laboratories contained proteases which could structurally modify the fibrin clot formation. Finally, we propose to formulate poor platelets plasma (PPP) material supplemented with the bactericidal plant extract to retrieve biological and biochemical wound healing properties of a platelet rich plasma (PRP).

## **Materials and Methods**

### **Preparation of extracts**

The method, although greatly modified, was inspired from (Li et al., 2011). Four different derived extracted methods were proposed. The leaves of the plant finely cut (25g in weight) were macerated 15 minutes at RT (25 °C ± 2 °C) and then extracted with distilled water (250 ml): 1h at 50 °C ± 2 °C (A), 3h at 50 °C ± 2 °C (B), 1h at 25 °C ± 2 °C (C) or 3h at 25 °C ± 2 °C (D).

### **Biomaterial preparation and clotting time measures**

For clotting time measures, coagulometer START4 (Diagnostica Stago) was used. To start the clotting times assays, each aliquot was warmed at 37°C in a waterbath for 15 minutes, then 10 µL of the correspondent calcium chloride concentration were added to the 990 µL plasma aliquots. 890 µL plasma aliquots were added with 100 µL of physiological serum or 100 µL of extract, followed by 10 µL of the correspondent calcium chloride concentration. Just after calcium chloride addition, the chronometer was instantaneously triggered and the mixture homogenized. The limiting clotting time imposed for our experimental method was 2 (120 minutes or 7200 seconds). For each calcium chloride concentration, clotting time measurements were done in triplicate.

Ethical approval was obtained from the Institutional Committee of the National Center of Blood Transfusion (Centre National de Transfusion Sanguine - CNTS).

### **Analytical technics**

Thin layer chromatographic analysis

HPLC-ESI+ -QTOF analysis

Clauss fibrinogen assay

Clotting time measures with coagulometer START4 (Diagnostica Stago)

SDS-PAGE electrophoresis

## **Results and Discussion**

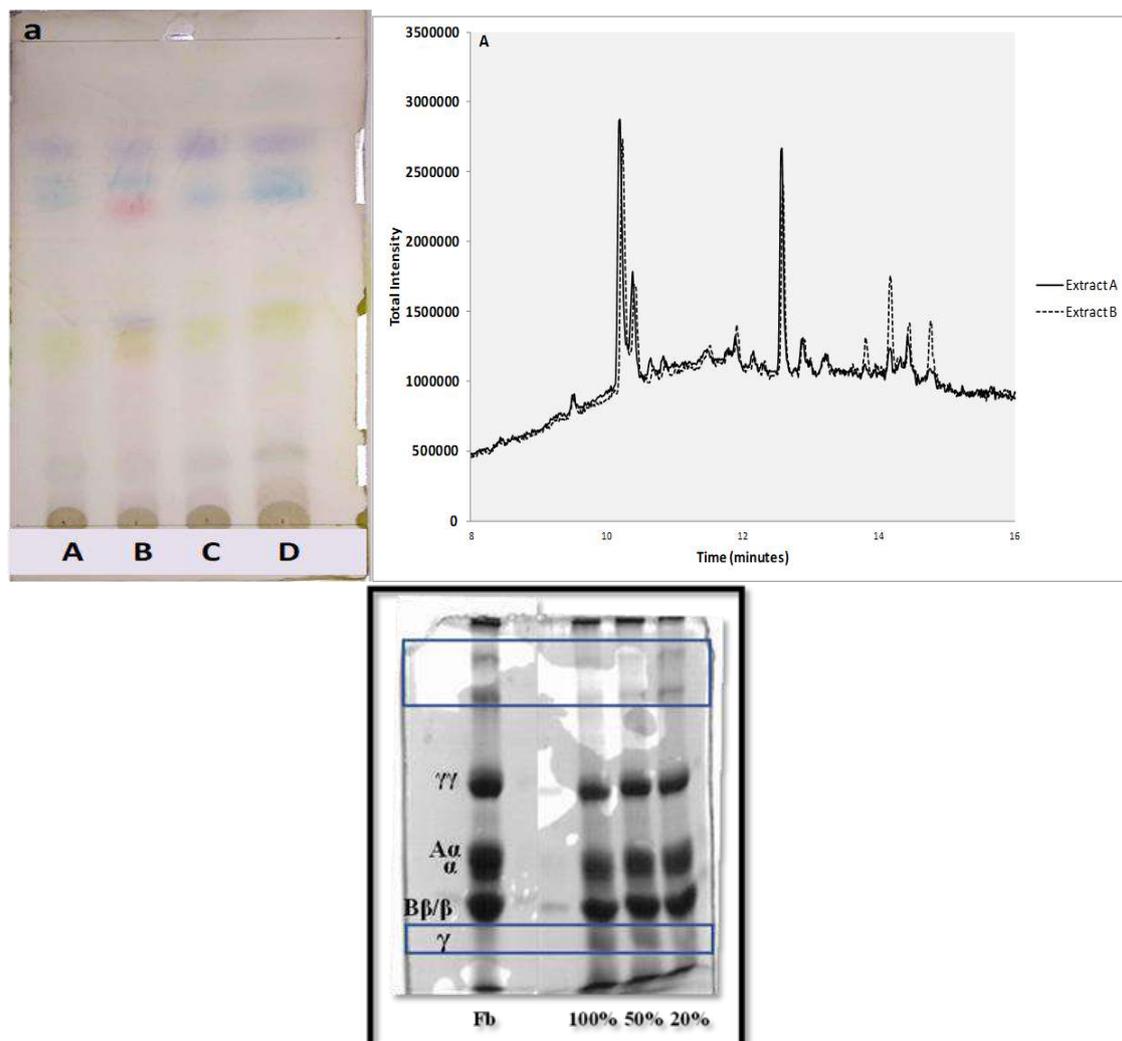
### **Phytochemical screening of the four proposed extracts**

Our TLC results (Figure 1), presented several types of flavonoids in all extracts studied, particularly in B one (50 °C – 3H). Figure 2 displaying extracts obtained at 50 °C, shows the B extract obtained after 3 hours has higher peaks for substances appeared after 14 minutes. We then deduced that our proposed extraction methods lead to same chemical

compounds extractions but B extract allowed higher concentrations of later substances to be obtained. Our extracts contain several types of flavonoids at monomer and polymeric forms.

### Clotting time measures with coagulometer

For this study, we first made antibacterial tests on wounds microbial pathogens and the efficacy was dose-dependent (data not shown). Then, the concentration of 250 mg/mL of diluted extract in physiological serum was chosen for its efficacy on inhibiting wounds microbial pathogens activity. Instead of all these supposed and confirmed antibacterial and healthy properties of phytochemicals contained in our extract, clotting times profile has changed in presence of additional extract (Table I and Table II). The best and shortest clotting time obtained on extract diluted plasma, although prolonged, was  $65 \pm 12.56$  minutes at 2M (20 mM final concentration) calcium. Comparing to not diluted plasma clotting time at the same calcium concentration ( $CT = 22 \pm 3.81$  minutes) and to the lowest clotting time obtained at the same plasma dilution ( $CT = 11 \pm 4.15$  minutes), clotting time of extract added plasma, is respectively 3 folds and six folds longer. Phytochemicals present in the extract clearly possess thrombin inhibitory properties. The clotting times profile when plant extract was added changed and at 4M calcium, among nine (9) samples only three (3) samples gellified, which are not statistically reliable. For higher calcium concentrations (6M and 8M), no gelation occurred. We then hypothesize that those phytochemicals probably not potentiate calcium effect on antithrombin III but they rather have an additional effect on inhibition of thrombin by antithrombin III in presence of excess calcium leading to elongation of the clotting time. Then, the co-presence of high calcium concentration and our extract phytochemicals lead to a serious inhibition of thrombin resulting in no gelation during the 7200 seconds experimentation.



**Figure 3:** SDS-PAGE electrophoresis of immersed fibrin gels in concentrated extract (100%), half diluted (50%) and high diluted (20%) plant extracts.

## **Conclusion and perspectives**

This study is an original one which aimed to create a new fibrin sealant biomaterial combining the properties of a fibrin gel with antibacterial and analgesic properties of phytochemicals contained in an aqueous *Ageratum Conyzoides* Linn. leaves extract at a bactericide concentration. Our objective was difficult to achieve because of the thrombin inhibitory side effects of the extracts which were added to antithrombin inhibitory effects in presence of excess calcium; however, we do not fail at all since at 2 M calcium concentration a clotting time was obtained. More, we improved the mechanical properties by adding a polysaccharide (not shown).

We hardly supposed that our difficulties to obtain gelation provided from the stirring method used. In fact, when the solution (plasma + extract + calcium) were just mixed and homogenized, gels occurred in few minutes. Evidently, they are weak gels. Some studies demonstrated a reversible inhibitory effect of flavonoids on serine proteases. Then we have to make deeper studies or change clotting time determination method to achieve this novel biomaterial. We have also to characterize hydratation/dehydratation properties of this new biomaterial.

## **References**

- 1- Akpalo A. Edefia, Douti F. Victoire, Layibo Yao, Feteke Lochina, Karou Simplicite, 2020a. Plasma fibrin sealant exclusively based on exogenous calcium and physiological thrombin: fitting and understanding of an old approach. *Annals of Biomedical Sciences* 19, Number 1.
  - 2- Bijak, M., Ziewiecki, R., Saluk, J., Ponczek, M., Pawlaczyk, I., Krotkiewski, H., Wachowicz, B., Nowak, P., 2014. Thrombin inhibitory activity of some polyphenolic compounds. *Med Chem Res* 23, 2324–2337. <https://doi.org/10.1007/s00044-013-0829-4>
- Janmey, P.A., Winer, J.P., Weisel, J.W., 2009. Fibrin gels and their clinical and bioengineering applications. *Journal of The Royal Society Interface* 6, 1–10. <https://doi.org/10.1098/rsif.2008.0327>

## Synthèses et caractérisation par spectroscopie IR, RMN {<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C} et UV-visible du complexe de cobalt (III) issu du ligand L<sub>6</sub> (H<sub>2</sub>L<sub>6</sub>)

Alassane Saidou DIALLO, Moussa DIENG, Farba Bouyagui TAMBOURA, Mouhamadou M. SOW

1 Université Alioune Diop, Sciences Appliquées et Technologies de l'Information et de la Communication, Département de Chimie, Bambey, BP 30, Sénégal.

2 Université Cheikh Anta Diop, Faculté des Sciences et Techniques, Département de Chimie, Dakar, Sénégal

### Résumé :

Dans la bibliographie, nous avons constaté que les complexes de cobalt ont plusieurs domaines d'activités. Nous avons synthétisé un complexe mononucléaire de cobalt issu du ligand L<sub>6</sub> (H<sub>2</sub>L<sub>6</sub>). L'infrarouge, la résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone ont permis de confirmer la formation du ligand. L'étude de l'infrarouge du ligand a montré la disparition de la bande due à la vibration  $\nu(\text{C}=\text{O})$  de l'orthovaniline et l'apparition d'une nouvelle bande due à la vibration  $\nu(\text{C}=\text{N})$  montre qu'il y a bien eu condensation entre le cétoprécurseur et l'amine. Pour le complexe synthétisé, le déplacement de la vibration  $\nu(\text{C}=\text{N})$  vers les basses fréquences prouve l'implication de l'azote dans la coordination du cobalt. Les mesures conductimétriques des solutions fraîches et des solutions 15 jours après montrent que le complexe est stable. L'étude ultraviolet fait dans du DMF montre des transitions due au ligand et des transitions d-d due au complexe. L'analyse par diffraction de rayons-X des monocristaux obtenues montre que la stœchiométrie du complexe est 1 : 1 et que le ligand est tétradente avec un environnement octaédrique autour du cobalt.

**Mots Clés :** Complexe ; Infrarouge ; Ultraviolet ; Electrolyte

### Syntheses and Characterizations of the cobalt complex derived from L<sub>6</sub> ligand

#### Abstract

In the bibliography, we have found that cobalt complexes have several areas of activity. We synthesized a cobalt (III) mononuclear complex derived from ligand L<sub>6</sub> (H<sub>2</sub>L<sub>6</sub>). Infrared, proton and carbon nuclear magnetic resonance confirmed the formation of the ligand. The infrared study of the ligand showed the disappearance of the band due to the  $\nu(\text{C}=\text{O})$  vibration of orthovaniline and the appearance of a new band due to the  $\nu(\text{C}=\text{N})$  vibration shows that there has indeed been condensation between the ketoprecursor and the amine. For the synthesized complex, the shift of the vibration  $\nu(\text{C}=\text{N})$  towards low frequencies proves the involvement of nitrogen in the coordination of cobalt. The conductimetric measurements of the fresh solutions and of the solutions 15 days later show that the complex is stable. Ultraviolet study done in DMF shows ligand transitions and d-d complex transitions. X-ray diffraction analysis of the resulting single crystals shows that the stoichiometry of the complex is 1: 1 and that the ligand is tetradent with an octahedral environment around the cobalt.

**Keywords:** Complex; Infrared; Ultraviolet; Electrolyte

#### 1. Introduction (Times New Roman 11 normal)

Les bases e Schiff sont largement utilisées dans l'industrie et présentent aussi une large gamme d'activités biologiques [1]. Ces ligands contenant des les atomes donneurs N, O et S ont montrés es activités biologiques intéressantes en raison de la variété de modes de coordination aux ions métalliques [2]. Des complexes de cobalt sont utilisés pour leurs activités biologiques divers [3].

Avec notre ligand à base de Schiff dérivé de l'o-vanilline et de 1,2diamine propane, un complexe de cobalt a été synthétisé et la structure du complexe est élucidé par DRX. Des activités antibactérienne et antimicrobien seront étudiés sur le complexe et le ligand.

#### 2. Matériel et méthodes

Les réactifs, le 1,2diamino propane, le 2'hydroxyacétophenone, le perchlorate de cobalt sont des produits d'origine commerciale (Aldrich). Ils ont été utilisés sans purification préalable. Les solvants, méthanol, dimethylsulfoxyde (DMSO), diméthylformaldéhyde (DMF), sont aussi utilisés sans aucune purification.

Les spectres d'absorption IR sont enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre Perkin Elmer version 10.5.4 au département de chimie de l'université Cheikh Anta Diop de Dakar. Les mesure de conductivité ont été réalisés dans une solution millimolaire de DMSO avec un appareil WTW LF-330 conductimètre a WTW conductivity cell.

#### 2.1 Synthèse du Ligand L<sub>6</sub> et caractérisation :

Dans un ballon de 100ml, On a dissous 0,1g (3mmol) du ligand L<sub>6</sub> dans du DMF. Puis on y ajoute 0,11g (3mmol) de perchlorate de cobalt hexahydraté Co(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O préalablement dissout dans du méthanol. Le mélange est agité pendant 2heures et il devient marron foncé. Cette dernière est filtrée puis laissée à l'évaporation lente. Après 1 mois on obtient des cristaux de couleurs marron diffractable au rayon X sont obtenues.

Le rendement obtenu est de 65.5%.

L'analyse du spectre IR du ligand  $L_6$  montre des bandes correspondants :  $3190\text{ cm}^{-1}$   $\nu(\text{O-H})$ ,  $1625\text{ cm}^{-1}$   $\nu(\text{C=N})$  confirmant la formation du ligand,  $1249\text{ cm}^{-1}$   $\nu(\text{C-OPh})$ .

### 3. Résultats et discussion

L'analyse du spectre IR des cristaux révélé un déplacement de la bande de vibration  $\nu(\text{C=N})$  à  $1617\text{ cm}^{-1}$ , de la bande  $\nu(\text{C-O})$  phénolique pointée initialement à  $1249\text{ cm}^{-1}$  est vers  $1200\text{ cm}^{-1}$  après complexation. La bande observée à  $1100\text{ cm}^{-1}$  peut être attribué à la vibration  $\nu(\text{ClO}_4^-)$ . Ceci montre que l'ion perchlorate joue un rôle de contre anion et la bande de vibration observe vers  $3200\text{ cm}^{-1}$  peut être attribuée  $\nu(\text{HO})$  de  $\text{H}_2\text{O}$ .

#### 3.1 Etude conductimétrie

Les mesures ont été réaliser dans du DMF, deux séries de mesures à intervalle de 15 jours ont été réalisées pour suivre la stabilité du complexe en solution. L'électrolyte obtenue selon Geary du complexe est de type 1 : 1. 15 jours après on observe l'électrolyte devient neutre cette baisse est due peut-être à la substitution d'une molécule d'eau par le perchlorate.

#### 3.2 Spectroscopie ultraviolet visible

Le spectre UV Du complexe  $L_6/\text{Co}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  révèle en plus des bandes dues au ligand, une bande d'absorption vers  $403\text{ nm}$  due au transfert de charge et une absorption à  $998\text{ nm}$  due au transitions d - d du cobalt (III).

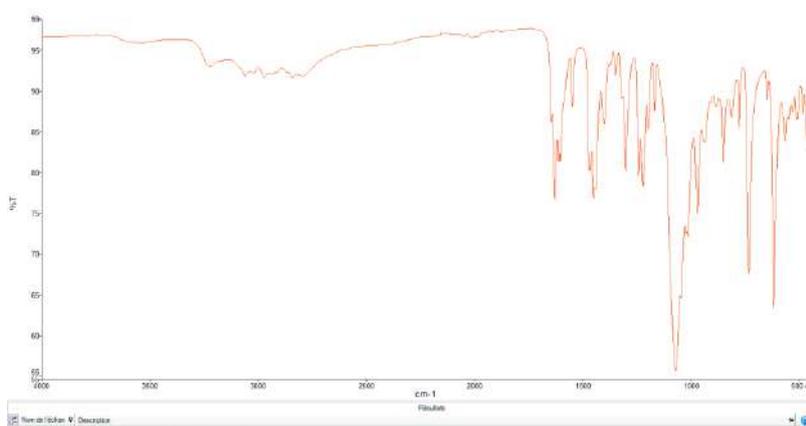


Figure 1 : Spectre IR du complexe

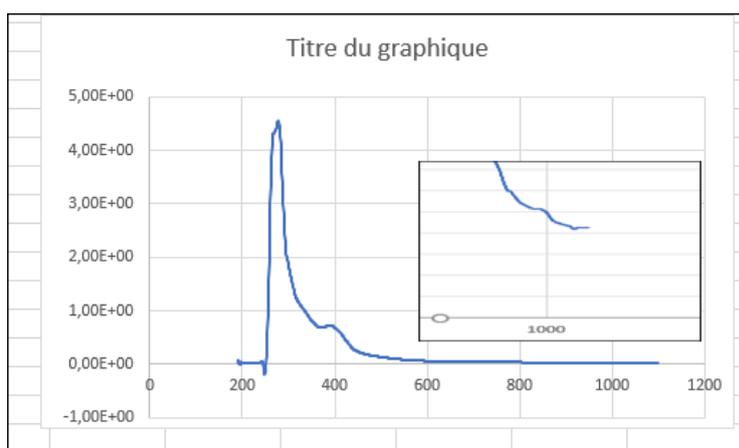


Figure 2 : Spectre UV visible du complexe

### 4. Conclusion

Les données spectroscopiques, conductimétriques permettent de tirer les conclusions suivantes :

- les atomes d'azote des deux fonctions imines participent à la coordination du métal,
- les atomes d'oxygène des deux fonctions phénolates prennent part à la complexation du métal,

- le perchlorate joue le rôle de contre anion

D'après ces résultats obtenus, nous avons proposé une structure pour le  $\text{L}_6/\text{Co}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . La structure a été confirmée après résolution des monocristaux.

### 5. Bibliographie :

[1]. M. DIENG Thèse d'état ès sciences physiques.

[2]. F. L. URBACH, in H. Siegle (Ed.), *Metal Ions in Biological Systems*, Vol.13, Dekker, New-York and Basel, p. 73 and references therein (1981)

[3]. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00859702/document>

## Etude électrochimique et quantique de l'effet du biopolymère chitosan sur la corrosion du cuivre en milieu NaCl 3,5 %

<sup>1</sup> UFR Sciences et Technologies, Université de Man, BP 20 Man, Côte d'Ivoire.

<sup>2</sup> Laboratoire de Chimie Physique (LCP), Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

<sup>3</sup> Laboratoire des Sciences de l'Ingénieur pour l'environnement (LaSIE) UMR 7356 CNRS, Université de La Rochelle, Avenue Michel Crépeau 17042 La Rochelle Cedex 1, France.

\*E-mail auteur correspondant: *coulibalynagnonta@yahoo.fr*

### Resume

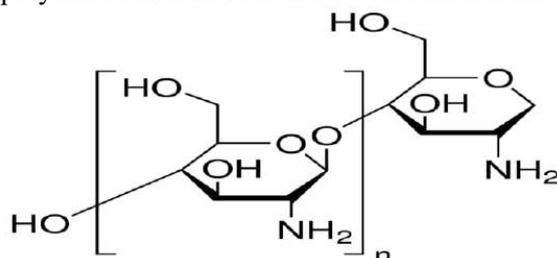
Dans ses applications maritimes telles que les pipelines, la construction navale, les installations de dessalement de l'eau de mer, le cuivre est exposé à la corrosion du fait des ions chlorures. L'inhibition de la corrosion du cuivre par le biopolymère chitosan dans une solution de NaCl 3,5% représentant l'eau de mer a été évaluée à l'aide de la spectroscopie d'impédance électrochimique, de la polarisation potentiodynamique et de méthodes de chimie quantique. Les résultats obtenus montrent que le chitosan inhibe la dissolution du cuivre dans le milieu corrosif. L'efficacité inhibitrice augmente avec la concentration en inhibiteur pour atteindre un maximum de 90,32% à 1000 ppm et à 25°C. Les mesures de polarisation potentiodynamique indiquent que le chitosan est un inhibiteur mixte. L'énergie libre d'adsorption de Gibbs révèle que le processus d'adsorption est endothermique et repose principalement sur un mécanisme de physisorption conforme au modèle d'adsorption de Langmuir. Une corrélation existe entre l'efficacité de l'inhibiteur et les valeurs des paramètres obtenus par la méthode de la théorie de la fonctionnelle de la densité au niveau de calcul B3LYP / 6-31G (d, p). Dans nos travaux futurs nous utiliserons l'eau de l'Océan Atlantique pour être dans les conditions réelles.

**Mots clés :** Chitosane, inhibition, électrochimique, quantique.

### INTRODUCTION

Le cuivre et ses alliages sont très utilisés dans plusieurs domaines industriels grâce à leurs propriétés physiques et mécaniques. Ils sont souvent employés dans le domaine de l'industrie maritime, par exemple dans les pipelines, pour le calibrage des navires et dans les installations de dessalement de l'eau de mer. L'eau de mer du fait de la présence des ions chlorures constitue malheureusement un milieu agressif pour le cuivre et ses alliages. Les pertes économiques liées à ces problèmes peuvent être importantes. Ainsi afin de réduire ces problèmes, l'on peut utiliser des inhibiteurs de corrosion. Un inhibiteur est un composé chimique que l'on ajoute, en faible quantité au milieu pour diminuer la vitesse de corrosion des matériaux. Il peut être destiné soit à une protection permanente de la pièce (l'installation requiert alors une attention scrupuleuse), soit à une protection provisoire (notamment lorsque la pièce est particulièrement sensible à la corrosion ou lorsqu'elle est exposée à un milieu très agressif) <sup>[1]</sup>. Les molécules inhibitrices peuvent agir suivant différents mécanismes, leur conférant ainsi des performances d'inhibition selon le milieu d'étude. Les nombreuses études consacrées à ces composés, depuis une cinquantaine d'années, ont abouti à proposer des produits ou des mélanges de produits précis correspondant à des systèmes de corrosion (couples métal/milieu corrosif) donnés <sup>[2]</sup>. Les nouvelles directives mondiales concernant les rejets industriels étant de plus en plus sévères en termes d'écologie, la mise au point d'inhibiteurs de corrosion éco-compatibles et biodégradables devient, de nos jours, un enjeu important. C'est, en particulier, pour cette raison mais également pour leurs propriétés inhibitrices remarquables que l'utilisation d'inhibiteurs organiques a été largement plébiscitée au cours de ces dernières décennies.

L'objectif de notre étude consiste en l'amélioration de la résistance à la corrosion électrochimique du cuivre en milieu NaCl 3,5% par l'utilisation du biopolymère chitosan dont la structure moléculaire est donnée par la **figure 1**



**Figure 1: Structure moléculaire du chitosan**

## MATERIEL ET METHODES

Le matériau retenu dans cette étude est le cuivre très répandu dans les milieux marins, en particulier dans les unités de dessalement d'eau de mer. L'échantillon de cuivre 99.9% de pureté est cylindrique de diamètre 20 mm. Nos essais ont été conduits dans une solution de chlorure de sodium NaCl 3,5% (35g/L) (correspondant à la teneur moyenne en Cl<sup>-</sup> de l'eau de mer) préparée au laboratoire par la dissolution de 35 g de NaCl en poudre cristallisé 99.5 % de marque SIGMA-ALDRICH dans un litre d'eau distillée, puis agité par un barreau aimanté afin d'avoir une solution homogène.

Le chitosan analytique a été acquis auprès de SIGMA-ALDRICH et des solutions de concentrations allant de 100 à 1000 ppm ont été préparées

Le dispositif expérimental utilisé pour réaliser les différentes mesures électrochimiques est un potentiostat/galvanostat de type MODULAB associé au logiciel MODULAB XM ECS. Quant aux calculs de chimie quantique ils ont été réalisés à l'aide du logiciel GAUSSIAN 09 W avec son interface graphique Gassview 3.0.

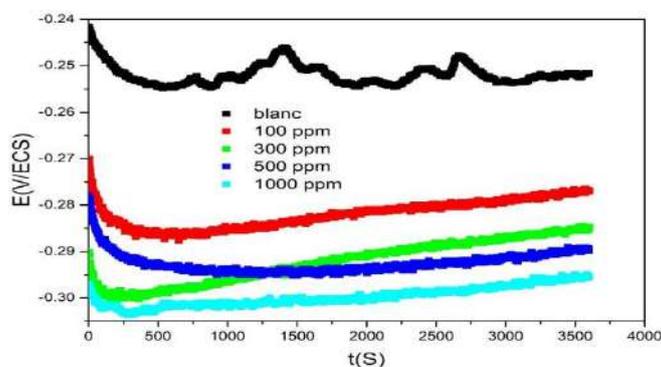
- Les courbes de polarisation ont été obtenues dans un domaine de balayage de (-300 à +150) mV/ECS avec une vitesse de balayage de 0,2 mV/S.
- Les diagrammes d'impédance électrochimiques ont été relevés au potentiel de corrosion, après une heure d'immersion. L'amplitude de la tension sinusoïdale appliquée au potentiel d'abandon est de 10 mV crête à crête dans la gamme de fréquences (de 60 KHz 10 mHz) avec 10 points par décade.

## Resultats et discussion

### 1-Mesure du potentiel d'abandon

Egalement désigné par potentiel libre, il s'agit de la grandeur électrochimique la plus immédiatement mesurable. Cette technique simple apporte des informations préliminaires sur la nature des processus en cours à l'interface métal/électrolyte : corrosion, passivation.

La **figure 2** donne l'évolution du potentiel d'abandon de l'électrode de cuivre dans une solution de NaCl 3,5% en l'absence et en présence d'inhibiteur pendant une heure.



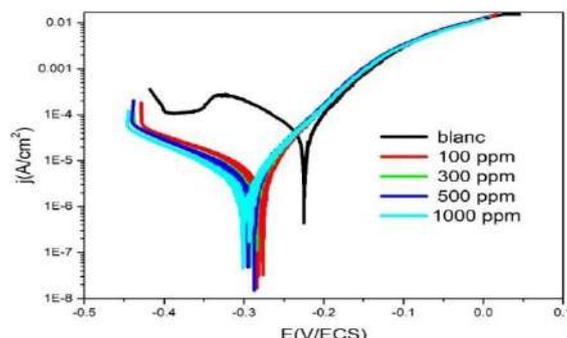
**Figure 2: Suivi du potentiel en circuit ouvert du cuivre immergé dans la solution de NaCl 3,5% à différentes concentrations en inhibiteur.**

Dans la solution sans inhibiteur, le potentiel d'abandon de l'électrode de cuivre évolue légèrement de -0,220 à -0,255 V / ECS pendant les premières heures d'immersion en raison de la dissolution du cuivre et de la formation du film de produit de corrosion. Ce dernier film limite l'accès au dioxygène vers l'interface métallique ce qui conduit à un léger décalage du potentiel du circuit ouvert vers des valeurs plus négatives

En présence de chitosan, le potentiel en circuit ouvert est décalé vers des valeurs de potentiel plus négatives par rapport à la solution sans inhibiteur. Pendant l'immersion, le potentiel d'abandon évolue vers des valeurs plus positives. Cette évolution est associée à la formation et à l'épaississement du film à la surface du cuivre, indiquant l'amélioration de la résistance à la corrosion. D'autre part, le déplacement du potentiel de corrosion vers des valeurs négatives est considéré comme un indicateur de l'activation de la surface <sup>[3]</sup>.

### 2-Courbes de polarisation potentiodynamique (CPP)

Cette méthode quantitative nous permet d'accéder à certaines grandeurs telles que la densité du courant de corrosion donc à l'efficacité inhibitrice de la molécule. Elle permet de déterminer le mécanisme d'action électrochimique de notre inhibiteur. La **figure 3** montre les courbes de polarisation du cuivre dans une solution aérée et agitée de NaCl 3,5% sans et avec addition de chitosan à différentes concentrations. Les courbes de polarisation ont été tracées après une heure d'immersion dans une solution saline.



**Figure 3: Courbe de polarisation du cuivre dans NaCl 3,5% sans et avec addition de différentes concentrations de chitosan à T=298K**

En l'absence de chitosan, le potentiel de corrosion est d'environ -0,22 V / SCE. Dans le domaine cathodique, on observe un premier régime jusqu'à -0,34 V / SCE où une variation linéaire de la densité de courant par rapport au potentiel est constatée. Cette évolution correspond à la réaction de réduction du dioxygène à la surface du cuivre. Pour les potentiels cathodiques supérieurs, on observe un pic de réduction, qui pourrait être associé à la réduction des oxydes de cuivre formés au cours de la période d'immersion [4]. Une variation linéaire de la densité de courant par rapport au potentiel est observée dans le domaine anodique. Avec l'ajout d'inhibiteurs, la forme des courbes de polarisation n'a pas vraiment varié. Une augmentation de la concentration en chitosan entraîne un déplacement du potentiel de corrosion vers des potentiels plus cathodiques. Ce déplacement est associé à une baisse remarquable de la densité de courant par rapport à celle obtenue dans une solution sans inhibiteur avec une modification des valeurs de pente de Tafel cathodique. On peut également noter que les courbes de polarisation anodique ne sont pas fortement affectées par la présence du chitosan, une légère modification de la pente anodique est observée avec la présence des espèces inhibitrices. Les caractéristiques électrochimiques suggèrent un caractère cathodique de cet inhibiteur [5]. Les paramètres électrochimiques tels que le potentiel de corrosion ( $E_{corr}$ ), les pentes de Tafel anodique ( $b_a$ ) et cathodique ( $b_c$ ) et la densité du courant de corrosion ( $j_{corr}$ ) ont été déterminés par la méthode d'extrapolation de Tafel des courbes de polarisation potentiodynamique. Les valeurs sont rassemblées dans le **tableau 1**.

**Tableau 1: Paramètres électrochimiques de la corrosion du cuivre dans NaCl 3,5% sans et avec addition de différentes concentrations de chitosan à 298K.**

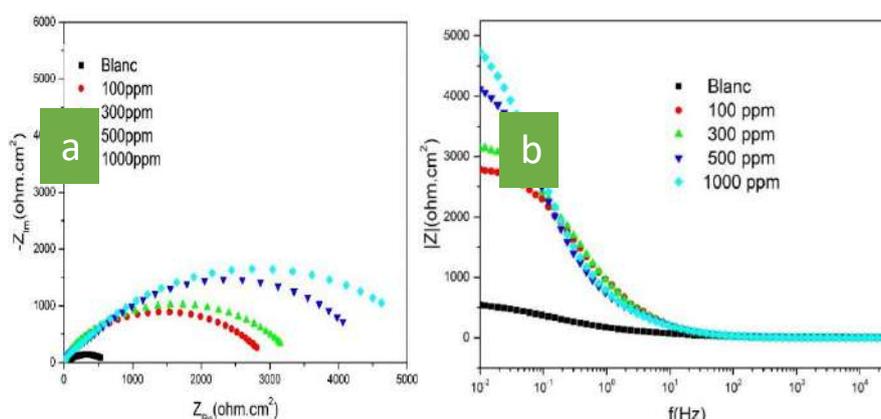
Concentration (ppm)	$E_{corr}$ (mV/ECS)	$j_{corr}$ ( $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ )	$b_a$ (mV/dec)	$-b_c$ (mV/dec)	$R_p$ ( $\Omega\cdot\text{cm}^2$ )	$\eta$ (%)
0	-224	46.5	48	94	336.60	-
100	-280	7.5	63	176	3047.1	83
300	-287	5.9	61	165	3718.4	87.31
500	-290	5.0	61	134	4129.8	89.24
1000	-287	4.5	65	148	4944.0	90.32

L'efficacité d'inhibition du chitosan calculée à partir de la **relation 1** [6] augmentent avec la concentration d'inhibiteur pour atteindre une valeur maximale de 88 % pour une concentration d'inhibiteur de 1000 ppm.

$$\eta = \frac{j_{corr} - j_{corr}^{inh}}{j_{corr}} \times 100 \quad (1)$$

#### 4 - Spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE)

Afin de confirmer l'efficacité de protection de chitosane et déterminer le mécanisme d'interface, la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE) a été utilisée au potentiel de corrosion. Les résultats obtenus pour le cuivre après 1 heure d'immersion dans la solution corrosive sans et avec différentes concentrations de chitosan sont indiqués à la **figure 4**.



**Figure 4: Diagrammes d'impédance du cuivre après 1h immersion dans NaCl 3,5% à différentes concentrations de chitosan : (a) en représentation de Nyquist, (b) en représentation de Bode**

Les diagrammes de Nyquist (**Figure 4a**) sont constitués de deux boucles capacitives mal séparées. La boucle aux basses fréquences est attribuée à la résistance des espèces adsorbées due à l'adsorption des molécules inhibitrices sur la surface du cuivre et tous les autres produits accumulés. Celle aux hautes fréquences est généralement attribuée à la capacité double couche et à la résistance de transfert de charges. Le diamètre de la boucle capacitive augmente avec la concentration de chitosan indiquant que l'efficacité d'inhibition est une fonction de la concentration d'inhibiteur [7]. On peut remarquer sur la **figure 4b** une augmentation du module de Bode indiquant une augmentation de la passivation.

### 5-Détermination des paramètres quantiques

Afin de relier la structure de la molécule à son efficacité inhibitrice, des calculs de chimie quantique ont été effectués dans la théorie de la fonctionnelle de la densité par la fonctionnelle hybride B3LYP (Becke 3 paramètres Lee Yang Parr) avec la base d'orbitales 6-31G(d,p) en utilisant le logiciel Gaussian 09 W. Les paramètres quantiques tels que l'énergie de l'orbitale moléculaire la plus haute occupée ( $E_{HOMO}$ ) et de la plus basse inoccupée ( $E_{LUMO}$ ), la différence  $\Delta E = E_{LUMO} - E_{HOMO}$ , le moment dipolaire ( $\mu$ ) et les charges de Mulliken sur les hétéroatomes ont été déterminés.

Les paramètres quantitatifs globaux de la chimie quantique et la réactivité sont rassemblés dans le **tableau 2**.

**Tableau 2: Descripteurs de chimie quantique du NAC**

Paramètres	Valeurs	Paramètres	Valeurs
$E_{HOMO}$ (eV)	<b>-5,0545</b>	A (ev)	<b>-0,8510</b>
$E_{LUMO}$ (eV)	<b>0,8510</b>	$\chi$ (ev)	<b>4,2035</b>
$\Delta E$ (eV)	<b>5,9055</b>	$\Delta N$	<b>0,1315</b>
$\mu$ (D)	<b>1,1509</b>	$\eta$ (eV)	<b>2,9528</b>
I (eV)	<b>5,0545</b>	S (eV)	<b>0,3386</b>
$\omega$ (eV)	<b>2,9920</b>	$\Delta E_T$ (eV)	<b>-1182,9559</b>

Le gap d'énergie ( $\Delta E = E_{LUMO} - E_{HOMO}$ ) peut être un paramètre important de la réactivité de la molécule inhibitrice quant à son adsorption sur la surface du métal. Dans le cas présent, la faible valeur de  $\Delta E$  (5,9055 eV) en accord avec la littérature [8] pourrait expliquer la réactivité de la molécule chitosan favorisant son adsorption à la surface du cuivre et conduisant à une bonne efficacité d'inhibition [9]. Le paramètre  $\Delta N$  appelé nombre d'électrons transférés est également connu comme étant la capacité à échanger des électrons. Il indique la tendance d'une molécule à donner des électrons à la surface du métal ( $\Delta N > 0$ ) ou à recevoir des électrons de la surface métallique ( $\Delta N < 0$ ) [10]. La valeur obtenue ( $\Delta N > 0$ ) montre que l'inhibiteur est une molécule qui a tendance à donner des électrons à la surface métallique.

### Conclusion

L'étude de l'effet inhibiteur du chitosan vis-à-vis la corrosion du cuivre en milieu NaCl 3,5% nous a permis de confirmer la performance de ce dernier et de tirer les conclusions suivantes :

- l'effet inhibiteur du chitosan augmente avec la concentration d'inhibiteur pour atteindre un maximum de 90,32% à 1000 ppm et à 25°C;
- les courbes de polarisation indiquent que le chitosan est un inhibiteur de type mixte ;
- l'inhibition est due à l'adsorption des molécules de chitosan sur la surface du cuivre ;
- les paramètres globaux de la réactivité du chitosan trouvés confirment les résultats expérimentaux.

### References bibliographiques

- [1] P. Bommersbach in *Evolution des propriétés d'un film inhibiteur de corrosion sous l'influence de la température et des conditions hydrodynamiques*, Vol. INSA Lyon, **2005**.
- [2] C. Fiaud, C. Lemaitre and N. Pebere, *Techniques de l'ingénieur* **2002**, 1-14.
- [3] M. A. Chidiebere, E. E. Oguzie, L. Liu, Y. Li and F. Wang, *Materials Chemistry and Physics* **2015**, 156, 95-104.
- [4] C. N. Hippolyte, B. Y. Serge, A. Sagne, J. Creus and T. Albert, *Journal of Materials Science and Chemical Engineering* **2018**, 6, 100.
- [5] L. Larabi, O. Benali and Y. Harek, *Portugaliae Electrochimica Acta* **2006**, 24, 337-346.
- [6] M. Scendo, J. Trela and N. Radek, *Corrosion Reviews* **2012**, 30, 33-45.
- [7] L. Elhousni, M. Galai, F. Z. ElKamraoui, N. Dkhireche, R. Tourir and M. Ebn Touhami, *Euro-Mediterranean Journal for Environmental Integration* **2017**, 2, 12.
- [8] R. S. Muzaffer Ozcan, Gulfeza Kardas , Ilyas Dehri, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2008**, 325, 57-63.
- [9] H. Ju and Y. Li, *Corrosion Science* **2007**, 49, 4185-4201.
- [10] M. B. Petrović Mihajlović, M. B. Radovanović, Ž. Z. Tasić and M. M. Antonijević, *Journal of Molecular Liquids* **2017**, 225, 127-136.

## Caracterisation de quelques argiles locales du togo en vue de leur valorisation

ANOVE Komla Mawoulikplim<sup>1\*</sup>, TCHEGUENI Sanonka<sup>1</sup>, DEGBE Koffi Agbegnigan<sup>1</sup>, KORIKO Moursalou<sup>1</sup>,  
TCHANGBEDJI Gado<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire GTVD (Gestion Traitement et Valorisation des Déchets), Faculté Des Sciences, Université de, BP : 1515,  
Lomé, TOGO

### Resume

Les liants géopolymères constituent une alternative favorable pour la protection de l'environnement comparativement au ciment Portland, bien connue pour sa contribution à l'émission de gaz à effet de serre. Il est donc important de trouver des matériaux qui peuvent valablement remplacer ces ciments pollués. C'est dans cette logique que ce travail a été entrepris. Il a pour objectif de caractériser des ressources argileuses locales du Togo en vue de leur valorisation. Les propriétés physico-chimiques de ces argiles, ont été déterminées : DRX, Infra rouge, Analyses thermiques(ATG), Taux d'humidité, ICP-AES. Les résultats obtenus montrent que ces argiles contiennent de la kaolinite et qui seront ensuite utilisées pour la synthèse des liants écologiques.

**Mots clés:** Géopolymères ; argile ; kaolinite, environnement.

### Abstract

Geopolymeric binders are an environmentally friendly alternative to Portland cement, which is well known for its contribution to the emission of greenhouse gases. The objective of this work is to characterize the local clay resources of Togo with a view to their valorization. The physicochemical properties of the materials were determined: XRD, IR and the chemical composition. The results obtained show that these clays contain kaolinite and which will then be used for the synthesis of binders.

**Key words:** Geopolymer; clay; kaolinite; environment.

## I. INTRODUCTION

L'argile est l'un des matériaux les plus anciens utilisés par l'homme. Elle est nécessaire pour la fabrication des objets utilisés dans la vie quotidienne. Du point de vue géologique, l'argile est une roche sédimentaire, composée pour une large part de minéraux spécifiques, aluminosilicates plus ou moins hydratés, eux-mêmes nommés argiles. Les roches argileuses présentent une grande diversité de compositions, de propriétés, de nomenclature et d'applications industrielles. Les progrès de la science surtout dans les analyses thermiques gravimétriques et de rayons X ont permis de mieux connaître les minéraux argileux. La disposition des atomes dans les feuilletés élémentaires des minéraux argileux est la seule base possible d'une classification [1]. Grâce à leurs propriétés, les argiles sont utilisables pour différentes applications. Outre la fabrication de matériaux de construction, elles sont également utilisées dans l'élaboration de matériaux polymères ou encore dans le raffinage d'huile alimentaire, dans la cosmétique ou en médecine notamment celles qui sont riches en silice ( $\text{SiO}_2$ ) et en alumine ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ). De par leurs multiples propriétés physico-chimiques intéressantes, elles peuvent être utilisées, directement ou non dans l'industrie après leur extraction.

Au Togo, les terres cuites à base d'argile, sont essentiellement utilisées pour la confection des matériaux de construction traditionnelle (céramique, verrerie, porcelaines, etc.) ainsi que pour la confection de nombreux articles de poterie. Le Togo dispose des réserves d'argiles suffisantes pour assurer totalement ou partiellement l'alimentation d'une industrie céramique [2]. Pour la mise en place d'une filière de valorisation de ces argiles, il s'avère important de connaître leurs structures ainsi que leurs compositions chimiques. Le présent travail a pour objectif de caractériser deux ressources argileuses locales du Togo (une argile située au sud et une autre au nord), par quatre techniques différentes : DRX, Infra rouge, Analyses thermiques(ATG), ICP-AES. Les résultats obtenus montrent que ces argiles contiennent de la kaolinite riche en silice et qui seront ensuite utilisées pour la synthèse des liants écologiques.

## II. METHODOLOGIE

Pour atteindre l'objectif envisagé, la méthodologie suivante sera adoptée :

### 1. Préparation des échantillons

Les deux types d'argiles utilisées dans cette étude proviennent de deux carrières différentes (une argile A<sub>1</sub> située au sud et la seconde A<sub>2</sub> située au nord du TOGO). Les échantillons de ces argiles prélevés vont subir les opérations suivantes :

- ✓ Concassage des roches des échantillons en morceaux à l'aide d'un mortier en porcelaine,
- ✓ Séchage à l'étuve pendant 24 h ( $t = 105^{\circ}\text{C}$ ),
- ✓ Broyage des morceaux des échantillons argileux dans un broyeur,
- ✓ Tamisage des échantillons pour obtenir de la poudre fine (Tamis de  $75\mu\text{m}$ ).

## 2. Caractérisation physico-chimiques des matières premières

Les propriétés physico-chimiques de ces argiles, ont été déterminées : DRX, Infra rouge, Analyses thermiques(ATG), ICP-AES.

### 2.1 Analyse chimique

La détermination de la composition chimique de la phase minéralogique argileuse a été effectuée par ICP-AES (Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry). Cette méthode permet la détermination des éléments du matériau sous forme de pourcentages massiques de leurs oxydes les plus stables.

### 2.2 Analyse thermogravimétrique

L'analyse thermogravimétrique (ATG) consiste à enregistrer les pertes de masse d'un échantillon de matériau en fonction de la température, liées à des réactions chimiques ou à des départs de constituants volatils adsorbés ou combinés dans un matériau.

### 2.3 Spectrométrie Infrarouge par Transformée de Fourier

La spectrométrie infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) permet de déterminer les différents types de liaisons chimiques dans un matériau. Les différents groupements chimiques constitutifs de la matière possèdent des niveaux de vibrations qui correspondent à des énergies précises.

### 2.4 Analyse par diffraction de rayons X

La diffraction de rayons X (DRX) est l'une des techniques couramment utilisées pour l'identification des phases cristallisées contenues dans un matériau.

## III. RESULTATS OBTENUS ET DISCUSSIONS

### 1- La composition chimique des matières premières :

Les compositions chimiques des matériaux argileux (en % massique) déterminées par ICP montrent que les deux argiles sont composées essentiellement de silice (43,8% dans  $A_1$  et 65,1% dans  $A_2$ ) et d'alumine (34,9 % dans  $A_1$  et 17,5 % dans  $A_2$ ).

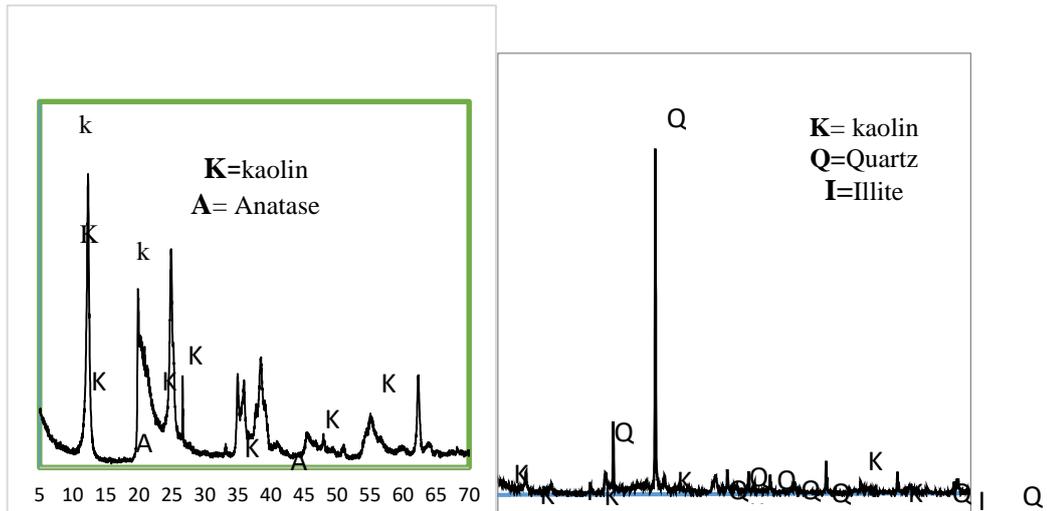
Le pourcentage de la Silice et de l'Aluminium est très important, ceci indique la présence de Kaolinite ( $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ ). Le rapport Alumine/Silice, renseigne sur la perméabilité du matériau vis-à-vis de l'humidité, plus ce rapport est grand plus la perméabilité est importante [3]. Le rapport massique  $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$  est voisin de 1, ce qui indiquerait une forte teneur en kaolinite dans l'argile  $A_1$  (Figure 1). Celui de l'argile  $A_2=3,7$  est supérieur à la valeur classique des bentonites qui est de 2,7. Cette différence indique la présence de Quartz libre dans la fraction argileuse en grande proportion [4] (Figure 1).

**Tableau** : Composition chimique élémentaire des échantillons argileux

% massique	$\text{Al}_2\text{O}_3$	$\text{SiO}_2$	$\text{CaO}$	$\text{Fe}_2\text{O}_3$	$\text{K}_2\text{O}$	$\text{MgO}$	$\text{MnO}$	$\text{P}_2\text{O}_5$	$\text{TiO}_2$	$\text{Na}_2\text{O}$
<b>Argile <math>A_1</math></b>	34.9	43.8	0,14	3.60	0.24	0.146	0.003	0.04	1.39	0.1
<b>Argile <math>A_2</math></b>	17.5	65.1	0,09	2.97	4.32	1.44	0.032	0.03	0.81	1.04

### 2- Diffraction des rayons X :

Les diffractogrammes ont été obtenus à partir des échantillons désorientés (placés directement sous forme de poudre dans un porte-échantillon classique). Les diagrammes des RX des argiles brutes ont montré qu'elles sont composées de Quartz( $\text{SiO}_2$ ), Kaolinite ( $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ ), Illite [ $(\text{K}, \text{H}_3\text{O}) \text{Al}_2\text{Si}_3\text{AlO}_{10}(\text{OH})_2$ ]. Ces résultats sont en parfait accord avec les résultats d'ICP qui montre des proportions élevées de  $\text{SiO}_2$  (Quartz) et de kaolinite.

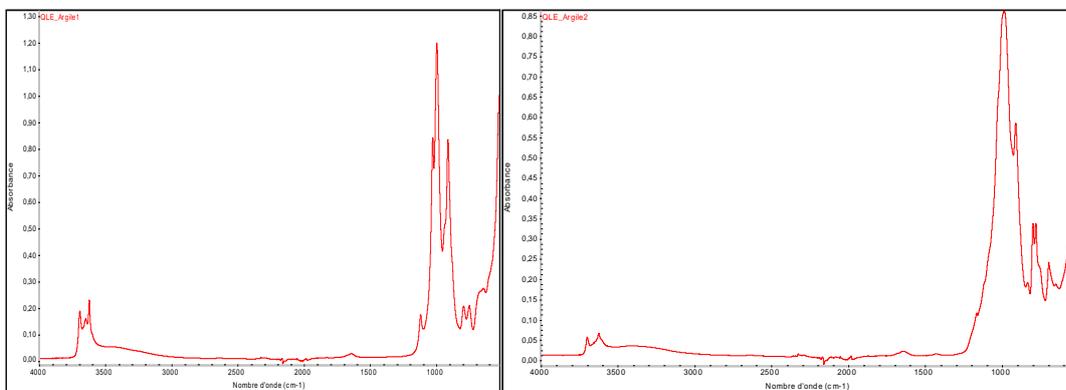


**Figure 1** : DRX des fractions argileuses (Argile A<sub>1</sub> à gauche et Argile A<sub>2</sub> à droite)

Le diffractogramme de rayons X montre que la fraction argileuse A<sub>1</sub> est constituée majoritairement de kaolinite (92%) et d'anatase TiO<sub>2</sub> en faible proportion (5,5%). Celui de la fraction argileuse A<sub>2</sub> montre qu'elle constituée majoritairement de quartz SiO<sub>2</sub> (66,6%), d'illite(19,8%) et de kaolinite(6,5%).

### 3- Infrarouge (IR)

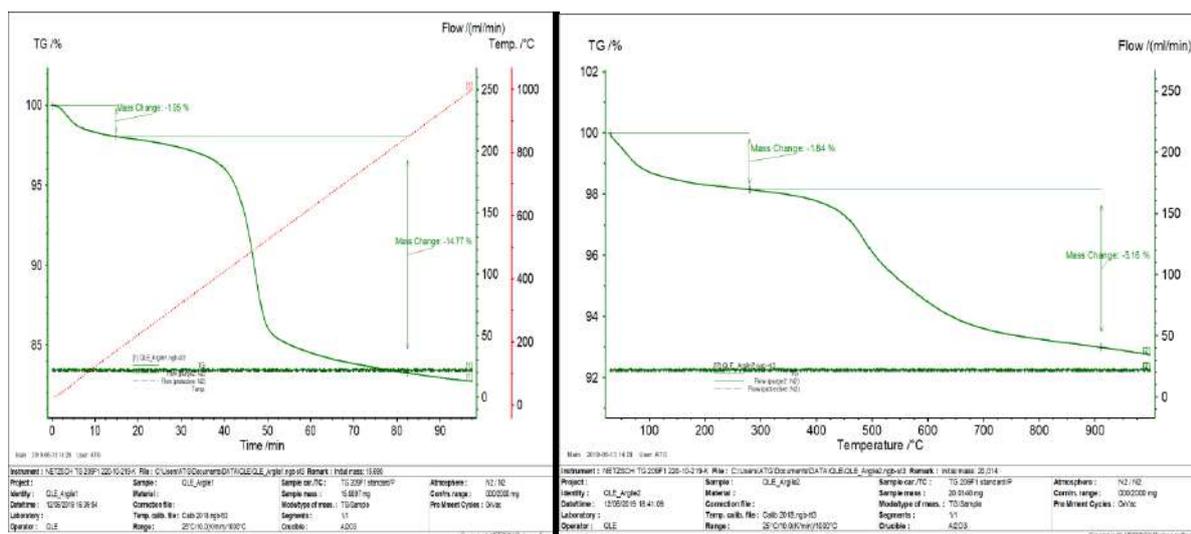
La spectroscopie Infra Rouge a été utilisée pour compléter l'analyse de l'échantillon d'argile. Les spectres obtenus ont montré: Les bandes d'absorption situées entre 3200-3800 cm<sup>-1</sup> relatives aux groupements OH , 1100 cm<sup>-1</sup> correspond aux vibrations de valence de la liaison Si-O-Al, entre 1000-1050 cm<sup>-1</sup> les liaisons Si-O-Si caractéristiques de la phase kaolinite qui sont en accord avec la DRX indiquant la présence de la Kaolinite dans l'argile , La bande qui s'étale entre 750-780 cm<sup>-1</sup> est attribuée aux vibrations de liaison O-Si-O dues au Quartz [5]. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés à partir de DRX. Ils confirment la présence du Quartz, de la Kaolinite et de l'Illite dans les argiles étudiées.



**Figure 2** : IR des fractions argileuses (Argile A<sub>1</sub> à gauche et Argile A<sub>2</sub> à droite)

### 4- Analyses thermiques(ATG)

Dans le but d'obtenir des informations complémentaires avec celles provenant de l'analyse minéralogique donnée par la diffraction de rayons X, l'analyse thermique et thermogravimétrique (ATG) a été effectuée sur nos matériaux argileux. La figure 2 présente le thermogramme d'ATG les fractions argileuses.



**Figure 3** : Les thermogrammes d'ATG des fractions argileuses (**Argile A<sub>1</sub>** à gauche et **Argile A<sub>2</sub>** à droite)

Les minéraux argileux comprennent différents types de groupement OH ou de molécules d'eau dans leur structure, qui sont caractérisés par leur énergie de liaison [6]. Dans la plupart des cas, pour un minéral argileux, les courbes d'analyse thermique obtenues comportent différents paliers correspondant à la perte des différents types d'eau et à une réorganisation structurale.

(i) perte de l'eau libre ou l'eau adsorbée dans l'espace interfoliaire, disposée en une ou deux couches généralement vers 80-200 °C.

(ii) perte de l'eau structurale, c'est-à-dire des groupements OH de la structure, qui débute à partir de 500 °C. Cette perte est connue par la déshydroxylation. Il se forme, suite à cette perte une phase désordonnée appelée métakaolinite surtout pour les argiles qui sont essentiellement de type kaolinitique [7, 8,9]. La métakaolinite est la phase la plus réactive de la série des transformations thermiques de la kaolinite.

(iii) entre 900 et 980 °C, il y a une réorganisation structurale due à la démixtion de la métakaolinite en micro-domaines riche en silice ou en alumine. [10].

#### IV. Conclusion

Les techniques expérimentales utilisées nous ont permis de mettre en évidence les phases minérales ainsi que les compositions chimiques des argiles analysées. Nous avons ainsi établi que ces argiles sont constituées essentiellement de Kaolinite, d'Illite. Ces résultats ont aussi permis d'identifier les deux types argiles: l'argile A<sub>1</sub> est plus riche en kaolinite alors l'argile 2 est riche en quartz associée à l'illite et à la kaolinite. Les résultats obtenus montrent que ces argiles contiennent de la kaolinite et qui seront ensuite utilisées pour la synthèse des liants écologiques

#### V. Références bibliographiques

- [1] Vatan A., OPHRYS. Manuel de sédimentologie. Paris. (2000). Vol 1. ISBN 9782710800736.
- [2] Gado TCHANGBEDJI. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* (2004):017: (155-166)
- [3] Jarraya I., Fourmentin S., Benzina M., *J. Soc. Chim. Tun.* 12 (2010) 139.
- [4] Touhtouh D., Elfaleh E.M., Moujahid Y... *J. Mater. Environ. Sci.* 5 (S2) (2014) 2535.
- [5] Bouna L., Univ. Cadi Ayyad FST – Marr. Vol 1. (2012) 122.
- [6] C. Manoharan, P. Suthrsan, S. Dhanapandian, R. Venkatachalapathy, Spectroscopic and thermal analysis of red clay for industrial applications from Tamilnadu. *Indian Journal of Molecular Structure*, 2012, vol. 1027, p. 99-103.
- [7] G.W. Brindley, M. Nakahira, The kaolinite-mullite reaction series: I Survey of outstanding problems. II Metakaolin. III The high temperature phase. *Journal of American Ceramic Society*, 1959, vol. 42, p.311-324.
- [8] G.W. Brindley, J.H. Sharp, J.H. Patterson, A. Narahari, Kinetics and mechanism of dehydroxylation processes. *American Mineralogy*, 1967, vol. 52, p. 201-211.
- [9] I. Horvath, G. Kranz, A thermoanalytical study of high temperature dehydration of kaolinites with various structural arrangements. *Silikaty*, 1980, vol. 24, p. 149-156.
- [10] V. Balek, M. Murat, The emanation thermal analysis of kaolinite clays minerals. *Thermochimica Acta*, 1996, vol. 282, p. 385-397.

## Optimisation de la Delignification de la Cosse de Cabosse de Cacao en Vue de la Valoriser en Bioproduits.

Ouattara Leygnima Yaya<sup>1</sup>, Yao Kouassi Benjamin<sup>1</sup>.

[leygnima.ouattara18@inphb.ci](mailto:leygnima.ouattara18@inphb.ci) [benjamin.yao@inphb.ci](mailto:benjamin.yao@inphb.ci)

<sup>1</sup>Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), Unité Mixte de Recherche et d'Innovation en Sciences des Procédés Chimiques, Alimentaires Environnementaux et énergétiques, Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

### Résumé

La cosse de cabosse de cacao est le principal sous-produit (70-75% en poids du fruit entier) [1] du cacao. La Côte d'Ivoire est le premier producteur mondial de fèves, avec 2,01 millions de tonnes/an ; soit plus de 50,25 milliards de cosses [2] générées et non valorisées. Ces résidus augmentent constamment en raison de la demande mondiale croissante de produits chocolatés. Cependant peu d'informations existent sur leurs potentielles de valorisations. En outre il sont considérés comme des déchets et source de problèmes environnementaux [3]. En vue de la valorisation de ce résidu agricole en bioproduits, cette étude a été réalisée. Ainsi, après séchage et broyage du matériau, la caractérisation physico-chimique et biochimique a révélé des teneurs élevées en carbone fixe ( $31,11 \pm 0,32\%$ ), en calcium (1,662%), potassium (2,795%), en fibres brutes ( $48,5 \pm 4,45\%$ ), en glucides ( $67,07 \pm 2,20\%$ ), en cellulose ( $31,68 \pm 2,07\%$ ), en hémicellulose ( $16,97 \pm 2,07$ ) et en lignine ( $25,62 \pm 4,32\%$ ). L'optimisation du prétraitement en utilisant un plan centrale composite a permis d'atteindre un degré de délignification maximal de 93,88 %. Ceci ouvre la possibilité de valoriser cette agrossource en de nombreux bioproduits à faibles impacts sur l'environnement.

**Mots clés :** Cosse de cabosse de cacao, optimisation, délignification, bioproduits.

## Optimization of the Delignification of Cocoa Pod Husk with a view to valorizing it in Bioproduits.

### Abstract

Cocoa pod husk is the main by-product (70-75% by weight of the whole fruit) [1] of cocoa. Côte d'Ivoire is the world's largest producer of beans, with 2.01 million tonnes/year; or more than 50.25 billion pods [2] generated and not recovered. These residues are constantly increasing due to the growing worldwide demand for chocolate products. However, little information exists on their potential valuations. In addition, they are considered to be waste and a source of environmental problems [3]. With a view to the valorization of this agricultural residue in bioproduits, this study was carried out. Thus, after drying and grinding of the material, the physico-chemical and biochemical characterization revealed high contents of fixed carbon ( $31.11 \pm 0.32\%$ ), calcium (1.662%), potassium (2.795%), fibers Crude ( $48.5 \pm 4.45\%$ ), carbohydrate ( $67.07 \pm 2.20\%$ ), cellulose ( $31.68 \pm 2.07\%$ ), hemicellulose ( $16.97 \pm 2.07$ ) and Lignin ( $25.62 \pm 4.32\%$ ). Optimizing the pretreatment using a composite center design achieved a maximum degree of delignification of 93.884%. This opens up the possibility of enhancing this agrossource in numerous bioproduits with low environmental impacts.

**Keywords:** Cocoa pod husk, optimization, delignification, bioproduits.

### 1. Introduction

En raison des préoccupations croissantes concernant l'environnement, le changement climatique et les ressources naturelles limitées, des efforts considérables ont récemment été déployés pour produire des produits chimiques et des matériaux à partir de la biomasse renouvelable [4]. La biomasse en tant que ressource renouvelable est en effet considérée comme la seule matière première pour la production durable de produits chimiques [5]. Dans ce contexte, plusieurs études [6]–[8] se sont concentrées sur l'utilisation des résidus lignocellulosiques en tant que matière première, grâce à leur disponibilité en tant que résidus organiques et au fait qu'ils ne sont pas complètement exploités dans les systèmes de production agro-industrielle actuels. La cosse de cabosse de cacao est une source lignocellulosique riche en glucide (43,9% à 45,2% ) [9] et est facilement disponible dans les pays d'Afrique de l'Ouest comme la Côte d'Ivoire, qui a produit 2,15 millions de tonnes de fèves de cacao en 2019 [10], soit 42% de la production mondiale [11]. Parallèlement, on estime la production de cosses de cabosses de cacao à 6,450 millions de tonnes de cosses, qui représentent plus de 75% du poids sec du fruit entier [12]. Cependant les hydrates de carbone dans les résidus lignocellulosiques se trouvent dans un réseau réticulaire fort. Par conséquent, un prétraitement est nécessaire pour modifier leur structure et rendre accessible ces glucides [13]. Dans ce contexte, l'application de prétraitement appropriées s'avère cruciale, afin de briser

la récalcitrance cohérente de cette biomasse. Il vise à briser la structure de la lignine et perturber la structure cristalline de la cellulose et de l'hémicellulose [14] afin d'augmenter la sensibilité de la biomasse à la saccharification enzymatique [15], ou à l'hydrolyse acide, pour générer des monosaccharides fermentescibles. Ainsi, l'optimisation des conditions de prétraitement avant le processus de mise en valeur de cette biomasse, doit être l'une des étapes les plus importantes dans le développement d'une méthode efficace et économique [16]. C'est ainsi que plusieurs stratégies de prétraitements ont été explorées : physiques, physico-chimique, chimiques, biologiques, et combinés. Cependant, les procédés de prétraitement physique et physico-chimique se sont avérés être non viables sur le plan énergétique et les procédés de prétraitement biologique peuvent être coûteux et prendre du temps. Les prétraitements chimiques en revanche, ont été les plus étudiés et ceux utilisant les alcalins en particulier ont connu un succès considérable [17]. En effet, ils sont utilisés pour éliminer efficacement et sélectivement la lignine et permettre ainsi l'augmentation de la digestibilité de la cellulose. En outre, ils entraînent moins de solubilisation des hémicelluloses et moins de formation de composés inhibiteurs et fonctionnent à basses températures [18]. Par conséquent, la présente étude s'est concentrée sur l'optimisation de la délignification de ce co-produit du cacao, par l'hydroxyde de potassium (KOH) en utilisant une conception centrale composite basée sur une méthodologie de surface de réponse (MSR).

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal présenté à la figure 1 est constitué principalement de cosses de cabosses de cacao issues de la récolte du cacao dans la région de Soubré (Sud-Ouest de la Côte d'Ivoire).



**Figure :1** Cosses de cabosses de cacao fraîches (A), sèches (B) et en poudre (C).

### 2.2. Produits chimiques et solvants

Tous les produits chimiques et solvants utilisés étaient de qualité réactif analytique.

### 2.3. Méthodes

#### 2.3.1. Récolte du matériau

Des cosses de cabosses de cacao mûres sont récoltées, dans une plantation située dans le village de *Balodougou* (Soubré), dans la région de la Nawa (Sud-ouest, Côte d'Ivoire). Chaque cabosse mure est nettoyée et coupée pour éliminer les graines pulpeuses et le mucilage. Les cabosses vides sont ensuite lavées à l'eau pour éliminer le mucilage résiduel, puis hachées à l'aide d'un couteau en acier inoxydable.

#### 2.3.2. Séchage et broyage du matériau

Les cosses sont coupées en petits morceaux, séchées au soleil pendant 48 heures puis à 60°C au séchoir à air chaud (*Electric hot air food dryer*) pendant 24 heures, puis broyées à l'aide d'un broyeur à marteaux de laboratoire (*AR 108<sup>B</sup>*) muni d'un tamis de 250 µm puis emballées dans des récipients en polyéthylène pour les protéger de l'humidité, puis conservées à température ambiante pour des analyses ultérieures.

#### 2.3.3. Composition lignocellulosique

Teneur en glucides

La teneur en glucides est déterminée par déduction selon la relation suivante :

$$\% \text{ Glucides} = 100 - (\% \text{ Humidité} + \% \text{ Protéine} + \% \text{ lipides} + \% \text{ Cendre}) \quad (1)$$

Teneur en extractibles, lignines, cellulose, hémicelluloses

- ✓ La teneur en extractibles est déterminée suivant la procédure suivante [19].
- ✓ Le taux de lignine insoluble dans l'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) est déterminé par gravimétrie suivant la procédure d'analyse en laboratoire (LAP) adoptée par le *National Renewable Energy Laboratory* (NREL) [20].
- ✓ La teneur en holocellulose est déterminée par la méthode au chlorite [21].

✓ La cellulose a été isolée de l'holocellulose après solubilisation des hémicelluloses dans une solution diluée de NaOH [22]. La teneur en hémicellulose est déterminée par différence.

## 2.4. Optimisation du prétraitement thermochimique à l'aide de KOH

### 2.4.1. Procédure de délignification

Une masse de poudre de cosse est mise dans 100 mL d'une solution aqueuse de KOH à différentes concentrations, pendant une durée et une température donnée. La suspension est ensuite passée au bain-marie ou à l'autoclave. Après cette opération, le substrat solide délignifié est séparé de l'hydrolysate obtenu par filtration sur papier Whatman N°1 puis lavé avec de l'eau distillée jusqu'à un pH neutre et séchée à l'étuve à 105°C pendant 6 heures [23].

### 2.4.2. Degré de délignification (D)

C'est la fraction pondérale de lignine éliminée pendant le prétraitement et notée D :

$$D (\%) = (1 - L \cdot m_{pre} / L_0 \cdot m_s) \cdot 100 \quad (3) \quad [15]$$

**L** : concentration de lignine dans la biomasse prétraitée (%), **L<sub>0</sub>** : concentration de lignine dans la biomasse brute (%), **m<sub>pre</sub>** : masse sèche de biomasse récupérée après prétraitement (g m.s.), **m<sub>s</sub>** : masse sèche de la biomasse brute (non traitée) utilisée (g m.s.).

### 2.4.3. Conception du plan central composite

Les facteurs influents ont été soumis à une conception centrale composite, pour identifier les conditions optimales de prétraitement à l'aide du logiciel *Design Expert* version DEMO. Cette méthodologie permet la formulation d'un polynôme du second ordre (équation 4) qui décrit le processus :

$$Y = b_0 + \sum b_i X_i + \sum \sum b_{ij} X_i X_j + \sum b_{ii} X_i^2 \quad (4)$$

Où, **b<sub>0</sub>** est l'effet moyen, **b<sub>i</sub>** les effets principaux, **b<sub>ij</sub>** les effets d'interaction d'ordre 2, **b<sub>ii</sub>** les effets quadratiques et **X<sub>i</sub>**, **X<sub>j</sub>** les variables codées. Elle aidera à étudier les effets linéaires, quadratiques, cubiques et d'interactions des variables du processus de prétraitement, sur le degré de délignification.

### 2.4.4. Ajustement du modèle et analyse statistique

La qualité de l'ajustement du modèle de régression est exprimée par les coefficients de régression (**R<sup>2</sup>**), la signification statistique est déterminée par le test F de Fisher, la valeur p, le test t, (ANOVA), la surface de réponse a été évaluée pour estimer le modèle ainsi que pour déterminer les niveaux optimaux.

### 2.4.5. Validation du modèle

L'analyse des erreurs calculées et le coefficient de détermination (**R<sup>2</sup>**) entre les résultats prédits par le modèle et les résultats expérimentaux permettront de déterminer la proximité.

## 3. Résultats et discussion

Pour déterminer l'efficacité de la délignification par l'hydroxyde de potassium (KOH) sur la cosse de cabosse de cacao, la composition de la matière première a été étudiée.

### 3.1. Composition lignocellulosique

Le tableau I présente les résultats de la composition lignocellulosique du CPH.

**Tableau I** : Composition lignocellulosique de la cosse de cabosse de cacao (CPH).

Lignin (%)	Cellulose (%)	Hemicellulose (%)	Extractibles (%)	Reference
24.16	28.25	16.75	-	[24]
14.70	35.40	37.00	-	[25]
33.96	30.41	11.97	23.66 ± 1.77	[26]
34.82	44.69	11.15	-	[23]
<b>25.62 ± 4.32</b>	<b>31.68 ± 2.07</b>	<b>16.97 ± 2.07</b>	<b>21.57 ± 1.04</b>	<b>Présente étude</b>

La comparaison de nos résultats avec ceux observés dans la littérature a montré plusieurs disparités. Ces différences observées pourraient être liées aux facteurs géographiques, à la localisation des matériaux collectés, aux différentes méthodes d'analyses, à la variété de la biomasse, aux différences dans les solvants utilisés, mais aussi aux différentes conditions climatiques et de stockage. En effet la maturation du matériel végétal vivant a tendance à augmenter les teneurs en lignine et en lignocellulose [14]. Les valeurs obtenues pour l'ensemble des fibres lignocellulosiques sont proches de celles rapportées dans des travaux récents [24]. Nos valeurs en cellulose sont en générale proches de celles rapportées dans la littérature [24]–[26]. Cependant, du fait de la teneur élevée en lignine, des stratégies de prétraitements sont nécessaires pour la valorisation de ce co-produit en bioproduits.

### 3.2. Optimisation de la délignification de la cosse de cabosse de cacao

#### 3.2.1. Recherche de conditions optimales à partir des facteurs influents

Le tableau II, présente les valeurs codées et réelles des variables étudiées dans cette conception.

**Tableau II :** Variables codées et niveaux réels utilisés dans la conception composite centrale.

Variables	Unité	Symbole codé	Niveaux codés				
			- $\sigma$	-1	0	1	+ $\sigma$
Rapport biomasse/solvant	% p/v	X <sub>1</sub>	3,96	5	7,5	10	11,04
Température	°C	X <sub>2</sub>	9,29	30	80	130	151,71

Le tableau III et IV présentent respectivement, la matrice d'expérience et d'expérimentation.

**Tableau III :** Matrice d'expérience de la conception composite centrale.

N° d'essai	Rapport biomasse/solvant (%) (X <sub>1</sub> )	Température (°C) (X <sub>2</sub> )
1	-1	-1
2	1	-1
3	-1	1
4	1	1
5	-1.41421	0
6	1.41421	0
7	0	-1.41421
8	0	1.41421
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	0
13	0	0

**Tableau IV :** Plan d'expérimentation et résultats de la délignification.

N° d'essai	Rapport biomasse/solvant (%) (X <sub>1</sub> )	Température (°C) (X <sub>2</sub> )	Degré de délignification (%)
1	5	30	75.6225
2	10	30	87.9662
3	5	130	85.7900
4	10	130	93.8675
5	3.964	80	74.9004
6	11.036	80	91.1809
7	7.5	9.289	86.2565
8	7.5	150.711	92.5554
9	7.5	80	86.2325
10	7.5	80	89.8481
11	7.5	80	90.7439
12	7.5	80	90.7825
13	7.5	80	90.7792

Les données de l'étude de prétraitement obtenues ont été soumises à une analyse de variance.

#### 3.2.2. Choix du modèle

**Tableau V :** Statistiques récapitulatives du modèle.

Source	Std. Dev.	R <sup>2</sup>	Adjusted R <sup>2</sup>	Predicted R <sup>2</sup>	Df	PRESS	F-value	p-value	Suggestion
Linear	3.31	0.7417	0.6900	0.5295	6	199.15	4.05	0.0986	
<b>Quadratic</b>	<b>1.82</b>	<b>0.9455</b>	<b>0.9066</b>	<b>0.8153</b>	<b>3</b>	<b>78.18</b>	<b>0.6547</b>	<b>0.6209</b>	<b>Suggested</b>
Cubic	1.78	0.9627	0.9104	0.8916	1	45.88	0.0877	0.7819	Aliased

$R^2$  prédit (0,815) est en accord avec  $R^2$  ajusté (0,9066) ; c'est-à-dire que la différence est inférieure à 0,2.

### 3.2.3. ANOVA pour le modèle quadratique

Le tableau VI présente la statistique relative au modèle quadratique.

La valeur F (24,29) du modèle montre sa significativité. En outre, des valeurs p inférieures à 0,05 indiquent que les termes du modèle sont significatifs à un intervalle de confiance à 95%. Sur cette base, les facteurs A, B et  $A^2$  sont les termes significatifs. La valeur F (0,65) du manque d'ajustement implique sa non-significativité par rapport à l'erreur pure. Il y a 62,09 % de chances qu'une valeur F de manque d'ajustement aussi élevée se produise en raison du bruit. Ce qui est souhaitable dans notre cas.

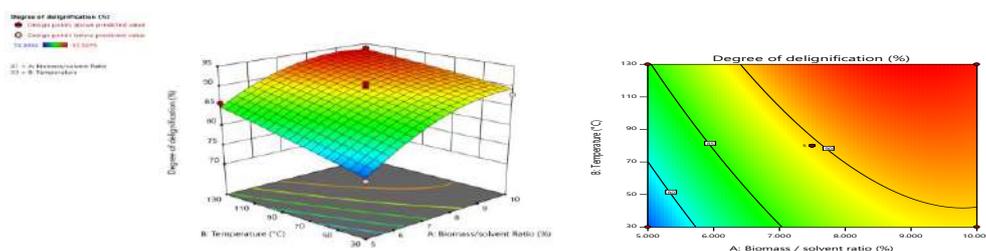
**Tableau VI :** Analyse de la variance (ANOVA) relative au modèle quadratique.

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	Significance
Model	400.20	5	80.04	24.29	0.0003	significant
Rapport (A) biomasse/solvant	235.94	1	235.94	71.60	6.35844E-05	
Température (B)	77.98	1	77.98	23.67	0.0018	
AB	4.55	1	4.55	1.38	0.2784	
$A^2$	81.42	1	81.42	24.71	0.0016	
$B^2$	0.3959	1	0.3959	0.1202	0.7390	
Residual	23.06	7	3.29	-	-	
Lack of Fit	7.60	3	2.53	0.6547	0.6209	not significant
Pure Error	15.47	4	3.87	-	-	

### 3.2.4. Influence de variables indépendantes sur le degré de délignification

Selon la figure 2, le degré de délignification augmente continuellement avec la température. Cette tendance a été observée [27], et pourrait être due à l'élimination de la lignine avec l'augmentation de la température [28]. En outre, la délignification a présenté une dépendance quadratique du rapport biomasse/solvant, avec un effet élevé du terme  $A^2$  (p-value < 0,05). Ceci serait lié à la disponibilité du KOH [29]. En outre, avec la contrainte que la délignification était maximale, les conditions optimisées étaient : 9,14 % pour le rapport biomasse/solvant à 128,28 °C et 93,88 % de délignification.

Par ailleurs, une délignification de 71,34%, a été obtenue pour ce co-produit, par  $H_2O_2$  avec 7,5% (p/v) de  $H_2O_2$ , à 30°C, pendant 75 min. De même, il a été prétraité avec un rapport biomasse/solvant de 10 % dans 0,75% p/v de NaOH à 121°C en 20 min dans un autoclave [30], avec une délignification maximal de 43,78%. Aussi, quelques études ont rapporté les conditions optimales pour d'autres substrats tels que la tige de coton (120°C en 1heure à 3% de KOH, une délignification de 68,86 %) [17]. La paille de maïs à 50°C pour 2% de KOH en 24 heures et une délignification de 87,7%) [15].



**Figure 2 :** Tracés de surface (3D) et de contour (2D) montrant l'effet de la température et du rapport biomasse/solvant sur le degré de délignification.

### 3.2.5. Équation du modèle suggéré et validation du modèle

L'équation de régression pour la délignification par KOH, en fonction des deux variables indépendantes ( $X_1$  et  $X_2$ ) et de leurs interactions linéaires et quadratiques, est exprimée par le modèle suivant :

$$Y_1 = 31.86872 + 11.06579X_1 + 0.141704X_2 - 0.008532X_1X_2 - 0.547396X_{11} - 0.000095X_{22}.$$

Les valeurs observées ont été comparées à celles prédites par le modèle. La figure 3, montre un accord entre ces données, du fait des points groupés autour de la droite de régression.

Ainsi, le degré de délignification de ce co-produit par KOH, pourraient être obtenus grâce à la capacité de prédiction ponctuelle du logiciel.

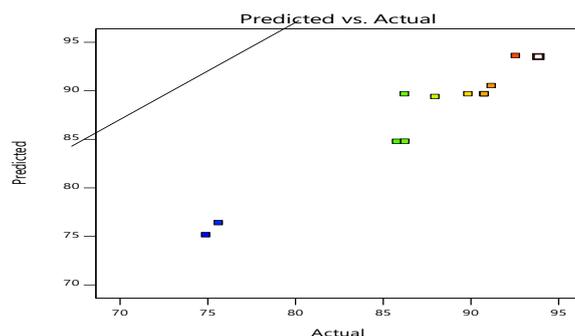


Figure 3 : Degré de délignification observé et prédit par le modèle.

#### 4. Conclusion

La cosse de cabosse de cacao ivoirienne est riche en composition chimique, biochimique et lignocellulosiques. Ceci pourrait susciter son utilisation comme substrat pour la production de composés bioactifs de plateformes. Dans ce contexte, une étude d'optimisation de son prétraitement, par KOH a été entreprise en utilisant une conception centrale composite basée sur une méthodologie de surface de réponse. Cette étude a permis de montrer que KOH est efficace pour la délignification de cette biomasse.

#### References bibliographiques

- [1] F. Lu *et al.*, « Valorisation strategies for cocoa pod husk and its fractions », *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, vol. 14, p. 80-88, déc. 2018, doi: 10.1016/j.cogsc.2018.07.007.
- [2] E. K. Kouakou, C. Amed, et F. K. Kouakou, « Cocoa Pod in the Ivorian Plantations: Green Gold Neglected and Bulky? », *Nutrition & Food Science International Journal*, vol. 7, n° 2, p. 3, 2018, doi: 10.19080/NFSIJ.2018.07.555709.
- [3] Z. S. Vásquez *et al.*, « Biotechnological approaches for cocoa waste management: A review », *Waste Management*, vol. 90, p. 72-83, mai 2019, doi: 10.1016/j.wasman.2019.04.030.
- [4] J. W. Lee, H. U. Kim, S. Choi, J. Yi, et S. Y. Lee, « Microbial production of building block chemicals and polymers », *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 22, n° 6, p. 758-767, déc. 2011, doi: 10.1016/j.copbio.2011.02.011.
- [5] D. Mansur, T. Tago, T. Masuda, et H. Abimanyu, « Conversion of cacao pod husks by pyrolysis and catalytic reaction to produce useful chemicals », *biomass and bioenergy*, vol. 66, p. 275-285, 2014.
- [6] E. C. Bensah et M. Mensah, « Chemical Pretreatment Methods for the Production of Cellulosic Ethanol: Technologies and Innovations », *International Journal of Chemical Engineering*, vol. 2013, p. e719607, oct. 2013, doi: <https://doi.org/10.1155/2013/719607>.
- [7] A. D. N. F. Júnior *et al.*, « Alkaline pretreatment of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) waste for unlocking low-cost cellulosic biofuel », *Fuel*, vol. 266, p. 117068, avr. 2020, doi: 10.1016/j.fuel.2020.117068.
- [8] R. Sharma, V. Palled, R. R. Sharma-Shivappa, et J. Osborne, « Potential of Potassium Hydroxide Pretreatment of Switchgrass for Fermentable Sugar Production », *Appl Biochem Biotechnol*, vol. 169, n° 3, p. 761-772, févr. 2013, doi: 10.1007/s12010-012-0009-x.
- [9] O. A. Samah, S. Sias, Y. G. Hua, et N. N. Hussin, « Production of Ethanol from Cocoa Pod Hydrolysate », *ITB J. Sci*, vol. 43 A, n° 2, p. 87-94, 2011.
- [10] « Fèves de cacao : production mondiale par pays 2016-2019 », *Statista*, 2019. <https://fr.statista.com/statistiques/565101/production-mondiale-feves-cacao-volume-par-pays/> (consulté le avr. 11, 2020).
- [11] « International Cocoa Organization (ICCO) », *International Cocoa Organization (ICCO)*, 2019. <https://www.icco.org/about-us/icco-news/408-may-2019-quarterly-bulletin-of-cocoa-statistics.html> (consulté le sept. 10, 2020).
- [12] R. Campos-Vega, K. H. Nieto-Figueroa, et B. D. Oomah, « Cocoa (*Theobroma cacao* L.) pod husk: Renewable source of bioactive compounds », *Trends in Food Science & Technology*, vol. 81, p. 172-184, nov. 2018, doi: 10.1016/j.tifs.2018.09.022.
- [13] P. Arenas-Cárdenas, A. López-López, G. E. Moeller-Chávez, et E. León-Becerril, « Current Pretreatments of Lignocellulosic Residues in the Production of Bioethanol », *Waste Biomass Valor*, vol. 8, n° 1, p. 161-181, janv. 2017, doi: 10.1007/s12649-016-9559-4.
- [14] T. Thamsee, S. Choojit, B. Cheirsilp, R. Yamseangsung, T. Ruengpeerakul, et C. Sangwichien, « Combination of Superheated Steam Explosion and Alkaline Autoclaving Pretreatment for Improvement of

- Enzymatic Digestibility of the Oil Palm Tree Residues as Alternative Sugar Sources », *Waste Biomass Valor*, vol. 10, n° 10, p. 3009-3023, oct. 2019, doi: 10.1007/s12649-018-0292-z.
- [15] K. Dąbkowska-Suszał, « Efficiency of Corn and Poplar Biomass Saccharification after Pretreatment with Potassium Hydroxide », *Ecological Chemistry and Engineering S*, vol. 27, n° 1, p. 41-53, mars 2020, doi: 10.2478/eces-2020-0002.
- [16] J. Y. Jung, S. Y. Ha, J. H. Park, et J.-K. Yang, « Optimization of Alkali Pretreatment from Steam Exploded Barley Husk to Enhance Glucose Fraction Using Response Surface Methodology », *목재공학*, vol. 45, n° 2, p. 182-194, mars 2017, doi: 10.5658/WOOD.2017.45.2.182.
- [17] P. Kumari *et al.*, « Effect of Potassium Hydroxide (KOH) Pretreatment on Solids Recovery, Delignification and Total Sugars of Cotton Stalk », *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, vol. 8, n° 02, p. 2457-2467, févr. 2019, doi: 10.20546/ijcmas.2019.802.286.
- [18] L. J. Jönsson et C. Martín, « Pretreatment of lignocellulose: Formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects », *Bioresource Technology*, vol. 199, p. 103-112, janv. 2016, doi: 10.1016/j.biortech.2015.10.009.
- [19] A. Poursat, « 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, Mémoire de Maitrise, 2015.
- [20] A. Sluiter *et al.*, « Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass », National Renewable Energy Laboratory (NREL), Denver West Parkway (USA), Technical Report NREL/TP-510-42618, 2012.
- [21] H. L. Boudjema, « Elaboration de matériaux composites biodégradables issus de ressources renouvelables », thèse de Doctorat, Oran 2, Algérie, 2016. [En ligne]. Disponible sur: <https://ds.univ-oran2.dz:8443/jspui/handle/123456789/468>
- [22] M. E. H. Bourahli, « Caractérisation d'un composite verre / époxy », thèse de Doctorat, FERHAT ABBAS-SETIF 1, Algérie, 2018.
- [23] N. Nazir, E. Juita, C. Amelia, et R. Fatli, « Optimization of Pre-treatment Process of Cocoa Pod Husk Using Various Chemical Solvents », *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, vol. 6, n° 3, p. 403-409, 2016.
- [24] K. Sandesh, R. K. Shishir, et C. Vaman Rao, « Optimization and comparison of induction heating and LPG assisted acid pretreatment of cocoa pod for ABE fermentation », *Fuel*, vol. 262, p. 116499, févr. 2020, doi: 10.1016/j.fuel.2019.116499.
- [25] Z. Daud, A. S. M. Kassim, A. M. Aripin, H. Awang, et Z. M. Hatta, « Chemical Composition and Morphological of Cocoa Pod Husks and Cassava Peels for Pulp and Paper Production », *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, vol. 7, n° 9, p. 406-411, 2013.
- [26] J. O. Titiloye, M. S. A. Bakar, et T. E. Odetoeye, « Thermochemical characterisation of agricultural wastes from West Africa », *Industrial crops and products*, vol. 47, p. 199-203, 2013.
- [27] L. D. Mthembu, « Valorization of Sugarcane Bagasse to a Platform Chemical (Levulinic Acid) Catalysed by 1-Butyl-2,3-dimethylimidazolium Tetrafluoroborate ([BMMim][BF4]) », *Waste and Biomass Valorization*, p. 11, 2021.
- [28] L. do S. S. de Souza, A. M. Pereira, M. A. dos Santos Farias, R. L. e Oliveira, S. D. Junior, et J. N. N. Quaresma, « Valorization of Andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) Residues through Optimization of Alkaline Pretreatment to Obtain Fermentable Sugars », *BioResources*, vol. 15, n° 1, p. 894-909, 2020.
- [29] V. B. Shet *et al.*, « Acid hydrolysis optimization of cocoa pod shell using response surface methodology approach toward ethanol production », *Agriculture and Natural Resources*, vol. 52, n° 6, p. 581-587, déc. 2018, doi: 10.1016/j.anres.2018.11.022.
- [30] Ward-Doria M, Arzuaga-Garrido J, Ojeda K.A, et Sánchez E, « Production of biogas from acid and alkaline pretreated cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.) », *International Journal of ChemTech Research*, vol. 9, n° 11, p. 252-260, 2016.

## **Caractérisation et valorisation des différents composants issus des traitements des phosphates naturels de Hahotoé-Kpogamé du Togo par formulation des agrégats légers**

ZOUNON Dodji<sup>1</sup>, KORIKO Moursalou<sup>1</sup>, TCHEGUENI Sanonka<sup>1</sup>, DEGBE Koffi Agbegnigan<sup>1</sup>,  
TCHANGBEDJI Gado<sup>1</sup>

*1 : Laboratoire GTVD (Gestion Traitement et Valorisation des Déchets), Faculté Des Sciences, Université de, BP : 1515, Lomé, TOGO*

**Résumé :** Débuté en 1957, l'exploitation du phosphate au Togo entraîne la pollution des écosystèmes terrestres et marins. Par exemple, la consommation des produits halieutiques contaminés par ces déchets phosphatés peut causer certaines maladies telles que la déformation de la colonne vertébrale, de la fracture des os et de la fluorose par perte des dents. Il est donc impératif de développer des méthodes de recyclage et de valorisation de ces déchets dans les domaines agricoles tels que la formulation des agrégats légers. Ce qui impose les caractérisations physicochimiques de ces déchets. Et c'est dans ce sens que nous avons réalisés d'abord les caractérisations de ces déchets phosphatés avant d'étudier les formulations des agrégats légers. Les caractérisations de ces déchets ont été effectuées par FTIR, DRX, ATG et ICP-AES. Ces analyses ont révélé que les déchets contiennent du calcium, du phosphore, du silicium et de l'aluminium. Ensuite, nous avons effectué la fabrication et quelques caractérisations des agrégats légers après l'enrichissement des déchets avec de l'argile.

**Mots clés :** boues phosphatées, phosphates naturels, agrégats légers.

## **Characterization and valorization of the different components resulting from the natural phosphate treatments of Hahotoé-Kpogamé from Togo**

**Abstract:** Started in 1957, the exploitation of phosphate in Togo leads to the pollution of terrestrial and marine ecosystems. For example, the consumption of fish products contaminated with this phosphate waste can cause certain diseases such as deformity of the spine, fracture of bones and fluorosis from loss of teeth. It is therefore imperative to develop methods for recycling and recovering this waste in agricultural fields such as the formulation of light aggregates. This imposes the physicochemical characterizations of this waste. And it is in this sense that we first carried out the characterizations of this phosphate waste before studying the formulations of the lightweight aggregate. The characterizations of this waste were carried out by FTIR, DRX, ATG and ICP-AES. These analyzes revealed that the waste contains calcium, phosphorus, silicon and aluminum. Then we did the fabrication and some characterization of the lightweight aggregate after enriching the waste with clay.

**Keywords :** phosphate sludges ; Raw phosphate ; lightweight aggregate .

### **1.Introduction**

La valorisation des déchets de l'industrie minière intéresse depuis quelques années les chercheurs et scientifiques des pays exportateurs. Déchargés à l'usine, les minerais sont ensuite traités : ils sont homogénéisés par dosage de qualités différentes selon les carrières, puis envoyés vers des cribleurs et des cyclones de séparation gravimétrique. Mélangés à l'eau de mer, les phosphates sont ensuite essorés une fois et rincés à l'eau douce. Ils sont amenés à un faible taux d'humidité par séchage dans de grands fours horizontaux. Après récupération des particules fines, tamisage final et élimination des oxydes de fer dans un séparateur électromagnétique, le phosphate est prêt à être expédié. Les effluents et les poussières provenant de la gestion des résidus miniers et des stériles du processus de fabrication doivent être traités car ils ont un impact important sur l'environnement et peuvent être toxiques à des degrés divers pour les humains, les animaux et les plantes. Les effluents peuvent être acides ou alcalins et contenir des métaux dissous et/ou des composants organiques complexes solubles et insolubles entraînés lors du traitement du minerai, ainsi que des substances organiques pouvant être d'origine naturelle, telles que les acides carboxyliques. Il existe de nombreuses options pour la gestion des résidus miniers et des stériles. Les méthodes les plus courantes sont : le rejet des boues dans les bassins, le remblayage de mines souterraines ou à ciel ouvert ou la construction de digues à stériles, ou les stériles comme matériau pour la remise en état des terres (par exemple les agrégats), la construction (briques), le stockage à sec des résidus épaissis, le rejet des résidus dans les eaux de surface (mer, lac, rivière, etc.) ou les eaux souterraines. Les conséquences à long terme de ce processus de gestion des résidus et des stériles sont l'accumulation de métaux dans les plantes et les animaux, la contamination des sols, la perte de vie humaine et/ou animale.

La composition de la roche phosphatée dépend notamment du type et de l'origine. La roche phosphatée sédimentaire contient une forte concentration de métaux lourds tels que U, Th, Cd, As, Sb, V, Cr, Zn, Cu, Ni, etc. [1]. Comme il n'existe actuellement aucun moyen commercial d'éliminer ces polluants, leur

concentration dans les boues est critique en termes de possibilités de réutilisation. Ces concentrations varient selon les sources de phosphate naturel mais aussi au sein d'un même gisement. Pour cette raison, il a été convenu de prélever de nouveaux échantillons de boues et d'eau pour les caractériser.

Le traitement du minerai brut (décantation, tamisage, cyclonage) suivi de l'essorage à l'eau douce, du séchage et de la démagnétisation pour obtenir un minerai riche en phosphate naturel du Togo, génère quatre (4) types de déchets qui sont : aux tamis, boues phosphatées de lavage, poussières et enfin stériles magnétiques ou rejets magnétiques [2-6].

La gestion et la valorisation de ces déchets est une préoccupation majeure de la recherche. En effet, les méthodes actuelles de gestion de ces déchets sont inadaptées à l'atteinte des objectifs de développement durable et induisent des impacts négatifs sur l'environnement et la santé humaine. Dans le cadre de la réduction de ces impacts, nous avons entrepris cette étude pour réaliser une caractérisation physico-chimique du circuit des différents déchets en vue de leur valorisation [7-9].

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Échantillonnage des déchets des mines Hahotoe et Kpogame

Une campagne d'échantillonnage a été réalisée sur le site de traitement du minerai brut de phosphate à Kpeme. Après avoir collecté différents échantillons, les boues ont été décantées, séchées, broyées puis tamisées pour obtenir des poudres de granulométrie 150 µm.

### 2.2. Conditionnement et préparation d'échantillons à des fins analytiques

Les quatre échantillons sélectionnés pour l'analyse et la caractérisation sont représentés sur la figure 1. Sur la figure 1(a) sont représentées les poussières déchargées par les cheminées et soufflées par les convoyeurs de stockage et de chargement, elles sont constituées de fines particules de phosphates naturels enrichis.

Le matériel provenant de la carrière est montré sur la figure 1 (b). Il est composé de deux parties à savoir la matière phosphate qui est la partie ayant une valeur marchande et la matière non essentielle ou gangue constituée en grande partie d'argiles. Ces déchets aussi appelés « coupe haute » à 2 ou 3 mm des tamis représentent en moyenne 2 % en poids sec de l'ensemble. Ils constituent les fractions granulées des stériles de traitement. Sur la figure 1(c), sont représentées les boues de lavage. Ils sont constitués de fines particules qui se forment lors du processus d'enrichissement du minerai de phosphate par la séparation de la gangue à travers plusieurs étapes qui sont : le lavage, la flottation, la décantation et la séparation sol-ide-liquide. Les boues contiennent principalement de l'argile mélangée à de l'eau de mer provenant du seuil de coupure à 45 microns au niveau des cyclones primaires. La figure 1(d) représente les stériles magnétiques. Le minerai de phosphate enrichi, essoré et séché dans des étuves portées à 800°C, passe à travers une bande magnétique pour éliminer les oxydes métalliques également appelés stériles magnétiques. L'usine d'épuration magnétique génère en moyenne 0,50 % du tonnage produit en stériles magnétiques. Ces stériles ont une granulométrie supérieure à 200 microns [2]



(a)Poussière ou fines particules de phosphate



(b)Refus aux cribles



(c) Boues de phosphate



(d) Stérile magnétique

**Figure 1:** Rejets phosphatés

## 2.3 Techniques d'analyse

### 2.3.1. Analyse chimique

L'analyse chimique par spectroscopie d'émission atomique à plasma couplé inductif (ICP-AES) a été réalisée au Centre Eau Terre Environnement de l'Institut National de la Recherche Scientifique (INRS) de l'Université du Québec Trois Rivières (UQTR). Le spectromètre utilisé lors de cette étude est l'ICP-AES Dual View 5110.

### 2.3.2 Analyse thermique thermogravimétrique et différentielle

Des analyses thermogravimétriques (ATGA et thermiques différentielles (ATD) d'échantillons ont été réalisées au Laboratoire d'Automatique et Génie Chimique de l'Université Claude Bernard Lyon 1 (France). L'appareil utilisé est de type "NETZSCH TG 209F122-10-210-K".

### 2.3.3. Analyse par diffraction des rayons X (DRX)

La composition minéralogique des différents échantillons a été déterminée par diffraction des rayons X au Laboratoire d'Automatique et de Génie Chimique à l'aide d'un diffractomètre Seifert XRD 3000 TT équipé d'un monochromateur à faisceau diffracté. Les phases ont été identifiées en utilisant le logiciel "QualX" et sa base de données associée.

### 2.3.4. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) a été réalisée sur des pastilles de KBr contenant un mélange homogène de 2 mg de composé et 300 mg de KBr au Laboratoire d'Automatique, Génie Chimique et Génie Pharmaceutique de l'Université de Lyon 1 (France). L'appareil utilisé est du type VERTEX70. Le scan IR a été réalisé de 400 à 4000 cm<sup>-1</sup>.

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Composition chimique des échantillons

Les compositions chimiques des matériaux en éléments mineurs sont répertoriées dans le tableau 1 et les éléments majeurs exprimés en % dans le tableau 2.

Les données de ce tableau 1 ont été mesurées par spectroscopie d'émission atomique à plasma couplé inductif (ICP-AES). Ils montrent que les déchets de phosphate contiennent des métaux lourds comme l'arsenic (As), le cadmium (Cd), le cuivre (Cu), le chrome (Cr), le nickel (Ni) et le plomb (Pb) [11,12]. Certains de ces métaux comme le cadmium ou le plomb sont dangereux pour la santé humaine. Ces résultats montrent également que les métaux lourds sont plus concentrés dans les stériles magnétiques et moins concentrés dans les roches riches en phosphate. Cependant, il est à noter que le cadmium est plus concentré dans les phosphates naturels que dans les refus aux cribles et les boues phosphatées. Cela peut s'expliquer par le fait que les concentrations de Cr, Cu, Ni, V, Sr, Zn, etc. augmentent avec la diminution de la taille des grains tandis que la concentration de Cd diminue avec la diminution de la taille des grains [13].

**Tableau 1 :** Les éléments mineurs (ppm)

Echantillons (ppm)	As	Ba	Cd	Cu	Cr	Mo	Ni	Pb	Sr	V	Zn
Refus aux cribles	15,1	140	33,2	56,3	300	9,85	111	< 8	497	174	354
Boue de PN	39	156	27,3	93,5	699	15,6	215	< 8	535	330	729
Stériles M.	565	1670	48,5	385	330	247	1025	55,6	264	599	2375
PN	<12	5,3	35,4	126	155	7,07	19,6	<8	513	63	196

**Tableau 2:** les éléments majeurs (%)

Échantillons	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	CaO	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	K <sub>2</sub> O	MgO	MnO	Na <sub>2</sub> O	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	SiO <sub>2</sub>	LOI
Refus aux cribles	8,73	30,93	5,02	0,21	0,69	0,03	0,35	20	19,77	11,6
Boue de PN	10,47	20,79	6,8	0,44	1,17	0,03	3,49	14,2	20,69	18,6
Stériles M.	2,83	22,22	40,42	0,04	0,17	1,10	0,30	15,7	5,17	9,6
PN	1,22	50,1	1,40	0,016	0,068	0,024	0,19	35,5	3,24	3,9

\*LOI : perte au feu

Les résultats de l'analyse des éléments majeurs (tableau 2) indiquent que le phosphate naturel est essentiellement formé de calcium et de phosphore ce qui confirme les résultats de Tchangbedji et al [14]. Les dégrillages et les boues phosphatées sont principalement constitués de calcium (Ca), de phosphore (P), de silicium (Si) et d'aluminium (Al). D'autre part, les stériles magnétiques sont pauvres en silicium et en aluminium mais riches en fer (Fe), calcium et phosphore. Il convient également de noter que les boues phosphatées ont la plus grande perte au feu et le plus faible phosphate naturel. La composition chimique des boues phosphatées est très similaire à celle des refus de tamisage car les deux proviennent pratiquement du même procédé. Mais on remarque que la teneur de l'élément sodium (Na) dans les boues phosphatées est presque dix fois supérieure à celle des rejets de tamis à phosphate de roche. Cette augmentation de la teneur en sodium s'explique par l'utilisation d'eau de mer pour le lavage du minerai. Ces déchets contiennent également des traces de phosphate 20 % dans les refus de criblage, 14,2 % dans les boues de phosphate et 15,7 % dans les stériles magnétiques.

### 3.2. Analyse thermogravimétrique et thermique différentielle

La figure 3 montre des courbes d'analyse thermogravimétrique (TGA) et thermique différentielle (ATD) des rejets phosphatés. Les courbes ATG ont révélé quatre pertes de masse successives en relation avec quatre pics d'analyse thermique différentielle observés dans les intervalles de températures successives :

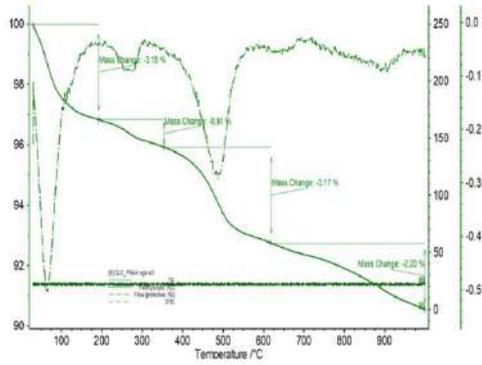
- le premier intervalle est de la température ambiante à 200 °C avec une perte de masse variant de 0,78 à 3,15% de la masse totale de l'échantillon avec pic de forte amplitude, observé sur courbe ATD à température ambiante jusqu'à 100 °C (sommet situé entre 70 et 80 °C) attribué au départ de l'eau [15].
- la seconde perte de masse varie de 0,5 à 4,68 % débute vers 200 °C et s'étend jusqu'à 400 °C. Cette perte de masse, peut être attribuée à la désorption de l'eau de la structure du matériau et à la décomposition des matières organiques. Le pic de faible amplitude ATD observé entre 250 et 275 °C résulte à la fois de la superposition d'une réaction due à l'eau de structure et d'autres réactions qui découlent de la combustion de matières organiques volatiles [15].
- le troisième domaine est compris entre 400 et 650 °C. Dans cet intervalle, nous détectons une perte de masse variant de 0,82 à 5,21 % de la masse totale de l'échantillon. Le pic de ATD observé vers 480 °C est attribué à cette perte de masse due à la déshydroxylation des minéraux argileux tels que la kaolinite présente dans les rejets.
- le dernier intervalle entre 650 et 1000 °C correspond à une perte de masse qui varie de 1,62 à 5,21 % associée au pic de ATD vers 900 °C est dû à la décomposition des carbonates avec dégagement de CO<sub>2</sub> [16].

La perte globale à 1000 °C de l'ordre de 3,74 % , 8,8 % , 9,43 % et 15,27 % associée respectivement aux phosphates naturels, stériles magnétiques, refus aux cribles et boues de phosphate.

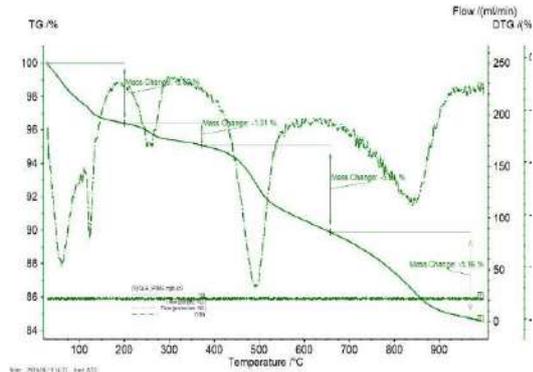
### 3.3. Analyse par diffraction des rayons X

L'analyse par diffraction des rayons X du diffractogramme des rejets (figure 4) montre des raies de diffraction majoritairement attribuées à la fluoroapatite. En effet, ces diffractogrammes ont été comparé aux matériaux du fichier POW\_COD à l'aide du logiciel "Qualx". Tous les pics de la fluoroapatite référencés au code 00-900-1390 de formule chimique  $Ca_{4,791}F_{0,93}Mn_{0,211}O_{12}P_3$ . D'autres phases secondaires sont également présentes et sont attribuées au chlorure de sodium (NaCl), au quartz (SiO<sub>2</sub>), la goethite (FeOOH) et à la kaolinite (Al<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>9</sub>Si<sub>2</sub>). La présence de chlorure de sodium est probablement due à l'eau de mer utilisée lors du lavage des phosphates [23.24].

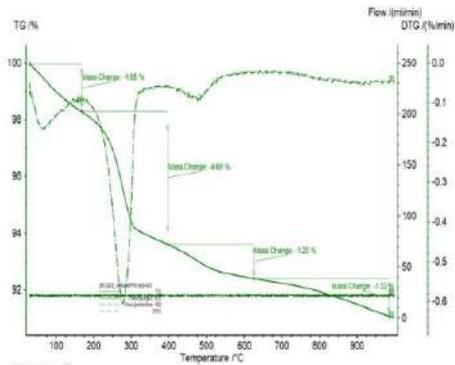
**Figure 3 :** courbes d'analyse thermogravimétrique (TGA) et thermique différentielle (ATD) des rejets phosphatés.



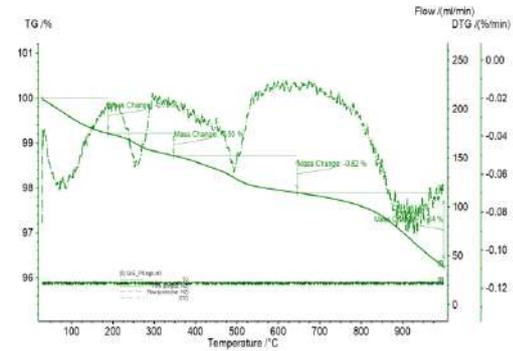
(a) Refus aux cribles



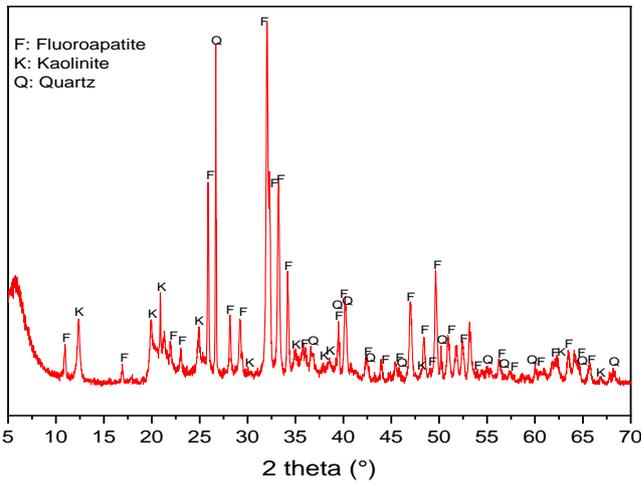
(b) Boues de phosphate



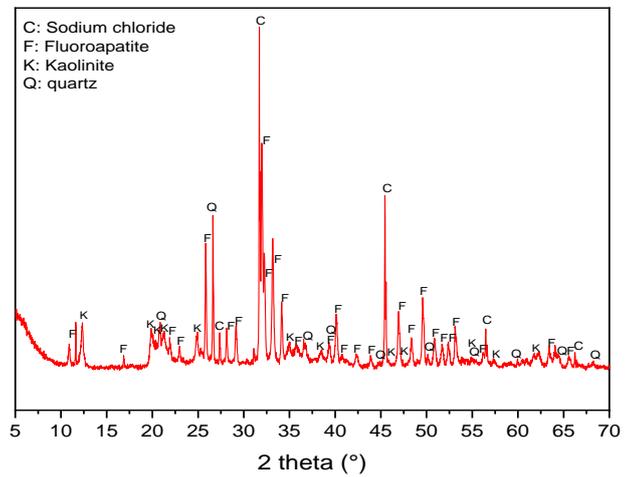
(c) Stérile magnétique



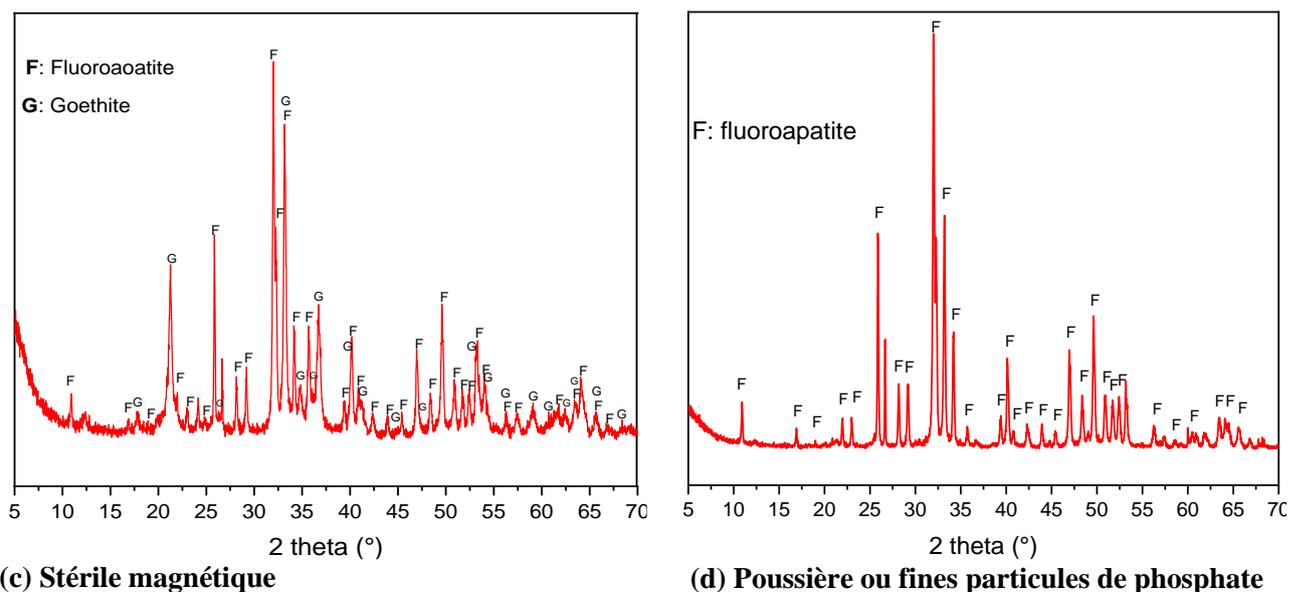
(d) Poussière ou fines particules de phosphate



(a) Refus aux cribles



(b) Boues de phosphate



**Figure 4 :** Diffractogramme de rayon X des rejets phosphatés.

### 3.1. 4. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

Les spectres infrarouges des rejets sont quasiment identiques (Figure 5). Ils montrent une large bande dans la zone d'élongation hydroxyle. Ces pics sont situés à  $3695\text{ cm}^{-1}$  et  $3620\text{ cm}^{-1}$ . La petite bande située à  $1600\text{ cm}^{-1}$  et  $1650\text{ cm}^{-1}$  correspond aux déformations angulaires des liaisons O-H molécules d'eau [25]. Le spectre

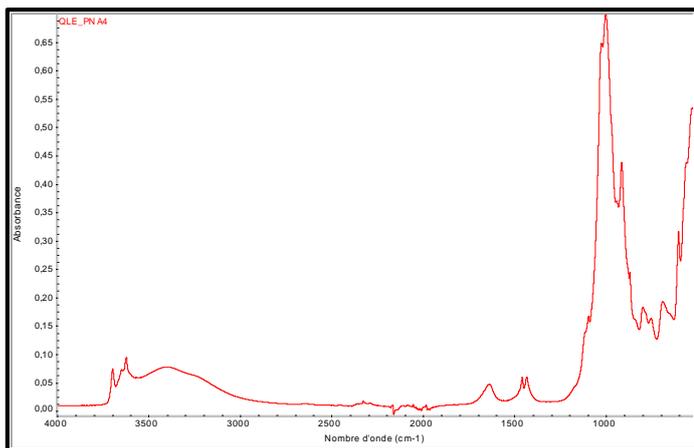
**Figure 5 :** Spectre infrarouge des rejets phosphatés.

présente également des bandes à  $1450\text{ cm}^{-1}$ ,  $1430\text{ cm}^{-1}$  et  $870\text{ cm}^{-1}$  caractéristiques des carbonates [33]. Les bandes restantes sont communes à deux phases différentes. Nous attribuons la bande située à  $1040\text{ cm}^{-1}$  à des allongements soit de Si-O soit à des groupes phosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) [26,27]. La bande située autour de  $500\text{ cm}^{-1}$  est attribuée à la déformation soit de groupements Si-O-Si soit de groupements phosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ). Les bandes détectées à  $1096\text{ cm}^{-1}$ ,  $602\text{ cm}^{-1}$  et  $570\text{ cm}^{-1}$  peuvent correspondre aux ions phosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) [26].

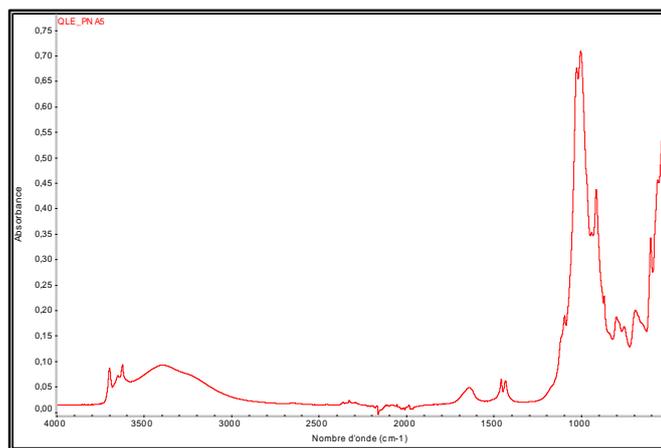
## 4. Conclusion

Des analyses physico-chimiques de différents types de déchets de minerai de phosphate naturel issu du traitement de Hahotoe-Kpogame (Togo) ont été réalisées. Les résultats que nous avons obtenus montrent que les boues sont essentiellement de l'argile (Kaolinite), de la goethite, de la glauconite, de l'apatite (phosphate) et de la silice. Elles sont majoritairement composées d'argiles mais il y a aussi de la matière phosphatée. Les résultats ont également révélé la présence d'éléments appartenant à des matières phosphatées ou argileuses telles que le phosphore (P), le fer (Fe), l'aluminium (Al) et ont réalisé que les refus de tamis sont principalement composés de calcium, phosphore, silicium et aluminium., les stériles magnétiques sont pauvres en silicium et en aluminium mais riches en fer (Fe), phosphore et métaux lourds mais principalement formés de goethite.

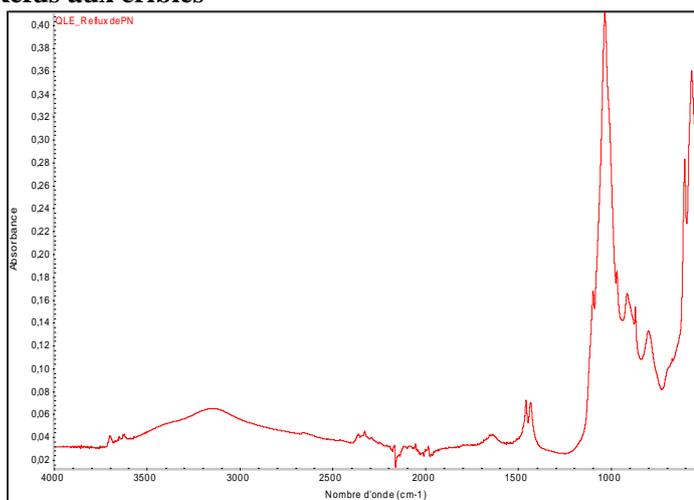
Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes de valorisation de différents rejets. Les boues phosphatées et le refus de criblage pourraient être utilisés dans les céramiques conventionnelles ou dans les céramiques fonctionnelles : granulats légers en hydroponie, granulats pour l'isolation thermique et acoustique, briques, etc. mortiers, bétons, membranes filtrantes pour la décontamination des eaux et le traitement des effluents. élaboration des géopolymères, etc. Ce procédé de valorisation est original et considéré comme une solution alternative car il est gros consommateur de matières premières. On peut aussi imaginer des applications dans les céramiques techniques qui couvrent les domaines de la santé et de l'optique, de l'aéronautique et de l'espace, des transports et de l'énergie, de l'électronique. Les stériles



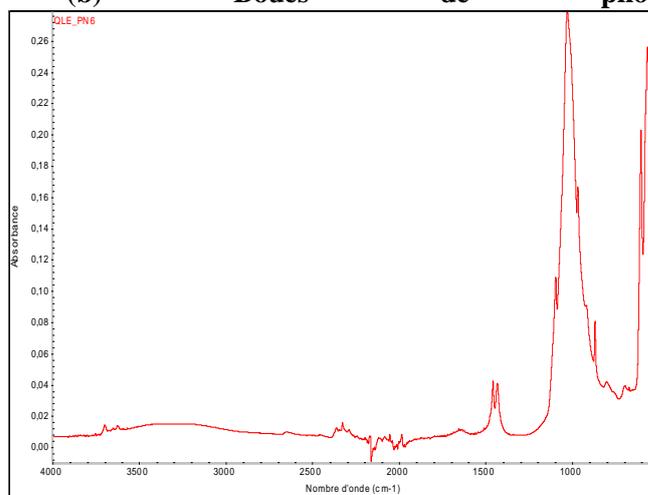
(a) Refus aux cribles



(b) Boues de phosphate



(c) Stérile magnétique



(d) Poussière ou fines particules de phosphate

magnétiques riches en fer (Fe) peuvent être utilisés en photocatalyse hétérogène à base de minerai de fer pour le traitement des déchets liquides résiduels. De la poussière de phosphate ou de fines particules de phosphates peuvent être utilisées à la place de la roche phosphatée naturelle.

## 5. Références bibliographiques

- [1] M. Lechner, E. Freiburger (2011), Société Nouvelle des Phosphates du Togo, Etude de faisabilité sur l'utilisation de la boue de station de traitement des eaux usées proposée pour la Société Nouvelle des Phosphates du Togo, UNIDO final Report
- [2] D.Y. Agbossoumonde. (2011). Les problèmes liés à l'extraction des ressources naturelles au Togo : Le cas des phosphates de hahotoé-kpogamé et des calcaires de Tabligbo au Sud Togo, 10.
- [3] K. Gnandi, H.J. Tobschall. (1999). Heavy metal release from phosphorite tailings into seawater: a simulated laboratory study, *Science of The Total Environment*, 236, 181–190.
- [4] A.A. Aduayi-Akue, K. Gnandi, A. Tete-Benissan, M. Degbe, G. Tanouayi, M. Gbeassor. (2015). Evaluation des teneurs des métaux lourds dans le sang des sujets de la zone de traitement des phosphates au Sud du Togo, *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9, 1972.
- [5] K. Gnandi, G. Tchagnbedji, K. Killi, G. Baba, K. Abbe. (2006). The Impact of Phosphate Mine Tailings on the Bioaccumulation of Heavy Metals in Marine Fish and Crustaceans from the Coastal Zone of Togo, *Mine Water and the Environment*, 25, 56–62.
- [6] K. Gnandi, H.J. Tobschall. (1999). The pollution of marine sediments by trace elements in the coastal region of Togo caused by dumping of cadmium-rich phosphorite tailing into the sea, *Environmental Geology*, 38, 13–24.
- [7] B.L. Anh Tuan, M.G. Tesfamariam, Y.-Y. Chen, C.-L. Hwang, K.-L. Lin, M.-P. Young. (2014). Production of Lightweight Aggregate from Sewage Sludge and Reservoir Sediment for High-Flowing Concrete, *Journal of Construction Engineering and Management*, 140, 401–405.
- [8] S. Boudaghpour, S. Hashemi. (2008). A Study on Light Expanded Clay Aggregate (LECA) in a Geotechnical View and its Application on Greenhouse and Greenroof Cultivation, *INTERNATIONAL JOURNAL OF GEOLOGY*, 2(5).

- [9] F.-C. Chang, S.-L. Lo, M.-Y. Lee, C.-H. Ko, J.-D. Lin, S.-C. Huang, C.-F. Wang. (2007). Leachability of metals from sludge-based artificial lightweight aggregate, *Journal of Hazardous Materials*, 146 98–105.
- [10] D. Liu, M.M. Løkke. (2014) . A. Leegaard Riis, K. Mortensen, A. Feilberg, Evaluation of clay aggregate biotrickling filters for treatment of gaseous emissions from intensive pig production, *Journal of Environmental Management*, 136, 1–8.
- [11] B. González-Corrochano, J. Alonso-Azcárate, M. Rodas. (2009). Characterization of lightweight aggregates manufactured from washing aggregate sludge and fly ash, *Resources, Conservation and Recycling*, 53, 571–581.
- [12] J.W. Olesik. (1991). Elemental analysis using ICP-OES and ICP/MS, *Analytical Chemistry*, 63 12A-21A.
- [13] M.H. Ramsey, P.J. Potts, P.C. Webb, P. Watkins, J.S. Watson, B.J. Coles. (1995). An objective assessment of analytical method precision: comparison of ICP-AES and XRF for the analysis of silicate rocks, *Chemical Geology*, 124, 1–19.
- [14] Tchangbedji G., Djeteli G., Kili A. K., Savariaul M. J, Lacout J. L. (2003). Chemical and structural characterization of natural phosphate of Hahotoé (TOGO), *Bull. Chem. Ethiop.*,17(2), pp1-8.
- [55] R.C. Ropp, M.A. Aia. (1962). Thermal Analysis of Phosphor Raw Materials, *Analytical Chemistry*, 34, 1288–1291.
- [16] J.L. Koenig. (1975). Application of Fourier Transform Infrared Spectroscopy to Chemical Systems, *Applied Spectroscopy*, 29, 293–308.
- [17] J. Kong, S. Yu. (2007). Fourier Transform Infrared Spectroscopic Analysis of Protein Secondary Structures, *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39. 549–559.
- [18] K. Gnandi, M.H. Rezaie Boroon, P. Edoth. (2009). The Geochemical Characterization of Mine Effluents from the Phosphorite Processing Plant of Kpémé (Southern Togo), *Mine Water and the Environment*, 28, 65–73.
- [19] T. Mangialardi. (2001). Sintering of MSW fly ash for reuse as a concrete aggregate, *Journal of Hazardous Materials*, 87, 225–239.
- [20] I. Merino, L.F. Arévalo, F. Romero. (2005). Characterization and possible uses of ashes from wastewater treatment plants, *Waste Management*, 25, 1046–1054.
- [21] M. Loutou, M. Hajjaji, M. Mansori, C. Favotto, R. Hakkou. (2013). Phosphate sludge: Thermal transformation and use as lightweight aggregate material, *Journal of Environmental Management*, 130, 354–360.
- [22] D. Walter, G. Buxbaum, W. Laqua. (2001). THE MECHANISM OF THE THERMAL TRANSFORMATION FROM GOETHITE TO HEMATITE, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 63, 733–748.
- [23] V.-G. Lee, T.-H. Yeh. (2008). Sintering effects on the development of mechanical properties of fired clay ceramics, *Materials Science and Engineering: A*, 485, 5–13.
- [24] M. Liu, C. Wang, Y. Bai, G. Xu. (2018). Effects of sintering temperature on the characteristics of lightweight aggregate made from sewage sludge and river sediment, *Journal of Alloys and Compounds*, 748, 522–527.
- [25] J. Lee, T. Isobe, M. Senna. (1996). Preparation of Ultrafine Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Particles by Precipitation in the Presence of PVA at High pH, *Journal of Colloid and Interface Science*, 177, 490–494.
- [26] F. González-García, V. Romero-Acosta, G. García-Ramos, M. González-Rodríguez. (1990). Firing transformations of mixtures of clays containing illite, kaolinite and calcium carbonate used by ornamental tile industries, *Applied Clay Science*, 5, 361–375.
- [27] M.M. Jordán, J.D. Martín-Martín, T. Sanfeliu, D. Gómez-Gras, C. de la Fuente. (2009). Mineralogy and firing transformations of Permo–Triassic clays used in the manufacturing of ceramic tile bodies, *Applied Clay Science*, 44, 173–177.
- [28] E. Srasra. (1994). Infrared Spectroscopy Study of Tetrahedral and Octahedral Substitutions in an Interstratified Illite-Smectite Clay, *Clays and Clay Minerals*, 42, 237–241.
- [29] M. Hajjaji, S. Kacim, A. Alami, A. El Bouadili, M. El Mountassir. (2001). Chemical and mineralogical characterization of a clay taken from the Moroccan Meseta and a study of the interaction between its fine fraction and methylene blue, *Applied Clay Science*, 20, 1–12.
- [30] R.M. Almeida, C.G. Pantano. (1990). Structural investigation of silica gel films by infrared spectroscopy, *Journal of Applied Physics*, 68, 4225–4232.

## Valorisation des biomasses locales en biochar : amendement des sols avec du biochar

Ibrahim Grema Maman Hamissou<sup>1,2\*</sup>, Yao Kouassi Benjamin<sup>1</sup>, Brou Yao Casimir<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB), Yamoussoukro, BP 1093, Côte d'Ivoire

<sup>2</sup>Département de l'Agriculture et des Ressources Animales, Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB), Yamoussoukro, BP 1093, Côte d'Ivoire

### Résumé :

Les biomasses solides (déchets) jadis abandonnés par la population qui dégradent l'environnement, peuvent contribuer à l'atteinte d'autosuffisance alimentaire. Le but de notre travail est d'amender les sols avec le biochar 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 3 heures à 400°C. Les valeurs respectives de pH, de taux des cendres, de taux d'humidité, de matières sèches et d'indice d'iode sont respectivement 10,75 ; 18,525% ; 4,9% ; 95,09% ; 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 :** Biomasse solides, Biochar, Amendement, Sol.

### Abstract :

Solid biomass (waste), which was once abandoned by the population and which degrades the environment, can contribute to the achievement of food self-sufficiency. The aim of our work is to amend the soils with biochar for agricultural purposes. It is to transform these local solid biomasses (waste) into 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 as well as crop yield [3]. This can promote the growth of certain groups of organisms beneficial to plant growth [4]. Cassava peel Biochar was developed by pyrolysis for 3 hours at 400°C. The respective values of pH, ash content, moisture content, dry matter and iodine value are 10.75; 18.525% ; 4.9% ; 95.09% ; 666.225mg/g respectively. These results show that the developed biochar can be beneficial for soil amendment. We plan to conduct further analysis.

**Keywords :** Biomass solids, Biochar, Amendment, Soil.

## 1 Introduction

Le biochar est un résidu organique solide obtenu à partir de la pyrolyse de la biomasse. Il est 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 [1]. La pyrolyse est une technologie thermochimique permettant de transformer la biomasse en biochar, biohuile et gaz de synthèse dans un intervalle de température allant de 350 à 700 °C en l'absence d'air [5]. Cependant, les processus thermochimiques qui produisent le biochar sous sa forme solide sont la pyrolyse et la gazéification [6]. En plus, au cours de la dégradation de la biomasse, trois phases sont générées par la pyrolyse. Il y a une partie solide (biochar), une partie liquide organique (biohuile) et une partie gazeuse (gaz de synthèse). La quantité de chaque composante (gaz, liquide et biochar) est différente selon la méthode de pyrolyse utilisée. Il existe plusieurs systèmes de pyrolyse [7].

Les systèmes les plus utilisés sont les « pyrolyseurs rapides » et « pyrolyseurs lents » [8] [9]. Un système de pyrolyse rapide va chauffer très rapidement (au-dessus de 1000°C s<sup>-1</sup>) la biomasse sèche en absence d'oxygène et le temps de séjour dans le système est très court (environ 2 secondes). Le but d'une pyrolyse rapide est de maximiser la production de la biohuile. C'est pour cette raison que le chauffage est très rapide et de courte durée. Pour ce qui est du système traditionnel (la pyrolyse lente), la biomasse sèche est chauffée très lentement (1°C à 20°C min<sup>-1</sup>) en absence d'oxygène et avec un temps de séjour dans le système variant de quelques heures à quelques jours [10]. Selon [11], la pyrolyse lente facilite une plus grande production de biochar (36%) que la pyrolyse rapide (environ 17%) ou la gazéification

(12%). La pyrolyse lente est également connue sous le nom de carbonisation conventionnelle, elle produit du biochar en appliquant de la chaleur à la biomasse, ce qui est comparativement faible pendant un long temps de séjour (cela peut prendre des jours) [12]. Cependant, pour une pyrolyse rapide, le biochar est produit à une température plus élevée avec un temps de séjour très court (1 s). En bref, la principale différence entre les techniques de pyrolyse lente et rapide réside dans leurs rendements. Dans la production de biochar, la procédure commence par le séchage de la biomasse, où la particule est davantage chauffée afin que les matières volatiles soient libérées du solide [13]. Les composés volatils formés peuvent être : du dioxyde de carbone, du monoxyde de carbone, du méthane et d'hydrogène ou des composés organiques condensables, tels que les acides acétiques et le méthanol. Les réactions de craquage et de polymérisation en phase gazeuse modifient l'ensemble du spectre des produits [14]. Le biochar comprend généralement du carbone et des cendres.

Ses compositions élémentaires et ses propriétés varient à cause de la nature des matières premières et des conditions de pyrolyse.

La structure squelettique du biochar comprend principalement du carbone et des minéraux de plusieurs tailles de pores [15]. Les micropores du biochar sont responsables de la capacité d'absorption et de la surface élevées ; cependant, les mésopores sont vitaux pour les processus d'adsorption liquide, tandis que les macropores sont essentiels pour la structure du sol en vrac, l'hydrologie, l'aération et le mouvement des racines [16]. Le motif et la taille des pores du biochar sont comparés à la composition des matières premières et température utilisée lors de sa formation. La Microscopie Electronique à Balayage (SEM) examine la morphologie et la distribution de la taille des pores de la charge d'alimentation différente de biochar [17]. De nos jours, son utilisation ne cesse de se répandre et connaît un grand essor, car il présente plusieurs effets bénéfiques sur la qualité et les rendements des cultures agricoles ainsi que sur les propriétés des sols [17][18].

## I. Matériel et Méthodes

### 1.1 Matériel

#### ➤ Matériel végétal

Nous avons utilisé les épluchures de manioc comme matière première afin de les transformer en biochar.

#### ➤ Matériel de laboratoire

Nous avons utilisé le four à moufle pour la carbonisation, le pH-mètre pour la mesure de pH, une balance de précision, un broyeur, des verreries etc.

### 2.2 Méthodes

#### 2.2.1 Mesure de l'humidité et de matière sèche

L'humidité correspond à l'eau contenue dans le charbon (biochar) éliminée par chauffage à 105°C pendant 2 h ; et si le résultat de la pesée n'est pas stable, il sera maintenu à cette température jusqu'à obtention d'une masse constante. La teneur en humidité est calculée à partir de la masse perdue de l'échantillon. Deux grammes (2 g) de biochar préalablement broyés et tamisés (2mm) seront transférés dans un verre rond équipés d'un couvercle (tare de la verrerie initialement connue) et le tout est placé à l'étuve à 105°C pendant 2 h. Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage TH et la teneur en matière sèche (% MS) ont été déterminés selon les formules des relations 1 et 2.

$$\%TH = \frac{(m_1 - m_2)}{(m_1 - m_0)} * 100 \quad 1$$

$$\%MS = \frac{(m_2 - m_0)}{(m_1 - m_0)} * 100 \quad 2$$

%TH = Taux d'humidité

%MS = Taux de matière sèche

$m_0$  = masse de creuset vide (g) ;

$m_1$  = masse du creuset avec l'échantillon avant oxydation thermique (g) ;

$m_2$  = masse de creuset avec l'échantillon après oxydation thermique (g)

### 2.2.2 Détermination de la teneur en cendres

Les cendres sont les résidus provenant du charbon (biochar). En moyenne 2 g de biochar seront pesés et mis dans un creuset dont la masse de celui-ci à vide est connue. Le taux de cendres est déterminé à partir de la quantification des matières minérales contenues dans l'échantillon. Pour cela, l'échantillon est placé dans un four à moufle porté à 575°C sous air pendant 3 heures jusqu'à l'obtention des cendres sans présence de points noirs (résidus de carbone). Après refroidissement, le résidu de combustion sera pesé de sorte à déterminer le taux de cendres de l'échantillon à partir de l'équation suivante :

$$\%A = \frac{(m_3 - m_1)}{(m_2 - m_1)} * 100$$

A=Taux de cendres (%)

$m_1$ = masse de creuset vide (g) ;

$m_2$ = masse du creuset avec l'échantillon avant oxydation thermique (g) ;

$m_3$ =masse de creuset avec l'échantillon après oxydation thermique (g)

### 2.2.3 Détermination du pH

Le pH du biochar sera déterminé selon la méthode [19][20]. En moyenne 2 g de biochar seront ajoutés à 40 ml d'eau distillée puis agités pendant 30 min. La suspension est laissée au repos pendant 10 min avant la mesure du pH à l'aide d'un pH-mètre.

### 2.2.4 Détermination d'indice d'iode

Le biochar est tamisé à 0,5 mm et l'indice d'iode a été déterminé par la méthode de dosage utilisée par [21].

## 3. Résultats et discussion

Les résultats d'analyses immédiates de biochar produit à base de déchets agricoles pendant 3H de pyrolyse à 400°C sont présentés dans le tableau suivant.

**Tableau 1: Résultats d'analyses immédiates de biochar fabriqué**

Analyses immédiates	pH	Taux de cendre	Taux d'humidité	Taux de matières sèches	Indice d'iode
Biochar d'Épluchures de Manioc produit à 400°C pendant 3H	10,75	18,255	4,9%	95,09%	666,225mg/g

Le biochar fabriqué à base d'épluchures de manioc à 400°C pendant 3H d'après le tableau a un pH alcalin et l'augmentation de température de pyrolyse a augmenté légèrement la valeur du pH.

Ce résultat est en adéquation avec ceux trouvés par [21], [22]. Selon la littérature, le pH des biochars issus des biomasses agricoles varie entre 8.8 et 10.8 en fonction des conditions de pyrolyse et des biomasses (précurseurs) utilisées.

Les analyses immédiates faites sur le biochar fabriqué à 400°C, montrent qu'il a de faibles taux d'humidité (4.9%), une grande quantité de matières sèches (95,09%) et de taux de cendre (18,255%) peu élevés.

La valeur de l'indice d'iode trouvée (666,225mg/g) confirme la présence des pores microporeux dans le biochar.

### Conclusion

Les résultats des analyses immédiates montrent des pourcentages de matières sèches, de taux d'humidité, de taux de cendres, et indice d'iode très satisfaisants. Le pH de biochar est basique.

Ainsi, l'indice d'iode déterminé nous montre que le biochar possédera des pores microporeux. D'après les résultats d'analyses obtenus, on peut conclure que le biochar produit sera bénéfique pour une application à des fins agricoles.

## Références bibliographiques

- [1] 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.
- [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] A. K. Varma, R. Shankar, et P. Mondal, « A Review on Pyrolysis of Biomass and the Impacts of Operating Conditions on Product Yield, Quality, and Upgradation », in *Recent Advancements in Biofuels and Bioenergy Utilization*, P. K. Sarangi, S. Nanda, et P. Mohanty, Éd. Singapore: Springer, 2018, p. 227\_259. doi: 10.1007/978-981-13-1307-3\_10.
- [6] J. Lehmann, M. C. Rillig, J. Thies, C. A. Masiello, W. C. Hockaday, et D. Crowley, « Biochar effects on soil biota – A review », *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 43, n° 9, p. 1812\_1836, sept. 2011, doi: 10.1016/j.soilbio.2011.04.022.
- [7] A. O. Babalola, O. Olubukola, et O. Obembe O, « L'importance de l'application du biochar pour l'environnement et l'économie », *Annals of Agricultural Sciences*, vol. 64, p. 15, 2019.
- [8] 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 », *Journal of Environmental Quality*, vol. 41, n° 4, p. 1115\_1122, 2012, doi: <https://doi.org/10.2134/jeq2011.0118>.
- [9] E. W. Bruun, P. Ambus, H. Egsgaard, et H. Hauggaard-Nielsen, « Effects of slow and fast pyrolysis biochar on soil C and N turnover dynamics », *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 46, p. 73\_79, mars 2012, doi: 10.1016/j.soilbio.2011.11.019.
- [10] B. Dutta, G. S. V. Raghavan, et M. Ngadi, « Surface Characterization and Classification of Slow and Fast Pyrolyzed Biochar Using Novel Methods of Pycnometry and Hyperspectral Imaging », *Journal of Wood Chemistry and Technology*, vol. 32, n° 2, p. 105\_120, avr. 2012, doi: 10.1080/02773813.2011.607535.
- [11] M. Uchimiya, L. H. Wartelle, K. T. Klasson, C. A. Fortier, et I. M. Lima, « Influence of Pyrolysis Temperature on Biochar Property and Function as a Heavy Metal Sorbent in Soil », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 59, n° 6, p. 2501\_2510, mars 2011, doi: 10.1021/jf104206c.
- [12] Cao, X., Ma, B., Gao, W., Harris, E., « Dairy-Manure Derived Biochar Effectively Sorbs Lead and Atrazine | Environmental Science & Technology », *American Chemical Society*, n° 43, p. 3285— 3291, mars 2009.
- [13] A. H. Rhodes, A. Carlin, et K. T. Semple, « Impact of Black Carbon in the Extraction and Mineralization of Phenanthrene in Soil », *Environ. Sci. Technol.*, vol. 42, n° 3, p. 740\_745, févr. 2008, doi: 10.1021/es071451n.
- [14] E. Cetin, R. Gupta, et B. Moghtaderi, « Effect of pyrolysis pressure and heating rate on radiata pine char structure and apparent gasification reactivity », *Fuel*, vol. 84, n° 10, p. 1328\_1334, juill. 2005, doi: 10.1016/j.fuel.2004.07.016.
- [15] W. Lu *et al.*, « Biochar suppressed the decomposition of organic carbon in a cultivated sandy loam soil: A negative priming effect », *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 76, p. 12\_21, sept. 2014, doi: 10.1016/j.soilbio.2014.04.029.
- [16] A. Freddo, C. Cai, et B. J. Reid, « Environmental contextualisation of potential toxic elements and polycyclic aromatic hydrocarbons in biochar », *Environmental Pollution*, vol. 171, p. 18\_24, déc. 2012, doi: 10.1016/j.envpol.2012.07.009.
- [17] R. S. Quilliam, H. C. Glanville, S. C. Wade, et D. L. Jones, « Life in the 'charosphere' – Does biochar in agricultural soil provide a significant habitat for microorganisms? », *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 65, p. 287\_293, oct. 2013, doi: 10.1016/j.soilbio.2013.06.004.
- [18] R. Singh, J. N. Babu, R. Kumar, P. Srivastava, P. Singh, et A. S. Raghubanshi, « Multifaceted application of crop residue biochar as a tool for sustainable agriculture: An ecological perspective », *Ecological Engineering*, vol. 77, p. 324\_347, avr. 2015, doi: 10.1016/j.ecoleng.2015.01.011.
- [19] J. M. Novak, W. J. Busscher, D. L. Laird, M. Ahmedna, D. W. Watts, et M. A. S. Niandou, « Impact of Biochar Amendment on Fertility of a Southeastern Coastal Plain Soil », *Soil Science*, vol. 174, n° 2, p. 105\_112, févr. 2009, doi: 10.1097/SS.0b013e3181981d9a.
- [20] D. J. Lehmann et S. Joseph, *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*. Earthscan, 2009.
- [21] H. Koné, K. E. Kouassi, A. S. Assémian, K. B. Yao, et P. Drogui, « Investigation of breakthrough point variation using a semi-industrial prototype packed with low-cost activated carbon for water purification », p. 20, 2021.
- [22] T. M. E. Shareef et B. Zhao, « Review Paper: The Fundamentals of Biochar as a Soil Amendment Tool and Management in Agriculture Scope: An Overview for Farmers and Gardeners », *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, vol. 6, n° 1, Art. n° 1, Février 2017, doi: 10.4236/jacen.2017.61003. [23] A. Abderahim, « Réduction de la mycotoxicité dans l'agriculture malienne à partir de l'utilisation de biochar obtenu des sous-produits de la filière cajou », THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR, UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER, MONTPELLIER, 2019.

## Réactivité de la poudre de verre en milieu cimentaire

Tognonvi Tohoué Monique<sup>1\*</sup>, Tagnit-Hamou Arezki<sup>2</sup>, Konan Koffi Léon<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Unité de formation et de recherche des Sciences Biologiques, Université Peleforo Gon Coulibaly, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

<sup>2</sup>Département de génie civil, Université de Sherbrooke, Sherbrooke (Québec) Canada

<sup>3</sup>Laboratoire de Chimie des Matériaux Inorganiques, Université Felix Houphouët-Boigny, Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire

\*Auteur correspondant : Tognonvi Tohoué Monique, email: monique.tognonvi@upgc.edu.ci

tel : +225 07 88 77 38 22

**Résumé :** Les résidus de verre représentent une part importante du total des déchets solides disponibles chaque année à travers le monde. Sa valorisation sous forme de poudre (PV) dans le béton, en remplacement partiel du ciment, a fait l'objet de nombreuses études. PV possède des propriétés pouzzolaniques en raison de sa structure amorphe. Cependant, contrairement à l'hydratation du ciment qui a été beaucoup étudiée<sup>3</sup>, celle de PV reste moins connue. L'objectif de ce travail est d'étudier la réactivité de PV en milieu cimentaire et en présence de chaux par DRX et ATG. Deux différents mélanges à base de ciment / PV (0 ou 20% PV) et de chaux / PV (70% PV) ont été considérés. Les analyses ont révélé la coexistence des réactions d'hydratation et pouzzolanique pendant le durcissement des matériaux. À jeune âge, l'hydratation du ciment l'emporte sur la réaction pouzzolanique de PV. A partir de 91 jours, la prédominance de la réaction pouzzolanique entraîne la formation de C-S-H supplémentaire. Les propriétés du matériau se trouvent renforcées. Ces résultats montrent ainsi l'efficacité de l'activité pouzzolanique de PV dans les matériaux de construction. Toutefois, des études complémentaires (MEB, IR, calorimétrie) seraient nécessaires afin d'évaluer les propriétés physico-chimiques de ces matériaux.

**Mots clés :** Verre recyclé ; Pouzzolanicité ; Hydratation.

## Reactivity of glass powder in cementitious medium

**Abstract:** Glass residues represent a significant part of the total solid waste available each year around the world<sup>1</sup>. Its recycling in powder form (GP) in concrete as a part of cement replacement has been largely studied<sup>2</sup>. PV possesses pozzolanic properties due to its amorphous structure<sup>3</sup>. However, unlike the hydration of cement which was much studied<sup>3</sup>, the one of PV remains less investigated. This work aims to study the reactivity of PV in a cement environment and in the presence of lime by XRD and TGA. Two different mixtures based on cement/glass powder (0 or 20 wt% GP) and lime/glass powder (70 wt% GP) were considered. Analysis revealed the coexistence of both hydration and pozzolanic reactions during the hardening of the materials. At young age, the cement hydration prevails over the pozzolanic reaction of the glass powder. The pozzolanic reaction that predominates from 91 days, induces the formation of supplementary C-S-H. This leads to improve the material properties. Thus, results have demonstrated the effectiveness of the pozzolanic activity of PV in building materials. However, additional studies (SEM, IR, calorimetry) would be necessary in order to assess the physicochemical properties of these materials.

**Keywords:** Recycled glass; Pozzolanicity; Hydration

### 1. Introduction

Le béton demeure le matériau de construction le plus répandu dans le monde. Il est formé à partir d'un mélange de ciment, d'eau, de gravier (ou gros granulats) et de sable. Le ciment est l'ingrédient essentiel qui sert à « coller » le gravier et le sable pour en faire une pierre artificielle avec de très bonnes performances mécaniques. La demande en ciment ne cesse d'augmenter en raison du développement de nouvelles infrastructures<sup>1</sup> en particulier dans les pays en voie de développement tel que la Côte d'Ivoire. Cependant, le ciment est en grande partie responsable du crédit de CO<sub>2</sub> attribué au béton. Ces émissions de CO<sub>2</sub> sont dues à la décomposition du calcaire qui s'effectue à haute température (1450°C) et à la combustion des énergies fossiles. La production d'une tonne de clinker qui représente 95 % du ciment Portland, génère approximativement une tonne de CO<sub>2</sub>, ce qui rend l'industrie du ciment responsable de 5 à 8 % des émissions de gaz à effet de serre dans le monde [1]. Pour minimiser cet impact environnemental, l'industrie de la construction se tourne vers d'autres solutions en substituant soit une partie du clinker dans la production du ciment ou soit une partie du ciment dans le béton par des sous-produits industriels tels que le laitier de haut fourneau, les cendres volantes, la fumée de silice, etc. [2,3]. Ces matériaux sont appelés ajouts cimentaires [4]. Cependant, ces matériaux dont l'efficacité dans le béton est prouvée ne sont pas nécessairement disponibles dans de nombreux pays dont la Côte d'Ivoire. Par ailleurs, de récentes études ont montré que le verre recyclé réduit sous forme de poudre pouvait être efficacement utilisé en remplacement partiel du ciment dans le béton. Ces bétons incorporant de la

poudre de verre recyclé présentent de bonnes propriétés mécaniques et de durabilité. Cependant contrairement à l'hydratation du ciment Portland qui a été largement étudiées et plus ou moins maîtrisée, la réactivité de la poudre de verre est moins en mieux cimentaire est moins connue.

La présente étude concerne donc l'étude de la réactivité de la poudre de verre en présence du ciment afin de mieux comprendre les mécanismes physico-chimique qui régissent les bonne propriétés développement par les bétons contenant du verre recyclé. Une étude combinée d'analyse thermique et de résistance en compression sera utilisé pour évaluer l'activité pouzzolanique de la poudre de verre.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1 Matières premières

Deux matériaux ont été utilisés à savoir du ciment Portland ordinaire et de la poudre de verre recyclé. La poudre de verre provient de résidus de verre de plusieurs couleurs (verre mixte) collectés par un centre de tri et broyés à l'aide d'un broyeur à bille par 6 séquences de 25 min. La poudre de verre ainsi obtenue est de structure amorphe (figure 1) et contient principalement des oxydes de silicium (72 %), de sodium (13%) et de calcium (11%) (Tableau 1).

Le ciment utilisé est du ciment Portland ordinaire commercialisé par la société HOLCIM. La taille moyenne des particules de la poudre de verre est  $D_{50} = 17 \mu\text{m}$  tandis que celle du ciment est de  $15 \mu\text{m}$ . Les propriétés physico-chimiques et minéralogiques des différents matériaux utilisés sont indiquées dans les tableaux 1 et 2 et la figure 1.

Tableau 1 : Composition chimique de CP et PV (% massique).

Chemical elements	SiO <sub>2</sub>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	MgO	CaO	Na <sub>2</sub> O	K <sub>2</sub> O	SO <sub>3</sub>	PAF	Autres
GP	72,4	1,6	0,35	0,978	11,1	12,9	0,61	0,08	0,03	0,03
OPC	20,4	4,7	2,92	1,8	62,4	0,18	0,95	3,53	2,51	0,58

Tableau 2: Propriétés physique de CP et PV.

Materials	GP	PC
Density	2.57	3.15
Blaine fineness (m <sup>2</sup> /kg)	437	414
Particle size ( $\mu\text{m}$ )	D10	2
	D50	15
	D90	31

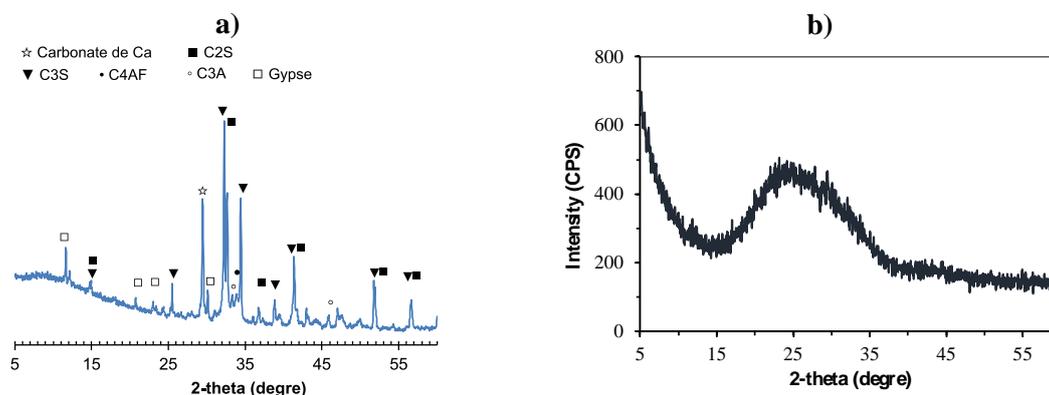


Figure 1: Diffractogramme X des matières premières : a) CP; b) PV

### 2.2. Préparation des échantillons

Des pâtes de ciment pures (notées 100CP) et des pâtes de ciment contenant 20% massique de poudre de verre (notées 20GP-80PC) ont été réalisées avec un rapport eau/liant (E/L, liant = PC+PV) de 0.4. Des

analyses thermiques (ATG-DSC) sont réalisées à échéance de 1, 28, 91, 180 et 365 jours afin de suivre l'évolution de la réaction d'hydratation.

Deux mélanges de mortiers, la référence (100PC) et un mortier contenant 20%PV, ont été préparé avec un rapport eau/liant de 0,4 selon la norme ASTM C305. Les échantillons ont subi une cure à 100% d'humidité relative à la température ambiante dans une solution saturée en chaux jusqu'à échéance des tests de résistance en compression à 1, 7, 28 et 91 jours.

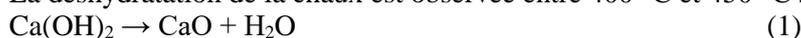
### 2.3. Techniques de caractérisation

L'analyse chimique des matériaux a été réalisée par fluorescence X à l'aide d'un appareil de type PANalytical WD-XRF. Des pastilles contenant un mélange de 6,3 g de la poudre à caractériser et 0,7 g de Licowax (un agent liant) ont été pressées manuellement à 25 000 psi.

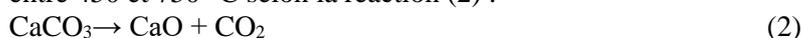
L'analyse structurale des matières premières a été réalisée par diffraction des rayons X à l'aide d'un diffractomètre de de type X'pert Pro MRD de la compagnie PANalytical. Les analyses ont été réalisées entre les angles 5° et 60°. Les données sont traitées à l'aide du logiciel JADE 2010 pour l'identification des pics.

La distribution de la taille des particules de PV et de PC a été réalisée à l'aide d'un granulomètre Laser de type Mastersizer 2000 de la compagnie Malvern. Pour éviter l'hydratation du ciment lors de l'analyse granulométrique, la caractérisation s'est réalisée en milieu alcool (éthanol). La finesse des matériaux a été évaluée à l'aide d'un perméabilimètre de Blaine. La densité des poudres est évaluée à l'aide d'un pycnomètre à hélium. L'eau combinée et la chaux contenues dans les pâtes préalablement séchées et broyées sont déterminées à l'aide d'un analyser thermogravimétrique simultané (TGA)/DSC (TA Instruments SDT Q600). Les pâtes sont soumises à une montée en température de 50 °C à 1000 °C avec une vitesse de 10 °C/min sous balayage d'azote (100 ml/min).

- La déshydratation de la chaux est observée entre 400 °C et 450 °C selon la réaction (1) :



- La décomposition du carbonate de calcium formé par carbonatation de la chaux est observée entre 450 et 750 °C selon la réaction (2) :



*Les pertes de masse associées au départ d'eau entre 400-450°C et au dégagement de CO<sub>2</sub> entre 450-750°C permettent de déterminer respectivement la teneur en chaux CH (t) et la teneur en chaux carbonatée CH<sub>cc</sub> (t) à un temps t donné selon les équations (3) et (4) :*

$$- CH(t) = \frac{\Delta m_{400-450^\circ\text{C}}}{m_{\text{éch}}} X \frac{M_{\text{Ca(OH)}_2}}{M_{\text{H}_2\text{O}}} \quad (3)$$

$$- CH_{cc}(t) = \frac{\Delta m_{450-750^\circ\text{C}}}{m_{\text{éch}}} X \frac{M_{\text{Ca(OH)}_2}}{M_{\text{CO}_2}} \quad (4)$$

Avec  $\square m_{400-450^\circ\text{C}}$ , la différence de masse entre 400 et 450 °C,  $\square m_{450-750^\circ\text{C}}$ , la différence de masse entre 450 et 750 °C,  $m_{\text{éch}}$ , la masse initiale de l'échantillon et  $M_{\text{Ca(OH)}_2}$ ,  $M_{\text{CO}_2}$  et  $M_{\text{H}_2\text{O}}$ , les masses molaires de la chaux, du CO<sub>2</sub> et de l'eau respectivement.

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Analyse thermogravimétrique des pâtes

L'analyse thermogravimétrique ATG a permis de suivre l'évolution de la quantité de la portlandite lors de l'hydratation du ciment en présence de l'ajout de PV. Les résultats sont présentés à la Figure 2.

Les essais ont été réalisés à des périodes comprises entre 0 et 365 jours (0 correspondant à l'instant de la mise en contact des différents constituants). La teneur en chaux augmente avec le temps d'hydratation quel que soit le mélange (Figure 3a). La présence de PV entraîne la diminution de la quantité de chaux par rapport à celle dans la pâte de ciment. Cela résulte d'une part de l'effet de dilution (remplacement d'une partie du ciment par PV) et d'autre part de la réaction pouzzolanique de PV avec la chaux. Dans le mélange 100% CP, une forte augmentation de la teneur en chaux est observée pendant les 180 premiers jours. Entre 180 et 365 jours, cette teneur reste quasi-stationnaire du fait d'un ralentissement de l'hydratation. En effet, la couche d'hydrates qui enrobe les grains de ciment devient progressivement épaisse pour ralentir la diffusion des ions et de l'eau vers les composants anhydres du système. L'hydratation ralentit de plus en plus, mais peut se poursuivre pendant des mois voire des années [5].

Aussi, contrairement au  $C_3S$  qui a une vitesse d'hydratation assez rapide à jeune âge, le  $C_2S$  qui intervient aux âges plus avancés s'hydrate très lentement.

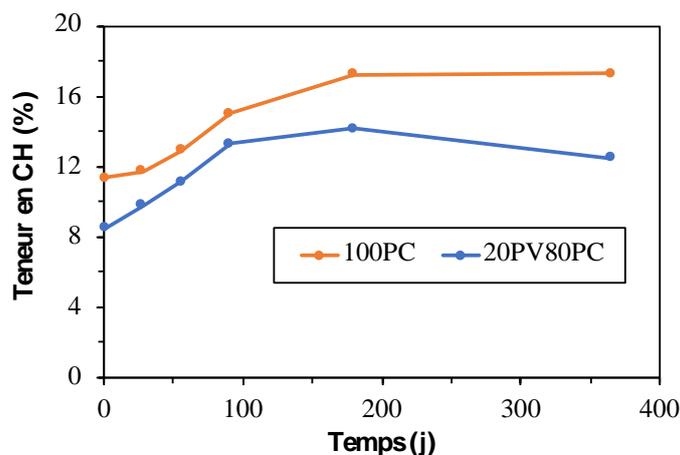


Figure 2 : Evolution de la teneur en chaux dans les pâtes de ciment en fonction du temps : avec 20% de poudre de verre et sans poudre de verre.

Pour la pâte contenant la poudre de verre, une forte augmentation de la teneur en chaux est observée dans les 91 premiers jours suivie d'une faible augmentation entre 91 et 180 jours. Entre 180 et 365 jours, une diminution de la teneur en chaux est observée. Ces observations suggèrent que la réaction d'hydratation du ciment l'emporte sur la réaction pouzzolanique de la poudre de verre avec la chaux dans les 91 premiers jours. De 91 à 180 jours, l'effet de l'hydratation du ciment est moins marqué suggérant une accélération de la réaction pouzzolanique. Cette réaction pouzzolanique devient prépondérante de 180 à 365 jours. Cela suggère qu'à partir de 91 jours, la réaction pouzzolanique l'emporterait sur l'hydratation du ciment. En effet, la réaction pouzzolanique ne commence que lorsqu'il y a suffisamment de CH dans le milieu. Ce résultat est en accord avec celui observé par [6] qui ont montré que les effets bénéfiques de la réaction pouzzolanique dans les systèmes cimentaires sont perceptibles à partir de temps de cure supérieur ou égal à 56 jours.

### 3.2. Résistance en compression des mortiers

Les résultats de la variation de la résistance en compression a été suivi en fonction du temps de réaction sont indiqués à la figure 3. On observe une augmentation de la résistance en fonction du temps quel que soit le type de mortier suggérant la progression normale du processus d'hydratation. En revanche, les résistances en compression des mortiers contenant PV sont plus faibles que celles du témoin. Cela est due à l'effet de dilution puisqu'une partie du produit le plus réactif qui est le ciment a été remplacée par PV. Toutefois, les mortiers incorporant PV voient leur résistance augmenter rapidement à partir de 28 jours pour atteindre celle du témoin à partir de 91. Cela est bien illustré par l'augmentation progressive de l'indice de pouzzolanité (courbe noire, Figure 3). En effet, l'indice de pouzzolanité qui traduit la consommation de la portlandite par poudre de verre qui était à 64 après 1 jours de réaction atteint la valeur de 99% après 91 jours de réaction avec une valeur de résistance en compression de 41 MPa identique à celle du témoin. Ces résultats, en accord avec ceux de l'analyse thermique, confirment ainsi l'efficacité de la poudre tant que matériau pouzzolanique.

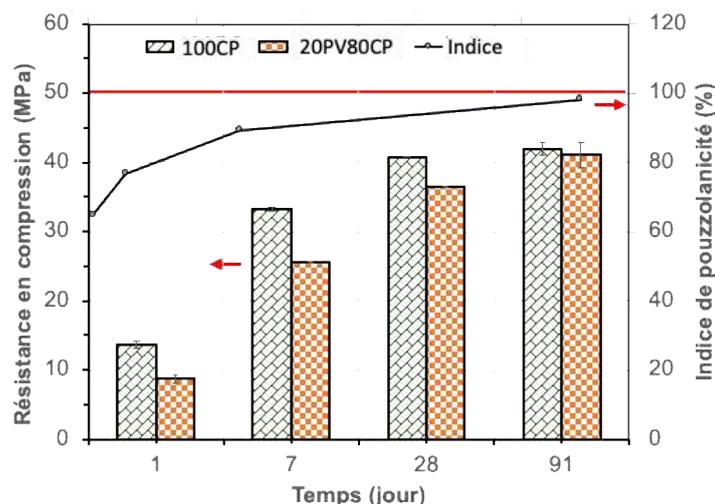


Figure 3 : Évolution de la résistance en compression des mortiers de ciment contenant ou non PV et de l'indice de pouzzolanité de PV.

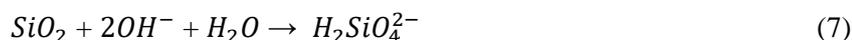
### 3.3. Mécanisme réactionnel

Les résultats de l'analyse thermique et de la résistance en compression ont montré que la poudre de verre en présence du ciment réagit avec la portlandite issue de l'hydratation du ciment. Ce qui entraîne une amélioration à long terme des performances du matériau.

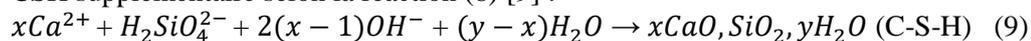
La formation des hydrates C-S-H en milieu cimentaire se résume principalement à l'hydratation de l'alite ( $C_3S$ ) à jeune âge et à celle du belite ( $C_2S$ ) aux âges plus avancés selon les réactions suivantes :



En présence de PV, la chaux ou la portlandite ( $Ca(OH)_2$ ) formée lors de l'hydratation du  $C_3S$  et du  $C_2S$  va rendre le milieu fortement basique ( $pH > 12$ ) à cause des ions  $OH^-$  présents dans la solution interstitielle. De plus, la présence d'ions alcalins à la surface de PV rend le milieu davantage basique. En effet, il a été montré qu'en présence d'eau, les alcalins de surface de la poudre de verre passe prioritairement en solution rendant le milieu basique [7,8]. Ce milieu basique associé à une augmentation de la température du milieu due à la réaction exothermique de l'hydratation du ciment, favorise la dissolution partielle de la silice amorphe de PV et la mise en solution des silicates selon la réaction (7).



- Les silicates soluble  $H_2SiO_4^{2-}$  réagissent ensuite avec les ions calciums  $Ca^{2+}$  pour former du CSH supplémentaire selon la réaction (8) [9] :



En milieu cimentaire, la réaction pouzzolanique de PV aurait lieu après le début de la réaction d'hydratation lorsqu'il y aurait suffisamment de chaux disponible pour rendre le milieu favorable à la mise en solution des silicates de PV. Ce qui est à l'origine des faibles résistances en compression observées pour les mortiers à jeune âge. Par la suite les deux réactions se dérouleraient simultanément avec une prédominance de l'une sur l'autre en fonction du temps de réaction. Bien que la réaction pouzzolanique commencerait à jeune âge, elle ne serait perceptible qu'à partir de 91 jours (en accord avec les résultats obtenus sur les mortiers étudiés), en raison de la production continue de  $Ca(OH)_2$  par la réaction d'hydratation contrairement. Lorsque que ce taux est en constante augmentation, sa consommation est difficile à évaluer à cause de la prédominance de la réaction d'hydratation. Cela conduit à une augmentation de sa teneur dans le milieu réactionnel malgré la réaction pouzzolanique. Aux âges plus avancés, notamment, à partir de 91 jours, la réaction pouzzolanique de la poudre de verre est nettement notable avec une diminution de la teneur en chaux dans le milieu. Ces observations sont

confirmées par la résistance en compression du mortier contenant PV qui est équivalente à celle du témoin à partir de 91 jours (Figure 3).

L'ensemble de ces résultats révèle qu'en milieu cimentaire, la présence de matériau pouzzolanique tel que PV entraînerait une compétition entre la réaction d'hydratation du ciment et la réaction pouzzolanique (Figure 4).

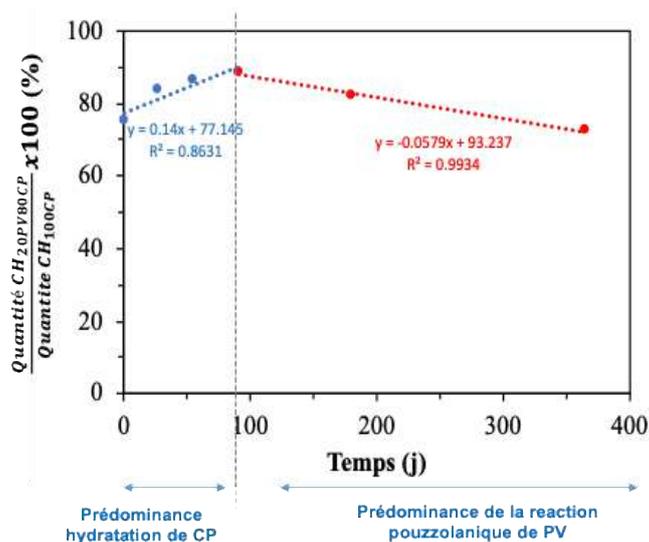


Figure 4 : Représentation de l'évolution de la teneur en chaux dans le mortier contenant PV rapporté à celle du mortier de référence.

À jeune âge, l'hydratation du ciment l'emporterait sur la réaction pouzzolanque se traduisant par une diminution des propriétés physico-chimiques et mécaniques du matériau du fait de l'effet de dilution. Par la suite, aux âges plus avancés notamment à partir de 91 jours, la prédominance de la réaction pouzzolanique entraînerait la formation de C-S-H supplémentaire, ce qui contribuerait à Améliorer les propriétés physico-chimiques et mécaniques du matériau. Ces résultats sont en bon accord avec les observations faites sur l'évolutions des propriétés mécaniques de bétons incorporant PV. En effet, des études ont montrés qu'à jeune âge, la présence de PV entraînaient une diminution de la résistance en compression du béton [6]. En revanche, à partir de 56 jours, une augmentation de la résistance de ces bétons pour atteindre celle du béton témoin (100% PC) est observée. Aux âges plus avancés (91 ou 180 jours) dépendamment du rapport eau/liant, les bétons contenant PV présentaient des résistances supérieures à celle du béton témoin [6].

#### 4. Conclusion

La réactivité de la poudre de verre en milieu cimentaire a été analysée dans des mélanges de pâtes et mortiers de ciment contenant 0 et 20 % PV. Le suivi de l'hydratation des pâtes réalisées au moyen de de l'ATG-DSC a permis de montrer une augmentation progressive de la portlandite dans les pâtes de ciment contenant ou non PV. En revanche, la teneur en CH dans le mélange contenant PV, était toujours plus faible à cause d'une part de l'effet de dilution et d'autre part de la réaction pouzzolanique qui consomme CH. La réaction d'hydratation du ciment et la réaction pouzzolanique de PV coexistaient dès les premiers jours après mélange avec une prédominance de la première sur la seconde jusqu'à 91 jours. Au-delà de cette période, la réaction pouzzolanique primerait sur l'hydratation du ciment avec une diminution progressive de la teneur en chaux dans la pâte cimentaire. La prédominance de la réaction pouzzolanique se traduit par la formation d'une quantité importante de C-S-H supplémentaire à long-terme contribuant à l'amélioration des propriétés mécaniques du matériau. L'ensemble de ces résultats a mis en évidence l'efficacité des propriétés pouzzolaniques de la poudre de verre dans les matériaux de construction.

Cependant, il serait intéressant de mener des études plus approfondies notamment la calorimétrie, l'infrarouge et la résonance nucléaire magnétique afin de mieux comprendre les mécanismes qui régissent la réactivité de la poudre de verre en milieu cimentaire.

Aussi, pour pouvoir mieux utiliser la poudre de verre dans le béton, une collaboration entre les chercheurs et les industriels du secteur est encouragée afin de mettre au point des normes spécifiques à l'utilisation de ce type de matériau.

## **Bibliographie**

- [1] <https://www.planetoscope.com/matieres-premieres/1708-production-mondiale-de-ciment.html>, consulté le 10 juillet 2021
- [2] Malhotra, V.M.. Introduction: Sustainable Development and Concrete Technology. Concrete International (2002) 24(7); 22.
- [3] Liu, L., Yang, P., Qi, C., Zhang, B., Guo, L. and Song, K.-I. Constr. Build. Mater. (2019) 212; 283-294.
- [4] Idir R., Cyr, M. et Tagnit-Hamou A. Pozzolanic properties of fine and coarse color-mixed glass cullet," Cement and Concrete Composites (2011) 33 (1); 19-29.
- [5] Rafai, N., 2008. Les composantes de la matrice cimentaire : rappels et interactions, Ciments, betons, plâtres, chaux. CBPC N° 890-Avril-Mai 60–66.
- [6] Zidol, A., Tognonvi, M.T., Tagnit-Hamou, A. Effect of Glass Powder on Concrete Sustainability. New J. Glas. Ceram. (2017) 07, 34–47.
- [7] Tognonvi, M.T., Konan, L.K., Kouassi, S.S., Bi, H., Gouré, I., Zidol, A., Harbec, D., Tagnit-hamou, A. Reactivity of Glass Powder in Aqueous Medium. Adv. Mater. (2018) 7; 9–14.
- [8] Tognonvi, M.T., Zidol, A., Aïtcin, P.-C., Tagnit-Hamou, A. Aging of glass powder surface. J. Non. Cryst. Solids (2015) 427; 175–183.
- [9] Greenberg, S.A., Chang, T.N., Anderson, E. Investigation of colloidal hydrated calcium silicates. I. Solubility products. J. Phys. Chem. (1960) 64 ; 1151–1157.

## Etude électrochimique et quantique de l'effet du biopolymère chitosan sur la corrosion du cuivre en milieu NaCl 3,5 %

<sup>1</sup> UFR Sciences et Technologies, Université de Man, BP 20 Man, Côte d'Ivoire.

<sup>2</sup>Laboratoire de Chimie Physique (LCP), Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

<sup>3</sup>Laboratoire des Sciences de l'Ingénieur pour l'environnement (LaSIE) UMR 7356 CNRS, Université de La Rochelle, Avenue Michel Crépeau 17042 La Rochelle Cedex 1, France.

### Resume

Dans ses applications maritimes telles que les pipelines, la construction navale, les installations de dessalement de l'eau de mer, le cuivre est exposé à la corrosion du fait des ions chlorures. L'inhibition de la corrosion du cuivre par le biopolymère chitosan dans une solution de NaCl 3,5% représentant l'eau de mer a été évaluée à l'aide de la spectroscopie d'impédance électrochimique, de la polarisation potentiodynamique et de méthodes de chimie quantique. Les résultats obtenus montrent que le chitosan inhibe la dissolution du cuivre dans le milieu corrosif. L'efficacité inhibitrice augmente avec la concentration en inhibiteur pour atteindre un maximum de 90,32% à 1000 ppm et à 25°C. Les mesures de polarisation potentiodynamique indiquent que le chitosan est un inhibiteur mixte. L'énergie libre d'adsorption de Gibbs révèle que le processus d'adsorption est endothermique et repose principalement sur un mécanisme de physisorption conforme au modèle d'adsorption de Langmuir. Une corrélation existe entre l'efficacité de l'inhibiteur et les valeurs des paramètres obtenus par la méthode de la théorie de la fonctionnelle de la densité au niveau de calcul B3LYP / 6-31G (d, p). Dans nos travaux futurs nous utiliserons l'eau de l'Océan Atlantique pour être dans les conditions réelles.

**Mots clés :** Chitosane, inhibition, électrochimique, quantique.

### INTRODUCTION

Le cuivre et ses alliages sont très utilisés dans plusieurs domaines industriels grâce à leurs propriétés physiques et mécaniques. Ils sont souvent employés dans le domaine de l'industrie maritime, par exemple dans les pipelines, pour le calibrage des navires et dans les installations de dessalement de l'eau de mer. L'eau de mer du fait de la présence des ions chlorures constitue malheureusement un milieu agressif pour le cuivre et ses alliages. Les pertes économiques liées à ces problèmes peuvent être importantes. Ainsi afin de réduire ces problèmes, l'on peut utiliser des inhibiteurs de corrosion. Un inhibiteur est un composé chimique que l'on ajoute, en faible quantité au milieu pour diminuer la vitesse de corrosion des matériaux. Il peut être destiné soit à une protection permanente de la pièce (l'installation requiert alors une attention scrupuleuse), soit à une protection provisoire (notamment lorsque la pièce est particulièrement sensible à la corrosion ou lorsqu'elle est exposée à un milieu très agressif)<sup>[1]</sup>. Les molécules inhibitrices peuvent agir suivant différents mécanismes, leur conférant ainsi des performances d'inhibition selon le milieu d'étude. Les nombreuses études consacrées à ces composés, depuis une cinquantaine d'années, ont abouti à proposer des produits ou des mélanges de produits précis correspondant à des systèmes de corrosion (couples métal/milieu corrosif) donnés<sup>[2]</sup>. Les nouvelles directives mondiales concernant les rejets industriels étant de plus en plus sévères en termes d'écologie, la mise au point d'inhibiteurs de corrosion éco-compatibles et biodégradables devient, de nos jours, un enjeu important. C'est, en particulier, pour cette raison mais également pour leurs propriétés inhibitrices remarquables que l'utilisation d'inhibiteurs organiques a été largement plébiscitée au cours de ces dernières décennies.

L'objectif de notre étude consiste en l'amélioration de la résistance à la corrosion électrochimique du cuivre en milieu NaCl 3,5% par l'utilisation du biopolymère chitosan dont la structure moléculaire est donnée par la **figure 1**

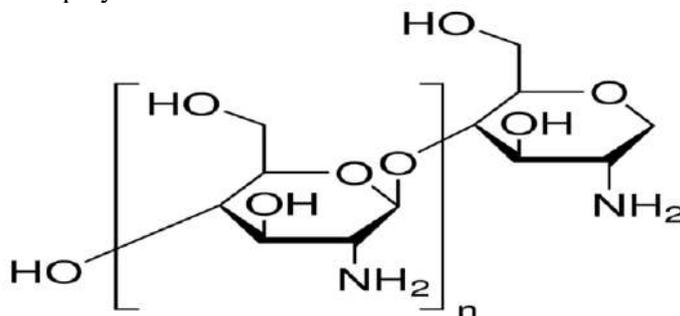


Figure 4: Structure moléculaire du chitosan

### MATERIEL ET METHODES

Le matériau retenu dans cette étude est le cuivre très répandu dans les milieux marins, en particulier dans les unités de dessalement d'eau de mer. L'échantillon de cuivre 99.9% de pureté est cylindrique de diamètre 20 mm.

Nos essais ont été conduits dans une solution de chlorure de sodium NaCl 3,5% (35g/L) (correspondant à la teneur moyenne en Cl<sup>-</sup> de l'eau de mer) préparée au laboratoire par la dissolution de 35 g de NaCl en poudre cristallisé 99.5 % de marque SIGMA-ALDRICH dans un litre d'eau distillée, puis agité par un barreau aimanté afin d'avoir une solution homogène.

Le chitosan analytique a été acquis auprès de SIGMA-ALDRICH et des solutions de concentrations allant de 100 à 1000 ppm ont été préparées

Le dispositif expérimental utilisé pour réaliser les différentes mesures électrochimiques est un potentiostat/galvanostat de type MODULAB associé au logiciel MODULAB XM ECS. Quant aux calculs de chimie quantique ils ont été réalisés à l'aide du logiciel GAUSSIAN 09 W avec son interface graphique Gassview 3.0.

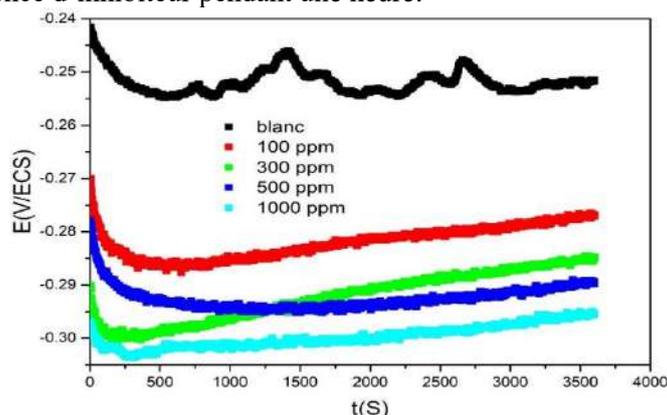
- Les courbes de polarisation ont été obtenues dans un domaine de balayage de (-300 à +150) mV/ECS avec une vitesse de balayage de 0,2 mV/S.
- Les diagrammes d'impédance électrochimiques ont été relevés au potentiel de corrosion, après une heure d'immersion. L'amplitude de la tension sinusoïdale appliquée au potentiel d'abandon est de 10 mV crête à crête dans la gamme de fréquences (de 60 KHz 10 MHz) avec 10 points par décade.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 1-Mesure du potentiel d'abandon

Egalement désigné par potentiel libre, il s'agit de la grandeur électrochimique la plus immédiatement mesurable. Cette technique simple apporte des informations préliminaires sur la nature des processus en cours à l'interface métal/électrolyte : corrosion, passivation.

La **figure 2** donne l'évolution du potentiel d'abandon de l'électrode de cuivre dans une solution de NaCl 3,5% en l'absence et en présence d'inhibiteur pendant une heure.



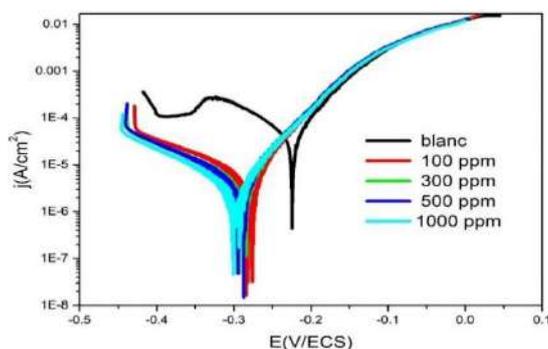
**Figure 5: Suivi du potentiel en circuit ouvert du cuivre immergé dans la solution de NaCl 3,5% à différentes concentrations en inhibiteur.**

Dans la solution sans inhibiteur, le potentiel d'abandon de l'électrode de cuivre évolue légèrement de -0,220 à -0,255 V / ECS pendant les premières heures d'immersion en raison de la dissolution du cuivre et de la formation du film de produit de corrosion. Ce dernier film limite l'accès au dioxygène vers l'interface métallique ce qui conduit à un léger décalage du potentiel du circuit ouvert vers des valeurs plus négatives

En présence de chitosan, le potentiel en circuit ouvert est décalé vers des valeurs de potentiel plus négatives par rapport à la solution sans inhibiteur. Pendant l'immersion, le potentiel d'abandon évolue vers des valeurs plus positives. Cette évolution est associée à la formation et à l'épaississement du film à la surface du cuivre, indiquant l'amélioration de la résistance à la corrosion. D'autre part, le déplacement du potentiel de corrosion vers des valeurs négatives est considéré comme un indicateur de l'activation de la surface <sup>[3]</sup>.

### 2-Courbes de polarisation potentiodynamique (CPP)

Cette méthode quantitative nous permet d'accéder à certaines grandeurs telles que la densité du courant de corrosion donc à l'efficacité inhibitrice de la molécule. Elle permet de déterminer le mécanisme d'action électrochimique de notre inhibiteur. La **figure 3** montre les courbes de polarisation du cuivre dans une solution aérée et agitée de NaCl 3,5% sans et avec addition de chitosan à différentes concentrations. Les courbes de polarisation ont été tracées après une heure d'immersion dans une solution saline.



**Figure 6: Courbe de polarisation du cuivre dans NaCl 3,5% sans et avec addition de différentes concentrations de chitosan à T=298K**

En l'absence de chitosan, le potentiel de corrosion est d'environ -0,22 V / SCE. Dans le domaine cathodique, on observe un premier régime jusqu'à -0,34 V / SCE où une variation linéaire de la densité de courant par rapport au potentiel est constatée. Cette évolution correspond à la réaction de réduction du dioxygène à la surface du cuivre. Pour les potentiels cathodiques supérieurs, on observe un pic de réduction, qui pourrait être associé à la réduction des oxydes de cuivre formés au cours de la période d'immersion [4]. Une variation linéaire de la densité de courant par rapport au potentiel est observée dans le domaine anodique. Avec l'ajout d'inhibiteurs, la forme des courbes de polarisation n'a pas vraiment varié. Une augmentation de la concentration en chitosan entraîne un déplacement du potentiel de corrosion vers des potentiels plus cathodiques. Ce déplacement est associé à une baisse remarquable de la densité de courant par rapport à celle obtenue dans une solution sans inhibiteur avec une modification des valeurs de pente de Tafel cathodique. On peut également noter que les courbes de polarisation anodique ne sont pas fortement affectées par la présence du chitosan, une légère modification de la pente anodique est observée avec la présence des espèces inhibitrices. Les caractéristiques électrochimiques suggèrent un caractère cathodique de cet inhibiteur [5]. Les paramètres électrochimiques tels que le potentiel de corrosion ( $E_{corr}$ ), les pentes de Tafel anodique ( $b_a$ ) et cathodique ( $b_c$ ) et la densité du courant de corrosion ( $j_{corr}$ ) ont été déterminés par la méthode d'extrapolation de Tafel des courbes de polarisation potentiodynamique. Les valeurs sont rassemblées dans le **tableau 1**.

**Tableau 2: Paramètres électrochimiques de la corrosion du cuivre dans NaCl 3,5% sans et avec addition de différentes concentrations de chitosan à 298K.**

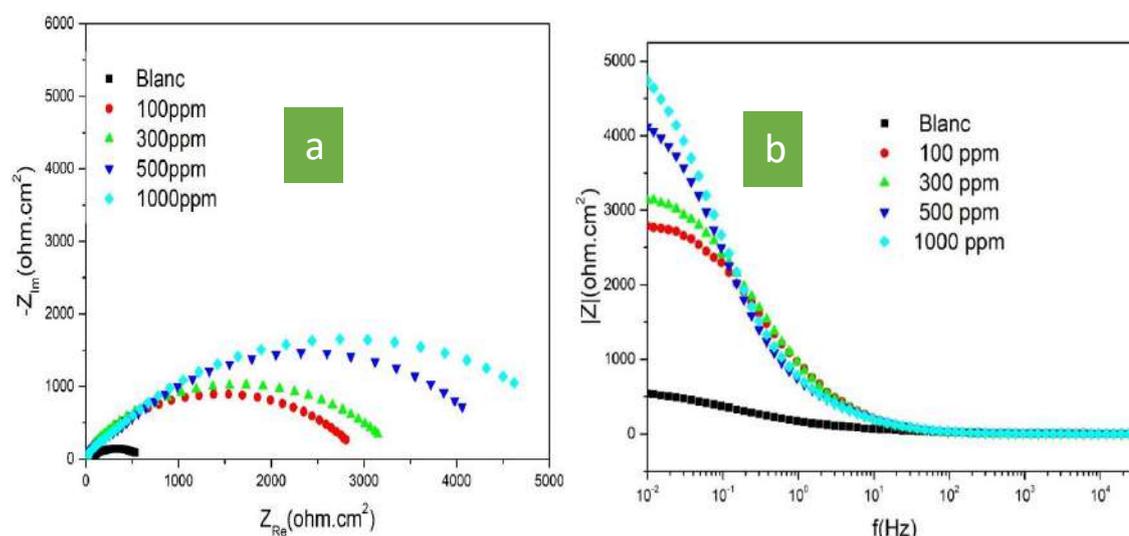
Concentration (ppm)	$E_{corr}$ (mV/ECS)	$j_{corr}$ ( $\mu A.cm^{-2}$ )	$b_a$ (mV/dec)	$-b_c$ (mV/dec)	$R_p$ ( $\Omega.cm^2$ )	$\eta$ (%)
0	-224	46.5	48	94	336.60	-
100	-280	7.5	63	176	3047.1	83
300	-287	5.9	61	165	3718.4	87.31
500	-290	5.0	61	134	4129.8	89.24
1000	-287	4.5	65	148	4944.0	90.32

L'efficacité d'inhibition du chitosan calculée à partir de la **relation 1** [6] augmentent avec la concentration d'inhibiteur pour atteindre une valeur maximale de 88 % pour une concentration d'inhibiteur de 1000 ppm.

$$\eta = \frac{j_{corr} - j_{corr}^{inh}}{j_{corr}} \times 100 \quad (1)$$

#### 4 - Spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE)

Afin de confirmer l'efficacité de protection de chitosane et déterminer le mécanisme d'interface, la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE) a été utilisée au potentiel de corrosion. Les résultats obtenus pour le cuivre après 1 heure d'immersion dans la solution corrosive sans et avec différentes concentrations de chitosan sont indiqués à la **figure 4**.



**Figure 4: Diagrammes d'impédance du cuivre après 1h immersion dans NaCl 3,5% à différentes concentrations de chitosan : (a) en représentation de Nyquist, (b) en représentation de Bode**

Les diagrammes de Nyquist (**Figure 4a**) sont constitués de deux boucles capacitives mal séparées. La boucle aux basses fréquences est attribuée à la résistance des espèces adsorbées due à l'adsorption des molécules inhibitrices sur la surface du cuivre et tous les autres produits accumulés. Celle aux hautes fréquences est généralement attribuée à la capacité double couche et à la résistance de transfert de charges. Le diamètre de la boucle capacitive augmente avec la concentration de chitosan indiquant que l'efficacité d'inhibition est une fonction de la concentration d'inhibiteur<sup>[7]</sup>. On peut remarquer sur la **figure 4b** une augmentation du module de Bode indiquant une augmentation de la passivation.

#### 5-Détermination des paramètres quantiques

Afin de relier la structure de la molécule à son efficacité inhibitrice, des calculs de chimie quantique ont été effectués dans la théorie de la fonctionnelle de la densité par la fonctionnelle hybride B3LYP (Becke 3 paramètres Lee Yang Parr) avec la base d'orbitales 6-31G(d,p) en utilisant le logiciel Gaussian 09 W. Les paramètres quantiques tels que l'énergie de l'orbitale moléculaire la plus haute occupée ( $E_{HOMO}$ ) et de la plus basse inoccupée ( $E_{LUMO}$ ), la différence  $\Delta E = E_{LUMO} - E_{HOMO}$ , le moment dipolaire ( $\mu$ ) et les charges de Mulliken sur les hétéroatomes ont été déterminés.

Les paramètres quantitatifs globaux de la chimie quantique et la réactivité sont rassemblés dans le **tableau 2**.

**Tableau 2: Descripteurs de chimie quantique du NAC**

Paramètres	Valeurs	Paramètres	Valeurs
$E_{HOMO}$ (eV)	<b>-5,0545</b>	A (ev)	<b>-0,8510</b>
$E_{LUMO}$ (eV)	<b>0,8510</b>	$\chi$ (ev)	<b>4,2035</b>
$\Delta E$ (eV)	<b>5,9055</b>	$\Delta N$	<b>0,1315</b>
$\mu$ (D)	<b>1,1509</b>	$\eta$ (eV)	<b>2,9528</b>
I (eV)	<b>5,0545</b>	S (eV)	<b>0,3386</b>
$\omega$ (eV)	<b>2,9920</b>	$\Delta E_T$ (eV)	<b>-1182,9559</b>

Le gap d'énergie ( $\Delta E = E_{LUMO} - E_{HOMO}$ ) peut être un paramètre important de la réactivité de la molécule inhibitrice quant à son adsorption sur la surface du métal. Dans le cas présent, la faible valeur de  $\Delta E$  (5,9055 eV) en accord avec la littérature<sup>[8]</sup> pourrait expliquer la réactivité de la molécule chitosan favorisant son adsorption à la surface du cuivre et conduisant à une bonne efficacité d'inhibition<sup>[9]</sup>. Le paramètre  $\Delta N$  appelé nombre d'électrons transférés est également connu comme étant la capacité à échanger des électrons. Il indique la tendance d'une molécule à donner des électrons à la surface du métal ( $\Delta N > 0$ ) ou à recevoir des électrons de la surface métallique ( $\Delta N < 0$ )<sup>[10]</sup>. La valeur obtenue ( $\Delta N > 0$ ) montre que l'inhibiteur est une molécule qui a tendance à donner des électrons à la surface métallique.

#### Conclusion

L'étude de l'effet inhibiteur du chitosan vis-à-vis la corrosion du cuivre en milieu NaCl 3,5% nous a permis de confirmer la performance de ce dernier et de tirer les conclusions suivantes :

- l'effet inhibiteur du chitosan augmente avec la concentration d'inhibiteur pour atteindre un maximum de 90,32% à 1000 ppm et à 25°C;
- les courbes de polarisation indiquent que le chitosan est un inhibiteur de type mixte ;
- l'inhibition est due à l'adsorption des molécules de chitosan sur la surface du cuivre ;
- les paramètres globaux de la réactivité du chitosan trouvés confirment les résultats expérimentaux.

#### References bibliographiques

- [1] P. Bommersbach in *Evolution des propriétés d'un film inhibiteur de corrosion sous l'influence de la température et des conditions hydrodynamiques*, Vol. INSA Lyon, **2005**.
- [2] C. Fiaud, C. Lemaitre and N. Pebere, *Techniques de l'ingénieur* **2002**, 1-14.
- [3] M. A. Chidiebere, E. E. Oguzie, L. Liu, Y. Li and F. Wang, *Materials Chemistry and Physics* **2015**, 156, 95-104.
- [4] C. N. Hippolyte, B. Y. Serge, A. Sagne, J. Creus and T. Albert, *Journal of Materials Science and Chemical Engineering* **2018**, 6, 100.
- [5] L. Larabi, O. Benali and Y. Harek, *Portugaliae Electrochimica Acta* **2006**, 24, 337-346.
- [6] M. Scendo, J. Trela and N. Radek, *Corrosion Reviews* **2012**, 30, 33-45.
- [7] L. Elhousni, M. Galai, F. Z. ElKamraoui, N. Dkhireche, R. Tourir and M. Ebn Touhami, *Euro-Mediterranean Journal for Environmental Integration* **2017**, 2, 12.
- [8] R. S. Muzaffer Ozcan, Gulfeza Kardas , Ilyas Dehri, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2008**, 325, 57-63.
- [9] H. Ju and Y. Li, *Corrosion Science* **2007**, 49, 4185-4201.
- [10] M. B. Petrović Mihajlović, M. B. Radovanović, Ž. Z. Tasić and M. M. Antonijević, *Journal of Molecular Liquids* **2017**, 225, 127-136.

## CARACTERISATION DE QUELQUES ARGILES LOCALES DU TOGO EN VUE DE LEUR VALORISATION

ANOVE Komla Mawoulikplim<sup>1\*</sup>, TCHEGUENI Sanonka<sup>1</sup>, DEGBE Koffi Agbegnigan<sup>1</sup>, KORIKO Moursalou<sup>1</sup>, TCHANGBEDJI Gado<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire GTVD (Gestion Traitement et Valorisation des Déchets), Faculté Des Sciences, Université de, BP : 1515, Lomé, TOGO

### Resume

Les liants géopolymères constituent une alternative favorable pour la protection de l'environnement comparativement au ciment Portland, bien connue pour sa contribution à l'émission de gaz à effet de serre. Il est donc important de trouver des matériaux qui peuvent valablement remplacer ces ciments pollués. C'est dans cette logique que ce travail a été entrepris. Il a pour objectif de caractériser des ressources argileuses locales du Togo en vue de leur valorisation. Les propriétés physico-chimiques de ces argiles, ont été déterminées : DRX, Infra rouge, Analyses thermiques(ATG), Taux d'humidité, ICP-AES. Les résultats obtenus montrent que ces argiles contiennent de la kaolinite et qui seront ensuite utilisées pour la synthèse des liants écologiques.

**Mots clés:** Géopolymères ; argile ; kaolinite, environnement.

### Abstract

Geopolymeric binders are an environmentally friendly alternative to Portland cement, which is well known for its contribution to the emission of greenhouse gases. The objective of this work is to characterize the local clay resources of Togo with a view to their valorization. The physicochemical properties of the materials were determined: XRD, IR and the chemical composition. The results obtained show that these clays contain kaolinite and which will then be used for the synthesis of binders.

**Key words:** Geopolymer; clay; kaolinite; environment.

## I. Introduction

L'argile est l'un des matériaux les plus anciens utilisés par l'homme. Elle est nécessaire pour la fabrication des objets utilisés dans la vie quotidienne. Du point de vue géologique, l'argile est une roche sédimentaire, composée pour une large part de minéraux spécifiques, aluminosilicates plus ou moins hydratés, eux-mêmes nommés argiles. Les roches argileuses présentent une grande diversité de compositions, de propriétés, de nomenclature et d'applications industrielles. Les progrès de la science surtout dans les analyses thermiques gravimétriques et de rayons X ont permis de mieux connaître les minéraux argileux. La disposition des atomes dans les feuilletés élémentaires des minéraux argileux est la seule base possible d'une classification [1]. Grâce à leurs propriétés, les argiles sont utilisables pour différentes applications. Outre la fabrication de matériaux de construction, elles sont également utilisées dans l'élaboration de matériaux polymères ou encore dans le raffinage d'huile alimentaire, dans la cosmétique ou en médecine notamment celles qui sont riches en silice ( $\text{SiO}_2$ ) et en alumine ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ). De par leurs multiples propriétés physico-chimiques intéressantes, elles peuvent être utilisées, directement ou non dans l'industrie après leur extraction.

Au Togo, les terres cuites à base d'argile, sont essentiellement utilisées pour la confection des matériaux de construction traditionnelle (céramique, verrerie, porcelaines, etc.) ainsi que pour la confection de nombreux articles de poterie. Le Togo dispose des réserves d'argiles suffisantes pour assurer totalement ou partiellement l'alimentation d'une industrie céramique [2]. Pour la mise en place d'une filière de valorisation de ces argiles, il s'avère important de connaître leurs structures ainsi que leurs compositions chimiques. Le présent travail a pour objectif de caractériser deux ressources argileuses locales du Togo (une argile située au sud et une autre au nord), par quatre techniques différentes : DRX, Infra rouge, Analyses thermiques(ATG), ICP-AES. Les résultats obtenus montrent que ces argiles contiennent de la kaolinite riche en silice et qui seront ensuite utilisées pour la synthèse des liants écologiques.

## II. METHODOLOGIE

Pour atteindre l'objectif envisagé, la méthodologie suivante sera adoptée :

### 3. Préparation des échantillons

Les deux types d'argiles utilisées dans cette étude proviennent de deux carrières différentes (une argile A<sub>1</sub> située au sud et la seconde A<sub>2</sub> située au nord du TOGO). Les échantillons de ces argiles prélevés vont subir les opérations suivantes :

- ✓ Concassage des roches des échantillons en morceaux à l'aide d'un mortier en porcelaine,
- ✓ Séchage à l'étuve pendant 24 h (t = 105°C),
- ✓ Broyage des morceaux des échantillons argileux dans un broyeur,
- ✓ Tamisage des échantillons pour obtenir de la poudre fine (Tamis de 75µm).

#### 4. Caractérisation physico-chimiques des matières premières

Les propriétés physico-chimiques de ces argiles, ont été déterminées : DRX, Infra rouge, Analyses thermiques(ATG), ICP-AES.

##### 2.1 Analyse chimique

La détermination de la composition chimique de la phase minéralogique argileuse a été effectuée par ICP-AES (Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry). Cette méthode permet la détermination des éléments du matériau sous forme de pourcentages massiques de leurs oxydes les plus stables.

##### 2.2 Analyse thermogravimétrique

L'analyse thermogravimétrique (ATG) consiste à enregistrer les pertes de masse d'un échantillon de matériau en fonction de la température, liées à des réactions chimiques ou à des départs de constituants volatils adsorbés ou combinés dans un matériau.

##### 2.3 Spectrométrie Infrarouge par Transformée de Fourier

La spectrométrie infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) permet de déterminer les différents types de liaisons chimiques dans un matériau. Les différents groupements chimiques constitutifs de la matière possèdent des niveaux de vibrations qui correspondent à des énergies précises.

##### 2.4 Analyse par diffraction de rayons X

La diffraction de rayons X (DRX) est l'une des techniques couramment utilisées pour l'identification des phases cristallisées contenues dans un matériau.

### III. RESULTATS OBTENUS ET DISCUSSIONS

#### 1- La composition chimique des matières premières :

Les compositions chimiques des matériaux argileux (en % massique) déterminées par ICP montrent que les deux argiles sont composées essentiellement de silice (43,8% dans A<sub>1</sub> et 65,1% dans A<sub>2</sub>) et d'alumine (34,9 % dans A<sub>1</sub> et 17,5 % dans A<sub>2</sub>).

**Tableau** : Composition chimique élémentaire des échantillons argileux

% massique	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	SiO <sub>2</sub>	CaO	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	K <sub>2</sub> O	MgO	MnO	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	TiO <sub>2</sub>	Na <sub>2</sub> O
<b>Argile A<sub>1</sub></b>	34.9	43.8	0,14	3.60	0.24	0.146	0.003	0.04	1.39	0.1
<b>Argile A<sub>2</sub></b>	17.5	65.1	0,09	2.97	4.32	1.44	0.032	0.03	0.81	1.04

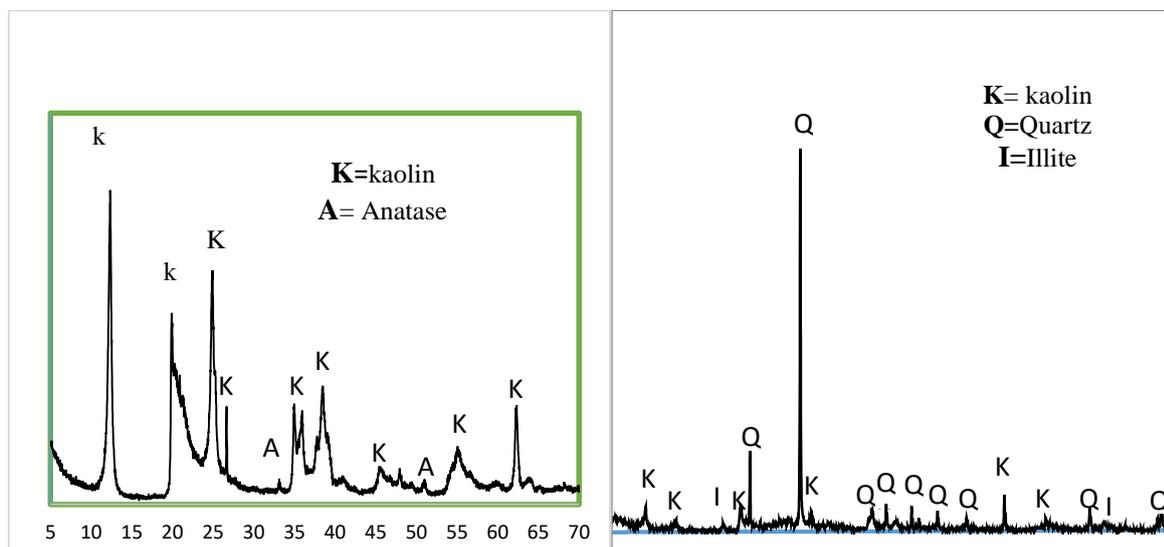
Le pourcentage de la Silice et de l'Aluminium est très important, ceci indique la présence de Kaolinite (Al<sub>2</sub>Si<sub>2</sub>O<sub>5</sub>(OH)<sub>4</sub>). Le rapport Alumine/Silice, renseigne sur la perméabilité du matériau vis-à-vis de l'humidité, plus ce rapport est grand plus la perméabilité est importante [3]. Le rapport massique SiO<sub>2</sub>/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> est voisin de 1, ce qui indiquerait une forte teneur en kaolinite dans l'argile A<sub>1</sub> (Figure 1). Celui de l'argile A<sub>2</sub>=3,7 est supérieur à la valeur classique des bentonites qui est de 2,7. Cette différence indique la présence de Quartz libre dans la fraction argileuse en grande proportion [4] (Figure 1).

#### 2- Diffraction des rayons X :

Les diffractogrammes ont été obtenus à partir des échantillons désorientés (placés directement sous forme de poudre dans un porte-échantillon classique). Les diagrammes des RX des argiles brutes ont montré qu'elles sont composées de Quartz(SiO<sub>2</sub>), Kaolinite (Al<sub>2</sub>Si<sub>2</sub>O<sub>5</sub>(OH)<sub>4</sub>), Illite [(K, H<sub>3</sub>O) Al<sub>2</sub>

$Si_3AlO_{10}(OH)_2$ ]. Ces résultats sont en parfait accord avec les résultats d'ICP qui montre des proportions élevées de  $SiO_2$  (Quartz) et de kaolinite.

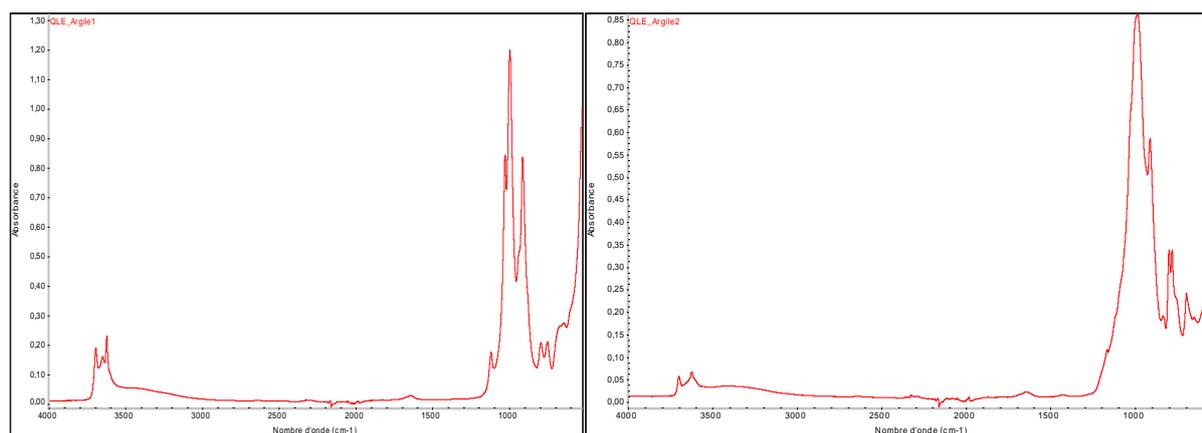
Le diffractogramme de rayons X montre que la fraction argileuse  $A_1$  est constituée majoritairement de kaolinite (92%) et d'anatase  $TiO_2$  en faible proportion (5,5%). Celui de la fraction argileuse  $A_2$  montre qu'elle constituée majoritairement de quartz  $SiO_2$  (66,6%), d'illite(19,8%) et de kaolinite(6,5%).



**Figure 1** : DRX des fractions argileuses (Argile  $A_1$  à gauche et Argile  $A_2$  à droite)

### 3- Infrarouge (IR)

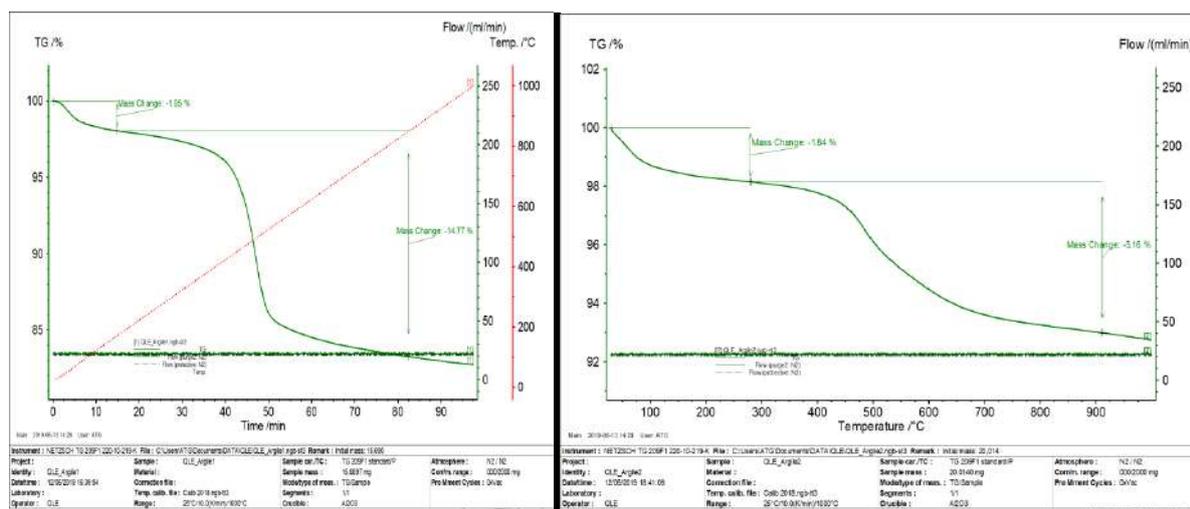
La spectroscopie Infra Rouge a été utilisée pour compléter l'analyse de l'échantillon d'argile. Les spectres obtenus ont montré: Les bandes d'absorption situées entre  $3200-3800\text{ cm}^{-1}$  relatives aux groupements OH,  $1100\text{ cm}^{-1}$  correspond aux vibrations de valence de la liaison Si-O-Al, entre  $1000-1050\text{ cm}^{-1}$  les liaisons Si-O-Si caractéristiques de la phase kaolinite qui sont en accord avec la DRX indiquant la présence de la Kaolinite dans l'argile, La bande qui s'étale entre  $750-780\text{ cm}^{-1}$  est attribuée aux vibrations de liaison O-Si-O dues au Quartz [5]. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés à partir de DRX. Ils confirment la présence du Quartz, de la Kaolinite et de l'illite dans les argiles étudiées.



**Figure 2** : IR des fractions argileuses (Argile  $A_1$  à gauche et Argile  $A_2$  à droite)

### 4- Analyses thermiques(ATG)

Dans le but d'obtenir des informations complémentaires avec celles provenant de l'analyse minéralogique donnée par la diffraction de rayons X, l'analyse thermique et thermogravimétrique (ATG) a été effectuée sur nos matériaux argileux. La figure 2 présente le thermogramme d'ATG les fractions argileuses.



**Figure 3 :** Les thermogrammes d’ATG des fractions argileuses (**Argile A<sub>1</sub> à gauche et Argile A<sub>2</sub> à droite**)

Les minéraux argileux comprennent différents types de groupement OH ou de molécules d’eau dans leur structure, qui sont caractérisés par leur énergie de liaison [6]. Dans la plupart des cas, pour un minéral argileux, les courbes d’analyse thermique obtenues comportent différents paliers correspondant à la perte des différents types d’eau et à une réorganisation structurale.

(i) perte de l’eau libre ou l’eau adsorbée dans l’espace interfoliaire, disposée en une ou deux couches généralement vers 80-200 °C.

(ii) perte de l’eau structurale, c’est-à-dire des groupements OH de la structure, qui débute à partir de 500 °C. Cette perte est connue par la déshydroxylation. Il se forme, suite à cette perte une phase désordonnée appelée métakaolinite surtout pour les argiles qui sont essentiellement de type kaolinitique [7, 8,9]. La métakaolinite est la phase la plus réactive de la série des transformations thermiques de la kaolinite.

(iii) entre 900 et 980 °C, il y a une réorganisation structurale due à la démixtion de la métakaolinite en micro-domaines riche en silice ou en alumine. [10].

#### IV. Conclusion

Les techniques expérimentales utilisées nous ont permis de mettre en évidence les phases minérales ainsi que les compositions chimiques des argiles analysées. Nous avons ainsi établi que ces argiles sont constituées essentiellement de Kaolinite, d’Illite. Ces résultats ont aussi permis d’identifier les deux types argiles: l’argile A<sub>1</sub> est plus riche en kaolinite alors l’argile 2 est riche en quartz associée à l’illite et à la kaolinite. Les résultats obtenus montrent que ces argiles contiennent de la kaolinite et qui seront ensuite utilisées pour la synthèse des liants écologiques

#### V. Références bibliographiques

- [1] Vatan A., OPHRYS. Manuel de sédimentologie. Paris. (2000). Vol 1. ISBN 9782710800736.
- [2] Gado TCHANGBEDJI. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* (2004):017: (155-166)
- [3] Jarraya I., Fourmentin S., Benzina M., *J. Soc. Chim. Tun.* 12 (2010) 139.
- [4] Touhtouh D., Elfaleh E.M., Moujahid Y... *J. Mater. Environ. Sci.* 5 (S2) (2014) 2535.
- [5] Bouna L., Univ. Cadi Ayyad FST – Marr. Vol 1. (2012) 122.
- [6] C. Manoharan, P. Suthrsan, S. Dhanapandian, R. Venkatachalapathy, Spectroscopic and thermal analysis of red clay for industrial applications from Tamilnadu. *Indian Journal of Molecular Structure*, 2012, vol. 1027, p. 99-103.
- [7] G.W. Brindley, M. Nakahira, The kaolinite-mullite reaction series: I Survey of outstanding problems. II Metakaolin. III The high temperature phase. *Journal of American Ceramic Society*, 1959, vol. 42, p.311-324.
- [8] G.W. Brindley, J.H. Sharp, J.H. Patterson, A. Narahari, Kinetics and mechanism of dehydroxylation processes. *American Mineralogy*, 1967, vol. 52, p. 201-211.
- [9] I. Horvath, G. Kranz, A thermoanalytical study of high temperature dehydration of kaolinites with various structural arrangements. *Silikaty*, 1980, vol. 24, p. 149-156.
- [10] V. Balek, M. Murat, The emanation thermal analysis of kaolinite clays minerals. *Thermochimica Acta*, 1996, vol. 282, p. 385-397.

## Etude de la formulation des biocomposites à partir des polyhydroxyalcanoates (PHA) et des fibres issues de la biomasse

BAMBA Massé, YAO Kouassi Benjamin

<sup>1</sup> Laboratoire des procédés industriels de synthèse, de l'environnement et des Energies nouvelles UMRI 58, BP1093 Yamoussoukro - Côte d'Ivoire E-mail : [masse.bamba19@inphb.ci](mailto:masse.bamba19@inphb.ci)

<sup>1</sup> Institut National Polytechnique Félix Houphouët (INPHB), Laboratoire des procédés industriels de synthèse, de l'environnement et des Energies nouvelles UMRI 58, BP1093 Yamoussoukro - Côte d'Ivoire E-mail : [benjamin.yao@inphb.ci](mailto:benjamin.yao@inphb.ci)

### Résumé

Les matériaux biocomposites à base de fibre végétale et de polymère biodégradable sont beaucoup appréciés dans plusieurs secteurs d'activités (l'emballage, l'automobile, etc...) en raison de leurs propriétés intéressantes [1]. Cependant, il existe des limitations majeures de l'utilisation des fibres végétales comme renfort dans les matrices polymères telles que la faible adhésion interfaciale entre fibre hydrophile et matrice hydrophobe [2] et une faible mouillabilité entre les deux composants [3]. Cette étude consiste à mettre en place une formulation des biocomposites (PHA/fibres végétales) ayant de bonnes propriétés pour des applications diverses. Une caractérisation physico-chimique des fibres de noix de coco (FC) et de branche de rônier (FBR) a été réalisée par la méthode Van Soest et Wine. Les matériaux qui seront utilisés pour la mise en œuvre des biocomposites sont un mélangeur interne suivie d'injection par compression. Les résultats de la caractérisation montrent que ces deux fibres présentent des taux de cellulose élevés. En conclusion, nous pouvons dire que ces fibres végétales sont appropriées aux applications des biocomposites car la cellulose fournit une résistance aux parois cellulaires. Par la suite, des modifications chimiques de la surface des fibres végétales seront effectuées pour améliorer la compatibilité fibre/matrice en vue d'obtenir des biomatériaux performants.

**Mots clés :** Biocomposites ; PHA ; Fibres végétales ; traitement chimique.

## Study of the formulation of biocomposite materials from polyhydroxyalkanoate (PHA) and fibers from plant biomass

### Abstract

Biocomposite materials based on plant fiber and biodegradable polymer are much appreciated in several business sectors (packaging, automotive, etc.) because of their interesting properties [1]. However, there are major limitations to the use of plant fibers as a reinforcement in polymer matrices such as the low interfacial adhesion between hydrophilic fiber and hydrophobic matrix [2] and low wettability between the two components [3]. This study consists in setting up a formulation of biocomposites (PHA / plant fibers) having good properties for various applications. A physicochemical characterization of coconut fibers (CF) and palm tree branch (PTBF) was carried out by the Van Soest and Wine method. The materials that will be used for the implementation of the biocomposites are an internal mixer followed by injection by compression. The results of the characterization show that these two plant fibers have high levels of cellulose. In conclusion, we can say that these plant fibers are suitable for biocomposites applications because cellulose provides resistance to cell walls. Subsequently, chemical modifications to the surface of the plant fibers will be carried out to improve the fiber / matrix compatibility with a view to obtaining high-performance biomaterials.

**Keywords:** Biocomposites; PHA; Plant fibers; Chemical treatment.

### 1. Introduction

Les plastiques conventionnels issus de la pétrochimie ont obtenu un grand intérêt dans les années 1950 et sont devenus les matériaux les plus utilisés dans le monde entier. Ils ont envahi notre quotidien et sont pratiquement présents dans tous les domaines d'application: chirurgie, pharmacologie, emballage, agriculture, industrie [1]. Au cours des dernières décennies, la production de plastique a fortement grimpé en raison de son faible coût, sa polyvalence, sa robustesse, sa légèreté et sa durabilité [1], [2]. Cependant, ces plastiques sont issus d'une ressource non renouvelable dont l'extraction et l'utilisation produisent des gaz à effet de serre tels que le CO<sub>2</sub> contribuant au réchauffement climatique et présente un véritable problème pour l'environnement.

De nos jours, la valorisation des déchets plastiques dans son entièreté devient de plus en plus importante pour l'avenir de notre planète et des générations futures. En effet, dans un rapport de l'Unicef intitulé « *Turning trash into building blocks for children's futures* » publié en 2018, seule la ville d'Abidjan produit chaque jour 288 tonnes de déchets

plastiques et c'est seulement 5% de ces déchets qui sont recyclés. Toutefois, en absence de systèmes de collecte et de traitement appropriés, ces déchets plastiques participent à la dégradation et à la contamination des cours d'eau et des écosystèmes pour des centaines, voire des milliers d'années. Au regard de ces problèmes, on assiste à une demande croissante de polymères biodégradables comme solution aux problèmes de pollution liés aux déchets plastiques dans l'environnement.

Récemment, la recherche au niveau de l'industrie plastique se dirige davantage vers les biopolymères comme sources de matières premières renouvelables pour la fabrication de matériaux plastiques. D'autant plus que, les plastiques issus des biopolymères appelés bioplastiques sont biodégradables, compostables et participent à la réduction des déchets plastiques dans l'environnement [3].

Par ailleurs, l'utilisation des fibres synthétiques (fibre de carbone, de verre, d'aramide ...) comme moyens de renforcement dans les matériaux composites à attirer l'attention de plusieurs chercheurs pour son effet polluant et dévastateur de l'environnement. Elles proviennent aussi des ressources minérales et pétrolières dont leurs productions émettent du CO<sub>2</sub>. C'est pour cela, l'idée de remplacer des polymères de synthèse par des polymères obtenus à partir de ressources renouvelables, ainsi que des fibres synthétiques par des fibres naturelles sont l'un des sujets de recherche très actuel pour de nombreuses raisons économiques, environnementales et de marketing [4].

Parmi ces polymères biodégradables les plus attrayants, on retrouve des polymères synthétiques tels que l'alcool polyvinylique, les polyesters, les polyesters amides et des polymères provenant de matières premières renouvelables telles que l'amidon et ses dérivés, la cellulose, les polyhydroxyalcanoates (PHA) et le polyacide lactique (PLA) [4]. Ils sont de plus en plus employés dans le développement de nouveaux matériaux composites et peuvent facilement remplacer les composites renforcés par des fibres synthétiques dans différentes applications [5]. Mais force est de constater que, ces polymères biodégradables présentent des inconvénients majeurs qui sont leurs coûts et leurs performances.

Ainsi, l'une des solutions pour résoudre ce problème est d'incorporer des fibres issues de la biomasse comme renfort, tout en conservant la biodégradabilité et la biocompatibilité du matériau bio-composite obtenu.

C'est dans cette optique que s'inscrit notre travail qui a pour objectif général de concevoir des nouveaux matériaux bio-composites à partir de PHA et renforcer par des fibres végétales locales ayant de bonnes propriétés pour des applications diverses et respectueuses de l'environnement. Plus spécifiquement il s'agira de :

- faire une modélisation pour la formulation des matériaux biocomposites PHA/fibres végétales locales ;
- déterminer les propriétés mécaniques, thermiques et de biodégradabilité des matériaux bio-composites (PHA/fibres végétales locales) ; - optimiser les conditions de mise en œuvre des matériaux biocomposites (PHA/fibres végétales locales) pratiques et réalisables en entreprise.

## 2. Matériel et méthodes

### Matrice (PHBV)

Le PHA qui sera utilisé dans ce travail est le copolymère poly(3hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalérate) (PHBV) commercialisée par l'entreprise Helian Polymers BV sous le nom d'ENMAT Y1000 dont les principales caractéristiques sont consignées le tableau 1 :

Propriétés	Unités	Valeurs
Densité	g/cm <sup>3</sup>	1.25
Indice de fluidité à chaud		8-15
Limite d'élasticité	MPa	31-36
Résistance à la traction	MPa	
Allongement à la rupture	(%)	39
		3.8
		1600-2100
Module d'Young	MPa	
Module de flexion	MPa	
Température de déflexion thermique	°C	2200-2900
		55-70
Point de fusion DSC	°C	175-180

Tab. 1 : Principales caractéristiques physico-chimique du PHBV

## 2.1 Collecte et prétraitement des fibres végétales locales

Quatre (04) types de fibres végétales locales ont été collectées dans cette étude, il s'agit des fibres issues des noix de coco (FC), des pailles de riz (FPR), des troncs de bananier (FTB) et des branches de rônier (FBR) (figure 1). Ses différentes fibres végétales ont subi un lavage avec de l'eau de robinet et sécher au soleil pendant 1 semaine. Par la suite, elles ont été broyées et tamiser à l'aide d'un tamis de diamètre égale à 250  $\mu\text{m}$ .

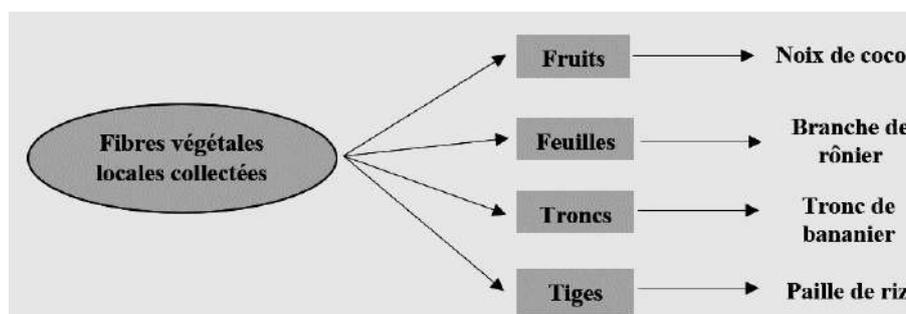


Fig. 1 : Classification des différentes fibres végétales locales collectées

## 2.2 Détermination des éléments lignocellulosique des fibres végétales locales collectées

Les teneurs en cellulose, hémicellulose et en lignine ont été effectuées selon la méthode Van Soest et Wine [6]. C'est une méthode gravimétrique basée sur la différence de solubilité des constituants dans deux types de détergents : NDF (Neutral detergent fiber) et ADF (Acid detergent fiber). Cette méthode permet d'obtenir une estimation des teneurs en composés pariétaux : cellulose (C), hémicellulose (HC), lignine (L). Ces composés pariétaux sont estimés selon la figure 2 ci-dessous :

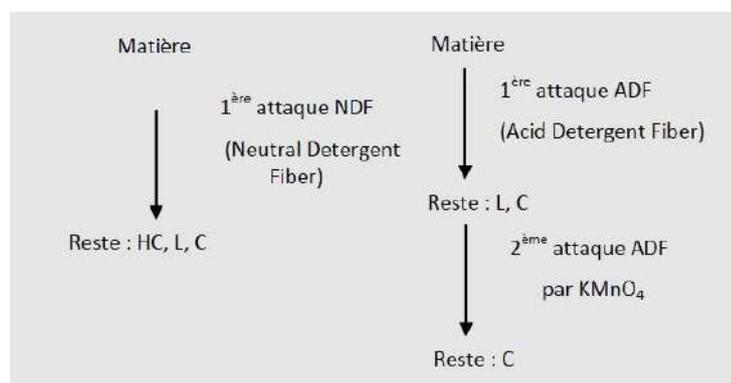


Fig. 2 : Principe d'obtention des composés pariétaux

## 3. Résultats

Le tableau 3 présente les résultats de la caractérisation lignocellulosique et physico-chimique des différentes fibres végétales locales analysées. Ces résultats montrent que toutes les fibres végétales présentent une teneur en cellulose élevée comparée aux autres éléments de la fibre qui sont l'hémicellulose et la lignine. Cela est tout à fait normal car la cellulose est la principale composante structurelle d'une fibre végétale [2]. On remarque aussi que la teneur en hémicellulose des fibres de paille de riz est supérieure à celle des autres fibres végétales. Ce qui montre que ces fibres pourraient être préférable pour la production d'éthanol et d'autres produits de fermentation [7].

Concernant les fibres de noix de coco et de branche de rônier, elles présentent les teneurs en cellulose les plus élevées ce qui nous permet d'opter pour de ces deux fibres, car d'après Neto [8], les fibres présentant un taux en cellulose élevé sont appropriées pour les applications des composites. Aussi, il faut ajouter que les propriétés de ces fibres végétales dépendent de leur teneur en cellulose.

Type de fibre	% Cellulose	% Hémicellulose	% Lignine	% Matière sèche	% Cendre
<b>Fibre de noix coco (FC)</b>	67,627	7,523	15,310	89,100	4,882
<b>Fibre de tronc de bananier (FTB)</b>	35,973	8,447	6,087	90,267	10,666
<b>Fibre de paille de riz (FPR)</b>	34,797	26,823	7,417	92,517	9,790
<b>Fibre de branche de rônier (FBR)</b>	54,833	8,350	7,143	91,567	6,134

Tab. 2 : Caractérisation lignocellulosique et physico-chimique des fibres végétales

#### 4. Conclusion

Les tests de la caractérisation lignocellulosique nous ont permis de choisir deux fibres végétales (fibres de noix de coco et de branche de rônier) en fonction des taux élevés de cellulose qui sont respectivement 67,62% et 54,83%. A la suite, nous effectuerons un plan de criblage de nos facteurs qui entrent en jeu dans la formulation de nos biocomposites afin d'établir un modèle pour la mise en œuvre des matériaux biocomposites.

#### 5. Références

- [1] S. S. Costa, A. L. Miranda, M. G. de Morais, J. A. V. Costa, et J. I. Druzian, « Microalgae as source of polyhydroxyalkanoates (PHAs) — A review », *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 131, p. 536-547, juin 2019.
- [2] A. Anjum, M. Zuber, K. M. Zia, A. Noreen, M. N. Anjum, et S. Tabasum, « Microbial production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) and its copolymers: A review of recent advancements », *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 89, p. 161-174, août 2016.
- [3] H.-N. Rabetafika, M. Paquot, et P. Dubois, « Les polymères issus du végétal: matériaux à propriétés spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique. », *Biotechnol. Agron. Société Environ.*, vol. 10, n° 3, 2006.
- [4] K. Borchani, « Développement d'un composite à base d'un polymère biodégradable et de fibres extraites de la plante d'Alfa », PhD Thesis, Lyon, 2016.
- [5] A. K. Mohanty, M. Misra, et L. T. Drzal, *Natural fibers, biopolymers, and biocomposites*. CRC press, 2005.
- [6] P. van Soest et R. H. Wine, « Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents », *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, vol. 50, n° 1, p. 50-55, 1967.
- [7] N. Reddy et Y. Yang, « Biofibers from agricultural byproducts for industrial applications », *TRENDS Biotechnol.*, vol. 23, n° 1, p. 22-27, 2005.
- [8] A. R. S. Neto, M. A. Araujo, F. V. Souza, L. H. Mattoso, et J. M. Marconcini, « Characterization and comparative evaluation of thermal, structural, chemical, mechanical and morphological properties of six pineapple leaf fiber varieties for use in composites », *Ind. Crops Prod.*, vol. 43, p. 529-537, 2013.

## Etude thermodynamique et quantique de l'inhibition de la corrosion du cuivre en milieu acide nitrique molaire par le céfadroxil.

Diki N'guessan Yao Silvère<sup>1\*</sup>, Coulibaly Nagnonta Hippolyte<sup>2</sup>, Ehouman Ahissan Donatien<sup>3</sup>, Trokourey Albert<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR SSMT, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

<sup>2</sup>UFR Sciences et Technologies, Université de Man, BP 20 Man, Côte d'Ivoire.

<sup>3</sup>Laboratoire de Thermodynamique et de Physico-Chimie du Milieu, UFR SFA, UNA, Côte d'Ivoire.

### RESUME

La corrosion des métaux est un fléau industriel important qui contribue à la pollution de l'environnement. Parmi les solutions proposées, il y a l'utilisation d'inhibiteurs de corrosion. L'objectif de notre étude est de tester la molécule organique hétérocyclique céfadroxil, un antibiotique de la famille des céphalosporines de première génération comme inhibiteur de la corrosion du cuivre en milieu acide nitrique 1M. Les études ont été menées en utilisant la méthode de perte de masse et la théorie de la fonctionnelle densité (DFT) au niveau B3LYP avec la base 6-31G (d, p). L'inhibiteur étudié a montré une excellente efficacité inhibitrice allant jusqu'à 94,44 % à 298 K pour sa concentration optimale (2 mM). Les grandeurs thermodynamiques d'adsorption et d'activation indiquent un processus d'adsorption spontanée qui relève principalement de la physisorption. Les résultats fournis par l'étude théorique sont cohérents avec les données expérimentales. Des études électrochimiques sont envisagées afin d'apprécier les différentes étapes du mécanisme d'inhibition

**Mots clés** : corrosion ; cuivre ; DFT.

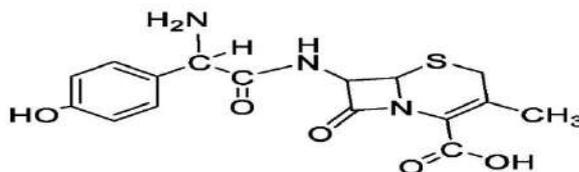
### INTRODUCTION

Les métaux sont une classe de [matériaux](#) issus de minerais. Ils sont très utilisés dans de nombreux domaines tels que le bâtiment (charpentes métalliques, menuiserie métallique, plomberie, tuyauterie, robinetterie et électricité) [1, 2], les ouvrages de transport (voie ferrée, pipeline, gazoduc...), les moyens de locomotion (véhicules, bicyclettes, navires avions,...), les machines industrielles, l'industrie militaire. De ce fait, leur importance s'est considérablement accrue.

Cependant, les métaux ont tendance à retourner irréversiblement à l'état de minerais c'est à dire à leur état naturel (état le plus stable conféré par une énergie plus basse) par des processus de dégradation nommés corrosion.

Vu les pertes et désagréments causés par la corrosion des métaux, il urge de songer à leur protection provisoire voire permanente. Aussi, les technologies développées de nos jours visent-elles à court et moyen termes la résistance des matériaux métalliques aux agents corrosifs. Les méthodes usuelles de lutte contre la corrosion, basées sur les composés minéraux, ne se sont pas montrées assez efficaces et sont d'ailleurs soumises de nos jours à des restrictions d'ordre environnemental. Par conséquent, il y a un besoin pressant de trouver des moyens de lutte efficaces et compatibles avec les normes environnementales [3]. L'utilisation des inhibiteurs de corrosion est l'une des meilleures techniques qui assure la protection des métaux lorsqu'ils sont en contact avec des milieux très agressifs tels que le milieu acide nitrique [4]. Ce sont des composés qui, ajoutés en faible proportion dans le milieu réactionnel, permettent une diminution notable de la vitesse de corrosion des métaux. Ces dernières années, les restrictions d'ordre environnemental limitent l'usage d'un grand nombre d'inhibiteurs parmi lesquels les inhibiteurs inorganiques [5]. Ainsi, plusieurs travaux de recherche au sein de notre laboratoire [6-9] se focalisent sur l'usage des molécules organiques éco-compatibles qui garantissent une efficacité élevée à bas coût. Ces types d'inhibiteurs ont l'avantage indéniable de ne pas contenir des métaux lourds, ni des composés toxiques et d'être biodégradables [10]. Ainsi, il sera question dans notre étude d'utiliser comme inhibiteur de corrosion un antibiotique de la famille des céphalosporines de première génération : le céfadroxil (**schéma 1**).

Cette molécule possède une grande taille, une grande surface moléculaire avec plusieurs hétéroatomes (O, N et S) ainsi que plusieurs liaisons  $\pi$ , éléments favorables à une bonne adsorption sur la surface du cuivre par formation d'une couche protectrice qui isole le métal du milieu corrosif [11].



**Schéma 1** : Structure du céfadroxil.

## MATERIEL ET METHODES

### Matériel :

**Cuivre** : les échantillons de cuivre utilisés dans cette étude se présentaient sous la forme de tiges cylindriques de 10 mm de longueur et de 2,2 mm de diamètre, de pureté 95 %.

**Solution corrosive** : acide nitrique 1M préparée par dilution avec de l'eau distillée d'une solution commerciale d'acide nitrique (de pureté supérieure à 65 %) achetée chez Sigma-Aldrich Chemicals ;

**Inhibiteur** : la molécule de céfadroxil, de formule  $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ , de couleur blanche a également été acquise auprès de Sigma-Aldrich Chemicals.

### Méthodes :

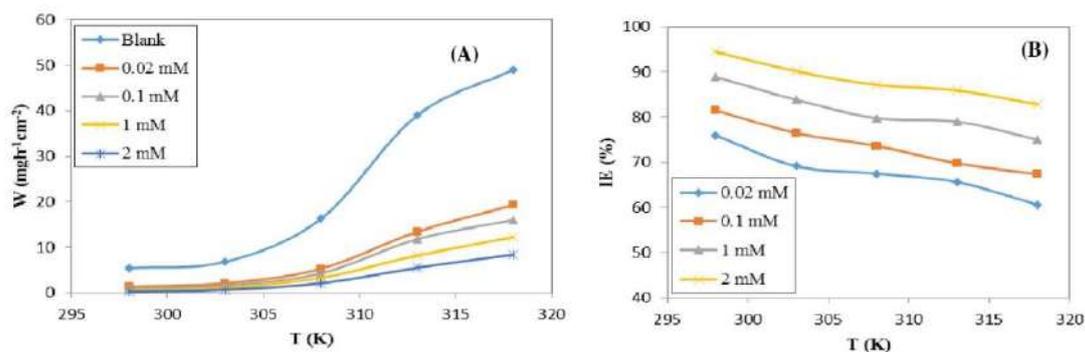
✚ **Gravimétrie** : elle consiste à évaluer grâce à une balance de précision, une étuve et un bain, la perte de masse de l'échantillon de cuivre ayant séjourné pendant 1h dans le milieu  $HNO_3$  1M en l'absence puis en présence de différentes concentrations de céfadroxil sur la plage de température 298-318 K.

✚ **Chimie quantique** : approche théorique, DFT/B3LYP dans la base 6-31G (d, p). On calcule les paramètres électroniques de la molécule pour en interpréter les résultats afin d'établir une corrélation avec les résultats expérimentaux.

## Resultats et discussion

### Gravimétrie

La vitesse de corrosion du cuivre a fait l'objet d'études dans une solution molaire d'acide nitrique sans inhibiteur puis avec des concentrations en céfadroxil de 0,02 mM ; 0,1 mM ; 1 mM et 2 mM dans une plage de température allant de 298 à 318 K d'une part et l'efficacité inhibitrice en fonction de la température pour ces quatre



concentrations en céfadroxil (Figure 1 A&B).

**Figure 1 A&B : vitesse de corrosion du cuivre en fonction de la température (A) et efficacité inhibitrice du céfadroxil en fonction de la température (B).**

La **figure 1A** montre que la vitesse de corrosion du cuivre augmente avec la température. Cependant, cette augmentation est de plus en plus faible lorsque la concentration en inhibiteur augmente. Cela explique que la corrosion est beaucoup atténuée par la présence de céfadroxil. La **figure 1B** montre que, l'efficacité inhibitrice du céfadroxil diminue lorsque la température augmente pour la plage de concentration étudiée. Selon la littérature [12], cette diminution de l'efficacité l'inhibitrice avec l'augmentation de la température indique que le processus d'adsorption de l'inhibiteur sur la surface métallique est régi par la physisorption. Cet effet peut également être attribué à l'accroissement de la solubilité des films protecteurs englobant les molécules inhibitrices et les produits de corrosion initialement précipités à la surface du métal [13], augmentant ainsi l'exposition de la surface du cuivre à l'attaque corrosive lorsque la température augmente.

De nos jours, avec le développement des moyens de calculs informatiques d'une part et les restrictions environnementales souvent défavorables aux expérimentations d'autre part, nous avons eu recours à la modélisation pour soit confirmer soit infirmer les résultats expérimentaux.

### Chimie quantique

L'étude théorique a été menée en calculant à l'aide du logiciel Gaussian 09 W les paramètres suivant deux axes : les paramètres de réactivité globale et ceux de réactivité locale.

**Paramètres de réactivité globale**

Les valeurs des différents paramètres descripteurs du céfadroxil sont consignées dans le **tableau 1**.

**Tableau 1 : Paramètres descripteurs de réactivité globale du céfadroxil au niveau B3LYP/6-31G (d, p).**

Descripteur	Valeur	Descripteur	Valeur
$E_{HOMO}$ (eV)	-6,0965	I (eV)	6,0965
$E_{LUMO}$ (eV)	-1,4525	A (eV)	1,4525
$\Delta E$ (eV)	4,6440	$\mu$ (Debye)	4,5054
$\Delta N$	0,1089	$\eta$ (eV)	2,3220
S (eV) <sup>-1</sup>	0,4306	$\omega$	2,0780
$\chi$ (eV)	3,7745	TE (a.u)	-1558,5177

L'énergie de la plus haute orbitale moléculaire occupée ( $E_{HOMO}$ ) est un paramètre de réactivité des molécules qui traduit l'aptitude d'une molécule à fournir des électrons. Une valeur élevée de  $E_{HOMO}$  pour une molécule, favorise sa tendance à fournir des électrons à un accepteur approprié doté d'une orbitale vacante de basse énergie [14]. La valeur trouvée de  $E_{HOMO}$  du céfadroxil (-6,0965 eV) est élevée, comparativement à d'autres molécules dans la littérature.

L'aptitude d'une molécule à former des liaisons avec une surface métallique dépend aussi de la valeur de l'énergie de l'orbitale moléculaire la plus basse vacante ( $E_{LUMO}$ ). Dans le cas de ce travail, la valeur de ( $E_{LUMO}$ ) de l'inhibiteur est de -1,4525 eV, prouvant ainsi que cette molécule a tendance à accepter des électrons.

Le gap d'énergie ( $\Delta E = E_{LUMO} - E_{HOMO}$ ) est aussi un paramètre de réactivité important pour les molécules organiques. Plus  $\Delta E$  est faible, plus les échanges entre la molécule et le métal sont favorisés pour chaque inhibiteur. En effet, des valeurs plus basses du gap d'énergie conduisent à une bonne efficacité inhibitrice, car l'énergie nécessaire pour retirer un électron de la dernière orbitale occupée sera faible. Dans notre cas, la faible valeur de  $\Delta E$  du céfadroxil (4,6440 eV) justifie les fortes efficacités inhibitrices obtenues expérimentalement (jusqu'à 94,44 % à 298 K et à 2 mM). Plusieurs équipes de chercheurs [11, 15] en sont arrivées à des conclusions similaires.

**Paramètres de réactivité locale**

Ils sont essentiellement basés sur les fonctions de Fukui. Ils permettent de calculer les indices de réactivité locale ; une grande valeur de la fonction de Fukui pour un atome dans la molécule indique que cet atome est un site de grande réactivité [16]. Le site privilégié pour une attaque nucléophile est l'atome qui possède la plus grande valeur de  $f_k^+$  et  $\Delta f > 0$  au sein de la molécule alors que le site privilégié pour une attaque électrophile est l'atome qui possède dans la molécule la plus grande valeur de  $f_k^-$  et  $\Delta f < 0$ .

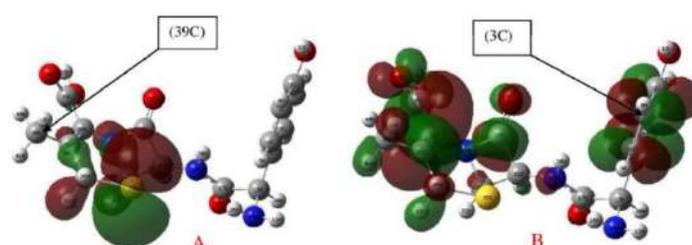
L'application de la théorie de Fukui et du descripteur dual (Tableau 2) ont montré que pour le céfadroxil, l'atome (3 C) est le site le plus probable pour une attaque nucléophile quand l'atome (39 C) est le site le plus probable pour une attaque électrophile.

**Tableau 2 : charges de Mulliken, fonctions de Fukui et descripteur dual des principaux atomes du céfadroxil au niveau B3LYP/6-31G (d, p).**

Atom	$q_k(N+1)$	$q_k(N)$	$q_k(N-1)$	$f_k^+$	$f_k^-$	$\Delta f$
1 C	-0.101	-0.095	-0.110	-0.006	0.015	-0.021
2 C	-0.320	0.330	0.354	-0.650	-0.024	-0.626
<b>3 C</b>	<b>0.136</b>	<b>-0.129</b>	<b>-0.077</b>	<b>0.265</b>	<b>-0.052</b>	<b>0.317</b>
4 C	-0.142	-0.151	-0.103	0.009	-0.048	0.057
5 C	0.115	0.090	0.102	0.025	-0.012	0.037
6 C	-0.124	-0.119	-0.084	-0.005	-0.035	0.030
11 O	-0.574	-0.555	-0.477	-0.019	-0.078	0.059
13 C	-0.085	-0.089	-0.078	0.004	-0.011	0.015
14 N	-0.612	-0.588	-0.636	-0.024	0.048	-0.072
21 C	-0.075	-0.043	-0.051	-0.032	0.008	-0.040
22 C	-0.030	-0.073	-0.086	0.043	0.013	0.030
23 C	0.595	0.575	0.599	0.020	-0.024	0.044
26 O	-0.484	-0.452	-0.395	-0.032	-0.057	0.025
27 N	-0.503	-0.512	-0.489	0.009	-0.023	0.032
28 C	0.205	0.243	0.256	-0.038	-0.013	-0.025
29 C	0.530	0.553	0.554	-0.023	-0.001	-0.022
30 O	-0.484	-0.477	-0.426	-0.007	-0.051	0.044

31 O	-0.523	-0.473	-0.476	-0.050	0.003	-0.053
33 C	0.153	0.085	0.093	0.068	-0.008	0.076
34 C	-0.273	-0.406	-0.423	0.133	0.017	0.116
35 S	-0.515	0.110	0.174	-0.625	-0.064	-0.561
<b>39 C</b>	<b>-0.36</b>	<b>0.085</b>	<b>-0.362</b>	<b>-0.445</b>	<b>0.447</b>	<b>-0.892</b>

La figure 2 montre les régions présentant les plus fortes densités électroniques. Ces zones sont les plus favorables aux échanges d'électrons avec le cuivre.



**Figure 2 : Orbitales HOMO (A) et LUMO (B) du céfadroxil au niveau B3LYP/6-31G (d, p).**

### Conclusion

De ce travail, nous pouvons retenir que le céfadroxil est un très bon inhibiteur de corrosion pour le cuivre en milieu  $\text{HNO}_3$  1M. Cet inhibiteur s'adsorbe plus physiquement que chimiquement sur le cuivre. La chimie théorique a permis d'obtenir des informations utiles sur la molécule inhibitrice tant au niveau de la réactivité globale que locale. En somme, une bonne corrélation a été trouvée entre les résultats expérimentaux et les résultats théoriques.

### Références

- [1] H. Z. Lopez-Calvo, P. Montes-García, V. G. Jiménez-Quero, H. G. Barranco, T. W. Bremner, and M. D. A. Thomas. Influence of crack width, cover depth and concrete quality on corrosion of steel in HPC containing corrosion inhibiting admixtures and fly ash. *Cem. Concr. Compos.* **2018**, 88, 200-210.
- [2] N. Y. S. Diki, N. H. Coulibaly, O. Kambiré, and A. Trokourey. Experimental and Theoretical Investigations on Copper Corrosion Inhibition by Cefixime Drug in 1M  $\text{HNO}_3$  Solution. *J. Mater. Sci. Chem. Eng.* **2021**, 9, 11-28.
- [3] N. Kip and J. A. v. Veen. The dual role of microbes in corrosion. *The ISME Journal.* **2015**, 9, 542-551.
- [4] P. Bommersbach. Evolution des propriétés d'un film inhibiteur de corrosion sous l'influence de la température et des conditions hydrodynamiques. *Thèse de doctorat, INSA-Lyon (France).* **2005**, 147 p.
- [5] M. Wiczerzak, B. Kudlak, G. Yotova, S. Tsakovski, V. Simeonov, and J. Namieśnik. Impact of inorganic ions and pH variations on toxicity and endocrine potential of selected environmentally relevant pharmaceuticals. *Environ. Pollut.* **2018**, 237, 549-558.
- [6] N. Y. S. Diki, G. G. D. Diomandé, S. J. Akpa, A. Ouédraogo, L. A. G. Pohan, P. M. Niamien, *et al.* Aluminum Corrosion Inhibition by 7-(Ethylthiobenzimidazolyl) Theophylline in 1M Hydrochloric Acid: Experimental and DFT Studies. *Int. J. Appl. Pharm. Sci. Res.* **2018**, 3, 41-53.
- [7] A. A. KOFFI. Inhibition de la corrosion de l'acier et de l'aluminium en milieu acide fort : études théorique et thermodynamique comparatives du comportement du 2-thiobenzylbenzimidazole, de vitamines et d'extraits de plante. *Thèse de doctorat en Chimie Physique, Université Félix HOUPOUET-BOIGNY, Côte d'Ivoire.* **2017**, 252 p.
- [8] A. A. Koffi, S. Muralidharan, and A. Trokourey. Musssaenda erythrophylla Leaves as Effective Green Corrosion Inhibitor of Carbon Steel. *Chem. Sci. Rev. Lett.* **2015**, 4, 1188-1198.
- [9] N. Y. S. Diki, N. H. Coulibaly, K. F. Kassi, and A. Trokourey. Mild steel corrosion inhibition by 7-(ethylthiobenzimidazolyl) theophylline. *J. Electrochem. Sci. Eng.* **2021**, 11, 97-106.
- [10] D. B. Left, M. Zertoubi, A. Irhzo, and M. Azzi. Review: oils and extracts plants as corrosion inhibitors for different metals and alloys in hydrochloric acid medium. *J. Mater. Environ. Sci.* **2013**, 4, 855-866.
- [11] N. Y. S. DIKI, K. V. BOHOUSOU, M. G.-R. KONE, A. OUEDRAOGO, and A. TROKOUREY. Cefadroxil Drug as Corrosion Inhibitor for Aluminum in 1 M HCl Medium: Experimental and Theoretical Studies. *IOSR J. Appl. Chem.* **2018**, 11, 24-36.
- [12] R. Saratha and R. Meenakshi. Corrosion inhibitor: A plant extract. *Pharma Chem.* **2010**, 2, 287-294.

- [13] N. Santhini and T. Jeyaraj. “The inhibition effect of [3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-1- phenyl-propenone] on the corrosion of the aluminium in alkaline medium”. *J. Chem. Pharm. Res.* **2012**, *4*, 3550-3556.
- [14] G. Gece and S. Bilgic. Quantum chemical study of some cyclic nitrogen compounds as corrosion inhibitors of steel in NaCl media. *Corros. Sci.* **2009**, *51*, 1876-1878.
- [15] M. Yeo, P. M. Niamien, E. B. A. Bilé, and A. Trokourey. Thiamine Hydrochloride as a Potential Inhibitor for Aluminium Corrosion in 1.0M HCl: Mass Loss and DFT Studies. *J. Comput. Methods Mol. Des.* **2017**, *7*, 13-25.
- [16] F. Mendez and J. L. Gazquez. Chemical Reactivity of Enolate Ions: The Local Hard and Soft Acids and Bases Principle Viewpoint. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9298-9301.

**POSTER : Synthèse et étude d'une espèce hybride phtalocyanine de Zinc-nanoparticule d'argent [ZnPc(CO<sub>3</sub>H)<sub>4</sub>ATP<sub>4</sub>@AgNPs] pour une application antibactérienne**

21<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM 10 – 13 Août 2021, Niamey– NIGER  
THEME : Chimie et assurance qualité en Afrique de l'Ouest

**Synthèse et étude d'une espèce hybride phtalocyanine de Zinc-nanoparticule d'argent [ZnPc(CO<sub>3</sub>H)<sub>4</sub>ATP<sub>4</sub>@AgNPs] pour une application antibactérienne**



Léassané TARPAGA<sup>1,2</sup>, Vincent COLLIÈRE<sup>1</sup>, Mabirly BAYO-BANGOURA<sup>1</sup>, Catherine AMIENS<sup>2\*</sup>, Karifa BAYO<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Chimie Moléculaire et de Matériaux, UFR/SEA, Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso  
<sup>2</sup> LCC-CNRS, Université de Toulouse, CNRS, UPS, 205, route de Narbonne, F-31077 Toulouse (France)

---

**Introduction**

Dans les pays en voie de développement, le problème de l'eau se pose avec acuité et l'eau, même si accessible, est souvent infestée. L'accès à l'eau potable nécessite l'élimination d'agents pathogènes. L'objectif du présent travail est d'obtenir et d'étudier des espèces chimiques issues du couplage des phtalocyanines de zinc à des nanoparticules d'argent dont on attend des propriétés bactéricides exacerbées<sup>1, 2, 3</sup>. En effet, la formation d'une espèce hybride métallophtalocyanines-nanoparticule d'argent, permettra d'allier par effets coopératifs, les propriétés individuelles de chacune des composantes et aussi d'obtenir par effets synergiques des propriétés nouvelles, ce qui sera un atout pour leur activité antibactérienne. Dans cette approche, la métallophtalocyanine jouera le rôle d'antenne collectrice de lumière et la nanoparticule est envisagée comme un lieu de concentration de ces antennes et comme réservoir d'électrons.

**La phtalocyanine de zinc et sa fonctionnalisation**

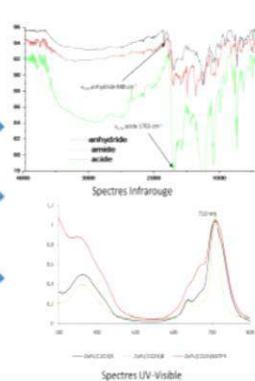


Anhydride: ZnPc(C<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)<sub>4</sub>  
Acide: ZnPc(CO<sub>2</sub>H)<sub>4</sub> R=30%  
Amide: ZnPc(C<sub>2</sub>O<sub>2</sub>H)<sub>4</sub>ATP<sub>4</sub> R=60%

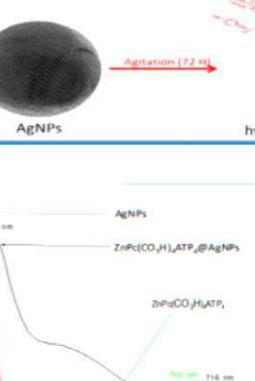
**La nanoparticule d'argent**



AgNO<sub>3</sub> + AMP → AgNPs stabilisées par AMP

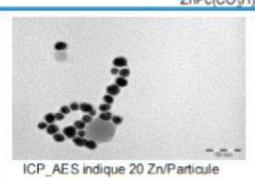


Spectres UV-Visible



Spectres Infrarouge

ZnPc(CO<sub>3</sub>H)<sub>4</sub>ATP<sub>4</sub> + AgNPs → Agitation (72 H) → hybride ZnPc(CO<sub>3</sub>H)<sub>4</sub>ATP<sub>4</sub>@AgNPs



ICP-AES indique 20 Zn/Particule

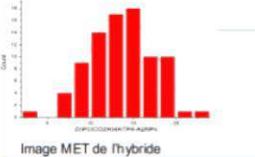
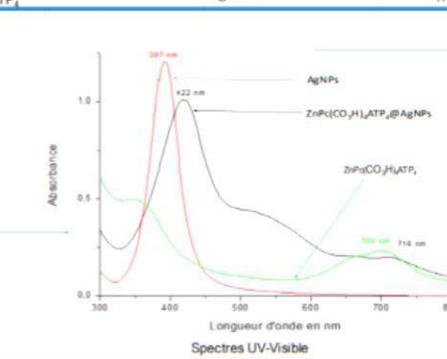
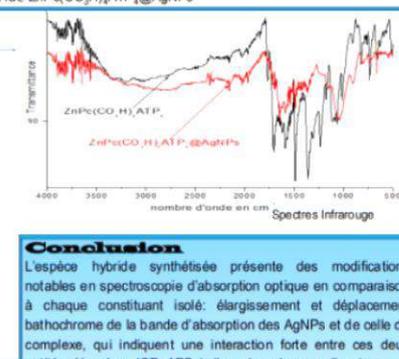


Image MET de l'hybride



Spectres UV-Visible



Spectres Infrarouge

**Conclusion**

L'espèce hybride synthétisée présente des modifications notables en spectroscopie d'absorption optique en comparaison à chaque constituant isolé: élargissement et déplacement bathochrome de la bande d'absorption des AgNPs et de celle du complexe, qui indiquent une interaction forte entre ces deux entités. L'analyse ICP-AES indique la présence d'environ une vingtaine de complexes à la surface d'une nanoparticule. Ces résultats militent en faveur d'une bonne coordination des phtalocyanines à la surface de la nanoparticule d'argent. Nous souhaitons par la suite tester l'effet bactéricide de l'espèce hybride. Nous envisageons de cibler les bacilles *Escherichia coli* (à Gram négatif) et *Staphylococcus aureus* (à Gram positif) qui sont des bactéries fréquemment rencontrées<sup>4, 5</sup>.

**Bibliographie**

- Robertson J. M. et Coll. J. Chem. Soc. (1937) 35, 219-230
- Yulia C. et Coll. J. Mater. Chem. C, (2013), 1, 3573-3583
- Nkosiphile M. et coll. J. Porphyrins Phthalocyanines (2013), 17, 417-430
- Fang, Y., et al., Photo antimicrobial nano J. of Mat. Chem. B, 2017, 5(44): p. 8831-8852.
- Rivas Aello, M.B., et al., Effect of Silver Nanoparticles on the Photophysics of Riboflavin: Consequences on the ROS Generation. The J. of Phy. Chem. C, 2016, 120(38): p. 21967-21975.

**Remerciements**

- Université Joseph KI-ZERBO
- Université de Toulouse III Paul-Sabatier
- Laboratoire de Chimie de Coordination (LCC)
- SCAC-Ambassade de France à Ouagadougou (BURKINA FASO)
- Tous les membres du LCC particulièrement ceux de l'équipe L

**Groupe thématique 2 (ReSBOA) :**  
**Chimie des Substances Biologiquement Actives extraites des plantes  
médicinales en zone sahélo- saharienne**

## Identification de quatre isomères anthocyaniques d'une variété de *Ipomoea batatas* L. à chair pourpre par HPLC-MS/MS produite au Burkina Faso

Dominique Saga Kaboré<sup>1</sup>, Adama Héma<sup>1(\*)</sup>, Raoul Bazié<sup>2</sup>, Koussao Somé<sup>4</sup>, Elie Kabré<sup>2</sup>, Eloi Palé<sup>1</sup>, Issa T. Somé<sup>5</sup>, Pierre Duez<sup>6</sup>, Mouhoussine Nacro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Chimie Organique et de Physique Appliquées, Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

<sup>2</sup>Laboratoire National de Santé Publique 09 BP 24 Ouagadougou 09, Burkina Faso

<sup>3</sup>Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS/CNRST) 03 BP 7192 Ouagadougou 03, Burkina Faso

<sup>4</sup>CNRST/INERA, Département Productions Végétales, 03 BP 7047 Ouagadougou 03 Burkina Faso

<sup>5</sup>Laboratoire de Chimie Analytique et de Toxicologie, UFR/ Sciences de la Santé, Université Joseph Ki-Zerbo, Burkina Faso

<sup>6</sup>Service de Chimie Thérapeutique et de Pharmacognosie, Université de Mons, 25 Chemin du Champ de Mars, 7000 Mons, Belgique

### Résumé

Les patates douces à chair pourpre peuvent constituer une source alimentaire importante pour les consommateurs grâce aux anthocyanes qu'elles contiennent. En effet, les anthocyanes sont des composés bioactifs, qui grâce leurs propriétés antiradicalaires, peuvent protéger le corps humain contre le stress oxydatif qui peut provoquer de nombreuses maladies, tels que le cancer, le vieillissement. Cette étude vise à identifier les anthocyanes d'une variété pourpre locale de la patate douce. Il s'agit de la variété tuskegee pourpre cap vert. Cette identification a été effectuée par des analyses HPLC-MS-UV, et HPLC-MS/MS. Ces analyses ont permis d'identifier quatre isomères d'anthocyanes dans la variété Tuskegee pourpre cap vert. Il s'agit de la Cyanidin 3-sophoroside-5-glucoside ; de la peonidine 3-sophoroside-5-glucoside ; cyanidin 3-laminaribioside-5-glucoside ; peonidine 3- laminaribioside -5-glucoside.

Mots clés : patate douce à chair pourpre ; anthocyanes ; HPLC-MS/MS

## Identification of four anthocyanin isomers of a purple-fleshed variety of *Ipomoea batatas* L. by HPLC-MS/MS produced in Burkina Faso

### Abstract

Purple-fleshed sweet potatoes can be an important food source for consumers thanks to the anthocyanins they contain. Indeed, anthocyanins are bioactive compounds, which thanks to their antiradical properties, can protect the human body against oxidative stress that can cause many diseases, such as cancer, aging. This study aims to identify the anthocyanins of a local purple variety of sweet potato. It is the variety tuskegee purple green cape. This identification was carried out by HPLC-MS-UV, and HPLC-MS/MS analyses. These analyses allowed the identification of four anthocyanin isomers in the Tuskegee purple green cape variety. These are: cyanidin 3-sophoroside-5-glucoside; peonidin 3-sophoroside-5-glucoside; cyanidin 3-laminaribioside-5-glucoside; peonidin 3- laminaribioside -5-glucoside.

Key words: purple sweet potato; anthocyanins; HPLC-MS/MS

### 1. Introduction

Les anthocyanines, un groupe de pigments végétaux largement répandus dans les fruits, les légumes et certaines fleurs, sont des flavonoïdes qui produisent couramment des couleurs bleues, rouges ou violettes et font partie d'une classe de glycosides solubles dans l'eau et d'acylglycosides d'anthocyanidines. Les anthocyanines possèdent deux anneaux de benzène reliés par une chaîne linéaire de trois carbones (C2 C4), représentée sous le nom de système C6-C3-C6. Cette structure chimique particulière les rend très réactifs envers les radicaux libres et de puissants antioxydants naturels[1]. Leurs structures varient en fonction de la nature, du nombre et de la position des sucres rattachés à l'aglycone ; ainsi qu'en fonction du nombre des groupements hydroxyles, des acides aliphatiques ou phénoliques qui sont rattachés à ces différents sucres [2]. Les six aglycones les plus répandus dans les plantes sont la cyanidine, la péonidine, la delphinidine, la pélargonidine, la pétunidine et la malvidine[ 3]. Parmi les six anthocyanidines, la peonidine et la cyanidine se trouvent habituellement dans les patates douces à chair pourpre (PDCP), mais les anthocyanines les plus abondantes dans les PDCP rapportés sont les dérivés de la péonidine[4, 5]. Dans ces variétés, les anthocyanes glycosylées et acylées représentent plus de 93 % [4,6].

Les anthocyanes jouent un rôle très important dans la physiologie des plantes[7]. En effet, grâce à leurs propriétés biologiques diverses, elles protègent les plantes contre les effets néfastes des rayons ultraviolets. Elles jouent également un rôle très important dans la santé humaine. En effet, des études ont montré que des extraits d'anthocyanes de la patate douce à chair pourpre possédaient des effets bénéfiques pour les consommateurs dus à leurs activités antioxydantes[8], antidiabétiques[9], antimutagènes[10], hépatoprotecteurs [9] et antihyperuricémiant [4]. Les anthocyanes acylées sont reconnus pour leurs meilleures stabilité et activités biologiques[11].

Afin de contribuer à l'étude des anthocyanes de la patate douce à chair pourpre, une variété de PDCP, *TUSKEGEE POURPRE CAP VERT* introduite et produite dans les conditions agroécologiques du Burkina Faso, a été étudiée. En

effet, le présent travail vise à identifier des structures anthocyaniques de cette variété par un couplage de méthodes chromatographiques et spectrales (HPLC-ESI-MS/MS).

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal étudié est constitué des tubercules d'une variété locale de patate douce chair pourpre. Il s'agit de la variété *TUSKEGEE POURPRE CAP VERT* cultivé dans un jardin expérimental de l'Université Joseph Ki-Zerbo. Les boutures de cette variété ont été fournies par l'INERA (Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles).

### 2.2. Méthodes

#### 2.2.1. Extraction

Le méthanol acidifié 1% (acide chlorhydrique) a été utilisé pour l'extraction des anthocyanes des deux variétés de PDPC. Les extraits bruts obtenus sont évaporés presque à sec puis filtrés et repris avec un minimum d'eau acidifiée. Le filtrat aqueux est déposé sur l'Amberlite XAD-7 dans une colonne d'environ 24 cm. L'extrait est lavé avec une grande quantité d'eau acidifié pour se débarrasser des impuretés et les sucres libres contenus dans l'extrait brut. Les extraits anthocyaniques totaux sont élués de la colonne avec un minimum de méthanol acidifié. Ces extraits totaux sont évaporés à sec et dissouts dans un minimum de méthanol pur acidifié. Quelques gouttes d'acétate d'éthyle pur à l'extrait précédent précipitent les anthocyanes dont le séchage au Speed dryer permet d'obtenir une poudre amorphe de couleur pourpre. Pour les analyses CLHP-ESI-SM/SM, une solution de concentration 1 mg/ mL a été préparée en utilisant comme solvant le mélange eau-acide formique 95 :5 (v/v).

#### 2.2.2. Analyse par CLHP-DAD-SM-UV visible

Nos extraits ont d'abord été analysés en utilisant la chromatographie liquide haute performance couplée à la spectroscopie de masse équipée d'une source d'ionisation par électrospray en mode positif (ESI+) et à la spectroscopie UV-visible. Un système CLHP de type agilent a été utilisé. Elle est munie d'une colonne de type «Column Oven (G7130A) ». Il s'agit d'une colonne C18 de 250 mm de long. L'élution a été réalisée avec la phase mobile C (acétonitrile 5% d'acide formique /H<sub>2</sub>O 1:1 v: v) et la phase mobile D (H<sub>2</sub>O 5 % d'acide formique v: v). Le gradient d'élution était de 0 à 2 min, 20 % de C ; 2 à 15 min, 40 % de C ; 15 à 17 min, 50 % de C ; 17 à 27 min, 50 % de C ; 27 à 40 min, 95 % de C et 40 à 50 min, 95 % de C. Le débit a été maintenu à 1 mL/ min et le volume d'injection est de 10 µL.

#### 2.2.3. Analyse CLHP-ESI-MS/MS

La CLHP couplée à la spectrométrie de masse en tandem par ionisation par électro-spray en mode positif (CLHP-ESI-MS/MS) a été utilisée dans cette étude pour l'identification des anthocyanes. 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 à phase inverse C18 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 la phase mobile A (eau 5 % d'acide formique v: v) et la 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<sub>2</sub> 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 quadrupole version B.06.00 Bulld 6.0.6025.0.

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Profils CLHP-SM de l'extrait anthocyanique

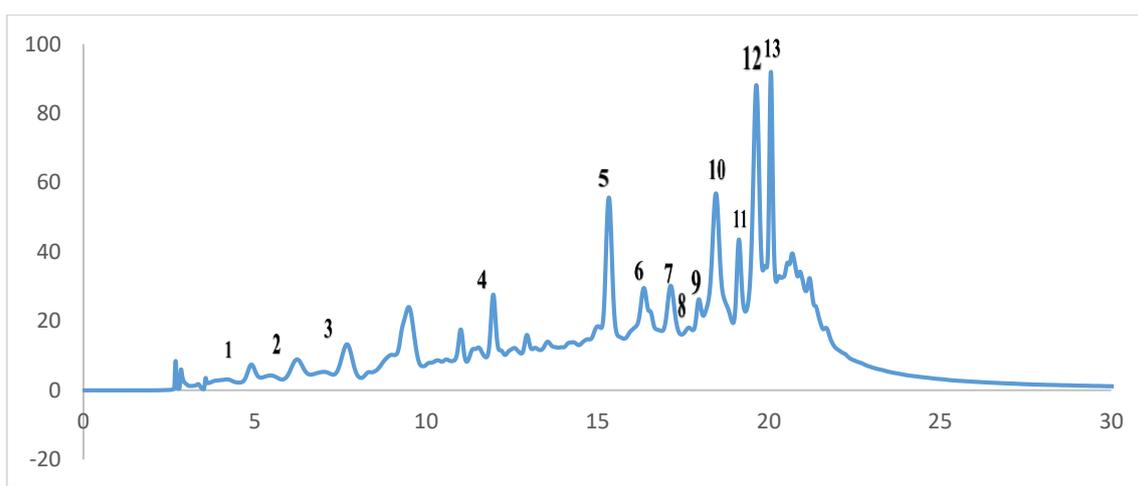
L'analyse CLHP-SM de l'extrait donne le profil chromatographique représenté par la figure 1. Treize pics notés de 1 à 12 correspondant à 13 composés anthocyaniques ont été identifiés. Parmi ces treize pics, seuls les pics 5, 10, 12 et 13 sont majeurs.

En spectroscopie ultraviolet-visible (UV), tous les composés anthocyaniques de l'extrait présentent les deux pics d'absorption caractéristique des anthocyanes notamment au environ de 280 nm et 530 nm. En plus, la plupart de ces composés présentent un pic d'absorption autour de 330 nm caractéristique de la présence de substituants acide. A travers les différents spectres UV-visible enregistrés nous pouvons noter que tous les composés anthocyaniques de

notre extrait sont glycosylés en position 3 et 5. En effet, La position et le nombre de ces substituants acides ainsi que la position des différents sucres peuvent être déduits à partir des rapports  $A_{440}/A_{vis}$  et  $A_{acyl}/A_{vis}$  (tableau 1). En outre, un rapport de  $A_{440}/A_{vis}$  compris entre 29 % et 35 % ou 15 % et 24 % indique respectivement un monoside ou un bioside[12]. Trois différents acides cinnamiques ont été trouvés acylant les anthocyanes de notre extrait. Il s'agit des acides caféïque, p-hydroxybenzoïque et ferulique.

**Tableau 1 : HPLC data and UV-visible spectra**

N° du pic	Temps de rétention	% Aire	$\lambda_{vis}$	$\lambda_{acy}$	$A_{440}/A_{maxvis}$ %	$A_{acyl}/A_{vis}$ %	M+H
1	5,06	1,19	514		18		773
2	6,5	2,09	514		18		611
3	7,92	3,59	514		18		787
4	12,32	3,67	520	330	17	30	907
5	15,49	10,18	520	328	14	25	963
6	16,55	5,98	520	328	18	62	935
7	17,17	3,9	518	328	18	51	1055
8	17,73	1,90	514		19		773
9	18,24	1,56	528	330	19	105	1111
10	18,5	13,13	522	330	18	60	949
11	19,15	3,78	526	330	15	49	1069
12	19,65	14,72	520		14		787
13	20,07	8,11	520	328	22	66	1125



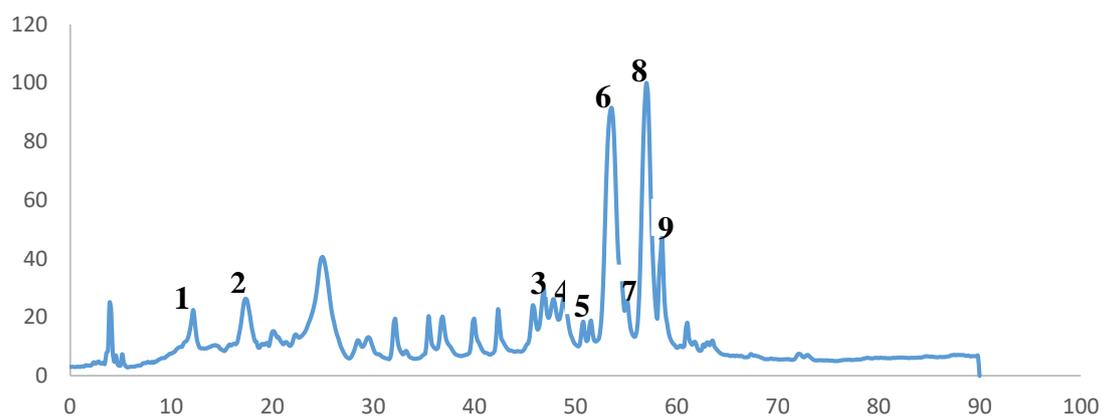
**Figure 6:** Chromatogramme CLHP/MS de l'extrait brut d'une variété pourpre locale de la patate douce

### 3.2. Profils CLHP-SM/SM

La chromatographie liquide haute performance (CLHP) couplée à la spectrométrie de masse en tandem par ionisation par électrospray (ESI-MS/MS) sur un instrument à triple quadripôle ont été utilisées pour étudier les anthocyanines contenues dans notre extrait. La LC-ESI-MS en mode SIM « select ion monitoring » a été utilisé afin

d'obtenir les chromatogrammes de tous les ions moléculaires déjà identifiés lors de l'étude précédente (LC-MS-UV). Après l'obtention de ces chromatogrammes, la LC-ESI-MS/MS en mode "ion product" a été utilisé afin d'obtenir des chromatogrammes individuels dans le but de la fragmentation des ions moléculaires.

En utilisant les conditions chromatographiques décrites plus haut, et à partir de l'étude préalablement réalisée, nous nous sommes intéressés à quatre composés isomères correspondant aux pics **1**, **2**, **4** et **8** aux temps de retentions respectives  $t_R = 12,26$  ;  $17,41$  ;  $48,97$  et  $57,09$  min (figure 2). Les spectres électroniques UV-visibles correspondant à ces composés possèdent des bandes d'absorption caractéristiques des anthocyanes (cyanidine et peonidine) dont les absorbances varient entre 514 nm et 520 nm [13].



**Figure 7:** Chromatogramme CLHP/MS-MS de l'extrait brut de la variété Tuskegee pourpre cap vert

#### Identification des composés **1** et **4**

A partir des spectres UV Visible obtenus dans l'étude précédent, le composé **1** et **4** aux temps de retentions respectifs  $t_R = 12,26$  et  $48,97$  min, donnent deux bandes caractéristiques des composés anthocyaniques. L'une dans l'UV respectivement vers 278 et 280 nm due à la présence du cycle aromatique B et l'autre dans le Visible vers 514 nm due à la présence des huit doubles liaisons conjuguées des cycles aromatiques. Les rapports  $A_{440}/A_{\max \text{ vis}}$  égale 18 % et 19 % (tableau 3) obtenus à partir leurs spectres électroniques montrent que ces composés sont glucosylés en position 5 [20] [21]. En plus, l'absence d'un épaulement vers 330 nm montre que ces composés ne sont pas acylés.

Le chromatogramme obtenu en LC-MS/MS montre que les deux composés **1** et **4** ont des temps de rétention respectifs  $t_R = 12,26$  min et  $t_R = 48,97$  min (figure 3). Ce résultat montre que ces deux molécules sont de polarités différentes. Etant donné que le solvant d'élution est polaire, le composé ayant le temps de rétention le plus faible est le plus polaire. Les spectres MS/MS de ces composés donnent un même ion moléculaire à  $m/z$  773 mais des ions fragments différents (figure 5 et 8). La présence des ions fragments à  $m/z$  611, 449 et 287 montrent la perte de trois hexoses. Ces composés sont donc triglycosylés. Selon Abdel-A al et al., [17], la stéréochimie des hydroxyles des sucres peut affecter la polarité. De ce fait la sophoroside sera plus polaire que la laminaribioside. En effet, selon ses travaux, un sucre moins polaire augmente le temps de rétention. C'est ce qui explique que la cyanidine 3-sophoroside aura un temps de rétention relativement faible par rapport à celui de la cyanidine 3-laminaribioside. En plus, il a été rapporté que lorsque les fractions de sucre sont différentes en position 3 et 5, la fraction de sucre de plus grand poids moléculaire a tendance à fixer en position 3 [16]. Les sucres rattachés aux aglycones en position 3 des composés **1** et **4** pourraient être respectivement la sophoroside et laminaribioside. L'ion moléculaire du composé **1** donne deux ions fragments. L'ion fragment à  $m/z$  448,9000 correspondant à la perte  $[M+H-\text{sophoroside}]^+$  comme l'avait démontré Tian et al.[16] et l'ion fragment à  $m/z$  286,9000 correspondant l'aglycone de la cyanidine. L'ion moléculaire du composé **4** correspondant au temps de rétention  $t_R = 48,97$  min donne également deux ions fragments. Un ion fragment à  $m/z$  610,9000 correspondant à la masse calculée à partir de la formule  $C_{21}H_{21}O_{11}$ . L'intensité de ce pic montre que cet ion fragment est stable. Il pourrait donc correspondre à la perte du glucose en position 5 et l'ion fragment  $m/z$  286,9000 correspondant la masse de l'aglycone de la cyanidine. Le composé **1** pourrait être identifié comme étant la cyanidine 3-sophoroside-5-glucoside et le composé **4** pourrait être la cyanidine 3-laminaribioside-5-glucoside.

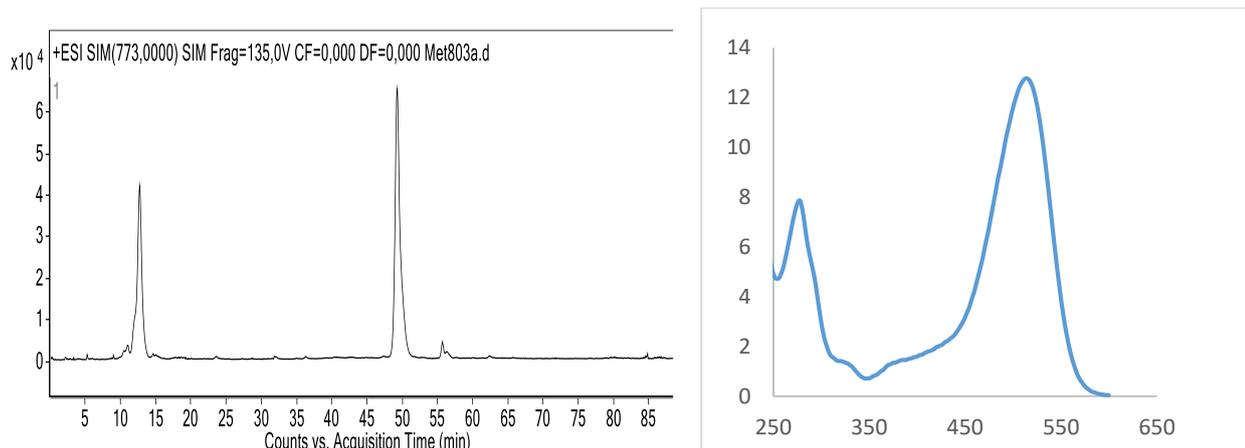


Figure 8: chromatogramme HPLC-MS/MS des composés **1** et **4** Figure 9: spectre UV visible du composé **1**

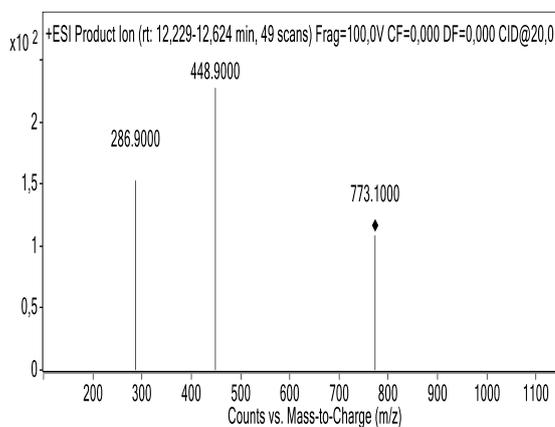


Figure 10: spectre MS/MS du composé **1**

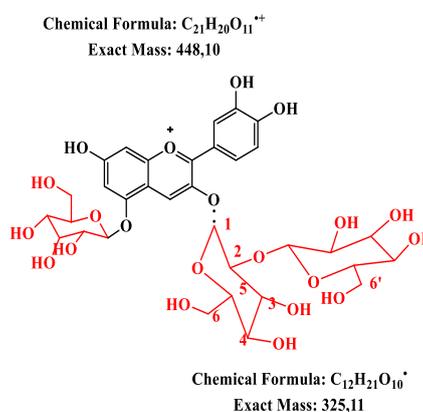


Figure 11: fragmentation du composé **1**

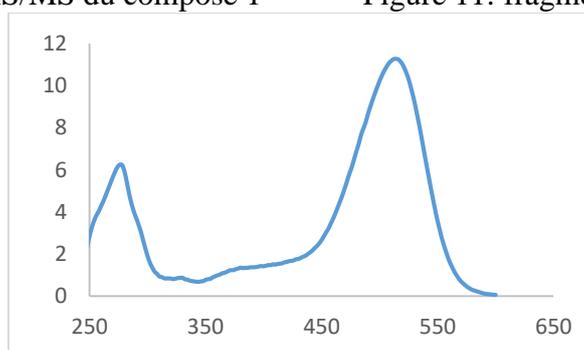


Figure 12: spectre UV visible du composé **4**

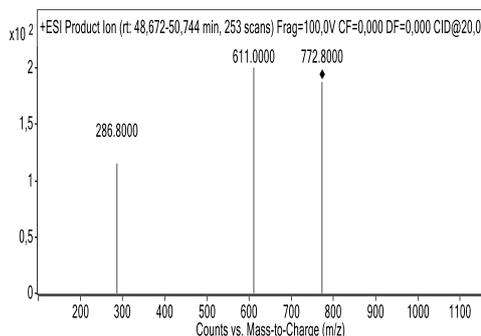


Figure 13: spectre MS/MS du composé 4

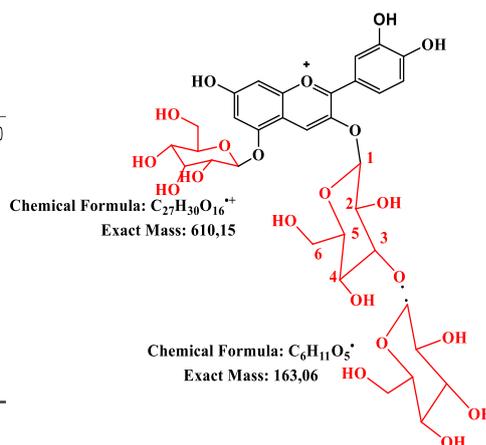


Figure 14: fragmentation du composé 4

### Identification des composés **2** et **8**

Les spectres UV Visible de ces composés, dans le MeOH-HCl 0,01 N font apparaître 2 bandes caractéristiques des composés anthocyaniques. L'une dans l'UV autour de 280 nm et l'autre dans le Visible vers 520 nm. Les valeurs des rapports  $A_{440}/A_{\max \text{ vis}}$  égales 18 et 14 % obtenus à partir de ces spectres électroniques montrent que ces composés sont glucosylés en position 5. Comme précédemment, l'absence d'un pic à 330 nm montre que ces composés ne possèdent pas de dérivé acylé. Le chromatogramme en LC-MS/MS montre que ces deux composés notés **2** et **8** ont des temps de rétentions respectifs  $t_R=17,41$  min et  $t_R= 57,09$  min (figure 10). Ce résultat montre que ces deux molécules sont de polarités différentes. Les spectres MS/MS montre que ces deux composés ont un même ion moléculaire à m/z 787 (figure 12 et 15). Ce sont donc des composés isomères. Les ions moléculaires correspondant à ces deux composés donnent les mêmes ions fragments mais à des intensités différentes. Les ions fragments correspondant à l'ion précurseur 625 correspondent à la perte d'un hexose. Cet ion fragment correspond à la masse calculée à partir de la formule brute  $C_{28}H_{34}O_{16}$ . Et deux autres ions fragments respectivement à m/z 462 et 301. La présence de ces deux ions fragments montre que les composés **2** et **8** sont des dérivés de la peonidine. En comparant les temps de rétention des composés **1** et **2** d'une part et ceux des composés **4** et **8** d'autre part, nous constatons que celui du composé **1** est plus faible que celui du composé **2** et celui du composé **4** est plus faible que celui du composé **8**. Cela s'explique par la présence du groupe méthyle sur les composés **2** et **8**. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Abdel-A et al. En effet, selon les travaux de Abdel-A et al. la méthylation augmente le temps de rétention. Ces résultats viennent confirmer le fait que les composés **2** et **8** sont des dérivés de la peonidine. L'ion fragment à m/z 462 correspond  $[M-2x\text{glycose}]^+$  et tandis que l'ion fragment à m/z 301 correspond à l'aglycone de la paéonidine. Le composé **2** pourrait être identifié comme étant la peonidine 3-sophoroside-5-glucoside tandis que le composé **8** pourrait être peonidine 3-laminaribioside-5-glucoside.

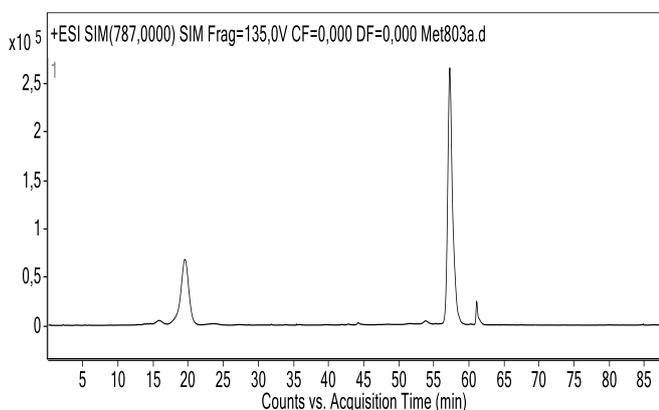


Figure 15: chromatogramme HPLC- MS/MS des composés **2** et **8**

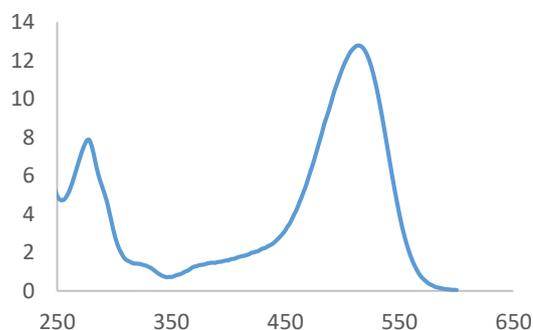


Figure 16: spectre UV visible du composé **2**

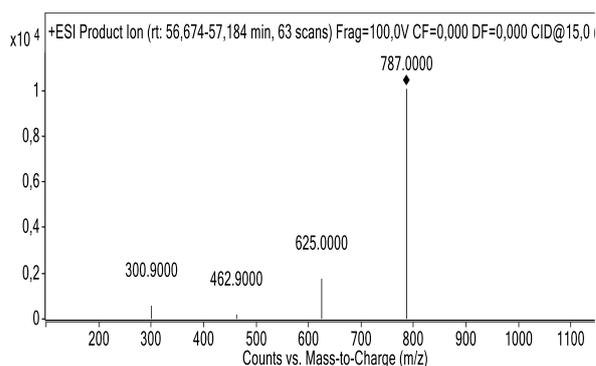


Figure 17 : spectre MS/MS du composé 2

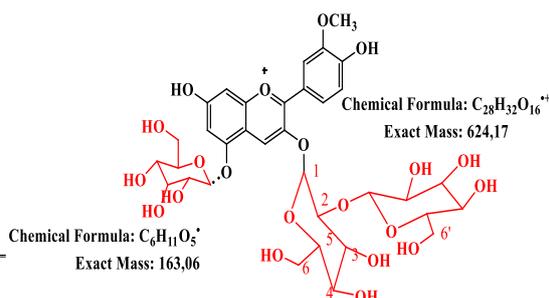


Figure 18: fragmentation du composé 2

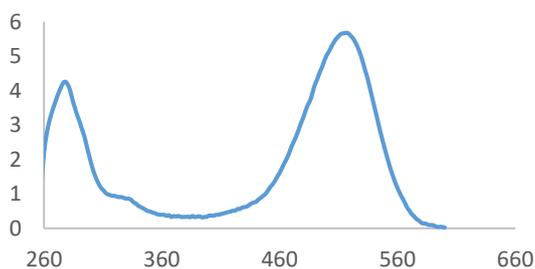


Figure 19: spectre UV visible du composé 8

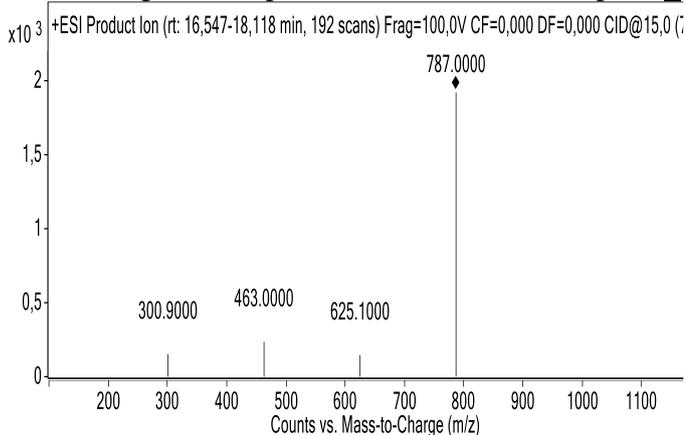


Figure 20 : spectre MS/MS du composé 8

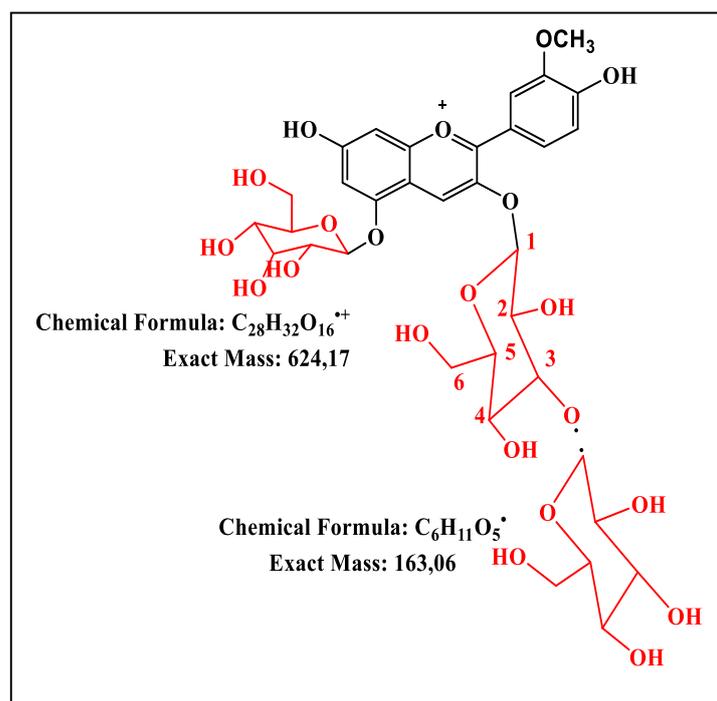


Figure 21 : fragmentation du composé 8

## Conclusion

La caractérisation des anthocyanes dans la variété Tuskegee pourpre cap vert de la patate douce cultivés dans un jardin de l'université Joseph Ki-Zerbo a été réalisée par CLHP-UV-MS et CLHP-ESI-MS/MS. treize anthocyanes (cinq sont des anthocyanes non acylés et 8 acylés) ont été identifiés dont quatre d'entre eux ont été identifiée en CLHP-ESI-MS/MS. Il s'agit de la cyanidine 3-sophoroside-5-glucoside ; de la cyanidine 3-laminaribioside-5-glucoside ; de la peonidine 3-sophoroside-5-glucoside ; de la peonidine 3-laminaribioside-5-glucoside. A notre connaissance, deux d'entre eux pourraient, pour la première fois être signalées dans les patates douces. Il s'agit de la cyanidin 3-laminaribioside-5-glucoside et peonidine 3-laminaribioside-5-glucoside.

## Références bibliographiques

- [1] Z. Jin-Ge, Y. Qian-Qian, X. Ren-Yu, Z. Jian, and Z. Yu-Qing, "Isolation and identification of colourless caffeoyl compounds in purple sweet potato by HPLC-DAD-ESI/MS and their antioxidant activities.," *Food Chem.*, pp. 161, 22–26), 2014.

- [2] J. Lee, M, S. Park, J, S. Choi, D, and Y. & Jung, M, “Characterization and quantitation of anthocyanins in purple-fleshed sweet potatoes cultivated in Korea by HPLC-DAD and HPLC-ESI-QTOF-MS/MS.,” *J. Agric. Food Chem.* 61, pp. 3148–3158., 2013.
- [3] W. Kim, H, B. Kim, J, and M. et al. Cho, S, “Anthocyanin changes in the Korean purple-fleshed sweet potato, Shinzami, as affected by steaming and baking.,” *Food Chem.* 130, ., pp. 966– 972, 2012.
- [4] X. Jianteng *et al.*, “Characterisation and stability of anthocyanins in purple-fleshed sweet potato,” *Food Chem.*, pp. 186, 90–96, 2015.
- [5] C. Zhang, Z, H. Su, G, and L. et al. Luo, C, “Effects of anthocyanins from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L. cultivar Eshu No. 8) on the serum uric acid level and xanthine oxidase activity in hyperuricemic mice.,” *Food Funct.*, pp. 6, 3045 – 3055, 2015.
- [6] V. Truong, N. Deighton, T. Thompson, R, F. Mcfeeters, R, O. Dean, L, and V. & Pecota, K, “Characterization of anthocyanins and anthocyanidins in purple fleshed sweet potatoes by HPLC-DAD/ESIMS/MS.,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 58, pp. 404– 410., 2010.
- [7] C. Stintzing, F and R. Carle, “Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition.,” *Trends Food Sci. Technol.*, pp. 15, 19–38, 2004.
- [8] F. Zhu, Z. Cai, Y, X. Yang, J. Ke, and H. & Corke, “Antho- cyanins, hydroxycinnamic acid derivatives, and antioxidant activ- ity in roots of different Chinese purple-fleshed sweetpotato genotypes.,” *J. Agric. Food Chem.*, pp. 58, 7588 – 7596., 2010.
- [9] G. Zhao, J, Q. Yan, Q, Z. Lu, L, and Q. & Zhang, Y, “In vivo antioxidant, hypoglycemic, and anti-tumor activities of antho- cyanin extracts from purple sweet potato.,” *Nutr. Res. Pract.*, pp. 7, 359 – 365., 2013.
- [10] M. Yoshimoto, S. Okuno, M. Yamaguchi, and O. & Yamakawa, “Antimutagenicity of deacylated anthocyanins in purple-fleshed sweetpotato.,” *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, pp. 65, 1652– 1655., 2001.
- [11] L. Wang, Y. Zhao, and Q. et al. Zhou, “Characterization and hepatoprotective activity of anthocyanins from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L. cultivar Eshu No. 8).,” *J. Food Drug Anal.*, pp. 25, 607– 618., 2017.
- [12] S. Kamiloglu, A. Pasli, A, B. Ozcelik, J. Van Camp, and E. & Capanoglu, “Colour retention, anthocyanin stability and antioxidant capacity in black carrot (*Daucus carota*) jams and marmalades: effect of processing, storage conditions and in vitro gastrointestinal digestion.,” *J. Funct. Foods*, vol. 13, pp. 1– 10, 2015.
- [13] J.-L. Zhang, C.-L. Luo, Q. Zhou, and Z.-C. Zhang, “Isolation and identification of two major acylated anthocyanins from purple sweet potato ( *Ipomoea batatas* L. cultivar Eshu No. 8) by UPLC-QTOF-MS/MS and NMR,” *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2018.
- [14] M. Giusti, M and E. Wrolstad, R, “Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems.,” *Biochem. Eng. J.* 14, pp. 217-225., 2003.
- [15] T. Fumi, S. Norio, T. Kenjiro, S. Koichi, S. Atsushi, and H. and Toshio, “A tetra-acylated Acylated Cyanidin 3-sophoroside-5-glucosides from the Purple Roots of Red Radish (*Raphanus sativus* L.) ‘Benikanmi’ the purple-violet flowers of *Moricandia arvensis* (L.) DC. (Brassicaceae),” *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, pp. 79 (1): 103–107, 2010.
- [16] T. QINGGUO, K. IZABELA, SCHWARTZ, and J. AND STEVEN, “Probing Anthocyanin Profiles in Purple Sweet Potato Cell Line (*Ipomoeabatatas* L. Cv. Ayamurasaki) by High-Performance Liquid Chromatography and Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry,” *J. Agric. Food Chem.*, pp. 53, 6503–6509, 2005.
- [17] M. EL-SAYED, ABDEL-AAL, and R. J, CHRISTOPHER, YOUNG. AND IWONA, “Anthocyanin Composition in Black, Blue, Pink, Purple, and Red Cereal Grains,” *J. Agric. Food Chem.*, pp. 54, 4696–4704, 2006.

## Composition chimique des sels végétaux produits traditionnellement au Togo : intérêt nutritionnel et pharmacologique

AMEYRAN Koami<sup>1,2\*</sup>, MELILA Mamatchi<sup>1</sup>, AWILLI Tetouwala<sup>1,3</sup>, PAYAGUELE Kodjo<sup>4</sup>, PAKOUSSI Tcha<sup>2</sup>, METOWOGO Kossi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Département de Biochimie/Nutrition, Faculté des Sciences, Université de Lomé (Togo) ;

<sup>2</sup>Département de Physiologie Animale et Pharmacologie, Faculté des Sciences, Université de Lomé (Togo)

<sup>3</sup>Ecole Supérieure des Techniques Biologiques et Alimentaires, Université de Lomé (Togo) ;

<sup>4</sup>Ecole de Nutrition et des Sciences et Technologies Alimentaires, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi (Bénin) ;

### Résumé

L'alimentation joue un rôle déterminant sur la santé de l'individu. Elle nécessite des ajustements permanents en fonction des besoins nutritionnels en minéraux et en vitamines. Les sels végétaux sont produits traditionnellement à partir des résidus agroalimentaires au Togo pour assaisonner les mets. Ces sels sont utilisés par la population pour des raisons nutritionnelles et pharmacologiques. Dans le but de contribuer à la valorisation de ces sels, promoteurs de la santé, leur composition chimique a été déterminée par spectrophotométrie d'absorption atomique. La concentration élevée de ces sels en K et leur faible teneur en Na, sans oublier les teneurs intéressantes en Ca, Mg, Fe et P, a permis, non seulement de conclure sur leur qualité nutritionnelle mais aussi, sur de possibles activités biologiques. En effet, les régimes hyposodés et riches en K sont promoteurs de la santé cardiovasculaire et améliorent le fonctionnement rénal et hépatique. Les sels végétaux pourraient alors substituer au sel gemme incriminé dans les pathologies cardiovasculaires, rénales et hépatiques. Dans une telle orientation, il devient indispensable de penser à leur iodation, le sel de cuisine étant choisi par les Etats comme vecteur d'iode dans la lutte contre les TDCI.

**Mots clés :** Sels végétaux, ratio sodium/potassium, intérêt pharmacologique

## Chemical composition of vegetable salts traditionally produced in Togo: nutritional and pharmacological benefits

### Summary

Diet plays a decisive role in the health of the individual. It requires permanent adjustments depending on the nutritional requirements of minerals and vitamins. Vegetable salts are traditionally produced from agro-food residues in Togo to season dishes. These salts are used by the population for nutritional and pharmacological reasons. In order to contribute to the development of these salts, promoters of health, their chemical composition was determined by atomic absorption spectrophotometry. The high concentration of these salts in K and their low Na content, without forgetting the interesting contents of Ca, Mg, Fe and P, made it possible, not only to conclude on their nutritional quality but also, on possible biological activities. Indeed, low sodium and K rich diets promote cardiovascular health and improve renal and hepatic functioning. Vegetable salts could then replace the gem salt implicated in cardiovascular, renal and hepatic pathologies. In such an orientation, it becomes essential to think of their iodization, the cooking salt being chosen by the States as vector of iodine in the fight against IDD. Keywords: vegetable salts, sodium / potassium ratio, pharmacological interest

### 1-Introduction

L'alimentation joue un rôle déterminant sur la santé de l'individu. Elle nécessite des ajustements permanents en fonction des besoins nutritionnels en minéraux et en vitamines. Une alimentation pauvre en sel de sodium permet ainsi de diminuer les risques cardiovasculaires, la morbidité et la mortalité liée à l'hypertension artérielle [1]. L'alimentation joue alors un rôle principal dans la lutte contre les MCV et des études l'ont propulsée au même rang que les autres thérapies [2]. En effet, les aliments, à travers les nutriments qu'ils renferment, agissent sur la physiologie de l'organisme [3] (Melle, 2004). La promotion de la santé interpelle ainsi de plus en plus le consommateur alors un régime hyposodé est l'un des facteurs déterminants dans la prise en charge et de la prévention de l'hypertension artérielle [2]. Les personnes hypertendues ont une prise en charge très coûteuse en raison du coût élevé des produits synthétiques [4] or des produits naturels accessibles à moindre coût capables de prévenir, de guérir ou de réduire les risques liés aux MCV [5] sont disponibles. C'est le cas des sels végétaux produits traditionnellement à partir des résidus agroalimentaires et utilisés comme exhausteur de goût concomitamment en lieu et place du sel de cuisine par la population du Nord Togo, surtout en milieu rural. Ces sels constituent un complément alimentaire utilisé traditionnellement pour assaisonner les mets [6]. En effet, l'utilisation des sels végétaux est une habitude pharmaco-nutritionnelle empirique sans aucune connaissance scientifique sur la toxicité et des effets biologiques. Ces sels végétaux sont utilisés pour leurs multiples vertus thérapeutiques et particulièrement pour leurs effets anti-hypertensifs. Une caractérisation physico-chimique de ces sels végétaux a montré qu'ils sont de loin riches en potassium (K) par rapport au sodium (Na) avec une implication dans la promotion de la santé cardiovasculaire [6]. Par ailleurs, dans l'optique d'une substitution du chlorure de sodium (NaCl) par les sels végétaux, leur iodation reste indispensable au même instant à une contribution à la lutte contre les troubles dus à la carence en iode (TDCI). C'est

dans ce contexte que s'inscrit cette étude dont l'objectif général est de contribuer à la valorisation des sels végétaux à travers l'évaluation des effets pharmacologiques de leur consommation. Spécifiquement il s'agit de déterminer la composition chimique de ces sels, déterminer la contribution des sels végétaux analysés aux apports journaliers recommandés (AJR) en quelques minéraux d'intérêt nutritionnel et enfin évaluer l'effet pharmacologique d'une consommation sub-chronique de ces sels sur le système cardiovasculaire chez le rat wistar.

## 2MATERIEL ET METHODES

### 2-1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé, est constitué de sels végétaux préparés à partir des résidus agro-alimentaires qui ont été les rafles de palmier à huile (*Elaeis guinensis*). Les substrats ou résidus agroalimentaires ont alors été calcinés, la cendre recueillie a été délayée avec l'eau et filtrée. Le filtrat recueilli a été ensuite évaporé à la chaleur de bois de chauffe pour laisser les cristaux blancs de sels. Les sels produits ont été ensuite conditionnés dans les bocaux en verre hermétiquement fermés et conservés à 4 °C au réfrigérateur jusqu'aux analyses



Rafles de palmier à huile

Rafles en cours de brûlure

Sel végétal

### 2-2 Matériel animal

Le matériel animal utilisé a été constitué de 74 rats (mâles et femelles) de souche Wistar issus de l'animalerie du département de Physiologie Animale et Pharmacologie de la Faculté des Sciences de l'Université de Lomé. Les rats utilisés avaient libre accès à l'eau et à la nourriture avec un cycle de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Leur poids moyen était de  $162 \pm 5,57$  g.

### 2-3 Dosage des minéraux dans les sels végétaux considérés

Les minéraux ont été dosés dans un filtrat de 10 g de chaque sel végétal dissout dans 50 mL d'eau distillée. Ce dosage a consisté à déterminer 5 macroéléments (Ca, Mg, K, Na et P) choisis en raison de leur importance nutritionnelle. Le Na, le K, le Ca et le Mg ont été dosés au spectrophotomètre d'absorption atomique à la flamme (JENWAY PFP7) et le phosphore (P) a été dosé par spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV visible (Spectrophotomètre UV/VIS JENWAY 6705). Le dosage du phosphore a été fait selon la méthode décrite par la norme NF T90-023: (septembre 1982). Les résultats sont obtenus par lecture directe (AOAC, 1990; Labat, 2010). Chaque minéral a été dosé dans trois échantillons différents du même sel et la moyenne a été considérée.

### 2-4 Technique d'iodation des sels végétaux

Le procédé d'iodation a consisté en un mélange de 10 g de sel avec 1 mg d'iodate potassium en poudre, soit une concentration de 100 mg/Kg. Le composé iodé a été donc un mélange à l'état sec tel [7].

### 2-5 Evaluation de l'effet de la consommation subchronique des sels végétaux iodés

Le test de toxicité subchronique a été utilisé pour cette évaluation. Neuf lots de six (6) rats dont quatre lots de rats mâles et cinq lots de rats femelles ont été ainsi utilisés pour ce test. Au total, 30 rattes réparties en cinq lots ( $G_I$ ,  $G_{II}$ ,  $G_{III}$ ,  $G_{IV}$  et  $G_V$ ) et 24 rats mâles répartis en quatre lots ( $G_I'$ ,  $G_{II}'$ ,  $G_{III}'$  et  $G_{IV}'$ ) ont été utilisés. Les animaux du lot  $G_I$  et  $G_I'$  ont été considérés comme témoins et ont reçu par gavage, de l'eau distillée, tous les jours pendant 28 jours à raison de 10 mL/Kg de poids corporel. Les animaux des lots ( $G_{II}$  et  $G_{II}'$ ), ( $G_{III}$  et  $G_{III}'$ ) et ( $G_{IV}$  et  $G_{IV}'$ ) ont reçu par gavage, la solution de sels végétaux, tous les jours pendant 28 jours aux doses respectives de 70 mg/Kg, 140 mg/Kg et 210 mg/Kg de poids corporel. Les rats femelles ( $G_V$ ) ont reçu une solution de sels végétaux à la dose de 420 mg/Kg pendant 28 jours. Le comportement ou l'état général de chaque animal a été apprécié durant toute la période de l'expérience en vue de noter tout symptôme d'anomalie (agilité, diarrhée, pilo-érection ou amaigrissement) lié à l'administration des sels végétaux [8].

Au lendemain du dernier traitement ( $J_{29}$ ), les animaux ont été anesthésiés à l'éther, le sang de chaque rat a été prélevé au niveau du sinus retro orbital dans des tubes secs. Ce sang a été centrifugé à 3000 tours par minute pendant 10 minutes et le surnageant est recueilli. Les paramètres biochimiques liés au métabolisme lipidique (Cholestérol total,

Triglycéride, HDL-C et LDL-C) ont été recherchés dans les tubes secs. Les analyses biochimiques ont été réalisées par un appareil automatique de type Mindray BS-200. Les principes des méthodes analytiques et les références des techniques utilisées pour les analyses biochimiques sont regroupés dans le tableau I.

**Tableau I : Méthodes analytiques des paramètres biochimiques**

Paramètres	Méthodes Analytiques	Références
<b>Cholestérol</b>	Enzymatique, Colorimétrique	"Mindray" Réf : TC 0102
<b>Triglycérides</b>	Enzymatique, Colorimétrique	"Mindray" Réf : TG 0102

Cholestérol-LDL a été calculé selon la formule :

$$\text{Cholestérol} - \text{LDL} = \text{Cholestérol} - \left( \frac{\text{Triglycéride}}{5} + \text{Cholestérol} - \text{HDL} \right)$$

Pour les autres paramètres considérés dans cette étude, les données ont été traitées par le logiciel graph Pad Prism version 8.00. Le seuil de significativité a été considéré à 5% (P< 0,05).

### 3-Resultats et Discussion

#### 3-1 Composition chimique des sels végétaux selon les substrats

Les teneurs en minéraux des sels végétaux ont été présentées dans les tableaux II alors que leurs contributions aux AJR en minéraux ont été présentées dans le tableau III. Les teneurs en minéraux ont varié de 204,018 mg/100g à 314,43 mg/100g pour le Na, de 8408,53 mg/100g à 8863,2 mg/100g pour le K, de 25,04 mg/100g à 296,36 mg/100g pour le Mg, de 21,31 mg/100g à 309,39 mg/100g pour le Ca et de 55,25 mg/100g à 746,84 mg/100g pour le phosphore (Tableau II) avec une moyenne générale de 281,27 mg/100g ; 8715,15 mg/100g ; 112,62 mg/100g ; 132,07 mg/100g et 301,24 mg/100g, respectivement le Na, le K, le Mg, le Ca et le P (Tableau III). La variation des teneurs en minéraux d'un échantillon à l'autre s'explique par la composition chimique du sol sur lequel la plante s'est développée, à l'écologie et à la source d'eau utilisée pour délayer les cendres [6].

#### 3-2 Rapport sodium/potassium et calcium/phosphore selon les échantillons

Les rapports Na/K et Ca/P sont présentés dans le Tableau I. L'analyse de ce tableau montre que les rapports sodium/potassium selon les échantillons analysés ont varié de 2 % à 4 % en considérant l'ensemble des échantillons. Le rapport Na/K a été inférieur à 1 quel que soit l'échantillon analysé. Ce rapport indique que les sels végétaux renferment une teneur en sodium très faible par rapport à celle du potassium. Cette teneur en sodium réduite confirme le rôle alimentaire des sels végétaux pour la promotion de la santé cardiovasculaire.

Les rapports Ca/P varient de 1 % à 279 % selon les échantillons analysés (Tableau I). Les teneurs en Ca et en P des sels analysés ont été relativement peu importantes (Tableau I). Toutefois, les sels végétaux seraient une source non de moindre en ces éléments. Le Ca intervient dans la contraction musculaire et préviendrait l'ostéoporose. Le P et le Ca contribueraient à la formation du squelette chez les enfants. Les sels végétaux contribueraient à un apport alimentaire en calcium, en phosphore et permettraient l'amélioration du fonctionnement cardiovasculaire [9]. Cette étude est une contribution à la valorisation du potentiel nutritionnel des sels végétaux dans l'intérêt de promouvoir son utilisation alimentaire. La carence en micronutriments surtout en iode mine en silence la santé de l'homme. Aujourd'hui, la lutte contre les troubles occasionnés par les carences en iode constitue une priorité pour les instances internationales. L'utilisation de sels végétaux iodés permettrait alors de réduire les TDCI.

**Tableau III : Teneurs moyennes en minéraux selon les échantillons en mg/100g de MS et ratios Na/K, Ca/P**

Substrats	Minéraux (mg/100g de MS)					Rapports Na/K et Ca/P	
	Na	K	Mg	Ca	P	Na/K	Ca/P
Ech 1	310,10 ± 5,17	8732,20 ± 91,47	66,94 ± 6,95	21,31 ± 1,05	434,90 ± 2,36	0,04 ± 0,02	0,01 ± 0,00
Ech 2	271,10 ± 12,53	8746,60 ± 27,72	25,04 ± 0,58	44,71 ± 0,79	113,25 ± 1,79	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,02

Ech 3	204,02 4,16	± 8825,26 40,08	± 95,42 0,85	± 214,44 3,15	± 155,98 ± 0,63	0,02 ± 0,01	1,37 ± 0,02
Ech 4	314,43 5,07	± 8408,53 30,72	± 296,36 2,38	± 309,39 4,72	± 55,25 ± 0,64	0,04 ± 0,00	2,79 ± 0,02
Ech 5	306,70 8,41	± 8863,20 29,99	± 79,37 1,27	± 70,52 0,27	± 746,84 ± 1,27	0,03 ± 0,00	0,01 ± 0,00

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± ESM (n = 3)

### 3-3 Contribution des sels végétaux aux AJR en minéraux

Dans l'ensemble, les sels analysés peuvent contribuer aux AJR entre 14,66 % pour le Ca et 185,42 % pour le K (Tableau II). Ces proportions montrent donc que les sels végétaux contribueraient à la lutte contre les carences en minéraux encore présent au Togo [10]. Cependant, le fait que les sels végétaux soient une source d'apport en minéraux constitue un avantage nutritionnel par rapport à leur contribution à la lutte contre les carences en minéraux. En effet, plusieurs études ont montré que les apports quotidiens en nutriments tels que le calcium, le magnésium et phosphore sont souvent inférieurs aux apports nutritionnels recommandés [11,12]. Il est donc recommandé, pour compenser cette insuffisance, de privilégier la consommation d'aliments riches en ces nutriments plutôt que d'opter pour un supplément médicamenteux. L'utilisation des sels végétaux dans l'alimentation constitue alors l'un des moyens pour limiter le déficit nutritionnel en minéraux. De plus, la teneur élevée en potassium de ces sels végétaux exprimée par un rapport Na/K très faible entre 0,02 et 0,04 (Tableaux I), montre que ces sels contribueraient à la promotion de la santé cardiovasculaire [9]. Cette observation concorde avec celles de certains chercheurs [6,13] qui ont rapporté également des teneurs en K très élevées avec de très faible teneur en Na dans les sels végétaux analysés.

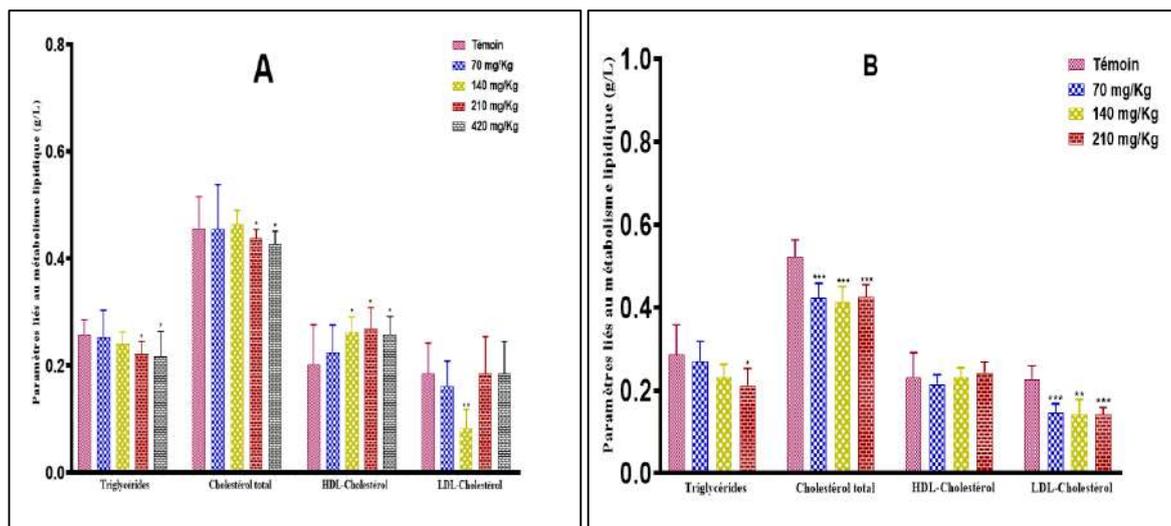
**Tableau III :** Contribution de 100 g de sel végétal aux AJR en minéraux

Eléments analysés	AJR pour un adulte (Homme/Femme)	Quantité moyenne dans 100 g de sel végétal	Contribution de 100 g de sel végétal aux AJR (%)
Na (mg)	1500 <sup>b</sup>	281,27	18,75
K (mg)	4700 <sup>b</sup>	8715,15	185,42
Ca (mg)	900 <sup>bc</sup>	112,62	14,66
Mg (mg)	420 <sup>a</sup>	132,07	26,81
P (mg)	750 <sup>bc</sup>	301,24	40,16

**NB :** <sup>a</sup> Apports nutritionnels de référence en minéraux, (Trumbo *et al.*, 2002) ; <sup>b</sup> Apport nutritionnel recommandé pour un poids corporel de 70 kg (Frenot et Vierling, 2002) ; <sup>c</sup>[14]AFSSA (2009) ; AJR : Apport Journalier Recommandé.

### 3-4 Effet des sels végétaux sur le métabolisme lipidique

La figure 1 montre que dans les lots témoins, les concentrations du cholestérol total, des triglycérides et de LDL ont augmenté et celle des HDL ont diminué par rapport aux lots traités. En effet, le traitement des rats femelles et mâles avec différentes doses de solutions de sels végétaux a entraîné une diminution significative ( $p < 0,001$  ;  $p < 0,05$  ;  $p < 0,01$ ) de la concentration du cholestérol total et des triglycérides, avec une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) du taux de HDL (chez le mâle) comparativement au lot témoin. La diminution du cholestérol a été indiquée comme étant associée à la réduction de l'incidence des maladies cardiovasculaires [15] ainsi que les LDL [16]. Les sels végétaux exerceraient alors un effet hypocholestérolémique et pourraient avoir une action protectrice sur le système cardiovasculaire. La consommation des sels végétaux permettrait de lutter contre la baisse du taux de HDL et l'augmentation du cholestérol, des triglycérides et de LDL, qui sont des marqueurs de risque de maladies cardiovasculaires [16].



**Figure 22 :** Effet des sels végétaux sur le métabolisme lipidique (A) des rats femelles témoins et traités ; (B) des rats mâles témoins et traités. Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  ESM (n = 6). Significativement différent (témoins vs traités), \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,01$  ; \*\*\* $p < 0,001$ .

#### 4-Conclusion

Au regard de tout ce qui précède, les maladies cardiovasculaires constituent un problème de santé publique. Leur prévention nécessite entre autre un régime hyposodé d'où l'utilisation des sels végétaux pauvres en sodium et riche en potassium. La composition chimique des sels analysés a montré qu'ils contiennent peu de sodium et sont très riches en potassium confirmant l'intérêt alimentaire et nutritionnel des sels végétaux. Il en est de même avec leur administration subchronique où les paramètres biochimiques ont confirmé l'efficacité des sels végétaux à réduire l'incidence des MCV en diminuant les taux du cholestérol, des triglycérides et de LDL avec une augmentation de HDL. La consommation de sels végétaux permettrait donc de protéger le système cardiovasculaire et de prévenir les maladies cardiovasculaires telles que l'HTA. Ils constitueraient un substitut pour le sel de cuisine. Il est alors nécessaire de promouvoir la production et l'iodation de ces sels afin de les rendre plus disponibles.

En perspective, des études sur les propriétés anti-hypertension restent nécessaires de même que les effets de leur consommation chronique afin de compléter les données de la présente étude et de mieux orienter les consommateurs.

#### Références bibliographiques

- [1]. Fakher N., Nathalie S., Chahwakilian A., Sylvie D-M., Safar M., Blacher J. Antihypertenseurs : pour une meilleure efficacité chez le sujet âgé. *Med. Ther. Cardio*, (2006) 2(5): 506-512
- [2]. Poirier P., Després P. Obésité et Maladies Cardiovasculaires. *Med Sci : Paris*, (2004) 943-949.
- [3]. Melle L. Réduction et substitution du sel dans les produits transformés Juillet. ADRIA Développement. 2004 pg 9.
- [4]. Thompkinson K., Bhavana V., Kanika P. Dietary approaches for management of cardio-vascular health-a review. *J. Food Sci. Technol*, (2014) 51 (10): 2318-30.
- [5]. Botham K. Oxidation of chylomicron remnants and vascular dysfunction. *Atherosclerosis Supplements*, (2008) 9 : 57–61.
- [6]. Ameyran K., Bilabina I., Melila M., Doh N., Tchaou M., Kpemissi M., Badanaro F., Maba D., Lamboni C., Osseyi E., Doh A. Valorisation de quelques sels végétaux fabriqués traditionnellement au Togo. *Int. J. Biol. Chem. Sci*, (2014) 8(4): 1481-1492.
- [7]. Hetzel, Pandav. SOS pour un milliard: la conquête des troubles dûs à la carence en iode. Dehli, Calcuta., (1997) 112-250 p..
- [8]. Gome M. B., Kouakou K., Toure A., Traore F. Étude de la toxicité aiguë et subchronique de l'extrait aqueux de *Passiflora foetida* Linn. (Passifloraceae) chez les rats et les souris. *Int. J. Biol. Chem. Sci*, (2011) 5 (5): 1777-1789.
- [9]. He J., MacGregor A. Beneficial effects of potassium on human health. *Physiologia Plantarum*, (2008) 133(4): 725–735.
- [10]. PNUD. Résumé Rapport sur le développement humain en Afrique - 2012 vers une sécurité alimentaire durable, 14 p.

- [11]. Manios Y., Moschonis G., Androustos O., Filippou C., Van Lippevelde W., Vik N. Family sociodemographic characteristics as correlates of children's breakfast habits and weight status in eight European countries. *Public health nutrition*, (2015) 18(5): 774-783.
- [12]. Fernández-Barrés S., Romaguera D., Valvi D., Martínez D., Vioque J., Navarrete-Muñoz E. Mediterranean dietary pattern in pregnant women and offspring risk of overweight and abdominal obesity in early childhood: the INMA birth cohort study. *Pediatric obesity*, (2016) 11(6):491-499.
- [13]. Doh N. Préparation et composition chimique des sels végétaux iodés, (2010) pg 28-33, Université de Lomé, Département Biochimie – Nutrition.
- [14]. AFSSA, 2009. Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatifs à l'évaluation des teneurs en vitamines et minéraux des denrées enrichies et des compléments alimentaires: synthèse. Maisons-Alfort, 38p.
- [15]. Law R., Wald J., Rudnicka R. Quantifying effect of statin on low density lipoprotein cholesterol, ischaemic heart disease and stroke: systemic review and meta-analysis. *Brit. Med. J.*, (2003) 326: 1419-1423.
- [6]. Kpemissi M., Metowogo K., Melila M., Veerapur V., Negru M., Taulescu M., Potarniche A., Shivalingaiah D., Adinarayanashetty T., Vijayakumarc S., Eklu-Gadegbekua K, Aklikokoua K. Acute and subchronic oral toxicity assessments of *Combretum micranthum* (Combretaceae) in Wistar rats *Toxicology Reports* 7 (2020) 162–168.[doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.01.007](https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.01.007).

## Etude comparée de la phytochimie et de l'activité biologique des spécimens des écorces de la tige de *Cassia sieberiana* du Bénin et du Niger

Oumarou Maman Noura<sup>1,2</sup>, Gbédossou Sophie Reine Bogninou<sup>1\*</sup>, Amadou Tidjani Ilagouma<sup>2</sup>, Yaya Alain Koudoro<sup>1</sup>, Bossou Annick Arlette Flore Dohoué<sup>1</sup>, Cokou Pascal Agbangnan Dossa<sup>1</sup>, Félicien Avlessi<sup>1</sup>, Dominique C. K. Sohounhloue<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie Appliquée LERCA/EPAC/UAC 01 BP 2009 Tél 95813000 Cotonou, Bénin

<sup>2</sup>Laboratoire des Substances Naturelles, FAST/ Université Abdou Moumouni, BP 10667, Niamey, Niger.

### Résumé

*Cassia sieberiana* est une plante souvent utilisée dans le traitement de diverses pathologies humaines en Afrique. Le but du présent travail est de réaliser une étude comparée de la phytochimie et de l'activité biologique des écorces des échantillons issus du Bénin et du Niger. Le criblage phytochimique est réalisé à partir des tests de coloration et/ou de précipitation sur les écorces en vue d'identifier les métabolites secondaires des deux spécimens. Les dosages des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes totaux sont effectués au moyen de spectrophotomètre ; le test de DPPH est réalisé pour évaluer l'activité anti-radicalaire et enfin la technique de microdilution sur plaque de 96 puits est utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits. Le criblage phytochimique révèle la présence de plusieurs métabolites secondaires communs (tanins, flavonoïdes, leucoanthocyanes, saponosides, anthraquinones et quinones) avec quelques différences entre les deux spécimens. Les teneurs en phénols totaux déterminées sont beaucoup plus élevées dans le spécimen du Niger que celui du Bénin (42,5 et 73,43 mgEAG/g d'extrait). L'extrait des écorces de tige de l'échantillon du Niger qui présente une  $CI_{50} = 3,087$  mg/mL, est plus actif pour la réduction du DPPH que celui de l'échantillon du Bénin avec  $CI_{50} = 3,936$  mg/mL. Enfin, les tests microbiologiques a révélé des concentrations minimales inhibitrices beaucoup plus petites sur les *Escherichia coli*, *Escherichia coli* ATCC25922, *Salmonella sp* et *Vibrio cholerae* respectivement (2,5 ; 1,25 ; 1,25 et 2,5 mg/mL). L'échantillon du Niger se révèle plus actif que celui du Bénin. Cela se justifierait par la forte concentration en métabolites secondaires surtout les composés phénoliques. Cette différence des compositions chimiques observée entre les deux spécimens du Bénin et du Niger pourrait être due à la nature du sol, à l'environnement géographique de la plante ainsi qu'à la période de récolte. Les extraits des écorces de *C. sieberiana* pourraient être utilisés dans les affections d'origine microbienne.

**Mots clés :** *Cassia sieberiana*, Bénin, Niger, criblage phytochimique, DPPH et test microbiologique.

## Comparative study of the phytochemistry and biological activity of specimens of stem bark of *Cassia sieberiana* from Benin and Niger

### Abstract

*Cassia sieberiana* is a plant often used in the treatment of various human diseases in Africa. Phytochemical screening of specimens from Benin and Niger reveals the presence of common secondary metabolites (tannins, flavonoids, leucoanthocyanins, saponins, anthraquinones and quinones), with some differences between the two specimens. The contents of total phenols and the total flavonoids described by Agbangnan and coll are higher in the Niger specimen than Benin one. The extract of the stem bark of sample from Niger presents  $IC_{50} = 3.087$  mg/mL, more active in reducing DPPH than that of sample from Benin  $IC_{50} = 3.936$ ; 2.666 mg/mL. Finally, the microbiological test by the microdilution technique on a 96-well plate of the extracts of the sample from Niger gave smaller minimum inhibitory concentrations on the *Escherichia coli*, *Escherichia coli* ATCC25922, *Salmonella sp* and *Vibrio cholerae* respectively 2.5, 1.25, 1.25 and 2.5 mg / mL. The sample from Niger is more active than that from Benin, this would be justified by the high concentration of secondary metabolites, especially phenolic compounds. This difference in chemical compositions and also in biological activity observed in the two specimens from Benin and Niger could be due to the nature of the soil, the geographical environment of the plant as well as the harvest period. The extracts of the samples of *C. sieberiana* could be used for the treatment of microbiological affections.

**Keywords:** *Cassia sieberiana*, Benin, Niger, phytochemical screening, DPPH, microbiological test.

### 1. Introduction

L'histoire des plantes est intimement liée à celle de l'humanité. En effet, l'homme utilise les plantes dans maints domaines : alimentaire, vestimentaire, cosmétique, sanitaire et même en parfumerie. Ainsi, l'OMS estime que 80% des populations de l'Afrique font recours aux plantes pour leurs besoins de santé [1]. En Afrique, plus de 85% de la population est tributaire de la médecine traditionnelle dans le traitement de nombreuses affections. Cette dépendance serait due aux pratiques culturelles, aux coûts élevés des médicaments modernes les rendant inaccessibles aux populations malgré l'avènement des

médicaments génériques et à la mauvaise répartition du personnel en charge de la santé. Ces derniers temps, une croissance rapide de l'utilisation des plantes en médecine est constatée. Les plantes médicinales sont de plus en plus acceptées dans les pays en voie de développement et les pays développés, en raison de leur source naturelle, leur disponibilité, la non cherté de traitement et de leurs effets secondaires minimes.

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a répertorié 21.000 plantes utilisées de manière curative dans le monde entier [2]. Les plantes renferment des substances naturelles bioactives dont les effets ethnopharmacologiques ont été mis en évidence et utilisées comme source principale de découverte de médicaments [3]. Actuellement environ 25% des médicaments pharmacologiques sont issus directement ou indirectement de plantes [4]. Au nombre de ces plantes, se trouve *Cassia sieberiana*.

*Cassia sieberiana* DC est un petit arbre de 7 à 15 m de haut, de la sous-famille des Césalpiniaceae, issue de la famille des Fabaceae également appelée Léguminosae [5]. Cette plante est largement distribuée dans la savane sud sahélienne et soudanaise de Sénégal au Cameroun, jusqu'au Soudan et en République du Congo [6,7]. On la trouve aussi dans la plupart des régions du Nigéria [8]. C'est un arbuste remarquable qui fait l'objet de plusieurs utilisations traditionnelles en Afrique [7]. Les écorces de la racine sont utilisées pour le maux de ventre, maux de ventre post-accouchement, irritation du colon, douleurs lombaires [9]. Mais les investigations scientifiques sur cette plante pour vérifier ces utilisations traditionnelles sont peu nombreuses. Dans cet ordre d'idée que cette étude dont l'objectif est de comparer les caractéristiques physico-chimiques et les activités biologiques d'extraits des écorces de la tige de *Cassia sieberiana* acclimaté au Bénin et au Niger a été initiée.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel

#### 2.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des écorces de la tige de *Cassia sieberiana* acclimaté dans les deux pays (Bénin et Niger). En ce qui concerne les échantillons du Bénin, la récolte a été effectuée dans la commune de Tchaourou de coordonnées 8° 53' 00" nord, 2° 36' 00" est située dans le département du Borgou ; et pour les échantillons du Niger, la récolte a été faite dans la commune d'Aguié délimitée par les coordonnées 07,56°-07,85° de Longitude Est et 13,23°-13,74° de Latitude nord. Les écorces de la tige de *C. sieberiana* ont été séchées, pulvérisées et stockées dans les conditions de laboratoire (27°C à l'abri de la lumière) jusqu'à leur utilisation ultérieure. L'identification taxonomique est effectuée par les structures compétentes (Herbier National de l'Université d'Abomey Calavi du Bénin et de l'Université Abdou Moumouni du Niger).

#### 2.1.2. Souches biologiques

Quatre souches bactériennes : *Escherichia coli* ATTC 25922, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* et *Salmonella sp* obtenues dans l'Unité de Biochimie et Biologie Moléculaire de la Faculté des Sciences et Techniques ont servi de matériel pour les tests biologiques.

## 2.2. Méthodes

### 2.2.1. Screening phytochimique

Le criblage phytochimique basé sur les tests de coloration et/ou précipitation est réalisé sur les écorces de la tige de *Cassia sieberiana* du Bénin et du Niger. Ainsi, les alcaloïdes, les coumarines et les saponosides ont été identifiés selon la méthode décrite par [10] tandis que les anthraquinones, les tanins, les flavonoïdes ont été mis en évidence par les méthodes décrites par [11 ; 12 ;13].

### 2.2.2. Dosage des composés phénoliques

#### 2.2.2.1. Préparation des différents extraits

La poudre des écorces de la tige de *Cassia sieberiana* des deux pays, ont servi à la préparation des extraits. Ainsi, 300 g de poudre ont été macérés pendant trois (03) jours dans un solvant hydroéthanolique dans les proportions (30/70).

#### 2.2.2.2. Dosage des composés phénoliques totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique de Folin-Ciocalteu selon la méthode de Agbangnan *et al.* Et Wong *et al.* [14,15]

#### 2.2.2.3. Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes totaux contenus dans les extraits testés a été réalisé grâce au trichlorure d'aluminium selon la méthode décrite par [16]. Cette technique est basée sur la formation du complexe flavonoïde-Aluminium qui absorbe vers 510 nm.

#### 2.2.3. Détermination de l'activité anti-radicalaire

L'activité anti-radicalaire des extraits a été évaluée selon la méthode spectrophotométrique décrite par Lagnika *et al.* en 2012 [17]. Six (06) concentrations allant de 0,25 mg/mL à 0,0078 mg/mL d'extrait préparée dans du méthanol sont testées. Une solution à 2 % du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) diluée dans le méthanol a été utilisée comme radical libre. Les absorbances sont lues à 517 nm et l'acide ascorbique pris comme la référence avec les mêmes gammes de concentrations. Le pourcentage d'inhibition (PI) du DPPH (I%) est calculé par la formule suivante :

$$\%PI = \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{blanc}}}$$

#### 2.2.4. Détermination de l'activité antibactérienne des extraits

La méthode de microdilution sur plaque de 96 puits est utilisée avec l'iodonitrotétrazolium (INT) comme indicateur de croissance bactérienne.

##### 2.2.4.1. Préparation de la suspension bactérienne

Les quatre souches bactériennes d'*Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli*, *Salmonella sp* et *Vibrio cholerae* sont ensemencées sur un milieu de culture solide. Des suspensions des colonies bactériennes bien isolées sont introduites dans un bouillon nutritif.

Les suspensions bactériennes obtenues après incubation ont été ramenées à 10<sup>6</sup> UFC (norme standard McFarland), ce qui correspond à une densité optique DO = 0,001 à λ = 620 nm [19].

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été effectuée à travers le test de sensibilité des souches bactériennes aux extraits à 10 mg/mL et la détermination des concentrations minimales inhibitrices des extraits

##### 2.2.4.2. Test de sensibilité des bactéries aux extraits

Ce test a pour but de déterminer l'efficacité des extraits sur les souches bactériennes à une concentration de 10 mg/mL.

100 µL d'inoculum bactérien sont ajoutés à 100 µL d'extrait concentré à 20 mg/mL. Après incubation à 37° C pendant dix-huit (18) heures, 40 µL d'une solution aqueuse d'INT (SIGMA-ALDRICH) concentrée à 0,2 mg/mL sont additionnés. L'apparition d'une coloration rose ou rouge au niveau des puits dans lesquels il y a eu croissance bactérienne indique que la bactérie est insensible aux extraits.

##### 2.2.4.3. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices

Des gammes de concentrations de 10 mg/mL ; 5 mg/mL ; 2,5 mg/mL ; 1,25 mg/mL ; 0,625 mg/mL ; 0,3125 mg/mL ; 0,15625 mg/mL pour les extraits ont été réalisées. 100 µL de bouillon MH sont introduits dans tous les puits d'une microplaque de 96 puits, puis 100 µL des solutions mères d'extraits à 20 mg/mL dans les premiers puits à partir desquels des dilutions successives au demi sont réalisées jusqu'aux derniers puits. Ensuite, 100 µL de bouillon bactérien concentré à 0,001.10<sup>6</sup> UFC/mL sont ajoutés dans tous les puits. Après dix-huit (18) heures d'incubation à 37°C, la croissance bactérienne est vérifiée grâce à la coloration de l'INT.

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Screening phytochimique

Le criblage phytochimique des écorces de la tige de *Cassia sieberiana* du Bénin et du Niger a permis de mettre en évidence des métabolites secondaires présentés dans le tableau I.

**Tableau I** : Métabolites secondaires identifiés dans les écorces de la tige de *Cassia sieberiana* du Bénin et du Niger

Organes	Ecorces de <i>Cassia sieberiana</i> du Bénin	Ecorces de <i>Cassia sieberiana</i> du Niger
Composés		
<b>Alcaloïdes</b>	+	-
<b>Tanins</b>	+	+
<b>Tanins catéchiques</b>	+	+
<b>Tanins galliques</b>	-	-
<b>Flavonoïdes</b>	+	+
<b>Anthocyanes</b>	-	+
<b>Leuco-anthocyanes</b>	+	+
<b>Saponosides</b>	+	+
<b>Mucilages</b>	+	-
<b>Composés réducteurs</b>	-	+
<b>Coumarines</b>	-	+
<b>Anthraquinones</b>	+	+
<b>Quinones</b>	+	+
<b>Dérivés cyanogéniques</b>	-	-

Présence (+) ; absence (-)

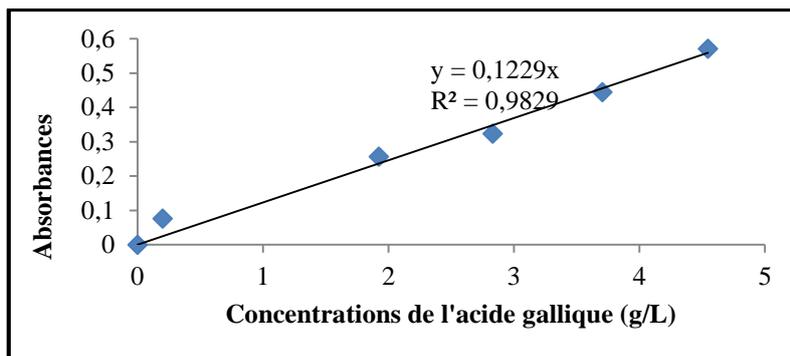
L'analyse comparée des deux spécimens de *Cassia sieberiana* du Bénin et du Niger révèle la présence des tanins (surtout catéchiques), des flavonoïdes, des leuco-anthocyanes, des saponosides et des anthraquinones et des quinones dans les écorces de tige des deux échantillons tandis que les dérivés cyanogéniques y sont absents dans les deux spécimens. Toutefois, des différences apparaissent au sein des deux types d'échantillons. Ainsi, outre les composés précédemment cités, le spécimen du Bénin est caractérisé par la présence des alcaloïdes et des mucilages. A l'opposé, dans celui du Niger des anthocyanes, des composés réducteurs et des coumarines sont identifiés.

Ces résultats sont conformes à ceux de Evenanmede *et al.* qui ont montré que les 3 organes de la plante contiennent des grands groupes chimiques, tels que les flavonoïdes, les tanins et les saponosides [19]. Ils sont également similaires à ceux obtenus par Awomukwu *et al.* qui ont signalé la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des saponines et des tanins dans quatre organes de la plante : les feuilles, les tiges, les racines et les gousses [20]. Cette différence des compositions chimiques observée dans les deux spécimens du Bénin et du Niger pourrait être due à la nature du sol, à l'environnement géographique de la plante ainsi qu'à la période de récolte.

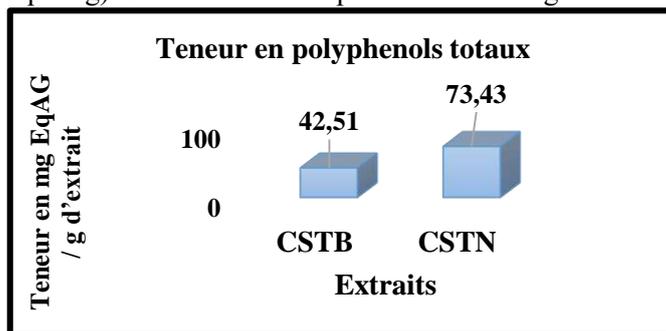
### 3.2. Résultats des tests de dosage des composés phénoliques

#### 3.2.1. Teneurs en phénols totaux

La quantification des phénols totaux a été déterminée en exploitant la courbe d'étalonnage linéaire réalisée à partir d'une solution étalon d'acide gallique à différentes concentrations comme l'indique la figure 1.



**Figure 1 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques totaux**  
La teneur des phénols totaux des échantillons est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EqAG/g). Les résultats sont présentés sur la figure 2.



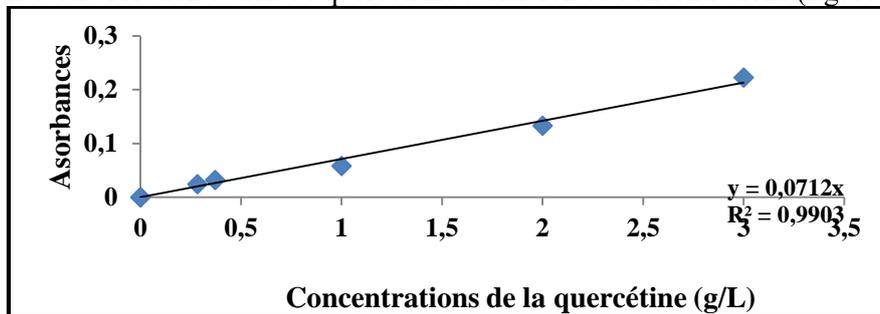
Ecorce de la tige de *Cassia sieberiana* du Bénin (CSTB) ; Ecorce de la tige de *Cassia sieberiana* du Niger (CSTN).

**Figure 2 : Teneur en phénols totaux des différents organes pour les deux pays**

La teneur en composés phénoliques totaux de l'échantillon du Niger est de 73,43 mg EqAG/g. Cette teneur est plus élevée que celle de l'échantillon du Bénin qui est de 42,51 mg EqAG/g. La comparaison des échantillons des deux pays avec ceux d'autres travaux, montrent que les teneurs en phénols détectées sont largement supérieures à celles rapportées pour l'extrait éthanolique du Togo par [19]. Toutefois, elles sont nettement inférieures aux valeurs trouvées par Jibril *et al.* dans les racines avec des solvants comme hexane, acétate d'éthyle, l'eau et butanol [21]. Ces différences pourraient être dues à la nature du sol, aux facteurs environnementaux de la plante ainsi qu'aux solvants d'extraction.

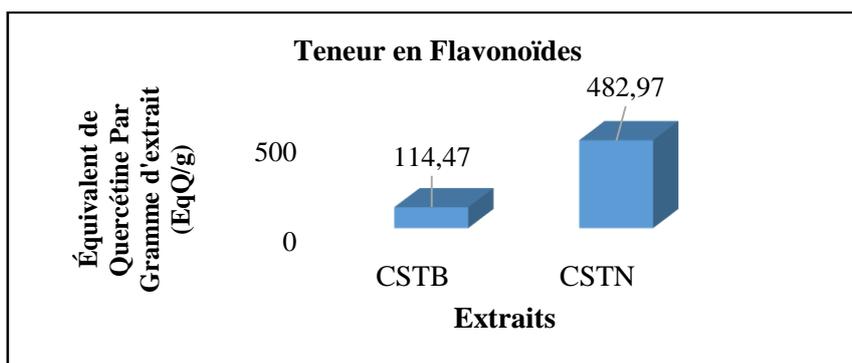
### 3.2.2. Teneur en flavonoïdes totaux

La quantification des flavonoïdes a été déterminée en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée à partir d'une solution étalon de quercétine à différentes concentrations (figure 3).



**Figure 3 : Courbe d'étalonnage pour le dosage de flavonoïdes totaux**

La teneur en flavonoïdes dans les différents échantillons est exprimée en mg équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EqQ/g). Les résultats sont illustrés par la figure 4.



Ecorce de la tige de *Cassia sieberiana* du Bénin (CSTB) ; Ecorce de la tige de *Cassia sieberiana* du Niger (CSTN).

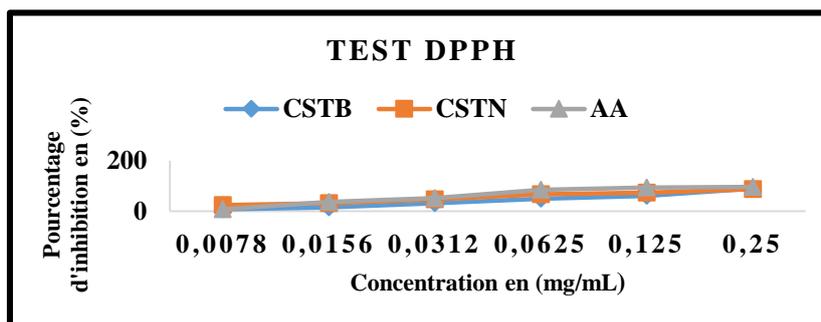
Figure 4 : Teneur en flavonoïdes totaux des extraits testés

La plus forte concentration en flavonoïdes totaux est observée dans le spécimen du Niger avec 482,97 mg EqQ/g d'extrait contre 114,47 mg EqQ/g d'extrait dans l'échantillon du Bénin. Ces teneurs sont largement supérieures à celles trouvées par Evenamede *et al.* en 2017 [19]. La teneur des écorces de tige du Niger est largement supérieure à celle trouvée par Jibril *et al.* en 2017 [21]. L'échantillon du Bénin présente une teneur similaire à celle trouvée par Jibril *et al.* en 2017 [21].

### 3.3. Tests d'activité anti-radicalaire

#### 3.3.1. Pourcentage de piégeage du radical DPPH par les extraits et l'acide ascorbique (AA)

La réduction du radical DPPH est dose-dépendante ; plus la concentration augmente, plus le pourcentage d'inhibition est élevé. Les résultats, exprimés en pourcentage de réduction du DPPH tracés dans la figure 5.

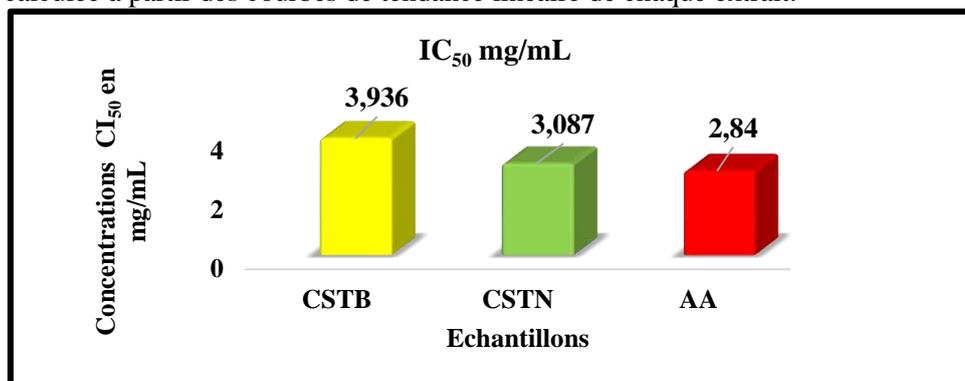


Ecorce de la tige de *Cassia sieberiana* du Bénin (CSTB) ; Ecorce de la tige de *Cassia sieberiana* du Niger (CSTN); Acide Ascorbique (AA).

Figure 5 : Inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations d'extraits

#### 3.3.2. Détermination des $CI_{50}$ des tests anti radicalaires

La  $CI_{50}$  est calculée pour chaque extrait (figure 6). Plus la  $CI_{50}$  est petite, plus l'extrait est antioxydant. Elle a été calculée à partir des courbes de tendance linéaire de chaque extrait.



Ecorce de la tige de *Cassia sieberiana* du Bénin (CSTB) ; Ecorce de la tige de *Cassia sieberiana* du Niger (CSTN); Acide Ascorbique (AA).

**Figure 6 : CI<sub>50</sub> des différents extraits**

Les activités anti-radicalaires de l'extrait des différents échantillons du Bénin et du Niger sont comparées à celle d'acide ascorbique pris comme référence en termes d'équivalence et en termes d'inhibition. La plus forte activité anti-radicalaire est observée dans le spécimen du Niger avec (CI<sub>50</sub> = 3,084 mg/mL) comparativement aux écorces de la tige de l'échantillon du Bénin avec une CI<sub>50</sub> de 3,4403 mg/mL. On note ici l'acide ascorbique révèle plus actif que les échantillons du Bénin et du Niger avec CI<sub>50</sub> = 2,84 mg/mL. Nos résultats sont similaires que ceux trouvés par Halilu *et al.* et Traoré *et al.* [22 ;23] dans les écorces des racines. Ils sont largement supérieurs à ceux trouvés par Jibril *et al.*, Kpegba *et al.*, Sombie *et al.* par Jibril *et al.* dans la racine, dans les feuilles et dans les racines respectivement [21 ; 24 ; 25].

**Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices**

C'est la plus petite concentration d'extrait de plante ou d'antibiotique pouvant inhiber toute culture visible d'une souche bactérienne après 18 heures de culture à 37°C. Les différentes concentrations minimales inhibitrices des extraits sur les quatre souches bactériennes testées sont indiquées dans le tableau II.

**Tableau II** : Différentes Concentrations Minimales Inhibitrices

	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> ATTC 25922	<i>Salmonella sp</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
CSTB	10	10	ND	10
CSTN	2,5	1,25	1,25	2,5

ND = non déterminé ; Ecorce de la tige de *Cassia sieberiana* du Bénin (CSTB) ; Ecorce de la tige de *Cassia sieberiana* du Niger (CSTN).

L'analyse des résultats du tableau 2 montre. En effet, la concentration minimale inhibitrice est inversement proportionnelle à l'activité de l'extrait, plus la CMI est petite plus l'activité est grande. Cependant, les plus faibles Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) sont déterminées dans le spécimen du Niger : 2,5 ; 1,25 ; 1,25 et 2,5 mg/mL pour les souches *Escherichia coli*, *Escherichia coli* ATTC 25922, *Salmonella sp* et *Vibrio cholerae* respectivement ces résultats sont similaires à ceux trouvés par Halilu *et al.* et Kpegba *et al.* [22 ; 26]. L'extrait des écorces de la tige de *Cassia sieberiana* du Bénin (CSTB) a présenté une Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de 10 mg/mL sur les souches *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*. et *Escherichia coli* ATTC 25922 et non déterminé sur la souche *Salmonella sp*. Ces résultats sont similaires aux ceux trouvés par Traoré *et al.* en 2015 [23] dans des extraits aglycone des écorces des racines de *Cassia sieberiana*. On remarque que les extraits des échantillons du spécimen du Niger sont plus actifs que ceux des échantillons du Bénin. Cela pourrait s'expliquer par la forte concentration en métabolites secondaires doués de l'activité antibactérienne dans les échantillons du Niger et une faible quantité dans les échantillons du Bénin.

**4. Conclusion**

Le présent travail a permis de réaliser l'étude comparée de la phytochimie, et des activités biologiques des écorces de la tige de *Cassia sieberiana* acclimaté au Bénin et au Niger. Le screening phytochimique révéla la présence de diverses familles chimiques : les tanins, les flavonoïdes, les leuco-anthocyanes les saponosides, les anthraquinones, et les quinones dans les échantillons étudiés. Les alcaloïdes et les mucilages sont présents dans les écorces du Bénin alors l'échantillon du Niger est caractérisé par la présence d'anthocyanes, de composés réducteurs et de coumarines.

La quantification des composés phénoliques des différents extraits, a été effectuée par les méthodes spectrophotométriques. Les teneurs en phénols totaux sont de 42,51 et 73,43 mg EqAG/g d'extrait respectivement pour les échantillons du Bénin et du Niger.

Le dosage des flavonoïdes est effectué en utilisant le test de trichlorure d'aluminium, les teneurs des flavonoïdes sont de 114,47 et 482,97 mg EqQ/g d'extrait.

Le potentiel antioxydant évalué pour les deux extraits a montré que la capacité antioxydante la plus importante est observée dans les extraits de *Cassia sieberiana* du Niger Cette capacité à piéger le radical libre est en corrélation avec la forte teneur en flavonoïdes.

Le pouvoir antibactérien a été observé beaucoup plus dans les extraits de la tige du Niger sur les quatre souches bactériennes testées.

Les écorces de *C. sieberiana* surtout les échantillons du Niger pourraient être une excellente source de molécules bioactives dans le traitement des affections d'origine bactérienne.

## 5. Références bibliographiques

- [1] Aide mémoire OMS n° 939. 2003. « Médecine Traditionnelle ». *Cahiers d'études et de recherches francophones / Santé* 13(2):105-106.
- [2] Parvez Masud. 2016. « Pharmacological Activities of Mango (*Mangifera Indica*): A Review GM Masud Parvez ». 5(3):01-07.
- [3] Kumar Suresh, Surender Paul, Yogesh Walia, Aditya Kumar, et Parul Singhal. 2015. « Therapeutic Potential of Medicinal Plants: A Review ». *Journal of Biological and Chemical Chronicles* 1(1):46-54.
- [4] Jinous Asgarpanah, Fereshteh Ramezanloo, et Young Researchers. 2015. « An Overview on Phytopharmacology of *Pelargonium graveolens* L. ». 14(4):558-563.
- [5] Stevens Peter Francis. 2016. « Angiosperm Phylogeny Website. Version 13. ». *Angiosperm Phylogeny Website. Version 13*.
- [6] Carrière Marc. 2000. « Flore de guinée: appellations vernaculaires et usages traditionnels de quelques plantes ». Consulté 17 septembre 2019. (<http://www.ethnopharmacologia.org/prelude2018/pdf/biblio-hc-32-carriere.pdf>).
- [7] Arbonnier Michel. 2004. « Trees, Shrubs and Lianas of West African Dry Zones. Arbonnier (EAN13 : 9782759206742), Librairie Quae : des livres au coeur des sciences ». *Librairie Quae*. Consulté 16 septembre 2019 ([https://www.quae.com/produit/272/9782759206742/trees-shrubs-and-lianas-of-west-african-dry-zones#tab\\_item\\_2](https://www.quae.com/produit/272/9782759206742/trees-shrubs-and-lianas-of-west-african-dry-zones#tab_item_2)).
- [8] Toma I., Karumi Y., et Geidam M. A. 2009. « Phytochemical Screening and Toxicity Studies of the Aqueous Extract of the Pods Pulp of *Cassia sieberiana* DC. (*Cassia kotchiyana* Oliv.) ». *African Journal of Pure and Applied Chemistry* 3(2): 026-030.
- [9] Danton Ombeline. 2017. « Extraction de substances naturelles antalgiques à partir de plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnelle au Mali ». Université Clermont Auvergne: 257p.
- [10] Agbangnan Pascal DC, Christine Tachon, Hélène Bonin, Anna Chrostowka, Eric Fouquet, et Dominique CK Sohounhloué. 2012. « Phytochemical study of a tinctorial plant of Benin traditional pharmacopoeia: The red *Sorghum* (*Sorghum caudatum*) of Benin ». *Scientific Study & Research. Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry* 13(2): 121-135.
- [11] Ahouansou Coffi Ayidé. 2018. « Activites larvicides d'*Elaeis oleifera* (Arecaceae) et de *Launaea taraxacifolia* (Asteraceae) dans le contrôle de vecteurs du paludisme ». Thèse de Doctorat Unique, Université d'Abomey Calavi, Cotonou.
- [12] Sangaré Drissa et Drissa Diallo. 2003. « Etude de la prise en charge du paludisme par les thérapeutes traditionnels dans les aires de santé de Kendie (Bandiagara) et de Finkolo (Sikasso) ». Université de Bamako, MALI: 115p.
- [13] Thiaw Cheikh. 2008. « Bioactivité des extraits de *Calotropis procera* ait. et de *Senna occidentalis* L. sur *Caryedon serratus* (ol.), ravageur des stocks et semences d'arachide au Sénégal ». 196p.
- [14] Agbangnan C. P. D., Noudogbessi J. P., Chrostowska A., Tachon C., Fouquet E., et Sohounhloué D. C. K. 2013. « Phenolic compound of Benin's red sorghum and their antioxidant properties ». *Asian J Pharm Clin Res* 6(2):277-280.
- [15] Wong Chi-Chun, Hua-Bin Li, Ka-Wing Cheng, et Feng Chen. 2006. « A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay ». *Food Chemistry* 97(4):705-711.
- [16] Enujiugh Victor. 2010. « The antioxidant and free radical - Scavenging capacity of phenolics from African locust bean seeds (*Parkia biglobosa*) ». *Adv Food Sci* 32(2):88-93.
- [17] Lagnika Latifou, Abdou Madjid Amoussa, Yann Adjovi, et Ambaliou Sanni. 2012. « Antifungal, antibacterial and antioxidant properties of *Adansonia digitata* and *Vitex doniana* from Bénin pharmacopoeia ». *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* 4:44-52.
- [18] Clinical and Laboratory Standards Institute, éd. 2015. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*. Vol. 35. 10. ed. Wayne, PA: Committee for Clinical Laboratory Standards.
- [19] Evenamede Kodjo Selom, Kafui Kpegba, Oudjaniyobi Simalou, Pakoupati Boyode, Amegnona Agbonon, et Messanvi Gbeassor. 2017. « Etude comparative des activités antioxydantes d'extraits éthanoliques de feuilles, d'écorces et de racines de *Cassia sieberiana* ». *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 11(6):2924-2935.

- [20] Awomukwu Daniel Azubuiké, Bio Louis Nyananyo, Ahamefule Ifeanyichukwu Ikpeama, et Charles Ugochukwu Adieze. 2015. « Comparative Chemical Constituents of Some Cassia Species and Their Pharmacognostic Importance in South Eastern Nigeria ». *Science Journal of Chemistry* 3(3):40-49.
- [21] Jibril Saidu, Hasnah Sirat, et Norazah Basar. 2017. « Bioassay-Guided Isolation of Antioxidants and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors from the Root of *Cassia sieberiana* D.C. (Fabaceae) ». *Records of Natural Products* 11(4):406-4010.
- [22] Halilu Emmanuel, Jamilu Sani, Shehu Abdullahi, Millicent Umaru, et Abiodun Dauda. 2017. « Phytochemical screening, free radical scavenging and antibacterial activity of *Cassia sieberiana* root bark extracts ». *Journal of Pharmacy & Bioresources* 14(1):75-82.
- [23] Traore Lancine, Yves-Alain Bekro, Jean-Luc Pirat, et Mamyrbekova-Bekro Janat Akhanovna. 2015. « Study of crude extracts from *Cassia sieberiana* root bark and *Khaya grandifoliola* trunk bark: phytochemical screening, quantitative analysis and radical scavenging activity ». *Int J Curr Pharm Res, Vol 7, Issue 3, 22-26* 7(3):22-26.
- [24] Kpegba Kafui, Amegnona Agbonon, Ana G. Petrovic, Etchri Amouzou, Messanvi Gbeassor, Gloria Proni, et Nasri Nesnas. 2011. « Epiatzelechin from the Root Bark of *Cassia sieberiana*: Detection by DART Mass Spectrometry, Spectroscopic Characterization, and Antioxidant Properties ». *Journal of Natural Products* 74(3):455-459.
- [25] Sombie Ernest Nogma, André Tibiri, Jotham Yhi-Péné N'do, Tata Kadiatou Traore, Noufou Ouedraogo, Adama Hilou, Pierre Innocent Guissou, et Odile Germaine Nacoulma. 2018. « Ethnobotanical study and antioxidant activity of anti-hepatitis plants extracts of the COMOIE province, Burkina Faso ». *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 12(3):1308-1319.
- [26] Kpegba Kafui, Kodjo Eloho, Kodjo Selom Evenamede, Yaovi-Gameli Afanyibo, et Abdelhakim Elomri. 2019. « A Comparative Study of the Chemical Composition of the Extracts from Leaves, Stem Bark, and Root Bark of *Cassia sieberiana*: Antibacterial Activities ». *Oriental Journal of Chemistry* 35(6):1678-1689.

## Effet du degré de maturation et de la torréfaction des arilles de *blighia sapida* sur la constitution phytochimique et l'activité antioxydante de LEUR HUILE.

Ezi Novignon<sup>1</sup>, Melila Mamatchi<sup>2</sup>, Novidzro Kosi Mawuéna<sup>3</sup>, Kanabyia Essodjolon, Kolor Kwami Aldo Eric<sup>a</sup>, Kpouzoun Amavi<sup>b</sup>, Abli Gnindou Issanga<sup>a</sup>, Koumaglo Kossi Honoré<sup>a</sup>

*a* : Laboratoire de Génies de Procédés et des Ressources Naturelles.

*b* : Laboratoire de Chimie Organique et des Substances Naturelles.

### Resume

Les arilles de *Blighia Sapida* suscitent un grand intérêt alimentaire dans plusieurs régions du monde. Plusieurs études ont montré des potentiels nutritionnels de l'huile des arilles matures. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'influence du degré de maturité des arilles sur la qualité de leur huile. Les arilles immatures et matures de *B. sapida* ont été récoltées à Lomé. Une partie de chaque type d'arilles a été torréfiée et leurs huiles ont été extraites par la méthode au Soxhlet. La composition en acides gras des huiles a été déterminée par GC-MS, les teneurs en polyphénols et caroténoïdes ont été déterminées par dosage au spectrophotométrie UV-visible et les paramètres physico-chimiques ont été déterminés selon les normes AFNOR. L'activité antioxydante de l'huile a été évaluée à travers les tests de réduction du complexe  $K_3[Fe(CN)_6]$  et les ions molybdate  $Mo^{6+}$ . Les résultats ont montré que les huiles des arilles de *Blighia sapida* contiennent des substances phytochimiques antioxydantes telles que les caroténoïdes et les polyphénols et majoritairement de l'acide oléique et présente une activité antiradicalaire non négligeable. Tous ces résultats montrent que l'huile des arilles matures présente une qualité nutritive plus intéressante que celle des arilles immatures.

**Mots clés** : *Blighia sapida*, huile des arilles matures et immatures, caractérisation physicochimique, pouvoir antioxydant.

### Abstrat

The arils of *Blighia Sapida* are of great dietary interest in many parts of the world. Several studies have shown nutritional potentials of the oil from ripe arils. The objective of this study is to evaluate the influence of the degree of maturity of the arils on the quality of their oil. Ripe and unripe arils of *B. sapida* were collected in Lomé. A portion of each type of arils was roasted and their oils were extracted by the Soxhlet method. The fatty acid composition of the oils was determined by GC-MS, the polyphenol and carotenoid contents were determined by UV-visible spectrophotometry and the physicochemical parameters were determined according to AFNOR standards. The antioxidant activity of the oil was evaluated through the reduction tests of the  $K_3[Fe(CN)_6]$  complex and the molybdate ions  $Mo^{6+}$ . The results showed that the oils of *Blighia sapida* arils contain antioxidant phytochemicals such as carotenoids and polyphenols and mainly oleic acid and have a significant antiradical activity. All these results show that the oil of mature arils has a more interesting nutritional quality than that of immature arils.

Key words: *Blighia sapida*, mature and immature arils oil, physics and chemical characterisation, antioxidant power.

### 1. Introduction

Les huiles végétales sont devenues indispensables pour l'alimentation humaine. Elles apportent à l'organisme des acides gras insaturés et d'autres nutriments, contribuant ainsi, à la lutte contre la carence énergétique et en micro-nutriments chez l'homme [1]. Selon Leray (2013) [2], l'organisme a besoin des lipides et en particulier des huiles végétales pour son bon fonctionnement. En effet, les huiles végétales sont plus riches en acides gras polyinsaturés qualifiés d'acides gras « essentiels » alors que l'organisme des mammifères est incapable de les synthétiser. C'est l'exemple de l'acide linoléique [3] et de l'acide alpha-linolénique [4] que l'on peut trouver dans certaines huiles comme l'huile de soja, l'huile d'olive et celle de colza [5]. Elles constituent également une source de vitamines liposolubles (A, D, E et K) connues pour leurs propriétés antioxydantes. On retrouve aussi dans les huiles végétales d'autres constituants d'intérêt nutritionnel comme des phytostérols ou des composés phénoliques [2]. Pour cela, l'absence de matière grasse végétale dans l'alimentation peut entraîner une situation de déséquilibre nutritionnel pour l'organisme humain [6]. Les arilles de *Blighia sapida* ont une forte teneur en lipides brutes soit environ 46% de la matière sèche [7] et 40% d'arilles frais [8]. Des études ont révélé le potentiel nutritionnel de l'huile des arilles de *Blighia sapida* [9], [10] et son effet positif sur le système cardiovasculaire [7]. L'objectif de cette étude a été d'évaluer la composition phytochimique et l'activité antioxydante de l'huile des arilles de *B. sapida* en fonction du degré de leur maturité.

### 2. Matériel et méthodes

#### 2.1. Récolte et préparation des échantillons d'arilles

Les fruits matures et immatures de *B. sapida* ont été récoltés pendant leur saisons d'abondances (mai à août 2019) à Lomé (Sud-Togo) et à Kara (Nord-Togo). Les arilles ont été séparés de leurs graines, lavés avec de l'eau

distillée, séchés à température ambiante (28-30°C) pendant 15 jours. Après séchage, une partie de chacun des deux types d'arilles a été torréfiée. Quatre échantillons ont été ainsi constitué puis broyés. Les broyats obtenus ont été conservés dans des sacs en polyéthylène au congélateur à -20°C jusqu'à leur utilisation pour des analyses.

## 2.2. Extraction des huiles

L'huile végétale brute (HVB) de chacun des quatre échantillons d'arilles préalablement préparés a été extraite à l'aide d'un extracteur de Soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant.

## 2.3. Analyses phytochimiques quantitatives de l'huile

### 2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Les composés phénoliques totaux ont été dosés selon la méthode préconisée par Favati et al. (1994) [11] basée sur l'utilisation du Réactif de Folin-Ciocalteu (RFC) et de l'acide gallique comme standard.

### 2.3.2. Dosage des pigments

Les pigments sont des chromophores. Ce sont des molécules qui comportent plusieurs doubles liaisons, parfois conjuguées. Ils absorbent dans le domaine du visible. Le dosage des chlorophylles a & b et caroténoïdes totaux contenus dans les échantillons des huiles a été alors effectué à l'aide d'un spectrophotomètre UV- visible en suivant la méthode décrite par Petry et Mercadante (2017) [12]

#### Mode opératoire

Une prise d'essai de 50 mg d'huile a été dissoute dans 10 mL d'éther diéthylique. Le mélange a été ensuite centrifugé puis filtré. La lecture des absorbances a été effectuée au spectrophotomètre UV-Visible de marque METASH (UV-5200 PC) muni du logiciel d'acquisition des données de type MetaSpec Pro. La lecture a été faite à trois longueurs d'onde (480 nm, 468 nm et 666 nm). Les teneurs en chlorophylles a & b et en caroténoïdes ont été déduites par calcul [13].

## 2.4. Composition en acides gras des huiles

### 2.4.1. Transméthylation des huiles pour l'analyse par GC-MS

Dans un tube à hémolyse comportant un bouchon à vis, 20 mg d'huile d'arilles de *Blighia Sapida* ont été dissouts dans une solution méthanolique d'acide sulfurique à 2,5%. Le mélange a été homogénéisé puis chauffé à l'étuve à 80°C pendant 90 min. Après refroidissement, il a été ajouté à ce mélange 1,5 mL d'une solution de chlorure de sodium (NaCl : 0,9%), puis le mélange a été vigoureusement agité. La solution finale contenant les esters méthyliques d'acides gras a été extraite avec 1,5 mL d'hexane.

### 2.4.2. Analyse par GC-MS des esters méthyliques d'acides gras préparés

Les esters de méthyle et d'acides gras ont été analysés au 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 et de 0.25 mm de diamètre intérieur, l'épaisseur du film est de 0.25 µm), muni d'un injecteur automatique de type Autosampler AIS/AS 1310 et couplé à un spectrographe de masse (SM) de type ISQ MS Tune, avec un détecteur à impact électronique et muni du logiciel d'acquisition des données de type XCalibur. La température a été fixée à 250°C. Les spectres ont été enregistrés à 70 eV.

Les analyses ont été faites dans les conditions suivantes : la température de l'injecteur : 250°C ; la température du four a été initialement maintenue à 120°C pendant 10 min ; ensuite, elle a été portée de 120 à 210°C à raison de 3°C/min et maintenue constante pendant 10 min, puis portée encore à 300°C à raison de 5°C/min et maintenue en isotherme pendant 2 min. Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 1 mL/min. L'identification des différents constituants des huiles a été faite par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux des composés intégrés dans les bases de données du logiciel XCalibur.

## 2.5. Détermination des paramètres de qualités de l'huile

Les techniques décrites par la norme AFNOR (1988) [14] et celles de l'IUPAC ont été utilisées pour déterminer les paramètres de caractérisation physico-chimique des huiles de *B. sapida*. Pour chaque échantillon, trois essais ont été effectués et les moyennes ont été calculées.

## 2.6. Evaluation in vitro du pouvoir antioxydant des huiles

### 2.6.1. Test au phosphomolybdate

Ce test est basé sur la réduction de l'ion molybdate  $\text{Mo}^{6+}$  en ion molybdène  $\text{Mo}^{5+}$  par les composés antioxydants contenus dans l'huile pour donner un complexe vert de phosphomolybdate ( $\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}^{3-}$ ) qui présente un maximum d'absorption à la longueur d'onde de 695 nm. Le réactif au phosphomolybdate a été préparé à partir

d'un mélange de 90 mL d'acide sulfurique ( $H_2SO_4$  : 0,6 M), de 5 mL de l'hydrogénophosphate de sodium ( $Na_2HPO_4$  : 0,1 %) et de 5 mL de molybdate d'ammonium (1%). Pour réaliser le test, 1 mL de solution méthanolique d'huile (30 mg/mL) a été additionné à 9 mL de réactif au phosphomolybdate. Le mélange a été porté au bain-marie à 95°C pendant 90 minutes, puis laissé refroidir à la température ambiante. Les absorbances ont été mesurées à la longueur d'onde  $\lambda = 695$  nm à l'aide du spectrophotomètre UV-Visible de marque METASH (UV-5200 PC) muni du logiciel d'acquisition de données de type MetaSpec Pro. L'acide ascorbique a été utilisé comme standard.

### 2.6.2. Test FRAP de réduction du complexe $[Fe(CN)_6]^{3-}$

Cette technique a été développée pour mesurer la capacité d'une substance à réduire les ions ferrique ( $Fe^{3+}$ ) présent dans le complexe  $K_3[Fe(CN)_6]$  en ions ferreux ( $Fe^{2+}$ ). L'évolution de la réaction peut être suivie par virement de la couleur jaune du fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) à la couleur bleu-verte du fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ) [15]. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur de la substance testée.

La capacité des huiles d'arilles de *Blighia sapida* à réduire les ions ferriques a été évaluée *in vitro* en utilisant la méthode décrite par Karagözler (2008) [16]. Cinq cents microlitres (500  $\mu$ L) d'extrait méthanolique d'huile à différentes concentrations ont été ajoutés à un mélange de 1,25 mL d'une solution tampon phosphate à 0,2M (pH = 6,6) et 1,25 mL d'une solution d'hexacyanoferrate de potassium  $K_3[Fe(CN)_6]$  à 1%. Le mélange a été chauffé au bain-marie à 50°C pendant 20 min. Un volume de 1.25 mL de d'acide trichloracétique (TCA) à 10% a été ajouté et les tubes ont été centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min. Ensuite, 1.25 mL du surnageant a été prélevé auxquels ont été ajoutés successivement 1,25 mL d'eau distillée et 250  $\mu$ L d'une solution de  $FeCl_3$  à 0,1%. La lecture des absorbances a été faite à 700 nm contre un témoin préparé en remplaçant l'extrait d'huile par le méthanol. L'acide gallique a été utilisé dans les mêmes conditions expérimentales pour établir la courbe d'étalonnage.

## 2.7. Analyses statistiques

Les données recueillies dans cette étude ont été saisies grâce au tableur Excel 2016 et traitées à l'aide du logiciel GraphPad Prism, version 8.4.3. Les différences ont été considérées comme significatives au seuil de précision de 5% ( $p < 0,05$ ). Les résultats ont été présentés sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard de la moyenne (ESM). Le logiciel « origine 8 » a été utilisé pour tracer les courbes et histogrammes.

## 3. Résultats

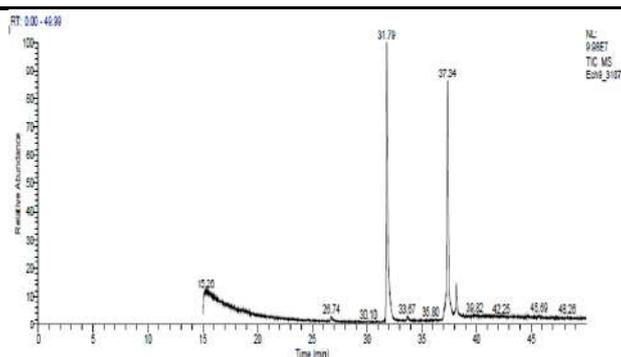
Les teneurs polyphénols, en chlorophylles a & b et en caroténoïdes totaux les huiles des arilles de *B. Sapida* ont été présentés dans le tableau I. L'huile issue des arilles matures non torréfiés a présenté la plus forte teneur en ces phytoconstituants. L'analyse des pictogrammes des figures 1&2 montre que les huiles des arilles immatures et matures contiennent en majorité des acide gras insaturés avec, respectivement 57,00% et 57,96% de l'ensemble des acides gras (Tableau II). Les indices de qualité physico-chimique des huiles brutes des arilles de *Blighia sapida* ont été présentés dans le tableau III. Les analyses physico-chimiques réalisées avec les huiles des arilles de *B. sapida* ont permis de déterminer l'impact de la maturité des arilles ainsi que l'influence de la torréfaction des arilles sur la qualité de leurs huiles en comparaison avec les valeurs de la norme AFNOR 1984 [17] pour les huiles et les graisses (Tableau III).

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  ESM ( $n = 3$ ). Sur la même ligne, les valeurs qui portent les lettres différentes sont significativement différentes et celles qui portent les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes. HAI = Huile des Arilles Immatures non torréfiés ; HAIT = Huile des Arilles Immatures Torréfiés ; HAM = Huile des Arilles Matures non torréfiés ; HAMT = Huile des Arilles Matures Torréfiés.

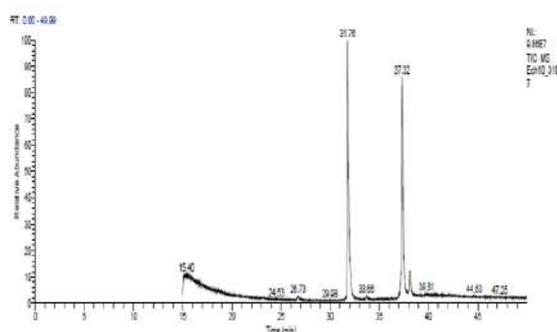
**Tableau I:** Teneurs en polyphénols et pigments de l'huile des arilles de *B. sapida*

Phytoéléments	Teneurs ( $\mu$ g/kg)			
	HAI	HAIT	HAM	HAMT
Polyphénols	12,816 $\pm$ 0,341 <sup>a</sup>	6,405 $\pm$ 0,497 <sup>ab</sup>	31,933 $\pm$ 0,344 <sup>b</sup>	19,446 $\pm$ 2,489 <sup>c</sup>
Chlorophylle a	26,570 $\pm$ 2,350 <sup>a</sup>	15,860 $\pm$ 1,241 <sup>b</sup>	257,270 $\pm$ 0,440 <sup>c</sup>	79,420 $\pm$ 2,351 <sup>d</sup>
Chlorophylle b	24,820 $\pm$ 0,340 <sup>a</sup>	10,950 $\pm$ 0,540 <sup>b</sup>	354,550 $\pm$ 0,341 <sup>c</sup>	91,630 $\pm$ 0,941 <sup>d</sup>

Caroténoïdes  $5,680 \pm 0,345^a$   $4,640 \pm 3,348^a$   $32,040 \pm 1,840^b$   $13,04 \pm 3,361^c$



**Figure 1** : Pictogramme d'analyse de l'huile des arilles immatures de *B. sapida* au GC-MS



**Figure 2** : Pictogramme d'analyse de l'huile des arilles matures de *B. sapida* au GC-MS

**Tableau II**: Composition en acide gras de l'huile des arilles de *Blighia Sapida*

Acide gras	HAI	HAM
Acide stéarique (C18 : 0)	5,58 %	4,28 %
Acide Oléique (C18 : 1 ω <sup>9</sup> )	56,65 %	57,96 %
Acide Linoléique (C18 : 2 ω <sup>6</sup> )	0,35 %	-
Acide Palmitique (C16 : 0)	37,23 %	37,51 %
Acide myristique (C14 : 0)	0,04 %	0,06 %
Acide gras insaturés AGI	<b>57,00 %</b>	<b>57,96 %</b>
Acide gras saturés AGS	<b>42,85 %</b>	<b>41,85 %</b>
Rapport AGI/AGS	<b>1,33</b>	<b>1,385</b>

HAI : Huile des Arilles Immatures ; HAM : Huile des Arilles Matures Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  ESM (n = 3).

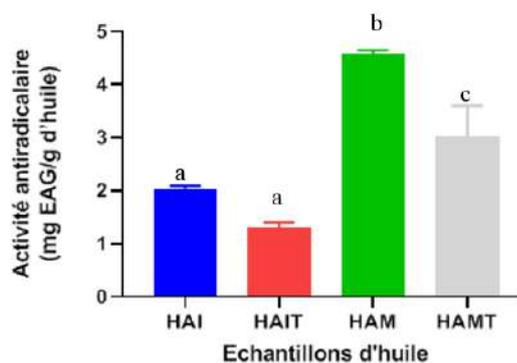
**Tableau III**: Caractéristiques physicochimiques des huiles des arilles de *B. sapida*.

Paramètre de qualité	Huiles des arilles de <i>Blighia sapida</i>				AFNOR (1984)
	HAI	HAIT	HAM	HAMT	
$n_D^{20}$	1,462 <sup>a</sup>	1,458 <sup>a</sup>	1,455 <sup>a</sup>	1,452 <sup>a</sup>	1,463 – 1,478
I.I (g/100 g)	46,31 $\pm$ 0,55 <sup>a</sup>	45,55 $\pm$ 0,84 <sup>a</sup>	44,36 $\pm$ 0,56 <sup>a</sup>	43,05 $\pm$ 0,34 <sup>a</sup>	92 – 102

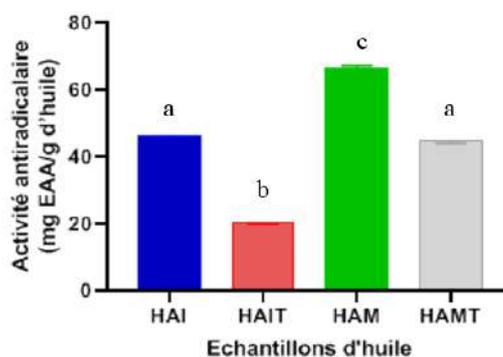
I.A (mg /g)	47,74 ± 0,28 <sup>a</sup>	14,29 ± 0,00 <sup>b</sup>	6,86 ± 0,00 <sup>c</sup>	6,57 ± 0,28 <sup>c</sup>	2,20 – 7,26
I.S (mg /g)	171,66 ± 3,36 <sup>ab</sup>	182,44 ± 2,02 <sup>a</sup>	164,6 ± 5,38 <sup>b</sup>	165,60 ± 2,70 <sup>ab</sup>	189 – 195,20
I.E (mg /g)	123,92 ± 3,08 <sup>a</sup>	168,15 ± 2,02 <sup>b</sup>	157,92 ± 5,38 <sup>b</sup>	159,02 ± 2,41 <sup>b</sup>	186 – 187,94
I.P (mécq d'O <sub>2</sub> /kg)	3,84 ± 1,10 <sup>a</sup>	9,71 ± 0,00 <sup>b</sup>	2,43 ± 0,00 <sup>ac</sup>	3,03 ± 0,20 <sup>acd</sup>	5,20 – 7,00

Sur la même ligne, les valeurs qui portent les lettres différentes sont significativement différentes et celles qui portent les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes. HAI : Huile des arilles immatures, HAIT : huile des arilles matures torréfiés, HAM : huile des arilles matures, HAIT : huile des arilles matures torréfiés, AFNOR : Association Française de Normalisation.  $n_D^{20}$  : indice de réfraction, II : Indice d'Iode (g de I<sub>2</sub>/100 g d'huile), I.A : Indice d'Acide (mg de KOH/g d'huile), I.S : Indice de saponification (mg de KOH/g), I.E : Indice d'Ester (mg de KOH/g d'huile), I.P : Indice de Peroxyde (mécq de O<sub>2</sub>/kg d'huile).

Les huiles végétales brutes des arilles de *B. sapida* ont présenté des activités antioxydantes à des degrés divers (Figure 3 & 4). Avec une activité antiradicalaire sur les ions molybdates, évaluée à  $66,46 \pm 2,85$  mg EAA/g d'huile et une capacité de réduction totale des ions ferriques du complexe hexacyanoferrate (III) de  $4,57 \pm 0,10$  mg EAG/g d'huile, les huiles des arilles matures de *B. sapida* ont montré des activités antiradicalaires plus élevées par rapport aux huiles des arilles immatures



**Figure 3** : Capacité de réduction ions molybdates (mg EAA /g d'huile)



**Figure 4** : Capacité de réduction du complexe  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  ( $\mu\text{mol}$  de  $\text{Fe}^{2+}$ /g d'huile)

Les histogrammes de la même figure qui portent les lettres différentes sont significativement différentes et ceux qui portent les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes.

## 4. Discussion

### 4.1. Les phytoconstituants

La teneur en polyphénols totaux a été de  $31,933 \pm 0,344$   $\mu\text{g}$  d'EAG/kg et celle des caroténoïdes totaux a été de  $32,04$   $\mu\text{g}$  d'EAG/kg pour l'huile des arilles matures (Tableau I). Cette teneur en polyphénols de l'huile des arilles matures de *B. sapida* est faible par rapport à celle qui a été rapportée par [18] qui ont trouvé une teneur de  $317,20 \pm 0,89$   $\mu\text{g}$  d'EAG/kg. Par ailleurs, dans l'ensemble, les huiles des arilles de *B. sapida* considérés renferment moins de composés phénoliques que certaines huiles comme l'huile d'olive qui contient  $167,29 \pm 2,71$  mg EAG/kg [19]. Les résultats du tableau I montrent également que les concentrations en composés phénoliques des huiles examinées diffèrent significativement ( $p < 5\%$ ) en fonction du degré de maturité des arilles utilisés pour l'extraction. Les huiles des arilles immatures contiennent moins de composés phénoliques par rapport aux huiles des arilles matures. Ceci peut s'expliquer par le fait que la synthèse de ces phytoconstituants dans les arilles au cours de leur maturation se fait de façon progressive. En effet, selon [20], les organes prématurés de certaines plantes peuvent renfermer moins de polyphénols. Par ailleurs, la torréfaction des arilles a provoqué

une diminution non significative ( $p > 5\%$ ) de leur concentration en polyphénols. Le même constat a été fait pour la concentration en chlorophylles a & b et en caroténoïdes totaux. **Les polyphénols et caroténoïdes sont des composés antioxydants** [21]. **L'apport des substances antioxydantes est nécessaire pour combattre le stress oxydatif.** Selon Baur et al. (2006), certains polyphénols pourraient prévenir ou ralentir la progression de certaines maladies comme le cancer ou encore le vieillissement de l'organisme de vertébrés, car ils possèdent des activités telles que la chimio-prévention, la cardioprotection [22]. Ils peuvent agir également comme des anti-inflammatoires et des neuroprotecteurs [23]. **L'usage nutritionnel de l'huile des arilles de *B. sapida* pourrait donc être bénéfique pour l'organisme.**

#### 4.2. Composition en acide gras

Les huiles des deux types d'arille de *Blighia sapida* analysées ont été particulièrement riches en acide oléique et acide palmitique (Tableau II). Ces résultats confirment la composition en acides gras rapportée par [18]. Les huiles des arilles immatures se différencient de celles des arilles matures en termes de composition en acides gras par sa teneur en acide linoléique (C18 : 2 $\omega^6$ ) à 0,35%. La présence d'acide linoléique dans l'huile des arilles immatures, lui confère de potentielles propriétés nutritionnelles intéressantes. En effet, l'acide linoléique est qualifié d'acide gras essentiel, car l'organisme est incapable de le synthétiser. Il doit alors être apporté par l'alimentation. Ses propriétés anticancérigènes et anti-athéroscléroses ont été prouvées [24]. Les  $\omega^6$  sont aussi considérés comme de bons acides gras, car ils ont un impact positif sur les taux de lipides sanguins.

L'acide oléique, l'acide prépondérant dans les huiles des arilles de *B. sapida*, est reconnu pour son rôle de protection du système cardiovasculaire et pour son activité antibactérienne [25], [26]. En effet, il réduit le taux du mauvais cholestérol, augmente le taux de bon cholestérol dans l'organisme et abaisse ainsi la tension artérielle [25]. Même si l'organisme peut fabriquer les oméga-9 à partir des gras saturés, il les puise aussi directement dans plusieurs aliments dont les huiles alimentaires, notamment l'huile d'olive ou l'huile de soja.

#### 4.3. Caractéristiques physicochimiques des huiles

Les indices de réfraction des échantillons d'huiles des arilles ont été compris entre 1,452 et 1,462. Ces valeurs sont proches de 1,463 – 1,478 fixées par la norme AFNOR (1984) d'une part et d'autre part elles sont similaires à 1,462 rapportés par Akintayo et al. (2002) au Nigéria pour les arilles matures. Le prétraitement thermique effectué sur les arilles et l'étape de maturité de ces arilles n'ont pas eu d'effets significatifs ( $p > 0,05$ ) sur la pureté de leurs huiles.

Les indices d'iode des huiles des arilles matures ont été de  $44,36 \pm 0,56$  de I<sub>2</sub>/100 g d'huile pour l'huile des arilles matures et de  $46,31 \pm 0,55$  de I<sub>2</sub>/100 g d'huile pour l'huile des arilles immatures torréfiées (Tableau III) avec ( $p > 0,05$ ). Ces valeurs sont très inférieures à la norme (92 – 102 de I<sub>2</sub>/100 g d'huile) fixée par AFNOR (1984) et aux résultats rapportés par Ouattara et Amonkan (2014) ( $56,26 \pm 2,55$  de I<sub>2</sub>/100 g d'huile) en Côte d'Ivoire [7] et Akintayo et al. (2002) ( $65,4$  de I<sub>2</sub>/100 g d'huile) au Nigéria [27] pour l'huile des arilles matures. L'huile des arilles immatures a présenté un indice d'iode légèrement supérieur à celle des arilles matures (Tableau III). Cette différence, non significative ( $p > 5\%$ ), est due à la présence un peu plus élevée d'acides gras insaturés dans l'huile des arilles immatures (Tableau II).

Les valeurs des indices de peroxyde des huiles des arilles de *Blighia sapida* (Tableau III) ont été relativement proches de la valeur fixée par la norme AFNOR (1984) (5,2 – 7,0 méq d'O<sub>2</sub>/kg) [17]. Ces résultats peuvent s'expliquer par la présence des espèces antioxydantes telles que les caroténoïdes, les tocophérols et les polyphénols dans la matière grasse de *Blighia Sapida*. Quant aux effets du degré de la maturité et la torréfaction des arilles, les analyses statistiques ont montré une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les quatre échantillons d'huile. En effet, l'huile des arilles matures a été moins oxydable par rapport à celle des arilles immatures.

Les indices de saponification observés pour les huiles des arilles matures de *Blighia sapida* de cette étude (Tableau III) ont été proches de celui rapporté par Akintayo et al. (2001) (177 mg de KOH/g)[27] mais sont inférieurs à celui rapporté par Ouattara et Amonkan (2014) (188,40 mg de KOH/g) [7]. Les huiles des arilles immatures ont présenté des indices de saponification supérieurs à celles des arilles matures. Cependant, cette différence n'a pas été significative ( $p > 5\%$ ) et donc, la maturation des arilles n'a pas influencé significativement les indices de saponification des huiles. Par contre, des arilles peut influencer significativement ( $p < 5\%$ ) l'indice de saponification des huiles. En effet, les huiles issues des arilles torréfiées ont été de faible poids moléculaire par rapport à celles des arilles non torréfiées entraînant l'augmentation de leur indice de saponification.

Les huiles des arilles immatures de *B. sapida* ont été plus acides par rapport aux huiles des arilles matures (Tableau III). En effet, la maturation des arilles a diminué de façon significative ( $p < 5\%$ ) l'acidité de leur huile. Des études ont montré que l'huile des arilles récoltés trois jours avant la déhiscence des fruits est plus acide que l'huile des arilles qui ont atteint leur maturité sur l'arbre [10]. La forte acidité des huiles des arilles immatures de

*B. Sapida* pourrait être due à la composition chimique des arilles immatures qui contiennent, à la différence des arilles matures, de l'hypoglycine A [28] ; [29].

#### 4.4. Activité antioxydante

Les huiles des arilles immatures et celles des arilles torréfiés ont montré moins d'activité antiradicalaire par rapport aux huiles des arilles matures et non torréfiés. Cette différence significative ( $p < 5\%$ ) indique que les huiles des arilles immatures sont moins riches en composés antiradicalaires concomitamment à leur composition en polyphénols et caroténoïdes (Tableau I). L'activité antiradicalaire des huiles brutes des arilles de *B. sapida* peut s'expliquer par la présence, dans cette huile, de substances polyphénoliques et de caroténoïdes avec une synergie d'action entre eux. Des études antérieures ont montré que les groupements hydroxyles dans les composés phénoliques contenus dans les huiles sont responsables de leur pouvoir antioxydant [30]. De même, d'autres constituants mineurs des huiles, notamment les vitamines E (les tocophérols et tocotriénols), la vitamines D et les provitamines A peuvent également être à l'origine de l'activité antiradicalaire.

### 5. Conclusion

L'étude des matières grasses brutes des arilles matures et immatures de *B. sapida* ont révélé qu'elles sont de bonne qualité nutritive avec plusieurs substances phytochimiques antioxydantes telles que les caroténoïdes et les polyphénols totaux. Les matières grasses de ces arilles contiennent également des acides gras d'intérêt nutritionnel tels que les acides oléique et linoléique. Elles renferment par ailleurs, plus d'acides gras insaturés que saturés. De plus, les indices de qualité ont montré qu'il s'agit des huiles peu altérables. Cependant, les résultats obtenus indiquent que les huiles des arilles matures sont meilleures par rapport aux huiles issues des arilles immatures en tenant compte des indices de qualité. Cette étude a montré aussi que, la torréfaction des arilles altère la qualité physicochimique et nutritionnelle de leur huile.

### Références bibliographiques

- [1] Combe N. et Boue C., « Apports alimentaires en acides linoléique et alpha-linolénique d'une population d'Aquitaine », *Ol. Corps Gras Lipides*, (2001) vol. 8, n° 2, p. 118-121.
- [2] Leray C., *Les lipides nutrition et santé*, (2013) Paris: Tec & doc-Lavoisier.
- [3] Colette C. et Monnier L., « Acides gras : classification, fonction et équilibre entre les différentes familles », *Médecine Mal. Métaboliques*, (2011) vol. 5, n° 3, p. 237-245.
- [4] Layé S., « Les oméga 3, ces acides gras indispensables au cerveau », *Cah. Nutr. Diététique*, (2015) vol. 50, n° 2, p. 61-62.
- [5] Gontier E., « Les plantes, sources d'acides gras essentiels oméga 3 », *Ol. Corps Gras Lipides*, (2004) vol. 11, n° 2, p. 106-111
- [6] Graille J., *Lipides et corps gras alimentaires* (2003) Londres, etc.: Tec et Doc.
- [7] Ouattara H. et Amonkan A. K., « Comparaison de la biotolérance de l'huile extraite de l'arille de *Blighia sapida* (K. Koenig), des huiles de palme et d'olive chez le rat », (2014) p. 10.
- [8] Dossou M. K. R., Codjia J. T. C., et Biaou G., « Utilisations, fonctions et perceptions de l'espèce-ressource *Blighia sapida* (ackee ou faux acajou) dans le Nord-Ouest du Bénin », (2004), p. 13.
- [9] Howélé O., Bobelé N., Théodor D., et Séraphin K.-C., « Nutritional composition studies of sun dried *Blighia sapida* (k. koenig) aril from Côte d'Ivoire », (2010) p. 6.
- [10] Falloon O. C., Baccus-Taylor G. S. H., et Minott D. A., « A Comparative Study of the Nutrient Composition of Tree-Ripened versus Rack-Ripened Akees (*Blighia sapida*) », (2013) p. 7.
- [11] Favati F., Caporale G., et Bertuccioli M., « [No title found] », *Grasas Aceites*, (1994), p. 68-70, vol. 45,
- [12] Petry F. et Mercadante A., « New Method for Carotenoid Extraction and Analysis by HPLC-DAD-MS/MS in Freeze-Dried Citrus and Mango Pulps », *J. Braz. Chem. Soc.*, (2017).
- [13] Wellburn A. R., « The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution », *J. Plant Physiol.*, (1994) 144, p. 307-313,
- [14] Association française de normalisation, *Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés*, (1988) Paris-La Défense: AFNOR.
- [15] Jalal Z., Abdellfatah A., et Lyoussi B., « Phytochemical Screening and Antioxidant Activities No-volatile Extracts from Lemon Balm and Alyosia Citriodora from the Sefrou region », (2019) p. 20.
- [16] Karagözler A. A., Erdağ B., Emek Y. Ç., et Uygun D. A., « Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata* », *Food Chem.*, nov. (2008) 111, p. 400-407.
- [17] Association française de normalisation, *Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés*. (1984) Paris: AFNOR.
- [18] Machel M. E., Gutierrez-Orozco F., Yahia E. M., et Benkeblia N., « Assessment and profiling of the fatty acids in two ackee fruit (*Blighia sapida* Koenig) varieties during different ripening stages: Fatty acids of ackee fruits », *J. Sci. Food Agric.*, (2013) 93, p. 722-726.
- [19] Merouane A., Noui A., Medjahed H., Nedjari K. B.A., et Saadi A., « Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle », *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, (2015) 8, p. 1865.
- [20] Mbama O., Mpika J., et Andzouana M., « Variation des teneurs en composés phénoliques au cours de la maturation des fruits de », (2018) p. 1.
- [21] Lecerf J., Luc G., et Fruchart J., « Vitamine E, antioxydants et athérosclérose », *Rev. Médecine Interne*, (1994) 15, n° 10, p. 641-649.
- [22] Baur J. A., « Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet », *Nature*, (2006). 444, , p. 337-342.

- [23] Rojas D. K., « Impact of condensed tannins from tropical forages on *Haemonchus contortus* burdens in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) and Pelibuey lambs », *Anim. Feed Sci. Technol.*, (2006) 128, p. 218-228.
- [24] Corino C., Pastorelli G., Douard V., Rossi R., Musella M., et Mourot J., « L'acide linoléique conjugué en nutrition porcine », *Prod. Anim.*, (2006) 19, p. 39-46.
- [25] Teres S., « Oleic acid content is responsible for the reduction in blood pressure induced by olive oil », *Proc. Natl. Acad. Sci.*, (2008) 105, p. 13811-13816.
- [26] Choi S. G., Won S.R., et Rhee H. I., « Oleic Acid and Inhibition of Glucosyltransferase », in *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, Elsevier, (2010), p. 1375-1383.
- [27] E. T. Akintayo, E. A. Adebayo, et L. A. Arogundade, « Chemical composition, physicochemical and functional properties of akee (*Bilphia sapida*) pulp and seed flours », *Food Chem.*, (2002) 77, p. 333-336.
- [28] Hassall C. H., Reyle K., et Feng P., « Hypoglycin A & B: Biologically Active Polypeptides from *Bilphia sapida* », *Nature*, (1954) 173, p. 356-357.
- [29] Morton J. F. et Dowling C. F., *Fruits of warm climates*. Miami, FL : Winterville, N.C: J.F. Morton ; Distributed by Creative Resources Systems, (1987).
- [30] Heim K. E., Tagliaferro A. R., et Bobilya D. J., « Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships », *J. Nutr. Biochem.*, (2002) 13 p. 572-584.

## Choix d'un meilleur prétraitement à appliquer à la pomme de cajou pour l'élaboration d'une confiture

Marie Louise Degni

### 1. Contexte Général et Problématique

La Côte d'Ivoire est le premier producteur mondial de noix de cajou avec 761 317 t produits en 2018 (25% production mondiale). La pomme de cajou représentant 9 à 10 fois le poids de la noix, cela correspond à plus de 9 millions de tonnes de pommes de cajou. 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. Il reste à la Côte d'Ivoire de relever le défi du faible niveau de transformation estimé à 6%. Cette matière première présente pourtant un fort potentiel nutritionnel.

La pomme de cajou est très juteuse (85 à 90% d'eau), sucrée (7 à 13% de glucides), légèrement parfumée et acide (Lautié *et al.* 2001). Elle est aussi très riche en vitamine C et en polyphénols (Michodjehoun-Mestres *et al.* 2009). Enfin elle contient des quantités non négligeables de caroténoïdes (Assunção and Mercadante 2003 ; Abreu 2012). Comme pour de nombreux fruits, la principale voie de valorisation envisagée est la transformation en jus alors qu'il existe d'autres tel que la transformation en sirop, des gelées, des fruits confits, du vin, l'alcool, du vinaigre, de la confiture qui sont d'autres voies de valorisation quasi inexplotées. Néanmoins, la transformation de la pomme cajou en jus heurte au problème d'astringence.

L'astringence de la pomme est due à la présence de tannins condensés. Le pédoncule de la pomme est en effet très riche en tannins qui lui confèrent une astringence particulièrement forte. Cette astringence semble provenir essentiellement des membranes cireuses de la peau. Cela explique l'importance du pelage avant la transformation des fruits. L'astringence pourrait être due aussi aux traces de baume contenues dans le mésocarpe de la noix.

Le développement de procédés de transformation respectueux de la qualité nutritionnelle de la matière première représente un enjeu important pour valoriser ce fruit. C'est donc à juste titre que le « Choix d'un meilleur prétraitement à appliquer à la pomme de cajou pour l'élaboration d'une confiture. » est étudié dans le cadre de ce projet

### 2- Objectif

L'objectif de ce travail est de trouver le meilleur prétraitement à appliquer à la pomme de cajou afin de formuler une confiture.

### 3- Matériel et méthode

#### 3-1- Matériel végétal

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 seront soit récoltées sur les arbres soit 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 broyées.



Figure 1 : Différentes variétés de pomme de cajou

#### 3-2- Méthodologie utilisée

Afin de répondre au premier objectif spécifique qui est d'élaborer des formulations de compote et de confiture à base de la pomme de cajou

- **Mise en place d'un plan d'expérience pour le choix du prétraitement à appliquer sur la pomme de cajou**

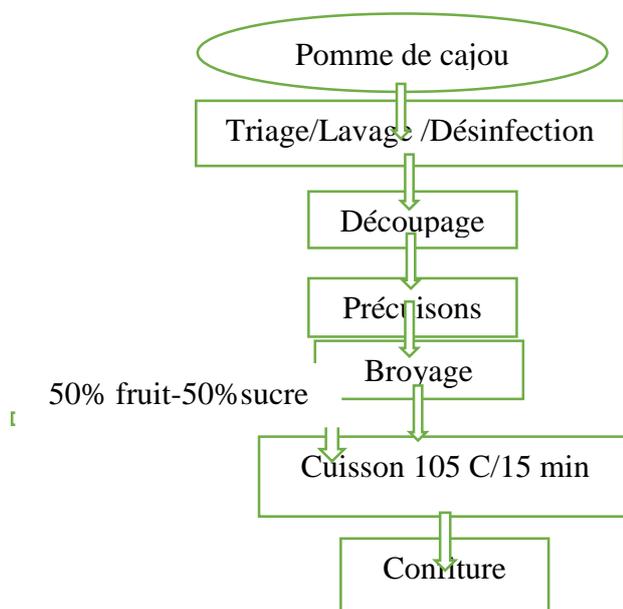
**Domaine expérimental**

Facteurs		Niveaux			
		-2	-1	+1	+2
Avec ou sans peau	X <sub>1</sub>	Sans	--	--	Avec
Concentration de sel (g)	X <sub>2</sub>	0	15	30	45
Durée de séjours (jour)	X <sub>3</sub>	0	1	2	3

**Tableau d'expérimentation**

ESSAIS	X1	X2	X3		X1	X2	X3
1	-2	-2	-2		SANS	0	0
2	-2	-2	-1		SANS	0	1
3	-2	-2	1		SANS	0	2
4	-2	-2	2		SANS	0	3
5	-2	-1	-1		SANS	15	1
6	-2	-1	1		SANS	15	2
7	-2	-1	2		SANS	15	3
8	-2	1	-1		SANS	30	1
9	-2	1	1		SANS	30	2
10	-2	1	2		SANS	30	3
11	-2	2	-1		SANS	45	1
12	-2	2	1		SANS	45	2
13	-2	2	2		SANS	45	3
14	2	-2	-2		AVEC	0	0
15	2	-2	-1		AVEC	0	1
16	2	-2	1		AVEC	0	2
17	2	-2	2		AVEC	0	3
18	2	-1	-1		AVEC	15	1
19	2	-1	1		AVEC	15	2
20	2	-1	2		AVEC	15	3
21	2	1	-1		AVEC	30	1
22	2	1	1		AVEC	30	2
23	2	1	2		AVEC	30	3
24	2	2	-1		AVEC	45	1
25	2	2	1		AVEC	45	2
26	2	2	2		AVEC	45	3

➤ **Diagramme de fabrication de la confiture et de la compote**



➤ **Evaluation sensorielle de la confiture et de la compote obtenue**

Une évaluation sensorielle a été organisée pour caractériser 26 échantillons de confiture pendant 2 semaines. Un lot de 4 à 5 échantillons préalablement codifié de confiture a été servi par séance. Un jury de 15 personnes entrainées issus du personnel du laboratoire et préalablement formé ont généré 8 descripteurs (Texture (gélification), couleur orangée, couleur jaune, saveur sucrée, saveur salé, saveur astringent, odeur de la pommes de cajou,) et ont dégustés ces produits en remplissant les fiches des tests descriptif et de classement.

Les cinq confitures issus du test descriptif ont été de nouveau à test de classement au panel expert et également soumis à l'évaluation sensorielle par 60 personnes naïves pour un test hedonique .

#### 4- Résultats

- **Analyse des résultats du test descriptive sur les échantillons de confiture**

Le test de Kruskal-Wallis est utilisé pour la comparaison des notes sur les échantillons de confiture obtenues au niveau de chaque descripteur. L'analyse des p-value relatives aux descripteurs montre que, hormis le descripteur « odeurs » ( $p\text{-value}=0,80 > 0,05$ ), les échantillons de confitures présentent des différences significatives au niveau de l'astringence et du goût sucrée, et des 'différences très hautement ( $p\text{-value}<0,001$ ) significatives concernant l'aspect gélifiant, les couleurs, la salinité, la sensation en bouche et l'appréciation globale. **C'est différences observées pourraient en partie être dues à la planification expérimentale mise en place pour la préparation des confitures.**

**Tableau : test de Friedman ANOVA**

VARIABLE	Rang moy	sum des rang	moy	Ecarttype
TEXTURE-GELIFIANTE	4,269231	111,0000	5,341746	0,766708
COULEUR JAUNE	3,076923	80,0000	4,579172	1,193639
COULEUR ORANGEE	2,634615	68,5000	4,141433	1,486768
ODEUR DE P C	2,923077	76,0000	4,992171	0,439686
SALINITE	8,211538	213,5000	6,925378	1,009048
SAVEUR SUCREE	7,980769	207,5000	6,698413	0,520054
SAVEUR ASTRINGENCE	6,750000	175,5000	6,251100	0,717532
SENSATION EN BOUCHE	4,307692	112,0000	5,368655	0,758529
APP. GENERALE	4,846154	126,0000	5,537258	0,393977

Paramètres de test de Friedman : les médianes des descripteurs observés sur les échantillons de confitures. Les statistiques du test de Friedman ANOVA sont donnés par la  $p = 0,00000 < 0,001$  ; par le Coefficient de Concordance = 0,61687 et rang moyen  $r = ,60154$

La p value étant inférieure à 0,001 entraine qu'il existe une différence très hautement significative entre les descripteurs dans l'évaluation sensorielle des échantillons de confitures.

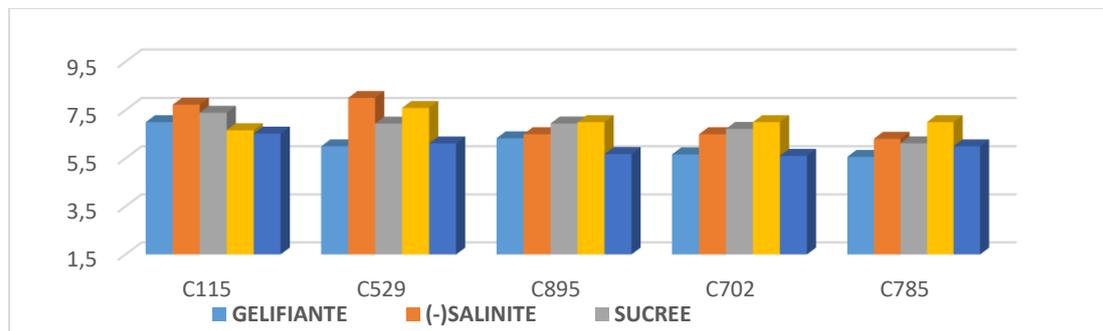
Sur la base des notes des variables sensorielles (astringence ; goût sucrée ; 'aspect gélifiant, couleurs, salinité, sensation en bouche) et d'une variable supplémentaire (appréciation globale),



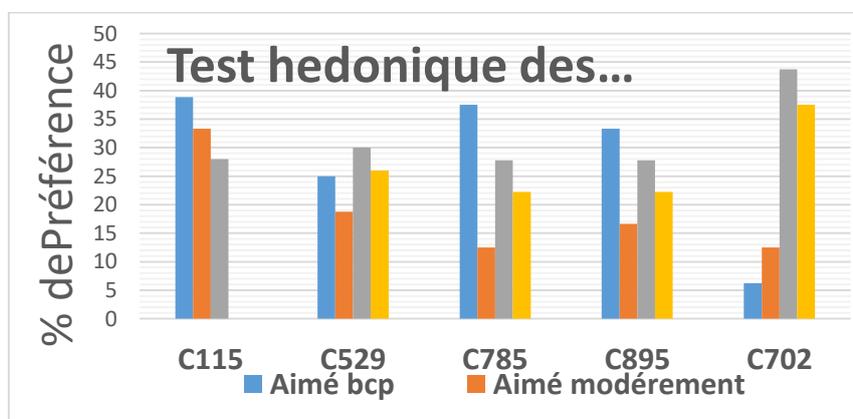
Figure : Histogrammes des descripteurs et p-value du test Kruskal-Wallis ANOVA

- **Choix du prétraitement à appliquer sur la pomme de cajou**

Les tests de classement présente les figures C115, C529, C895, C702 , C785 sont celles qui ont été retenues par le panel.



**Figure 2 : Histogramme du test de classement de quelques échantillons de confitures**  
Le test hédonique présenté sur la figure 3 présente la confiture C115 comme la plus aimée



**Figure 3: Histogramme du test hédonique des 5 échantillons des confitures retenues**

## 5- Conclusion

La confiture 115 dont les pommes ont été saumurées 1 jour dans 15g de NaCl et préparé avec la peau

## **Arsenic and cadmium availability assessment by BCR sequential extraction procedure in wetlands sediment around three gold mines in central-southern and southeastern Côte d'Ivoire, West Africa**

Kakou Charles Kinimo<sup>1</sup>, Koffi Marcellin Yao<sup>2</sup>, Kouassi Louis Bérenger N'guessan<sup>1</sup>, Albert Trokourey<sup>3</sup>

*1 UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo Gon Coulibaly, Korhogo, Côte d'Ivoire*

*2 Centre de Recherches Océanologiques(CRO) Abidjan, Côte d'Ivoire.*

*3 Laboratoire de Constitution et de Réaction de la Matière, UFR SSMT, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire.*

La contamination des bas-fonds par les métaux lourds est une inquiétude d'ordre mondiale (Kabala & Ram, 2011). Cette étude détermine la spéciation chimique de l'arsenic, du cadmium et du mercure afin d'évaluer la biodisponibilité de ces métaux. La procédure de spéciation chimique BCR a été réalisée pour évaluer la concentration des métaux dans les différentes phases échangeables et carbonates, oxydes de fer et de manganèse et résiduelles dans les échantillons de sédiments (Fernandez et al., 2004 ; Gonzalez et al., 2011). Un total de 45 échantillons de sédiments a été collecté sur trois bas-fonds impactés par l'agriculture, l'extraction artisanale et industrielle de l'or à l'Est et au Centre-Est de la Côte d'Ivoire. Les résultats montrent que l'As et le Cd sont majoritairement (78 %) associés à la phase résiduelle indépendamment des activités pratiquées sur le site. Cependant, la fraction des métaux présents dans les phases mobiles des sédiments est plus élevée dans les zones d'extraction industrielle et artisanales d'or. Ce qui suggère un risque écologique plus importants dans ces zones. Des mesures de remédiation appropriées devraient être mises en place réduire la pollution dans les bas-fonds en Afrique de l'Ouest

**Mots clés :** Heavy metals, mobility, sequential extraction, gold mining.

### **Assessment of arsenic and cadmium availability from wetland sediments around gold mines in central-southern and southeastern Côte d'Ivoire, West Africa.**

Heavy metals contamination in wetland is global concern in worldwide (Kabala & Ram, 2011). This study determines the chemical speciation of As and Cd, to assess the potential bioavailability of metal(loid)s. The BCR sequential extraction scheme was performed to determine metal(loid) concentrations in the exchangeable and carbonate, reducible (Fe-Mn oxides), and residual fractions in surface sediment (0 – 5 cm) samples (Fernandez et al., 2004 ; Gonzalez et al., 2011). A total of 45 sediment samples were collected from three sampling sites under different land use types (agricultural wetland, artisanal and industrial gold mining areas) in the central-southern and southeastern regions of Côte d'Ivoire. As, Cd, and Hg were mainly found in the residual fraction with an average proportion reaching up to 78 %. The highest mobile fraction for As and Cd was recorded in industrial gold mining areas. This results suggested high ecological risks. Appropriate remediation measures should be taken to alleviate anthropogenic pollution of wetlands in West Africa.

**Keywords:** Heavy metals, mobility, sequential extraction, gold mining

#### **1. Introduction**

Wetlands contributes in diverse ways to the livelihoods of millions of people in Africa and are of huge economic importance (Bodin et al., 2012; Fonseca et al., 2015). Wetland habitats contain a multitude of ecological niches and support a wide variety of flora and fauna with different ecological functions (Lecce et al., 2014). Whereas, wetland around different scale (large, small and illegal) of gold mine sites were seriously treated through wet and dry emission from smelter and runoff waste accumulated in dumps (Kinimo et al., 2018). In mining sites, sediment is commonly contaminated with heavy metals, which exhibit a tendency to accumulate and persist in as they are not biodegradable. Indeed, they are considered as appropriate indicators of metal pollution in aquatic system (Kouassi et al., 2015).

In gold mining and else contaminated areas, heavy metals partitioning in sediment is a relevant feature controlled by sediment chemical properties and composition (e.g. pH, cation exchange, contents of clay mineral and organic matter) (Cukrowska et al., 2015), chemistry of sediment (or soil) solution and affinity the chemical element reactions such as sorption, precipitation and co-precipitation (Glyzes et al., 2008). In addition, it widely recognized that pollutants mobility, environmental availability, biological availability and they toxicity depends strongly on their specific forms and on the binding state (precipitated with primary or secondary minerals, complexed by organic ligands, and so on). Hence, identification of the main binding sites and phases associations of heavy metals in sediment

helps in understanding geochemical processes in order to evaluate the remobilization potential and the risk induced.

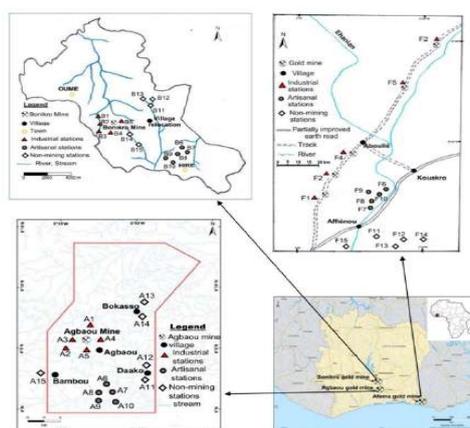
In sediment, the first three fractions (water-soluble, exchangeable and acid-soluble) constitute the most mobile, active, accessible pool of heavy metals in sediment, also called effective available pool. Arsenic (As), cadmium (Cd) and mercury (Hg) are known ones of the most toxic metals found in environment with very little or no essential biological function (Chakraborty et al., 2012). Moreover, many health problems are associated with arsenic and cadmium include skin disorder, bladder, lung and liver cancer and reproduction organ and cardiovascular troubles, (IARC, International Agency for Research on Cancer, 2012).

Despite the development of gold mining activities in developing countries in general and particularly in Côte d'Ivoire this last decade, none study has conducted about gold mining and smelting impact on sediments in wetlands, and crops grown around active or abandoned gold mining. Thereby, information on the distribution of As, Cd and Hg still lacking. The present study was carried out with main objectives of: (i) determine and compare metals fractionation and assess they bioavailability in wetland sediment around gold mining areas (ii) define the contribution of natural and anthropogenic source with multivariate statistical approach and (iii) estimate these metals potential ecological risks.

## 2. Material and method

### 2.1 Study area and sampling description

Côte d'Ivoire (7.54 °N, 5.54°W) a sub-Saharan country in West Africa. The geology of the country is mainly characterized by paleoproterozoic formations, making it a mining region. Three wetland sites impacted by gold mine activities were chosen. Bonikro and Agbaou (6.38°N – 5.21°N) and Afema (5.41°N, 2.92°N) located in south-central and south-eastern of Côte d'Ivoire, respectively. The two formers are approximately 230 km distant from Abidjan (Fig.1). Bonikro and Agbaou gold mining started in 2008 and 2012, respectively. The geology of Bonikro and Agbaou deposit is dominated by a granodiorite intrusion (felsic) into mafic volcanic (basalts) of the upper Birimian series that have been metamorphosed to mid greenschist facies, and sedimentary rocks, with a strike length of 1000 m and a width of up to 300 m (Newcrest mining limited, 2011; <http://www.newcrest.com.au>). The climate is equatorial with annual precipitations reaching up to 1305 mm. Afema gold mine is located 42 km to the east of the town of Aboisso, and 160 km from Abidjan, southeastern Côte d'Ivoire. It was initiated in 1994, but ceased in 1998. Climate is a sub-equatorial type with average temperatures between of about 21°C and 33°C and precipitation ranging between 1400 and 2500 mm (Assie, 2008). The geology of Afema is also characterized by lithology of Birimian, with mainly metalovolcanic and a metasedimentary rock assemblage which can be followed up to the adjacent Ghanaian territory Afema lies in Ehanian River basin, a tributary of Tanoe River, while Bonikro and



Sediments collected from Afema, Agbaou, and Bonikro gold mining areas (Côte d'Ivoire)

From March to November 2015, surface sediment samples (0-5 cm) were collected in wetland around the three sites chosen. In each sampling site, a total of 15 surface sediment samples including 5 in industrial area, 5 in artisanal area and 5 in no mining area. Approximately 300 g of Surface sediments were grabbed from River bottom with a small Van Veen stainless (with an area 0.02 m<sup>2</sup>) and stored in

a sealed plastic bags. In order to take local variability into account, sediment samples was a composite sample including 5 sub-samples (Saleem et al., 2015). Sample were put into ice bag and transported to laboratory and frozen in deep-freeze unit before the drying process. Sediments were air-dried at room temperature (Cai et al., 2016), ground manually with an agate mortar and sieved to 63  $\mu\text{m}$ . Homogenized samples were stored in zip-type bags and shipped to Laboratoire de Chimie Organique Bioorganique Réactivité et Analyse (COBRA), Université de Rouen, France for further analysis.

## 2.2 Chemical analysis

In this study, the procedure proposed by the Standard Measurements and Testing Program (formely BCR, Bureau Community of reference) was applied to determine the partitioning of As and Cd in the different fractions of sediment samples. This procedure, usually named BCR procedure, consists of the following extraction steps: (i) extraction of extractable fraction accounting for water-soluble, exchangeable and carbonate-bound fractions, with a 0.11 M solution of acetic acid; (ii) extraction of reducible fraction with a 0.5 M solution of hydroxylamine hydrochloride at pH 1.5; (iii) extraction of oxidable fraction with a 8.8 M solution of  $\text{H}_2\text{O}_2$  and 1 M solution of ammonium acetate at pH 2. The solubilization of residual fraction by acid digestion with 3 mL  $\text{HNO}_3$  and 9 mL HCl was added to the BCR procedure.

## 2.3 Risk assessment code (RAC)

We assess risk assessment code (RAC) to give a clear indication on the risks associated with the presence of heavy metals in environment (Moore et al., 2015). Thereby, RAC assesses the availability of the metals by applying a scale to the percentage of metal in the carbonate and exchangeable fraction. According to exchangeable fraction, RAC values were classified as follow: class 0, when the exchangeable fraction is less than 1% there is no risk, class 1 for the range of 1-10%, there is low risk; class 2 for the range of 11 – 30%, there is medium risk; class 3 for the range of 31 – 50%, there is high risk and very high risk for range of 51 – 100 %.

## 2.4 Control quality

Replicate and blank methods are used for each sample analyzed and the error was within 6%. The accuracy of the analytical procedures was evaluating through the analysis of the certified reference material CRM CNS 301-04-050 (sigma-Aldrich; Missouri, USA) for freshwater sediment. The measured concentrations fell within the range of certified values. BCR extraction procedure accuracy was assessed through the comparison the sum of As and Cd concentrations and their total content. The recoveries were in the ranges: 84 – 118 % for As and 104 – 119% for Cd

## 2.5 Statistical analysis

Pearson's correlation coefficient and the principal component analysis (PCA) was applied to the collection of average metal concentration data, in order to explore the grouping of metals according to their similarities. Statistical analyses were performed by Sigmaplot 14.0.

# 1. Results and discussion

## 3.1 Chemical partitioning and distribution metals in sediment

### 3.1.1 Arsenic

Arsenic concentration in different sequential extraction fraction in the surface sediment from wetland directly impacted by the three gold mines are summarized in Table 3. According to the average percentage of the different fraction, in the three studied sites, arsenic is ordered in the following order:  $F_4 > F_2 > F_1 \sim F_3$ . It should be noted that the sequential order of Arsenic in the industrial, artisanal and non-mining station of each site are in the same pattern. According to the pooled station the high proportion of As were found in residual and Fe-Mn oxide fractions (reducible fraction) with the average proportion of  $59 \pm 12\%$  and  $32 \pm 9\%$  respectively. However, average arsenic concentration bounding to reducible and residual fractions in industrial area sediment were significantly ( $p < 0.05$ ) higher than those in artisanal and no-mining area. The mathematic sum of arsenic concentration bounding to the labile (exchangeable, reducible and oxidable) fraction was also high in industrial area than artisanal and non-mining areas and reach up 18 times the upper continental crust background ( $\text{As} = 2 \mu\text{g/g}$ ). This

result suggesting that arsenic mobility are probably high in industrial area than artisanal and non-mining areas. Similarly, predominant distribution of arsenic in residual and iron oxyhydroxide fraction was found in sediment from Riotinto mining area (Spain) by González et al. (2011).

### 3.1.2 Cadmium

Cadmium partitioning and fraction concentration are presented in Table 4. The chemical partitioning result showed the decreasing following order: F4 > F3 > F1 > F2 for the pooled station from the three site. According to average percent, cadmium was preferentially associated to residual fraction with an average of  $61.7 \pm 3.1$  % for Afema, of  $62.5 \pm 5.7$  % for Agbaou and of  $51.2 \pm 3.6$  % for Bonikro. It indicates that cadmium in the studies areas are strongly bound to the resistant components of the sediment. This result agrees with those found by Olujimi et al. (2015), who studied cadmium and other metals speciation in illegal gold mining site in Igun, Osun state (Nigeria). The percentage of most mobilizable fraction (exchangeable, reducible and oxidizable) are low when they are take singly, but they mathematic sum are relatively important with an average of 40 percent in the three station kind (industrial, artisanal and non-mining) which corresponding to a concentration of  $1.6 \pm 1.1$   $\mu\text{g/g}$  in industrial area, of  $1.5 \pm 0.5$   $\mu\text{g/g}$  in artisanal area and of  $3.6 \pm 2.6$   $\mu\text{g/g}$  in non-mining area. It suggests that the mathematic sum of labile fraction percentage in the three activities areas are high than background value of  $0.102$   $\mu\text{g/g}$  from upper continental crust (Wedpohl, 1995). However, analysis of variance (ANOVA) of cadmium concentration present in labile fraction showed no significant difference ( $p < 0.05$ ) from one site to another.

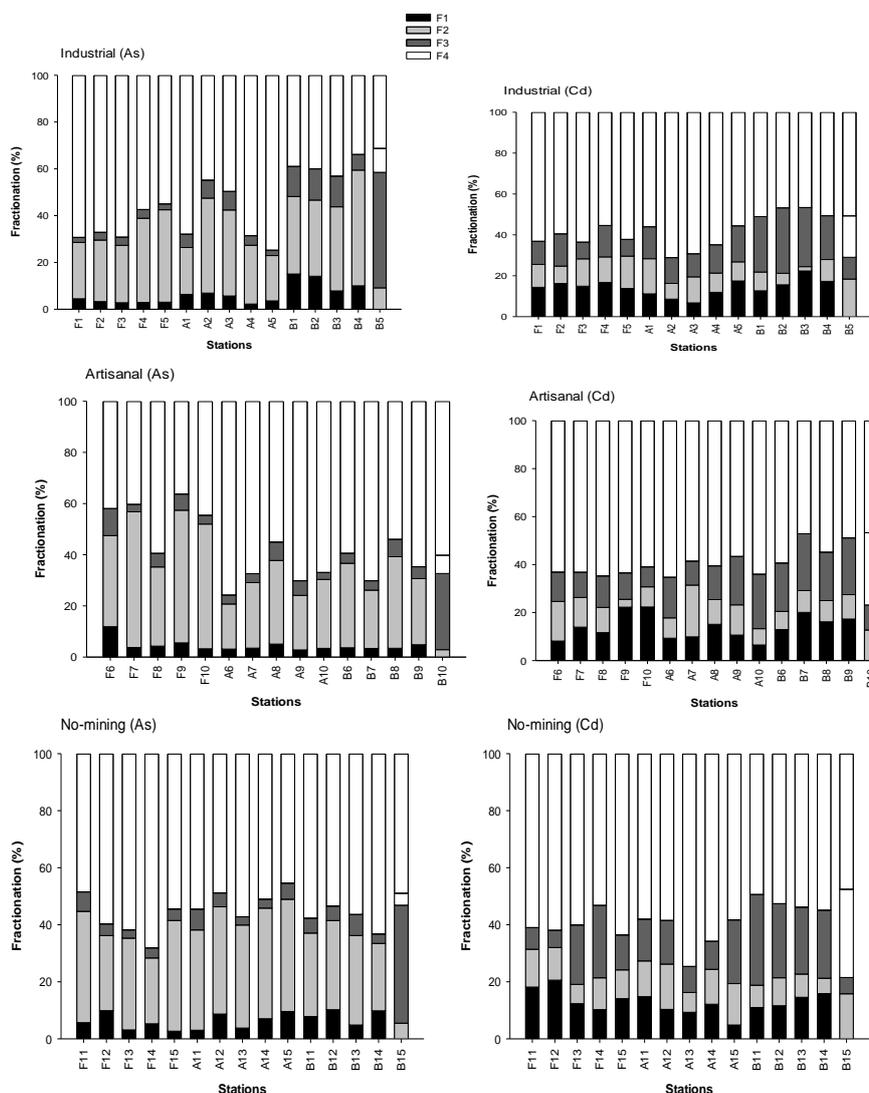


Fig. 2: Fractionation of As and Cd in surface sediment from industrial, artisanal and no-mining areas.

### 3.2 Risk assessment code analysis

The exchangeable fraction percentage are used for assigned RAC speciation indices. As can be observed in Table 5, the RAC values are ranged from 2.21% at Agbaou to 15.1% at Bonikro site and ranged from 5.24% at Agbaou to 37.3% at Afema for As and Cd, respectively. According to average percentage for pooled station, RAC values for As in industrial, artisanal and non-mining are less than 10% class (I), and ANOVA one-way analysis showed no significant difference between the three station kinds ( $p < 0.05$ ). This suggests that arsenic in the studied area presents a low environmental risk. For Cd, RAC values in industrial area varied from 6.7 to 34.5%, in artisanal area from 7.7 to 37.3% and in non-mining area from 5.2 to 33.4% when considering all stations. According to RAC guideline, the risk level for Cd varied from low risk to high risk. Although, no significant difference ( $p < 0.05$ ) are found between RAC values in the three activities areas, gold mining areas (industrial and artisanal) showed the highest RAC values, which could reach up to 37% in artisanal area at Afema.

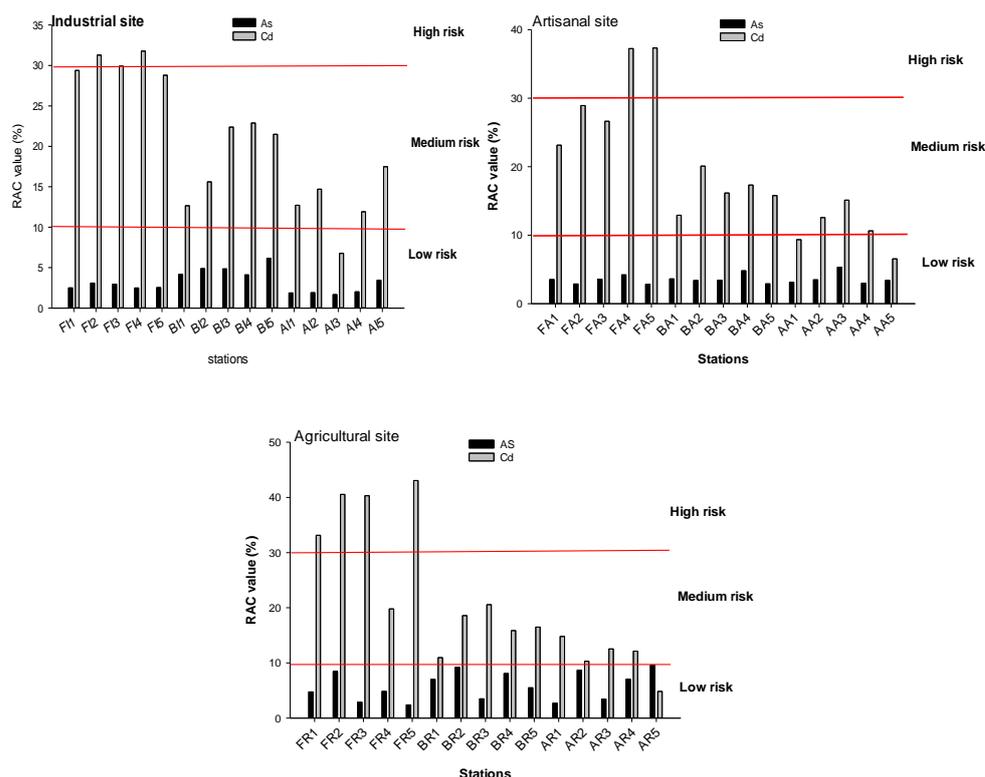


Fig. 3: RAC values for As and Cd in surface sediment from industrial, artisanal gold mining and non-mining areas. The red line represents the threshold of RAC different classes.

## 2. Discussion

It is well known that heavy metals found in the residual fraction are strongly bound to crystalline structures of the minerals present in the sediment matrices and studies have proven that these metals are not labile (Nemati et al., 2011). In this study, it can be seen in Fig. 2, that in the three kinds of stations (industrial, artisanal and non-mining) showed high percentages in the residual fraction, which indicates that a relatively large fraction of As and Cd in the sediment samples are strongly bound to the minerals and resistant component of the solid matrix. A similar pattern of results for As and Cd fractionation distribution was observed by Liu et al., (2013). This implies that these metals are unlikely to be released into overlying water. Although, the residual fraction represents the predominant proportion for arsenic and cadmium chemical fractionation as well for site and different activities, the mathematical sum of extractable fractions was considerable. Indeed, for pooled stations, the average percentage of mobilizable arsenic is relatively high, with  $45.0 \pm 14.8\%$  in industrial area,  $41.8 \pm 12.1\%$  in artisanal area and  $44.2 \pm 6.2\%$  in non-mining area, which corresponds to  $36.5 \pm 55.7 \mu\text{g/g}$ ,  $1.3 \pm 1.8 \mu\text{g/g}$  and  $6.1 \pm 11.2 \mu\text{g/g}$  in industrial, artisanal and non-mining areas, respectively. These concentrations are 13 and 3 times higher than the background value (2 ppm) of arsenic in the Upper Continental Crust (UCC) suggested (Wedepohl,

1995) and could threaten the quality of overlying water, aquatic organism, biota and population health (Yu et al., 2011).

For cadmium, the average sum of the three extracted sediment phases percent close to 40% in industrial, artisanal and non-mining areas when station was put together corresponding approximately an average cadmium concentration (all in  $\mu\text{g/g}$ ) of  $1.6\pm 1.1$ ,  $1.5\pm 0.5$  and  $3.6\pm 2.6$  in industrial, artisanal and non-mining areas, respectively. Similarly, to arsenic, cadmium concentration from extractable fraction were higher than cadmium UCC value ( $0.102 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). Whereas, highest mobilizable fraction was found in non-mining areas, this result could be due by geological intrusion of cadmium-rich mineral or the excess used of fertilizer for agricultural purpose, with important cadmium generated in wetland sediment as result. However, agriculture in the study area consist of traditional growing of cash crop by communities and fertilizers and pesticides uses are relatively limited. Therefore, farming practices are unlikely to be the major sources of heavy metals measured in sediments collected in this study. Arsenic appears to be absorbed by iron (Fe) compounds in the sediment, particularly in hydroxides after the residual fraction. Consequently, a potential risk of As remobilization exist especially under acidic and/or reducing conditions, which frequently occurs in mining environment. This trend was also observed in mining area in Kosovo (Nannoni et al., 2011).

Those elements are very toxic and when they are present in crops (even at low concentrations), they can be transferred to the human being through the food chain, thus leading to serious human health. In addition, even though the percentage of other toxic elements in this fraction are low, their environmental and ecological risks cannot be ignored. Therefore, the obtained results suggest that the good management impact of industrial, artisanal, and agricultural the study wetland is required to control the mobility of cadmium.

### 3. Conclusion

The sequential extraction procedure from BCR method has been used to evaluate the fractionation of As and Cd in industrial, artisanal gold mining, and agricultural surface sediments. A total of forty-five sediments samples were collected during March to December 2015 near three gold mines sites at Afema, Bonikro and Agbaou from southeastern and middle-west of Côte d'Ivoire. The result demonstrated that noticeable concentration for As ( $2.39\pm 0.97 \mu\text{g.g}^{-1}$ ;  $1.74\pm 0.88 \mu\text{g.g}^{-1}$  and  $1.98\pm 0.81 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) and for Cd ( $0.46\pm 0.25 \mu\text{g.g}^{-1}$ ;  $0.31\pm 0.17 \mu\text{g.g}^{-1}$  and  $0.22\pm 0.14 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) in industrial, artisanal and agricultural areas respectively existed in extractable fraction of surface sediments. Thus, in all area the concentration in labile fraction exceeded UCC value for Cd ( $0.102 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) and As ( $2.0 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). Furthermore, chemical speciation of arsenic showed that the percentage of arsenic was relatively high in reducible fraction, on contrary with general trend. In view of the above, it can be concluded that the exchangeable, reducible, and organic are most likely due to anthropogenic origin. In addition, the positive correlation of the most labile fraction with pseudo total concentration for these metals suggest that the concentration in the labile fraction can reach up permissible limit and may pose a great threat to the environment.

### 1. References

- Assie K. E., 2008. Lode Gold Mineralization in the Paleoproterozoic (Birimian) Volcano Sedimentary Sequence of Afema Gold District, Southeastern Côte d'Ivoire. Doctoral dissertation, Papierflieger, Technical University of Clausthal, Germany, pp 198
- Bodin. N., N'Gom-Kâ. R., Kâ. S., Thiaw. O.T., Tito de Morias. Le Loc'h. F., Rozuel-Chartier. E., Auger. D., Chiffolleau. J-F.. 2012. Assessment of trace metal contamination in mangrove ecosystems from senegal. West africa.
- Chakraborty. P., Raghunadh B., Sarma. V.V.; 2012. A study of lead and cadmium speciation in some estuarine and coastal sediments. Chem. Geol. (294-295): 217-225
- Fernandez , E., Jimenez, R., Lallena, A.M., Aguilar, J., 2004. Evaluation of the BCR sequential extraction procedure applied for two unpolluted Spanish soils. Environmental Pollution, 131 : 355 – 364.
- Fonseca. E.F., Baptista Neto. J.A., Silva. C.G., 2013. Heavy metal accumulation in mangrove sediments surrounding a large waste reservoir of a local metallurgical plant. Septiba Bay. SE. Brazil. Environ Earth Sci (70): 643-650.
- Gonzalez, I., Galan, E., Romeo, A., 2011. Assessing Soil Quality in Areas Affected by Sulfide Mining : Application to Soils in the Iberian Pyrite Belt (SW Spain). Minerals,

- González-Corrochano B., Esbri J. M., Alonso-Azacárate J., Martínez-Coronado A., Jurado, V., Higuera P., 2014. Environmental geochemistry of highly polluted area: the unionPb-Zn mine 5 castilla-La mancha region, Spain). *J Geochem Explor* (144): 345 – 354.
- IARC (International Agency for Research on Cancer), 2012. A review of human carcinogens: arsenic, metals, fibre, and dusts: Chromium (IV) compound IARC Monographs vol. 100C-9. International Agency for research on cancer (IARC). <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100C/mno100C-9pdf> (accessed: 20/07/2018).
- Kabala, C.S., Ram, B., 2001. Fractionation and mobility of copper, lead, and zinc in soil profiles in the vicinity of a copper smelter. *Journal of Environmental Quality* 30, 485–492.
- Kinimo KC, Yao KM, Marcotte S, Kouassi NLB, Trokourey A 2018. Distribution trends and ecological risks of arsenic and trace metals in wetland sediments around gold mining activities in central-southern and southeastern Côte d'Ivoire. *J Geochem Explor* (190):265–280. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2018.03.013>
- Kouassi. N.L.B., Yao., K.M., Trokourey. A., Soro. M.B., 2015. Distribution. sources. and possible adverses biological effects of trace metals in surfaces sediments of a tropical estuary. *Environmental Forensics* (16): 96-108. Doi: 10.1080/15275275922.2014.991433.
- Lecce. S.A.. Pavlowsky. R.T.. 2014. Floodplain storage of sediment contaminated by mercury and copper from historic gold mining at Gold Hill. North Carolina. USA. *Geomorphology* (206): 122-132.
- Liu. G., Tao. L., Liu. X., Hou. J., Anjian. W., Li. R., 2013. Heavy metal speciation and pollution of agricultural soils along Jishui River in non-ferrous metal mine area in Jiangxi Province. China. *Journal of Geochemical Exploration*. (132): 156-163.
- Moore. F., Nematollahi., M.J., Keshavarzi. B., 2015. Heavy metals fractionation in surface sediment of Gowatr bay-Iran. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187: 1 – 14.
- Nannoni. F.. Protano. G.. Riccobono. F.. 2011. Fractionation and geochemical mobility of heavy elements in soil of mining area in northern Kosovo. *Geoderma* (161): 63-73.
- Nemati. K.; Bakar. N.K.A.. Abas. M.R.B.. Sobhanzadeh. F.. Low. K.H.. 2011. Comparison of unmodified and modified BCR sequential extraction schemes for the fractionation of heavy metals in shrimp aquaculture sludge from Selangor. Malaysia. *Environ. Monit. Assess.* 176 (1-4): 313-320.
- Olujimi O. O., Oputu O., Fatoki O., Opatoyinbo O. E., Aroyewun O. A., Baruani J., 2015. Heavy metals speciation and human health risk assessment at Illegal gold mine site in Igun, Osun State, Nigeria. *J. Heath Pollution* (8): 19 – 32
- Wedepohl K. H., 1995. The composition of the continental crust. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 59 (7): 1217 – 1232
- Yu, G.B., Liu, Y., Yu, S., Wu, S.C., Leung, A.O.W., Luo, X.S., Li, H.B., Wong, M.H., 2011. Inconsistency and comprehensiveness of risk assessments for heavy metals in urban surface sediment. *Chemosphere*, 85, 1080-1087

## Exploration phytochimique du tandem *Sargassum natans* (L.) Gaillon et *Sargassum fluitans* (Børgesen) Børgesen de Côte d'Ivoire

Kabran Guy Roger Mida\*, Asseke Eba Amandine, Mamyrbékova-Békro Janat Akhanovna et Békro Yves-Alain

Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles ([www.lablebosn.com](http://www.lablebosn.com)) / UFR-SFA / Université NANGUI ABROGOUA, 02 BP 801 Abidjan 02.

### Résumé

*Sargassum natans* et *Sargassum fluitans* sont deux algues brunes envahissantes des eaux territoriales ivoiriennes, responsables de plusieurs perturbations socio-économiques. Malgré ces effets néfastes sur la vie des populations, elles bénéficient d'un intérêt particulier dans certaines contrées du monde. L'objectif visé par cette étude était d'explorer d'autres voies d'usage de ces algues par des approches phytochimiques. Les résultats de cette étude ont abouti à l'identification au moyen de la CCM de plusieurs métabolites secondaires dont certains sont apparentés aux terpénoïdes. La quantification par spectrophotométrie de ces composés a donné des teneurs de  $64,01 \pm 0,30$  mg EAG/100g pour les polyphénols totaux ;  $14,60 \pm 0,10$  mg/100g pour les flavonoïdes totaux ;  $26,38 \pm 0,18$  mg/100g pour les aglycones flavoniques et  $21,87 \pm 0,24$  mg/100g pour les anthocyanes. Dans l'ensemble, comparativement à la vitamine C, les fractions de sargasses ont manifesté une activité antioxydante faible vis-à-vis du DPPH. Ces résultats sont prometteurs en ce sens qu'ils ouvrent d'autres voies de recherche sur l'exploitation des propriétés chimiques et pharmacologiques de ces algues.

**Mots clés** : *Sargassum natans*, *Sargassum fluitans*, algues brunes, étude phytochimique, activité antioxydante, Côte d'Ivoire

### 1. Introduction

Depuis quelques années, nous assistons à l'envahissement des plages de différents pays, notamment celles de la Côte d'Ivoire par une marée brune<sup>[1]</sup>. Cette catastrophe écologique est l'œuvre du tandem *Sargassum natans* (L.) Gaillon et *Sargassum fluitans* (Børgesen) Børgesen, deux algues brunes communément appelées Sargassum ou Sargasse. Ce couvert végétal, originaire du Nord du Brésil, est entraîné dans les eaux ivoiriennes par les courants marins, les houles et les marées<sup>[2]</sup>. Elles sont visibles en profusion dans les stations balnéaires d'Assinie, de Mondoukou, de Grand-Bassam, de Jacqueline, de Grand-Lahou et de San-Pédro. Par ailleurs, l'espèce *S. natans* est fréquemment visible sur les plages du pays par rapport à *S. fluitans*<sup>[2]</sup>. L'apparition de ces algues dans les eaux territoriales ivoiriennes a engendré de nombreuses perturbations socio-économiques tant au niveau du tourisme que des activités aquatiques (aquaculture, pêche traditionnelle, etc.)<sup>[3]</sup>. Cependant, malgré leur caractère encombrant, les algues bénéficient d'un intérêt particulier dans certaines contrées du monde. C'est le cas en Chine où les Sargassum sont utilisées en médecine traditionnelle dans la prise en charge de plusieurs pathologies<sup>[4]</sup>. Au Japon, elles sont consommées crues en salade ou cuites avec du lait de coco. Elles sont également utilisées comme engrais dans plusieurs pays d'Asie<sup>[5]</sup>. Face à ces profits que génèrent les sargasses dans les autres régions du monde, celles du littoral ivoirien demeurent encore sans intérêt et peu étudiées. Ainsi, pour combler ce déficit, le but de la présente étude a été d'explorer d'autres voies d'usages possibles des Sargasses. Pour ce faire, une exploration phytochimique a été menée sur le mélange *Sargassum natans* et *Sargassum fluitans*, et ce, en vue d'établir leurs profils moléculaire et antioxydant.

### 2. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué du mélange de sargasses (*Sargassum natans* et *Sargassum fluitans*). Elles ont été collectées sur la plage d'Assinie (5° 07' 25" nord, 3° 16' 40" ouest), une localité située au Sud-Est de la Côte d'Ivoire, dans la région du Sud-Comoé et précisément dans le département d'Adiaké (5° 17' 06" nord, 3° 18' 07" ouest). Un herbier a été constitué, lequel a permis l'authentification du matériel végétal par un spécialiste des algues au Centre National de Floristique (CNF) de l'Université Félix Houphouët-Boigny. Les sargasses ont été lavées à l'eau du robinet pour éliminer le sel, le sable et les autres débris. Elles ont été par la suite séchées sous climatisation permanente à 18°C pendant deux semaines puis pulvérisées à l'aide d'un broyeur électrique pour fournir des poudres pour les analyses.

### 3. Méthodologie

#### 3.1 Préparation des extraits

20 g de poudre du mélange de sargasses ont été macérées dans 100 ml de méthanol (MeOH, 80%, 3 × 24 h) à la température ambiante (25°C) sous agitation permanente. Après filtration sous vide, les filtrats

ont été réunis puis concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'extrait aqueux résultant a été épuisé successivement par 3 × 30 ml d'hexane (n-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>), de chloroforme (CHCl<sub>3</sub>) et d'acétate d'éthyle (AcOEt). Les extraits sélectifs obtenus ont servi pour les tests phytochimique et antioxydant.

### 3.2 Etude phytochimique

#### 3.2.1 Analyse qualitative

L'étude qualitative a porté sur l'identification des phytoconstitués du mélange de sargasses au moyen de la chromatographie sur couche mince (CCM) [6][7]. Les chromatoplaques en silicagel 60 F<sub>254</sub>, avec un support rigide en aluminium ont été utilisés. Les gradients de solvants n-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>/AcOEt (5 / 2 ; v/v) et AcOEt/CHCl<sub>3</sub> (4 / 2,5 et 6 / 1 ; v/v) ont servi de développants.

#### 3.2.2 Analyse qualitative

##### 3.2.2.1 Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été déterminée suivant la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu décrite par Singleton et Rossi [8] et reprise par Kabran et al. [9].

##### 3.2.2.2 Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé selon la méthodologie décrite par Hariri et al. [10] et reprise par Konan [11].

##### 3.2.2.3 Dosages des anthocyanes et aglycones flavoniques

Les anthocyanes, les flavonols et les flavones ont été quantifiés grâce aux méthodes décrites par Lebreton et al. [12] et reprise par N'guessan et al. [13].

### 3.3 Etude du potentiel antioxydant

#### 3.3.1 Dépistage du pouvoir antioxydant par CCM

Le dépistage du pouvoir antioxydant a été effectué sur CCM au moyen du test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) conformément aux méthodologies décrites dans la littérature [14][15].

#### 3.3.2 Evaluation du pouvoir antioxydant par spectrophotométrie

Tableau 1: Phytoconstitués identifiés dans le mélange de sargasses

Extraits	Composés identifiés, R <sub>f</sub> , Couleur
n-C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	<b>Terpènes</b> : 0,05: R <sup>c2</sup> ; 0,10: JO <sup>c2</sup> ; 0,18 : R <sup>c2</sup> ; 0,22: R <sup>c2</sup> ; 0,26: JO <sup>c1,2</sup> ; 0,27: JO <sup>c1</sup> -R <sup>c2</sup> ; 0,33: Or <sup>d2</sup> ; 0,36: V <sup>c1</sup> -R <sup>c2</sup> ; 0,42: V <sup>c1</sup> -R <sup>c2</sup> ; 0,51: JO <sup>c1,2</sup> ; 0,56: R <sup>c2</sup> ; 0,62: Br <sup>c1</sup> -R <sup>c2</sup> , Vi <sup>d1</sup> -Or <sup>d2</sup> ; 0,80: Ro <sup>d2</sup> ; 0,87: R <sup>c2</sup> ; 0,91: R <sup>c2</sup> <b>Stérols</b> : 0,10: B <sup>d1</sup> -M <sup>d2</sup> ; 0,12 :B <sup>d1</sup> ; 0,24 :JV <sup>c1,2</sup> ; 0,45 :B <sup>d1</sup> ; 0,51: B <sup>d1</sup> -R <sup>d2</sup> ; 0,71: B <sup>d1</sup> ; 0,75 :Br <sup>c1</sup> -JV <sup>c2</sup> ; 0,93: B <sup>d1</sup> <b>Terpénoïdes</b> : 0,05: JO <sup>a1</sup> -R <sup>a2</sup> ; 0,18: JO <sup>a1</sup> -R <sup>a2</sup> ; 0,22: JO <sup>a1</sup> -R <sup>a2</sup> ; 0,38 : JO <sup>a1</sup> -R <sup>a2</sup> ; 0,62 : JO <sup>a1</sup> -R <sup>a2</sup> <b>Coumarines</b> : 0,24: JV <sup>a1</sup> ,JV <sup>b1</sup> -Or <sup>b2</sup> ; 0,26: JO <sup>a1</sup> ,J <sup>b1</sup> ; 0,27: JV <sup>a1</sup> -Ro <sup>a2</sup> , JV <sup>b1</sup> -R <sup>b2</sup> ; 0,42: JV <sup>b1</sup> ; 0,51: JO <sup>a1</sup> ,J <sup>b1</sup> -B <sup>b2</sup> ; 0,56: J <sup>b2</sup> ; 0,91: B <sup>b1</sup> <b>Chlorophylles</b> : 0,36: V <sup>a,b1</sup> -R <sup>a,b2</sup> ; 0,42: V <sup>a1</sup> -R <sup>a2</sup> ; <b>Anthracènes</b> : 0,47: R <sup>b2</sup> ; 0,62: Br <sup>b1</sup> -Vi <sup>b2</sup> ; 0,75: Br <sup>b1</sup> -Vi <sup>b2</sup> ; 0,87: R <sup>b2</sup> ; 0,95: R <sup>b2</sup>
CHCl <sub>3</sub>	<b>Terpènes</b> : 0,36: JO <sup>c1-2</sup> ; 0,61: Or <sup>d1</sup> ; 0,65: JO <sup>c1-2</sup> ; 0,68: JO <sup>c1-2</sup> , Vi <sup>d1</sup> ; 0,77: R <sup>c2</sup> , Vi <sup>d1</sup> ; 0,85: R <sup>c2</sup> ; 0,9 :R <sup>c2</sup> -Vi <sup>d1</sup> <b>Stérols</b> : 0,04: B <sup>d1</sup> ; 0,65:JV <sup>c1</sup> ; 0,76: JV <sup>c2</sup> <b>Chlorophylles</b> : 0,9: V <sup>a,b1</sup> -R <sup>a,b2</sup> <b>Anthracènes</b> : 0,68: Vi <sup>b2</sup> ; 0,87: Vi <sup>b2</sup> <b>Saponines</b> : 0,04: JO <sup>h1</sup> ; 0,21: Or <sup>h2</sup> ; 0,36: JO <sup>h1</sup> ; 0,61: RoR <sup>h2</sup> ; 0,68: JO <sup>h2</sup> ; 0,71: RoR <sup>h2</sup> ; 0,76: Or <sup>h2</sup> ; 0,77: RoR <sup>h2</sup> ; 0,83: RoR <sup>h2</sup> <b>Alcaloïdes</b> : 0,02: JO <sup>g1</sup> ; 0,61 : JO <sup>g1</sup> <b>Coumarines</b> : 0,36: JO <sup>a1-b1-b2</sup> ; 0,61: JO <sup>b1-b2</sup> ; 0,65: JO <sup>a1</sup> , JO <sup>b1-b2</sup> ; 0,71: Or <sup>b2</sup> ; 0,77: Vi <sup>d1</sup> -JO <sup>b2</sup> ; 0,83: Or <sup>b2</sup> ; 0,85: J <sup>b2</sup> ; 0,87: B <sup>f2</sup> <b>Flavonoïdes</b> : 0,04: Or <sup>f1</sup> ; 0,21 :JO <sup>e2</sup> ; 0,25: JO <sup>e2</sup> ; 0,31: JO <sup>e2</sup> ; 0,36: JO <sup>e1</sup> -V <sup>e2</sup> ; 0,61:Or <sup>e1</sup> -JO <sup>e2</sup> ; 0,65: JO <sup>f1</sup> ; 0,74: JV <sup>f2</sup> ; 0,76:JO <sup>e2</sup> ; 0,81: J <sup>f2</sup> ; 0,85: JV <sup>e2</sup>
AcOEt	<b>Coumarines</b> : 0,62: V <sup>b,f2</sup> ; 0,84: J <sup>b2</sup> , JV <sup>f2</sup> ; 0,87: B <sup>f2</sup> <b>Flavonoïdes</b> : 0,84: J <sup>e2</sup> ; 0,87: B <sup>e2</sup> ; 0,94: Or <sup>f2</sup>

La méthode de Blois [16] reprise par Kabran et al. [9], a été utilisée pour quantifier le potentiel antioxydant des différents extraits de sargasses. La vitamine C (acide ascorbique) a servi d'antioxydant de référence. Le pourcentage de réduction du DPPH par les extraits, a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage de réduction} = [(Ab - Ae) / Ab] \times 100$$

*Ab* : absorbance du blanc ; *Ae* : absorbance de l'échantillon

#### 4. Résultats et discussion

##### 4.1 Profil qualitatif

Le criblage phytochimique mené sur les différents extraits de sargasses a révélé la coprésence de plusieurs de métabolites secondaires. Les informations relatives à ces phytoconstitués sont consignées dans le tableau 1.

**Or** : orange, **J** : jaune, **B** : bleu, **V** : vert, **R** : rouge, **Ro** : rose, **Vi** : violet, **M** : marron, **Br** : brun, **JV** : jaune-vert ; **RoR** : Rose-rouge ; **RoVi** : Rose-violet, **JO** : Jaune-Orange ; **a** : Composés observés sans révélateur ; **b** : composés révélés avec la solution de KOH à 5% ; **c** : Composés révélés avec le réactif de Liebermann-Bürchard ; **d** : Composés révélés avec la vanilline sulfurique ; **e** : Composés révélés avec la solution de AlCl<sub>3</sub> à 1% ; **f** : Composés révélés avec la vapeur d'ammoniac ; **g** : Composés révélés avec le réactif de Dragendorff ; **h** : composés révélés avec le chlorure d'antimoine (SbCl<sub>3</sub>) à 1% ; **1** : Observation au visible ; **2** : Observation à UV 365 nm ; **n-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>** : extrait à l'hexane ; **CHCl<sub>3</sub>** : extrait au chloroforme ; **AcOEt** : extrait à l'acétate d'éthyle

Les terpènes et les stérols ont été visualisés par révélation avec les réactifs de Liebermann-Bürchard et la vanilline sulfurique. En effet, sous l'action de ce dernier, les stérols apparaissent dans le visible sous forme de taches bleues. Quant aux terpènes, ils ont été révélés dans le visible et sous UV/365 nm sous forme de spots orange, violet et rose <sup>[17][18]</sup>. A l'instar de la vanilline sulfurique, le réactif de Liebermann-Bürchard interagit avec les stérols pour donner des colorations brune et verte dans le visible et jaune et jaune-vert sous UV/365 nm. En outre, il permet de spécifier le type de terpènes. Ainsi, d'une manière générale, les génines triterpéniques sont observées dans le visible sous forme de spots bleu et violet. Sous lumière UV à 365 nm, elles présentent diverses colorations : rouges pour les génines triterpéniques de type oléanane et ursane (n-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> : Rf= 0,05 ; 0,18 ; 0,22 ; 0,27 ; 0,36 ; 0,42 ; 0,56 ; 0,62 ; 0,87 ; 0,91 et CHCl<sub>3</sub> : Rf= 0,77 ; 0,85 ; 0,90) et en jaune orangé pour les triterpènes de type lupane (n-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> : Rf= 0,26 ; 0,51 et CHCl<sub>3</sub> : Rf= 0,85 ; 0,90) <sup>[19]</sup>. Par ailleurs, certains spots sont perçus au visible sous colorations jaune orangé et en rouges sous UV/365 nm sans révélateur dans l'extrait à l'hexane (Rf= 0,05 ; 0,18 ; 0,22 ; 0,38 et 0,62) pourraient correspondre aux composés apparentés aux terpénoïdes <sup>[20]</sup>. La solution méthanolique KOH à 5% a été utilisée pour mettre en évidence les coumarines. Sous l'action dudit révélateur, celles-ci apparaissent en jaune dans le visible, laquelle coloration change ou s'intensifie sous UV/365 nm <sup>[21]</sup>. Certaines coumarines identifiées dans l'extrait au chloroforme des sargasses (Rf=0,36 et 0,65) peuvent être considérées comme des dérivés de la daphnétine, en ce sens que leur coloration jaune observée au visible s'intensifie après traitement par la solution méthanolique de KOH <sup>[22]</sup>. Aussi, la solution méthanolique de KOH permet-elle l'identification des dérivés anthracéniques. Ceux-ci sont révélés sous UV/365 nm, sous forme de taches rouges (n-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> : Rf= 0,47 ; 0,87 ; 0,95), pour ce qui est du 1,8-dioxyanthracène et en taches violettes (n-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> : Rf= 0,62 ; 0,75 et CHCl<sub>3</sub> : Rf=0,68 ; 0,87) pour le 1,2-dioxyanthracène <sup>[21][23]</sup>. La présence de la chlorophylle a été mentionnée dans les extraits à l'hexane (Rf= 0,36 et 0,42) et au chloroforme (Rf= 0,90) par l'apparition sans révélateur, de taches vert et rouge respectivement dans le visible et sous UV/365 nm <sup>[24]</sup>. Leur présence a été confirmée également par la solution méthanolique de KOH en vert dans le visible et en rouge sous UV/365 nm <sup>[24]</sup>. Ensuite, l'apparition des colorations orange ou jaune (CHCl<sub>3</sub> : Rf=0,04 ; 0,21 ; 0,36 ; 0,76) sous l'action du chlorure d'antimoine (SbCl<sub>3</sub>) dans le visible et à l'UV/365 nm témoignent de la présence des saponines de type stéroïdiques. Quant aux taches rose-violet ou rose-rouge (CHCl<sub>3</sub> : Rf=0,61 ; 0,71 ; 0,77 ; 0,83) identifiées avec le même révélateur, elles signalent l'existence des saponines de type triterpéniques <sup>[18][21]</sup>. En sus, la présence des alcaloïdes a été notifiée dans l'extrait au chloroforme du mélange de sargasses par le réactif de Dragendorff en spots orange (Rf = 0,02 et 0,61) <sup>[19]</sup>. Enfin, la solution éthanolique de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 1% et la vapeur d'ammoniac ont servi pour la mise en exergue des flavonoïdes respectivement en spots de couleurs jaune et jaune orangé au visible et sous UV/365 nm et en jaune, vert et jaune-vert sous UV/365 nm <sup>[25]</sup>. La présence de ces composés pourrait conférer aux sargasses plusieurs propriétés pharmacologiques. En effet, les saponines sont référencées dans le traitement de bon nombres d'infections parasitaires notamment le paludisme <sup>[26][27]</sup>. De même, les saponines de type stéroïdiques sont connues pour leurs propriétés fongicides, anti-levures, cytostatiques, etc. <sup>[28][29]</sup>. Quant à celles de type triterpénoïdes, elles sont anti-inflammatoires, anti-œdémateuses, et veinotoniques <sup>[30][31]</sup>. L'existence de la daphnétine dans

le duo de Sargassum pourrait concéder à ces matrices végétales de nombreux potentiels biologiques. En effet, plusieurs travaux ont fait mention des vertus purgatives, hypoglycémiantes, cicatrisantes, antimicrobiennes, anticancéreuses et anti-inflammatoires de la daphnétine et de ses dérivés [32-34]. Par ailleurs, les composés apparentés aux terpénoïdes identifiés dans l'extrait à l'hexane serait l'œuvre des fucoxanthines, des pigments responsables de la coloration brune des Sargassum [35-37]. Selon la littérature, ces composés seraient bénéfiques pour la santé, en ce sens qu'ils sont doués de caractères antioxydants, anticancéreux, anti-obésités, anti-inflammatoires et antidiabétiques [4] [38-40]. Enfin, la présence des phytoconstituants phénoliques (flavonoïdes et coumarines) pourrait procurer aux sargasses des propriétés antioxydante, antiulcéreuse, antispasmodique, analgésique, etc. [18] [41-44]. Au-delà de l'aspect thérapeutique, la paire de Sargassum pourrait être utilisée pour enrichir les sols et aussi pour repousser certains agresseurs des végétaux singulièrement les herbivores. Une étude a indiqué que dans leur écosystème, les sargasses ont la capacité de libérer des substances toxiques pour éloigner les herbivores de leur progéniture [45].

#### 4.2 Profil quantitatif

Les investigations quantitatives menées par spectrophotométrie sur les Sargassum ont permis de mettre en évidence les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux, en anthocyanes et en aglycones flavoniques (Tableau 2).

**Tableau 2 : Teneurs en phytoconstitués dans les Sargasses mixtes**

Phytoconstitués	Teneurs (mg/100g)
Polyphénols totaux	64,01 ± 0,30
Flavonoïdes totaux	14,60 ± 0,10
Aglycones flavoniques	26,38 ± 0,18
Anthocyanes	21,87 ± 0,24

La teneur en composés phénoliques totaux enregistrée est de 64,01 ± 0,30 mg EAG/100g. Cette valeur est inférieure à celle rapportée dans les Sargassum mixte collectées au Nigeria (80 mg/100g) [5]. Ce même constat a été fait avec les flavonoïdes dont la teneur est de 775,0 ± 7,07 mg/100g [5]. Par ailleurs, une étude quantitative menée sur *S. fluitans* a donné une teneur en polyphénols (7,81 et 8,63 mg/g) [46] largement supérieure à celle du duo de sargasses (*S. natans* et *S. fluitans*). Ces résultats pourraient se justifier par plusieurs facteurs notamment la méthode d'extraction et le conditionnement des algues, lesquels sont des paramètres qui influent sur les teneurs en polyphénols [46-48].

#### 4.3 Estimation du pouvoir antioxydant

Le traitement des chromatogrammes de différents extraits par la solution du DPPH a permis de visualiser les composés antioxydants sous forme de spots jaunes sur fond violet [14]. Le rapprochement des profils CCM du dépistage du pouvoir antioxydant avec ceux du criblage phytochimique a permis d'identifier les composés manifestant un caractère antiradicalaire. Ainsi, l'action synergique des terpénoïdes (n-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> : Rf = 0,05 ; 0,22), des stérols (n-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> : Rf = 0,24 ; CHCl<sub>3</sub> : Rf = 0,65), des coumarines (n-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> : Rf = 0,56 ; CHCl<sub>3</sub> : Rf = 0,61) et des dérivés anthracéniques (n-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> : Rf = 0,62 ; CHCl<sub>3</sub> : Rf = 0,68) semble être à l'origine du potentiel antioxydant observé dans les fractions à l'hexane et au chloroforme. Quant à l'extrait à l'acétate éthylique, les flavonoïdes (Rf = 0,21), les saponines (Rf = 0,77) et les coumarines (Rf = 0,83) seraient responsables dudit potentiel. Pour une appréciation explicite du potentiel antioxydant, l'évaluation par spectrophotométrie a été réalisée. La figure 1 présente les histogrammes traduisant le caractère antioxydant des extraits de sargasses et de l'acide ascorbique (vitamine C) vis-à-vis du radical DPPH. Dans l'ensemble, pour toutes les concentrations, les pourcentages de réduction (PR) de la vitamine C sont nettement supérieurs à ceux des extraits de sargasses mixtes, avec une CR<sub>50</sub> < 0,89 µg/ml. De plus, les résultats indiquent que ces derniers ont enregistré des PR inférieurs à 40%, ce qui traduit leur faible activité antioxydante (CR<sub>50</sub> > 14,3 µg/ml). Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par Yan et al. [49] sur *Sargassum kjellmanianum* et

*Sargassum thunbergii*. Ces auteurs ont obtenu des PR inférieurs à 30% pour les extraits au chloroforme et à l'acétate d'éthyle vis-à-vis du radical DPPH [49].

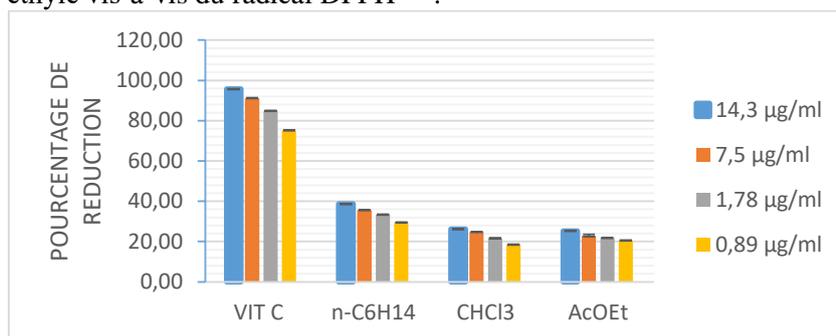


Figure 1 : Histogramme de l'activité antioxydante des extraits de sargasses mixtes et de la vitamine C vis-à-vis du radical DPPH

L'extrait à l'hexane a signé à toutes les concentrations des PR ( $38,62 \pm 0,11\%$  (14,3 µg/ml) ;  $35,57 \pm 0,12\%$  (7,5 µg/ml) ;  $33,35 \pm 0,10\%$  (1,78 µg/ml) et  $29,47 \pm 0,11\%$  (0,89 µg/ml)) supérieurs à ceux des autres fractions. Au demeurant, cet extrait pourrait être considéré comme le plus actif. Cette activité observée serait due à l'action synergique des composés qu'il renferme notamment la fucoxanthine, un composé connu pour son caractère antioxydant prononcé [36][50][51]. Ainsi, la présente activité observée dans le duo de *Sargassum natans* et *Sargassum fluitans* pourrait faire de ces organismes de potentiels candidats contre certaines pathologies liées au stress oxydatif.

## 5. Conclusion

L'objectif assigné à cette étude a été de rechercher par des approches phytochimiques, d'autres voies d'utilisation du mélange *Sargassum natans* et *Sargassum fluitans*. Le screening réalisé au moyen de la CCM sur les différents extraits du mélange de sargasses—a révélé la coexistence de plusieurs phytoconstitués biologiquement actifs. L'estimation du potentiel antioxydant dudit mélange a indiqué une faible activité antioxydante. Cependant, malgré leur caractère encombrant, les *Sargassum* méritent un intérêt particulier, en ce sens que l'exploitation de leurs propriétés chimique et pharmacologique pourrait générer des profits économique et sanitaire.

## Références

- [1] Komoé K, Sankaré Y, Fofié NBY, Bamba A, Sahr AG-S. Taxonomic study of two species of *Sargassum*: *Sargassum fluitans* and *Sargassum natans* collected in Côte d'Ivoire coasts, West Africa. *Nature and Science* (2016) 14, 50-56.
- [2] Sankaré Y, Komoé K, Aka KS, Fofié NBY, Bamba A. Répartition et abondance des sargasses *Sargassum natans* et *Sargassum fluitans* (Sargassaceae, Fucales) dans les eaux marines ivoiriennes (Afrique de l'Ouest). *Int. J. Biol. Chem. Sci.* (2016) 10(4), 1853-1864.
- [3] Aka KS, Sankaré Y, Komoé K, N'Cho AJ. Influence des algues sargasses (*Sargassum fluitans*, *Sargassum natans*) sur les activités socio-économiques le long du littoral ivoirien (Côte d'Ivoire - Afrique de l'ouest). *Revue Canadienne de Géographie Tropicale* (2018) 5(2) : 10-15.
- [4] Liu L, Heinrich N, Myers S, Dworjanyn SA. Towards a better understanding of medicinal uses of the brown seaweed *Sargassum* in Traditional Chinese Medicine: A phytochemical and pharmacological review. *J. Ethnopharmacol.* (2012) 142, 591-619.
- [5] Oyesiku OO, Egunyomi A. Identification and chemical studies of pelagic masses of *Sargassum natans* (Linnaeus) Gaillon and *S. fluitans* (Borgesen) Borgesen (brown algae), found offshore in Ondo State, Nigeria. *Afr. J. Biotechnol.* (2014) 13(10), 1188-1193.
- [6] Kabran GR, Ambeu NC, Mamyrbékova-Békro JA, Békro Y-A. CCM d'extraits sélectifs de 10 plantes utilisées dans le traitement traditionnel du cancer du sein en Côte d'Ivoire. *Eur. J. Sci. Res.* (2011) 63(4), 592-603.
- [7] Mamyrbékova-Békro J, Konan M, Békro Y-A, Djié Bi M, Zomi Bi T, Mambo V, Boua B. Phytochemicals of the extracts of four medicinal plants of Côte d'Ivoire and assessment of their potential antioxidant by thin layer chromatography. *Eur. J. Sci. Res.* (2008) 24(2), 219-228.
- [8] Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenols with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* (1965) 16, 144-158.
- [9] Kabran GRM, Ambeu NC, Mamyrbékova-Békro JA, Békro Y-A. Phénols et flavonoïdes totaux dans les extraits organiques de dix plantes utilisées dans la thérapie du cancer du sein en Côte d'Ivoire. *Eur. J. Sci. Res.* (2012) 68(2), 182-190.
- [10] Hariri EB, Sallé G, Andary C. Involvement of flavonoids in the resistance of two poplar cultivars to mistletoe (*Viscum album* L.). *Protoplasma* (1991) 162(1), 20-26.
- [11] Konan K. Etude chimique et évaluation de l'activité antioxydante de quatre plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Thèse univ. de doctorat, Université d'Abobo-Adjamé (Côte d'Ivoire), (2010), 112.

- [12] Lebreton P, Jay M, Voirin B. Sur l'analyse qualitative et quantitative des flavonoïdes. Anal. Chim. Acta (1967) 49(7), 375-383.
- [13] N'guessan AHO, Dago DCE, Mamyrbékova-Békro JA, Békro Y.A. Teneurs en composés phénoliques de 10 plantes médicinales employées dans la thérapie de l'hypertension artérielle, une pathologie émergente en Côte d'Ivoire. Revue de génie industriel (2011a) 6, 55-61.
- [14] Takao T, Kitatami F, Watanabe N, Yagi A, Sakata K. A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. Biosci., Biotechnol., Biochem. (1994) 58, 1780-1783.
- [15] N'gaman KCC, Békro Y-A, Mamyrbékova-Békro JA, Bénéié A, Gooré S. Sur la composition en métabolites secondaires et l'activité anti-oxydante d'extraits bruts de *Gmelina Arborea* Roxb. (Verbanaceae) de Côte d'Ivoire, Afrique de l'Ouest: analyse par Chromatographie en Couche Mince. Eur. J. Sci. Res. (2009) 36(2), 161-171.
- [16] Blois M. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature (1958) 181, 1199 -1200.
- [17] Benkiki N. Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : Ruta Montana, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*. Thèse de Doctorat, Université El-Hadj Lakhdar Batna (Algérie), (2006), 198.
- [18] Kabran GRM. Etude chimique et cytotoxique de dix plantes médicinales de Côte d'Ivoire, utilisées dans le traitement traditionnel du cancer du sein. Thèse de Doctorat, Université Nangui Abrogoua (Côte d'Ivoire), (2014), 265.
- [19] Lagnika L. Etude photochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises; Thèse de doctorat; Université Louis Pasteur (Strasbourg/France), 2005, 268.
- [20] Wagner H, Bladt S. Plant drug analysis in thin layer chromatography, Springer Verlag Ed.atlas 2<sup>nd</sup> edition (1996), Berlin.
- [21] Ladiguina E, Safronitch L, Otriachenkova V, Bolandina I, Grinkevitch N. Analyse chimique des plantes médicinales. Edition Moska; Vischaya Chkola, (1983).
- [22] Dohou N, Yamni K, Tahrouch S, Idrissi Massani LM, Badoc A, Gmira N. Screening phytochimique d'une endémique Libéro-Marocaine, *Thymelaea luthroïdes*. Bull. Pharm. Bordeaux (2003) 142, 61-78.
- [23] Georgievskii V, Komissarenko N, Dmitrouk S. Substances bioactives des plantes médicinales ; édition « Naouka » Novosibirsk, (1990).
- [24] Merck E. Révélateurs pour la chromatographie sur couche mince et sur papier. Darmstadt (1980), 12–153.
- [25] Brou KG, Mamyrbekova BJA, Dogbo DO, Gogbeu SJ, Békro Y-A. On the qualitative phytochemical composition of crude hydromethanolic extracts of the leaves of 6 varieties of *Manihot esculenta* Crantz of Côte d'Ivoire. Eur. J. Sci. Res. (2010) 45(2), 200-211.
- [26] Traoré F, Faure R, Olivier E, Gasquet M, Azas N, Debrauwer L, Keita A, Timon-David P, Balansard G. Structure and antiprotozoal activity of triterpenoid saponins from *Glinus oppositifolius*. Planta Med. (2000) 66, 368–371.
- [27] Sparg G, Light ME, Staden J. Biological activities and distribution of plant saponins. J. Ethnopharmacol. (2004) 94, 219–243.
- [28] Mimaki Y, Kuroda M, Ide A, Kameyama A, Yokosuka A, Sashida Y. Steroidal saponins from the aerial parts of *Dracaena draco* and their cytostatic activity on HL-60 cells. Phytochemistry (1999) 50, 805–813.
- [29] Lucca A, Bland JM, Vigo CB, Cushion M, Selitrennikoff CP, Peter J, Walsh TJ. CAY-1, a fungicidal saponin from *Capsicum* sp. fruit. Med. Mycol. (2002) 40, 131–137.
- [30] Kwak WJ, Han CK, Chang HW, Kim HP, Kang SS, Son KH. Loniceroside C. An antiinflammatory saponin from *Lonicera japonica*. Chem. Pharm. Bull. (2003) 51, 333–335.
- [31] Sirtori CR. Aescin: Pharmacology, pharmacokinetics and therapeutic profile. Pharmacol. Res. (2001) 44, 183–193.
- [32] Mohammedi Z. Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid (Algérie), (2013), 169.
- [33] El Fennouni M. Les plantes réputées abortives dans les pratiques traditionnelles d'avortement au Maroc. Thèse de Doctorat. Université Mohammed V (Maroc), (2012), 152.
- [34] Cottigli F, Loy G, Garau D, Floris C, Caus M, Pompei R, Bonsignore L. Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of *Daphne gnidium* L. Phytomedicine (2001) 8(4), 302-305.
- [35] De Reviere B. Biologie et Phylogénie des algues, tome 1. Edition Belin, (2003). Paris.
- [36] Le Lann K. Etude de la biodiversité des Sargassaceae (Fucales, Phaeophyceae) en milieux tempéré et tropical : écologie, chimiotaxonomie et source de composés bioactifs. Autre [q-bio.OT]. Université de Bretagne occidentale – Brest (France), (2009), 364.
- [37] Rajauria G. et Abu-Ghannam N. (2013). Isolation and partial characterization of bioactive fucoxanthin from *Himanthalia elongata* brown seaweed: A TLC-Based Approach. Int. J. Anal. Chem. (2013), 1-6. doi:10.1155/2013/802573.
- [38] Miyashita K., Nishikawa S., Beppu F., Tsukui T., Abe M. et Hosokawa M. The allenic carotenoid fucoxanthin, a novel marine nutraceutical from brown seaweeds. J. Sci. Food and Agric. (2011) 91, 1166–1174.
- [39] Maeda H. Nutraceutical effects of fucoxanthin for obesity and diabetes therapy: a review. J. Oleo Sci. (2015) 64(2), 125-132.
- [40] Ollier A. Utilisation des algues dans les compléments alimentaires : usages et justifications scientifiques. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Grenoble Alpes (France), (2017), 139.
- [41] Fleuriot A, Jay-A C, Macheix J. Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes (2005), 121-216.
- [42] N'guessan HA, Dago DCE, Mamyrbékova-Békro JA, Békro Y-A. CCM d'extraits sélectifs de 10 plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle en Côte d'Ivoire. Eur. J. Sci. Res. (2011b) 66(4), 575-585.
- [43] Desmier T. Les antioxydants de nos jours : définition et applications. Thèse de Doctorat. Université de Limoges (France), (2016), 87.
- [44] Tano MB, Kabran GRM, Konan KM, Yeboue AK, Mamyrbékova-Békro JA, Békro Y-A. Thin layer chromatographic profiles and antioxidant capacity of leaf extracts of *Nelumbo nucifera* Gaertn. (Nelumbonaceae) from Côte d'Ivoire. European J. Biomed. Pharm. Sci. (2018) 5(12), 111-118.

- [45] Faller H. Les applications et la toxicité des algues marines. Thèse de Doctorat. Université de Limoges (France), (2011), 131.
- [46] Gutiérrez R, Núñez R, Quintana L, Valdés O, González K, Rodríguez M, Hernández Y, Ortiz E. Optimization of the extraction process of phenolic compounds from the brown algae *Sargassum fluitans* Børgesen (Børgesen). *Biotechnol. Appl.* (2017) 34(3), 3301-3304.
- [47] Le Lann K, Jegou C, Stiger-Pouvreau V. Effect of different conditioning treatments on total phenolic content and antioxidant activities in two Sargassaceae species: Comparison of the frondose *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt and the cylindrical *Bifurcaria bifurcata* R. Ross. *Phycological Research* (2008) 56(4), 238-245.
- [48] Lim YY, Murtijaya J. Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. *LWT. Food Sci. Technol.* (2007) 40, 1664-1669.
- [49] Yan X., Nagata T. et Fan X. (1998). Antioxidative activities in some common seaweeds. *Plant Foods Hum. Nutr.* (1998) 52, 253-262.
- [50] Sachindra N, Sato E, Maeda H, Hosokawa M, Niwano Y, Kohno M, Miyashita K. Radical scavenging and singlet oxygen quenching activity of marine carotenoid fucoxanthin and its metabolites. *J. Agric. Food Chem.* (2007) 55, 8516-8522.
- [51] Nomura T, Kikuchi M, Kubodera A, Kawakami Y. Proton-donative antioxidant activity of fucoxanthin with 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH). *IUBMB Life* (1997) 42, 361-370.

## Phytochimie et activités antiradicalaires de *Acridocarpus monodii* : une plante endémique médicinale du pays dogon (Mali)

Dougnon J.<sup>1</sup> ; Konaré M.<sup>1</sup> ; Diarra N.<sup>1</sup> ; Togola I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, Mali; Faculté des Sciences et Techniques BPE 3206 ; dougnonjoudy@gmail.com

**Résumé** : Dans le pays Dogon au Mali, des milliers de plantes médicinales sont utilisées par la population locale. *Acridocarpus monodii* (appelé « bonogamasusu » en langue dogon) est l'une des plantes largement utilisée en médecine traditionnelle dogon contre la toux et les maladies inflammatoires surtout chez les enfants. A notre connaissance, il n'existe pas de données scientifiques disponibles au Mali sur cette espèce.

Ce travail s'inscrit dans le cadre global de la valorisation des plantes médicinales du pays Dogon. L'objectif est de mener une investigation phytochimique et d'évaluer le potentiel antiradicalaire des feuilles de *Acridocarpus monodii*.

Le screening basé sur les méthodes de caractérisation classiques a révélé que les extraits aqueux des feuilles de cette espèce contiennent de nombreux métabolites notamment les tanins, flavonoïdes, coumarines.

L'estimation quantitative a montré que ces extraits sont riches en polyphénols et flavonoïdes.

L'évaluation du pouvoir antioxydant qui a été réalisée en utilisant la méthode du piégeage de DPPH a indiqué que les extraits possèdent une bonne efficacité 1049,5±120 µg/ml (infusé) 735±10 µg/ml (macéré)

Nos résultats montrent que les extraits possèdent des composés doués d'une forte activité antioxydante. Cependant, des tests biologiques seraient nécessaires avant de suggérer leur utilisation sous forme d'extrait contre les inflammations.

**Mots clés** : *Acridocarpus monodii*, activité antioxydante, polyphénols, Pays dogon.

## Phytochemistry and antiradical activities of *Acridocarpus monodii*: a medicinal plant endemic to the Dogon Country (Mali)

**Abstract**: In the Dogon country in Mali, thousands of medicinal plants are used by the local population. *Acridocarpus monodii* (called "bonogamasusu" in the Dogon language) is one of the plants widely used in traditional Dogon medicine against coughs and inflammatory diseases, especially in children. To our knowledge, there is no scientific data available in Mali on this species.

This work is part of the global framework of the valorization of medicinal plants in the Dogon country. The objective is to conduct a phytochemical investigation and to evaluate the antiradical potential of *Acridocarpus monodii* leaves.

The screening based on classical characterization methods revealed that the aqueous extracts of the leaves of this species contain numerous metabolites, in particular tannins, flavonoids, coumarins.

Quantitative estimation showed that these extracts are rich in polyphenols and flavonoids.

The evaluation of the antioxidant power which was carried out using the DPPH trapping method indicated that the extracts have a good efficiency 1049.5±120 µg/ml (infused) 735±10 µg/ml (macerated)

Our results show that the extracts contain compounds with strong antioxidant activity. However, biological tests would be necessary before suggesting their use in the form of extracts against inflammations.

**Key words**: *Acridocarpus monodii*, antioxidant activity, polyphenols, Dogon Country

### 1. Introduction

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce à leurs vertus thérapeutiques. Ces vertus thérapeutiques sont attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétisées par la plante non seulement comme des agents chimiques contre les maladies, les herbivores et les prédateurs mais aussi comme des agents médicinaux tels que les antioxydants. (Achour *et al.*, 2014). Depuis plusieurs années, de nombreux chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales pour leur richesse en antioxydants naturels à savoir les polyphénols, les flavonoïdes, et les tanins, qui permettent aux organismes de se défendre face aux agressions du milieu dans lequel elles évoluent (Dioum *et al.* 2013).

Actuellement dans le monde, face aux effets indésirables des médicaments modernes et aux différentes formes de résistance aux antibiotiques, des milliers de plantes médicinales sont utilisées par les populations locales. Parmi ces plantes, l'espèce *Acridocarpus monodii* Arène & Jaeger (**voir Figure 1a**), plante endémique du pays Dogon au Mali est très prisée par les populations locales.

Cette espèce appartient à la famille des Malpighiaceae et se présente sous forme de buisson ramifié sarmenteux, lianescent dans les stations les plus ombragées ou retombantes (Birnbaum et al., 2005). Selon nos connaissances, l'espèce n'existe dans le monde, qu'au pays Dogon, on y trouve en particulier, au sud des falaises de Bandiagara au Mali (Birnbaum *et al.* 2005). Le savoir traditionnel Dogon la considère comme essentielle à la vie quotidienne, notamment en raison de ses vertus médicinales dans la lutte contre la toux, la convulsion, surtout chez les enfants selon notre enquête et elle servait à traiter les fièvres pernicieuses selon Birnbaum *et al.* (2005).

Malgré ses nombreuses vertus, il n'existe pas de données biochimiques disponibles au Mali sur *Acridocarpus monodii*. C'est pourquoi ce travail s'inscrit dans le cadre global de la valorisation des plantes médicinales du pays Dogon et en particulier celle de *Acridocarpus monodii*.

Ainsi les objectifs de ci-dessous ont été fixés.

#### ❖ Objectif général

Mener une investigation phytochimique et évaluer le potentiel antiradicalaire des extraits de feuilles de *Acridocarpus monodii*.

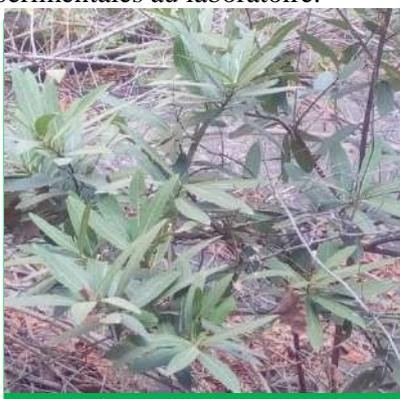
#### ❖ Objectif spécifiques

- Faire un screening phytochimique des feuilles de *Acridocarpus monodii*.
- Déterminer les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux des extraits de feuilles de cette plante.
- Evaluer l'activité antiradicalaire de ces extraits de feuilles.

## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2.1. Matériel

Le matériel végétal était constitué des feuilles de *Acridocarpus monodii* Arène & Jaeger récoltées dans le village de Ireli / région de Mopti (Mali), en Août 2020. L'identification a été faite au Laboratoire de botanique de la Faculté des Sciences et Techniques (FST) de Bamako. Les feuilles, séchées à l'ombre dans un endroit aéré puis pulvérisées (voir **Figure 1b et 1c**), ont été utilisées pour les études expérimentales au laboratoire.



**a. Photo de la plante**



**b. Feuilles**



**c. Poudre des feuilles**

**Figure 1 :** Quelques images de *Acridocarpus monodii* Arène & Jaeger

### 2.2. Méthodes :

#### 2.2.1. Préparation des extraits

##### ➤ Macération en milieu hydro-alcoolique et aqueux :

En effet 5g de poudre de matière végétale ont été mises à macérer dans 100 mL de solvant d'extraction (Méthanol à 80% ou aqueux) sous agitation magnétique pendant 24 heures. Après filtration, le résidu est ensuite rincé avec 50 mL de solvant. Nous avons ensuite extrait de nouveau avec 50 mL de solvant dans les mêmes conditions et filtrer de nouveau. Les deux filtrats sont additionnés et évaporés à sec au rotavapor à une température de 45°C. Le résidu obtenu est dissous dans 50 mL de solvant et conservé pour les analyses (Konaré *et al.* 2019).

##### ➤ Infusion en milieu aqueux :

5g de poudre des feuilles ont été homogénéisées dans 100 mL d'eau distillée bouillante, après refroidissement, le filtrat obtenu est évaporé à sec au rotavapor à la température de 45°C. Nous avons enfin récupéré le résidu dans 50 mL d'eau distillée et le gardé au froid pour les dosages (Abetti, 2014)

➤ **Décoction en milieu aqueux :**

Dans un ballon nous avons introduit 5g de la matière végétale avec 100 mL d'eau distillée, chauffé le ballon jusqu'à l'ébullition puis poursuit la cuisson pendant 20 mn sous agitation. Nous avons récupéré le filtrat et évaporé à sec sous vide au rotavapor à la température de 45°C ensuite le résidu est dissous dans 50 mL et conservé au froid pour les analyses (Togola *et al.*2020)

**2.2.2. Screening phytochimique :**

Un criblage phytochimique a été effectué rechercher les grands groupes chimiques de métabolites secondaires contenus dans les différents extraits et responsables des éventuelles activités.

Les tests de caractérisation sont basés sur des réactions colorées et de précipitations en tube par des réactifs chimiques spécifiques. Les techniques analytiques résumées dans le tableau 1 ci-dessous sont celles décrites par Diarra *et al.* (2019) et Togola *et al.* (2020).

**Tableau 1 :** Réactifs spécifiques et réactions du criblage phytochimique

Groupes chimiques	Réactifs	Résultats positifs
Alcaloïdes	Dragendorff (solution aqueuse d'iodobismuthie de potassium)	Précipité orangé à rouge au fond du tube.
	Mayer (solution aqueux de mercuri-iodure de potassium)	Précipité blanc-jaunâtre au fond du tube.
Tanins	Chlorure ferrique (FeCl <sub>3</sub> )	Coloration bleu-foncée ; noire ou verte.
Flavonoïdes	Shinoda (réaction à la cyanidine)	Coloration orangée (flavones), rouge (flavonols) ou violette (flavonones)
Coumarines	Réaction à l'ammoniaque (NH <sub>4</sub> OH à 25%)	Apparition d'une fluorescence intense dans le tube sous une lampe UV à 366nm
Saponosides	Test de mouse	Une hauteur de mouse persistante supérieure ou égale à 1cm
Triterpènes stéroïdes	Libermann-burchard (Anhydride acétique –Chloroforme- H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :5; 5;1)	Coloration violette, bleue ou verte
Sucres réducteurs	Réduction à la liqueur de Fehling	Précipité rouge brique
Anthraquinones	Borntrager (réaction à l'acide sulfurique(H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) dans un milieu basique (NH <sub>4</sub> OH)	Coloration plus ou moins rouge
terpénoïdes	Test de slakowski (chloroforme - H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	Formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase du tube

**2.2.3. Dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux**

✓ **Polyphénols totaux**

La quantification de ces métabolites secondaires pour chaque extrait de feuille a été effectuée selon la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par Rachedi *et al.*, (2018) ; et Adjdir *et al.*, (2018).

Cent microlitres d'extrait (100 µL) ont été mélangés avec 500 µL du réactif de Folin-Ciocalteu dilué. Après 5 minutes après, 400 µL d'une solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,5%), sont additionnés au mélange. Après 1 heure d'incubation à la température ambiante et à l'abri de la lumière, les absorbances sont lues contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765 nm. La droite d'étalonnage est réalisée en utilisant l'acide gallique (AG) comme standard. Toutes les mesures sont répétées au moins trois fois.

La teneur en composés phénoliques est exprimée en milligrammes équivalents d'acide gallique par g de matière végétale sèche (mg EAG/g).

## ✓ Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes, a été déterminé par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>), en suivant le protocole décrit par Togola *et al* (2019) et Ghedadba *et al.* (2015).

Une quantité de 1 mL de chaque extrait ou du standard est ajoutée à 1 mL de la solution d'AlCl<sub>3</sub> (2%). Après 10 min, les absorbances ont été mesurées à 430 nm par rapport au blanc préparé. La concentration en flavonoïdes totaux a été déduite à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine. Toutes les mesures sont répétées en triplicate.

Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g).

**2.2.4. Activité antiradicalaire**➤ **Test Phosphomolybdène (PPM) ou TAC**

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits de la plante a été évaluée selon le protocole décrit par Adjdir *et al.* (2018).

Un volume de 0,1 mL de chaque extrait est mélangé avec 0,9 mL de solution de réactif de TAC (0.6 M acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium).

Les tubes sont vissés et incubés à 90 °C pendant 90 min.

Après refroidissement, les absorbances des solutions sont mesurées à 695 nm contre le blanc qui contient 0,9 mL de la solution du réactif et 0,1 mL d'eau distillée incubé dans les mêmes conditions que les échantillons.

La droite d'étalonnage est réalisée à l'aide de la quercétine en suivant les mêmes étapes de dosage.

La capacité antioxydante totale est exprimée en milligrammes équivalents de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g).

➤ **Le test de DPPH**

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits des feuilles de *Acridocarpus monodii*, nous avons utilisé aussi la méthode basée sur la réduction du radical DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl), selon le protocole décrit par Konaré *et al* (2019) et Bene *et al* (2017).

50 µL de chaque solution, à différentes concentrations (0,006 à 0,2mg/mL) ont été ajoutés à 1950 µL de la solution méthanolique du DPPH (0.024g/L). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 µL de méthanol avec 1950 µL de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance a été faite contre un blanc à 515 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration le test a été répété trois fois. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition du DPPH (\%)} = [1 - (\text{DO essai} / \text{DO blanc})] \times 100.$$

Les valeurs des concentrations pour inhiber ou réduire 50 % de la concentration initiale du DPPH (IC<sub>50</sub>) sont déterminées graphiquement par la régression linéaire.

**3. RESULTATS ET DISCUSSION :****3.1. Screening phytochimique :**

Les résultats obtenus lors du criblage phytochimique de *Acridocarpus monodii* sont récapitulés dans le tableau 2 ci-dessous.

**Tableau2 :** Résultats du screening phytochimique des extraits de *Acridocarpus monodii* :

Groupe chimique	Infusion	Macération aqueuse	Décoction	Macération hydrométhanolique
Alcaloïdes	+	+	+	+
Tanins	+	+	+	+
Flavonoïdes	+	+	+	+
Coumarines	+	+	+	+
Saponines	-	-	-	-

Stérols triterpènes	+	+	+	+
Sucres réducteurs	+	+	+	+
Anthraquinones	+	+	+	+
Terpenoïdes	+	+	+	+

**NB : Légende:** présence (+) ; Absence (-)

Les tests effectués révèlent la présence de divers métabolites secondaires dans les extraits évalués. On note la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins, des sucres réducteurs, des anthraquinones, des coumarines dans les feuilles et ce quel que soit le mode d'extraction utilisé. Cependant nous n'avons pas décelé les saponines dans ces extraits.

Au Madagascar, des travaux menés sur une autre espèce de *Acridocarpus* par Benjamin Lisan, l'écorce de *A excelsus* très riche en tanins est employée pour la lutte contre la diarrhée et la dysenterie et les racines infusées fraîches dans les affections des voies urinaires.

Au Mali, Samaké et al., (2020) ont obtenus des résultats similaires aux nôtres dans les feuilles et fruits de *Lantana camara* L, une plante utilisée dans la lutte contre le paludisme, la toux, la dysurie et le rhume. De même en 2019, Konaré et al., ont obtenu des résultats similaires aux nôtres sur les feuilles et écorces de *Ficus platiphylla*.

### 3.2. Teneurs en polyphénols et flavonoïdes :

Les résultats obtenus sont consignés dans le Tableau 3.

**Tableau 3 :** Rendement d'extraction et teneurs des extraits en polyphénols et en flavonoïdes totaux

Types d'extraits	Rendement d'extraction (%)	Masse de polyphénols totaux (mg EAG/g)	Masse de flavonoïdes (mg EQ/g)
Infusion	11 %	8,66 ± 1,96	0,51 ± 0,10
Macération	17 %	70,65 ± 1,73	8,84 ± 0,60
Décoction	18 %	109,82 ± 2,36	8,57 ± 1,21
Méthanolique (80%)	15 %	61,21 ± 1,36	8,14 ± 0,02

Ces dosages révèlent que l'extrait décocté renferme les plus importantes teneurs en polyphénols (109,82 ± 2,36 mg EAG/g), et la plus faible au niveau des extraits infusés (8,66 ± 1,96 mg EAG/g).

En ce qui concerne les flavonoïdes, les trois dernières fractions (macération aqueuse, la décoction et macération hydrométhanolique) ont des teneurs approximatives.

En 2014, Ghedadba et al ont obtenu des teneurs inférieures aux nôtres avec les extraits méthanoliques des feuilles de *Marrubium vulgare* (195 ± 0,36 mg EAG/100g) pour les polyphénols et (33,10 ± 06 mg EQ/100g) pour les flavonoïdes.

D'après ces résultats, on déduit que le contenu phénolique et flavonoïdes dans les extraits examinés, dépend de la mode de préparation et de solvant utilisés dans la préparation des extraits.

### 3.3. Pouvoir antiradicalaire

Les valeurs des IC<sub>50</sub> déterminées en µg/mL exprimant la concentration efficace de l'extrait nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50 % de moles de DPPH et la capacité antioxydante totale (TAC) exprimée en mg équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g) sont présentées dans le tableau 4.

La méthode DPPH a montré que les quatre extraits de *Acridocarpus monodii* sont dotés d'un pouvoir antioxydant à différentes proportions mais relativement faible que celle d'acide ascorbique qui est 32,07 ± 0,15 µg/mL. Les extraits hydrométhanoliques des feuilles ont présenté les meilleurs résultats par rapport aux autres avec une IC<sub>50</sub> 536,66 ± 47,15 µg/mL. Ces résultats sont moins actifs que ceux

obtenus par Djahra *et al* (2014) soit 0,45 mg/mL au niveau des feuilles de *Marrubium vulgare*, une plante médicinale utilisée dans le traitement des maladies infantiles au sud du Bénin.

Le test de la TAC a révélé une forte activité dans les extraits et la plus petite valeur a été observée dans l'infusé qui est  $2,89 \pm 0,43$  mg EQ/g.

Les polyphénols contenus dans les extraits de *Acridocarpus monodii* sont probablement responsables de l'activité antioxydante de ces extraits. Par conséquent, ces composés phénoliques présents dans la plante, par leurs propriétés antioxydantes pourraient jouer un rôle important dans la prévention et/ou le traitement des maladies infantiles.

**Tableau 4 : Résultats du test de DPPH ( $\mu\text{g/mL}$ ) et de TAC (mg EQ/g)**

Types d'extraits	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )	Teneur en TAC (mg EQ/g)
Infusion	$782,78 \pm 95,68$	$2,89 \pm 0,43$
Macération	$645,52 \pm 13,65$	$5,40 \pm 0,15$
Décoction	$562,55 \pm 21,42$	$5,32 \pm 0,24$
Macération hydrométhanolique	$536,66 \pm 47,15$	$5,12 \pm 0,27$
<b>Acide ascorbique (Standard)</b>	$32,07 \pm 0,15$	

#### 4. Conclusion

La présente étude a montré que les feuilles de *Acridocarpus monodii* sont riches en métabolite secondaires. Les résultats du dosage montrent une teneur relativement élevée en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans les feuilles. D'une manière générale les différents extraits étudiés présentent une bonne activité antiradicalaire. Par ailleurs, les extraits hydrométhanoliques ont présenté les meilleurs pouvoirs de réduction du radical DPPH. Ces différents métabolites et ce pouvoir antioxydant expliqueraient les usages traditionnels de cette espèce par les populations locales.

#### 5. References

1. Abdoulaye Idrissa Cissouma, Fatoumata Tounkara, Mehdi Nikoo, Na Yang and Xueming Xu. Physico Chemical Properties and Antioxidant Activity of Roselle Seed Extracts.2013. Advance Journal of Food Science and Technology 5(11) ,1483-1489
2. Abetti Soumia,(2014) Etude phytochimique et pouvoirs antioxydant et vasodilatateur des extraits de trois plantes du nord de Maroc (Daphne gnidium, Origanum elongatum, Cistus salviifolius) memoir de master
3. Badiaga, M. Etude ethnobotanique, phytochimique ET activités biologiques de Nauclea latifolia Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. In U. de B. et U. B. P. de Clermont-Ferrand (Ed.), Thèse de doctorat. Bamako; 2011.
4. Bagewadi Z; Muddapur U; Madiwal S; Mulla S;& Khan A.Biochemicale and enzyme Inhibitory attributers of methanolic leaf extract of Datura inoxia Mill.Environmental sustainability.2019; 2(1), 75-87.
5. Birnbaum P & Florenne JValidation d'Acridocarpus monodii Arènes & Jaeger ex Birnbaum & J.Florence,sp. nov. (Malpighiaceae). Notes sur sa biologie ( 2005) 27 (2) : 235-241
6. Bruneton; J Pharmacognosie:Phytochimie,plantes médeceinales (5<sup>ème</sup> Editi) .Paris :Edition Lavoisier Tec & Doc. Médicales Internationales 2016
7. Diarra N., Etude des plantes alimentaires des regions Sud du Mali : ethnobotanique, chimie et activité antioxydante.Thèse de doctorat. Université de Bamako-Faculté des Sciences et Techniques de Bamako(Mali)-(2012)157p.
8. Diarra N., Togola A., Denou A., Willcox M., Daou C. and Diallo D. "Etude ethnobotanique des plantes alimentaires utilisées en période de soudure dans les régions Sud du Mali. International Journal of Biological and Chemical Sciences. 2016; 10 (1): 184-197.
9. Diarra N; Denou A; Togola I; Daou C; Doumbia N et Konaré Mamadou A. Composition physico-chimique et biochimique des tubercules de Plecranthus rotundifolius ( poir .) spreng , (lamiaceae ) utilisés en alimentation au Mali. American Journal of Innovative Research and Applied Sciences, (2019):8(6)226-230.
10. Ghedadba N.; Hambaba L.; Ayachi M.; et al (2015) polyphenols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de Marrubium deserti de Noé.

11. Konaré MA.; Diarra N; Cissé C; Daoud AKT; Togola I; Kassogué A; Sanogo R & Ouattara AS. Evaluation of the biological activities of leaf and bark extracts of *Ficus platiphylla* Delile, a medicinal plant used in Mali. *Journal of medicinal plants research* (2020) vol 14(3) P 118 -128
12. Konaré MA; Toukara F; Somd M; Diarra N; et al (2019) phytochemistry and in vitro antioxidant activities of consumed picking products in Sikasso, Mali *international journal of advanced research(IJAR)* 7(12);847-857
13. Koné D; Diop B; Diallo D; Djilani A & Dicko A. Identification, quantitative determination and antioxidant. Properties of Polyphenols of some Malian medicinal plant Part used in folk Médecine. *Macro to Nano Spectroscopy*. 2012; 8, 131-142.
14. Mihin HB, Somda MK, Kabore D, Sanon S, Akakpo AY, Semde Z, Traore AS (2019). Biopreservation of meat using the essential oil from *Hyptis suaveolens* Poit. (Lamiaceae) in Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology* 18(29):808-818.
15. Samaké S, Togola I, Diarra N, Samaké M ; Etude ethnobotanique et screening phytochimique de la plantes ornementales à usage thérapeutique dans le District de Bamako, Mali. *International journal of Advanced Research (IJAR)* (2020) 8(08) : 251-262
16. Togola I; Dembélé AA; Tounkara F; Diarra N; Konaré MA; Karambé M; Maïga SZ & Dembélé D; Evaluation of in vitro antioxidant activities of ethanol extracts of *Datura innoxia* Mill. Leaves and seeds Harvested in Mali. *Annual Research & Review in biology* (2019) vol 33 (2) P 1-8
17. Togola I; Dembélé J; Daoud C; Diarra N; Badiaga M; Konaré MA; Karambé M; Sanogo R. ethnobotanical survey and phytochemical screening of some plants used in the management of Erectile Dysfunction in Bwatun (Mali). *Journal of Natural product and Resources*, 2020, 9 (1): 1-8.
18. Traoré K., Haidara M., Dénou A., Kanadjigui F., Sogoba M.N., Diarra B. Maïga S. et Sanogo R. (2019): Criblage phytochimique et activités biologiques de quatre plantes utilisées au Mali dans la prise en charge du paludisme chez les enfants. *European Scientific Journal*, vol.15 No.6 ISSN: 1857 – 7881(Print) e – ISSN 1857- 7431. P.212-226.

## **Etude de la variation de la température de cuisson sur le degré Alcoolique de la biere locale (tchoukoutou)**

Adjo cynthia kouakou<sup>1</sup>, kokou agbékonyi agbodan<sup>2</sup>, lumo awaga<sup>3</sup>, koffi jondo<sup>4</sup>.

*.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, E-mail : [lorianekouakou8@gmail.com](mailto:lorianekouakou8@gmail.com).*

### **Résumé**

Le Tchoukoutou, boisson locale alcoolisée, fabriquée à base du sorgho, dont l'optimisation et la bonne qualité relèvent de certains facteurs comme la température a fait l'objet de notre travail. Pour mener à bien cette étude, nous nous sommes fixés comme objectif général de structurer la production du Tchoukoutou. De manière spécifique l'étude veut systématiser la cuisson du moût, vérifier par des tests la qualité de la bière et produire une bière de qualité. Une investigation a été faite sur l'influence de la température sur la germination du sorgho et la cuisson moût. L'étude de l'effet de la température sur la germination du sorgho a été réalisée. Elle a concerné quatre différents paliers de températures qui sont : 23°C, 26°C, 30°C et 35°C. Une étude de l'influence de la température sur le brassage a été faite avec différentes variétés de sorghos et aussi à des paliers de températures différentes : 78°C, 83°C, 89°C, et 92°C. Les résultats ont montré que la température de germination idéale est de 30°C et pour le brassage 78°C. La durée de trempage lors de la germination, pour un bon taux de germination se situe entre 16h et 26h. En conclusion, le facteur température est un paramètre à ne pas négliger lors de la fabrication du Tchoukoutou. Notre étude ainsi faite servira de base pour des études ultérieures dans le même sens pour parvenir à une production industrielle standardisée du Tchoukoutou.

**Mots clés** : Température, Sorgho, Bière, Tchoukoutou.

## **Study of the variation of the cooking temperature on the alcoholic Degree of the local beer (tchoukoutou)**

### **Abstract**

Tchoukoutou, a local alcoholic drink, made from sorghum, the optimization and good quality of which depend on certain factors such as temperature were the subject of our work. To carry out this study, we have set ourselves the general objective of structuring the production of Tchoukoutou. Specifically, the study wants to systematize the cooking of the wort, verify the quality of the beer through tests and produce a quality beer. An investigation was made on the influence of temperature on sorghum germination and wort cooking. The study of the effect of temperature on the germination of sorghum was carried out. It concerned four different temperature levels which are: 23°C, 26°C, 30°C and 35°C. A study of the influence of temperature on brewing was done with different varieties of sorghum and also at different temperature ranges: 78°C, 83°C, 89°C, and 92° C. The results showed that the ideal germination temperature is 30°C and for brewing 78°C. The soaking time during germination, for a good germination rate is between 16h and 26h. In conclusion, the temperature factor is a parameter that should not be neglected when making Tchoukoutou. Our study thus made will serve as a basis for subsequent studies in the same direction to achieve a standardized industrial production of Tchoukoutou.

**Keywords**: Temperature, Sorghum, Beer, Tchoukoutou.

### **Introduction**

Le Tchoukoutou, boisson locale alcoolisée produite et consommée sur toute l'étendue du territoire togolais, est fabriqué de manière traditionnelle à base de sorgho qui en est la matière première de base. Il est une boisson réservée à la spécialité de certaines ethnies ou localités du pays, et demeure une des boissons traditionnelles sur le plan national. C'est une boisson à courte durée de conservation dont la qualité varie d'une production à une autre [1]. Il est également consommé pendant les travaux champêtres et donné à l'étranger pour se rafraîchir et lui souhaiter la bienvenue [2]. Cette boisson possède des valeurs nutritives qui contribuent à améliorer le régime alimentaire des populations consommatrices. De plus, des vertus thérapeutiques lui sont attribuées du fait de ses propriétés laxative, antipaludéenne et anti-hémorroïdaire [3]. Son coût relativement bas en fait également un produit à la portée de toutes les bourses [4]–[6]. Le processus technologique empirique est le suivant : maltage, mouture, pré-cuisson, aigrissement ou fermentation spontanée, filtration, cuisson, refroidissement, inoculation et fermentation alcoolique.

L'objectif de cette étude portera sur la variation de la température de cuisson, sur le degré alcoolique du Tchoukoutou, la structuration de la production du Tchoukoutou, la systématisation de la cuisson du

moût, la vérification de la qualité par des tests, et la production d'une bière standard de qualité. L'étude permettra d'améliorer à l'échelle artisanale ou semi industrielle la production et la qualité de la bière locale à base du sorgho. Cette étude a commencé par une enquête sur le terrain, puis l'étude du processus de germination de différentes variétés de sorghos avant la préparation et le contrôle de la température au cours des différentes étapes de la germination jusqu'à la cuisson. Le trempage, la germination et le séchage sont des étapes qui permettent d'enrichir les céréales en enzymes hydrolytiques ( $\alpha$  et  $\beta$  amylase), en sucres, en acides aminés et en vitamines. Dans un premier temps nous rechercherons et évaluerons l'intervalle de température requis qui permettrait l'obtention d'un meilleur rendement et dans un deuxième temps l'évaluation de la qualité gustative par l'appréciation des consommateurs.

## 2. Matériel et Méthodes

Les variétés du sorgho utilisées sont sélectionnées et cultivées dans la région des savanes : sorgho blancs (Sorvato1) et le sorgho rouge (KADAG). Elles ont été collectées à ITRA-TOGO. Ces deux sorghos ont permis l'étude de la germination. Les sorghos (KADAG), (JERRY), (sorvato28 + JERRY) et (sorvato1) ont été étudiés pour préparer la bière et faire les tests de la détermination de la température de germination et de cuisson idéale.

## 3. Paramètre physico-chimique de la bière

### 3.1. Mesure du pH

Le pH de la boisson a été mesuré par un pH –mètre électronique de type MP522 de précision  $\pm 0,002$  pH, préalablement étalonné.

### 3.2. Mesure de la Température (T°C)

Les paramètres enzymatiques dépendent fortement de la température. Il est donc important de la contrôler, et pour cela certains outils ou appareil sont mis au point pour contrôler la température. En exemple nous pouvons dire que le thermomètre est l'un des outils utilisés lors de la préparation.

### 3.3. Taux de germination (%) et capacité de germination

Le taux de germination indique combien de graines d'une espèce végétale, d'une variété de graines particulières sont susceptibles de germer sur une période donnée (pouvoir germinatif). C'est une mesure de l'évolution du temps de germination et elle est généralement exprimée en pourcentage. Par exemple, un taux de germination de 85% indique qu'environ 85 sur 100 graines germeront probablement dans de bonnes conditions pendant la germination. Le taux de germination est utile pour calculer les besoins en graines pour une zone donnée ou pour une variété donnée.

## 4. Méthodologie

L'étude s'est déroulée en deux étapes :

- Une enquête sur le terrain qui incluait six (6) quartiers de la ville de Lomé.
- Puis les travaux au laboratoire, qui ont permis de faire l'étude de l'influence de la température sur la germination, sur la cuisson et l'influence de la température sur la cuisson de la boisson locale à base du sorgho.

## 5. Processus de la préparation du Tchoukoutou de la germination jusqu'à la cuisson

### 5.1 Protocole expérimental (influence de la température sur la germination)

Les tests ont été faits sur deux variétés de sorgho : *Sorvato1* et *KADAG*. Un ensemble de 100 graines de sorgho *Sorvato1* et *KADAG* disposées dans des pots est trié et trempé dans de l'eau de robinet à de différentes températures T (23°C, 26°C, 30°C). La durée du trempage a été variée dans un intervalle de 2h à 72h (2h, 4h, 5h, 6h, 7h, 10h, 16h, 20h, 24h, 26h, 48h, 72h). L'eau de trempage n'est pas renouvelée. Trois essais (1<sup>er</sup>, 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup>) d'expérience ont été réalisés à ces différentes heures aux températures correspondantes. Ces graines ont été retirées de l'eau, égouttées et étalées sur papier Wattman. Les graines sont trempées pendant trois jours et sont humidifiées une fois par jour jusqu'au comptage des graines germées. Le pouvoir germinatif et le taux de germination sont déterminés.

### 5.2 Préparation traditionnel du Tchoukoutou

Le sorgho Kadag, Sorvato 1, sorvato28 + JERRY, ont été utilisées pour la préparation du Tchoukoutou dont les grandes étapes sont : maltage, brassage et fermentation. Une masse de 800g de sorgho est trempée dans de l'eau pendant 18 heures. Puis les grains hydratés sont lavés et égouttés à l'aide d'une passoire. Après 24h à la température de 30°C un deuxième lavage est effectué et les grains en germination sont égouttés et étalés dans une armoire en tapis mince et recouverts d'un torchon en coton

pendant 72 h. Et sécher pendant 12 h pour le Kablè-missine au laboratoire et 48h au soleil pour le Tchakpalo. Le malt obtenu est ensuite moulu en farine pour empâter. Le dépôt est précuit pendant 2 h. Après filtration, la partie prélevée est ajoutée au filtrat alors commence la fermentation lactique spontanée. Après 12 h à 15 h de fermentation lactique, le moût aigre obtenu est porté à ébullition pendant 2 h 30min pour concentrer et stériliser le moût. Et ensuite refroidi jusqu'à 30°C.

### 5.3 Processus de préparation industrielle du Tchoukoutou

Dans ce processus d'optimisation on aura une température de palier standard de production. Chaque palier favorisera l'action d'une enzyme et aura un résultat proprement sur la qualité de la bière. Palier protéinique c'est le palier qui a pour but de rendre claire la bière, moins dense et moins trouble. Le mélange sorgho, eau est porté à l'ébullition à température comprise entre 50 et 55°C. Dans cet intervalle de température, les protéines du malt se transforment en acides aminés par action combinée de l'eau et des enzymes protéinases et peptidases. Ce palier va durer trente (30) minutes. Palier de saccharification est le palier comporte une réaction biochimique permettant la transformation de l'amidon ( $C_6H_{10}O_5$ )<sub>n</sub>. Réalisable entre 55°C et 65°C, le palier de saccharification permet la formation de sucres fermentescibles. La beta( $\beta$ ) amylase décompose l'amidon en brisant la chaîne moléculaire et les dextrines. Cette étape dure au moins une (1) heure. Un moyen a été élaboré dans ce processus pour vérifier que ce palier de température est fini. Le test au lugol qui est le test fait permet s'il y a présence ou non de l'amidon. La présence de l'amidon indique le changement du mélange d'un petit prélèvement de la boisson mélangé avec l'iode dont la couleur passe au bleu/violet. Palier de saccharification : Réalisable entre 65°C et 70°C, dans ce palier de température il y a formation des sucres fermentescible car les beta amylases laissent place aux alpha( $\alpha$ ) amylase qui décomposent l'amidon en dextrines, cette phase dure trente (30) minutes à une (1) heure. Le test à l'iode peut aussi être répété ici pour être sûr que tout l'amidon a été transformé. Enfin le palier d'inhibition des enzymes consiste à élever la température à 78°C, la chaleur dégagée lors de cette augmentation permet de détruire les enzymes, ainsi on aura un bon rendement de brassage.

## 6. Les Résultats

### 6.1. Matériel utilisé pour la cuisson (lors de l'enquête)

Plus de la majorité des producteurs et productrices utilisent le bois pour la préparation en raison du fait que cela a été utilisé par les premiers producteurs et est aussi économique que contrairement à d'autres moyens d'utilisation. Pour cela 51 personnes sur 59 enquêtées utilisent le bois soit 86.44% et 6 personnes utilisent le gaz soit 10.16% et 2 personnes soit 3.39% utilisent le charbon de bois plus spécifiquement appelé (kpévika).

### 6.2. Les résultats de nos expériences de l'influence de la température sur la germination du sorgho sont contenus dans les figures suivantes :

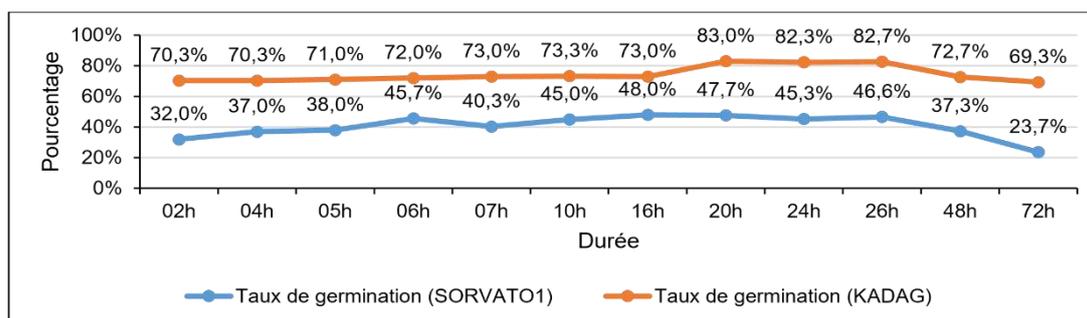


FIGURE 18 : Figure du temps de germination pour : SORVATO1 et KADAG à 23°C

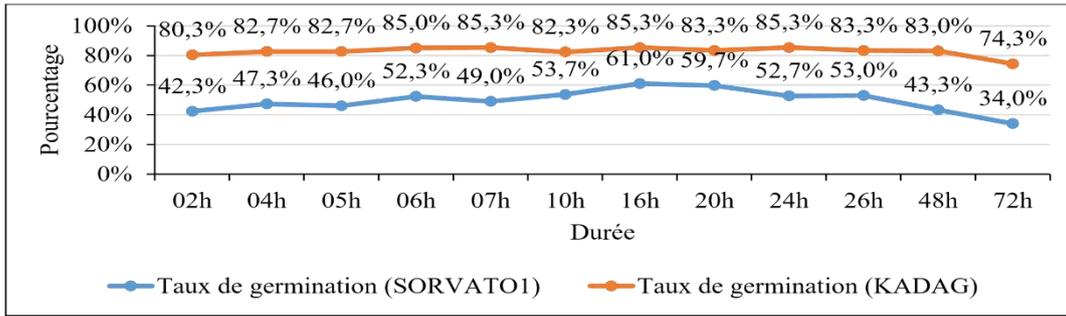


FIGURE 19 : Figure du temps de germination pour : SORVATO1 et KADAG à 26°C

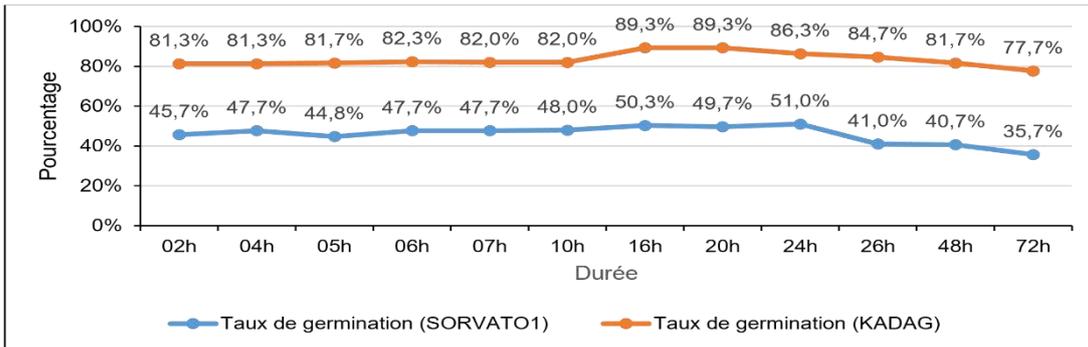


FIGURE 19 : Figure du temps de germination pour : SORVATO1 et KADAG à 30°C

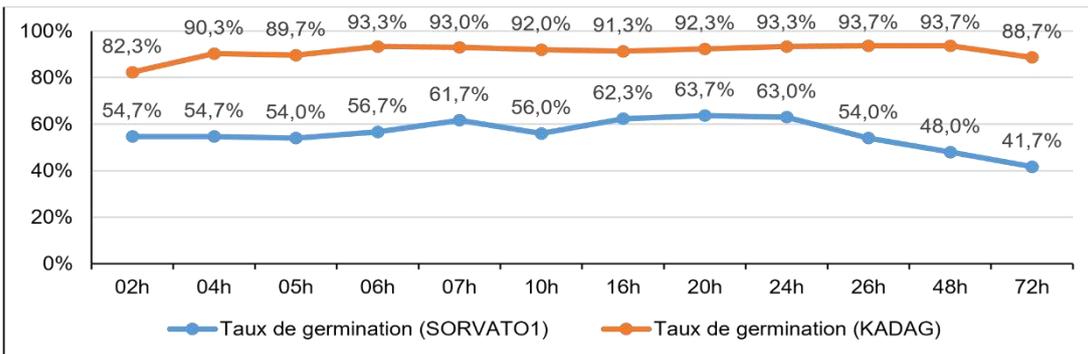


FIGURE 19 : Figure du temps de germination pour : SORVATO1 et KADAG à 30°C

## 7. Discussion

### 7.1. Influence de la température

#### 7.1.1 Effet de la température sur la germination

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une corrélation entre la germination du sorgho et la qualité de la bière obtenue. La température joue un grand rôle tout au long de la préparation de la bière. L'étude de l'influence de la température sur la germination a été faite sur différents paliers qui sont : 23°C, 26°C, 30°C et 35°C. Morrall et al en 1986 ont étudié la germination du sorgho à une plage de températures allant de 24 à environ 36°C et les conditions d'humidité [7]. Ils ont trouvé que les températures de germination de 24°C et 28°C étaient toutes deux également bonnes pour le développement du pouvoir diastatique, de l'azote  $\alpha$ -aminé libre et de l'extrait. Aux températures plus élevées les résultats de la germination ne sont pas significatives [7]. Singh et al en 2017 ont fait germer le sorgho à différents intervalles de temps (12, 24, 36 et 48 h) et à différentes températures de : 25, 30 et 35°C. Ils ont rapporté que la germination pendant 48 h à 35°C se traduit par une capacité de moussage et une activité d'émulsion plus élevée [8]. La température idéale de germination dans notre étude pour obtention d'une bonne bière est de 30°C. Pour une durée de 2h, le taux de germination de kadag est de 82,33% alors que pour la même durée, ces taux sont respectivement de 80,33% et 70,33% à 26 et 23°C respectivement. Dans ces mêmes conditions le taux de germination de sorvato 1 est de 54,67% à 30°C mais seulement

42,33 et 32% pour les températures de 26 et 23°C. L'augmentation de la température à 35°C ne donne pas un meilleur résultat. Le taux de germination est de 81,33% et 45,67% pour kadag et sorvato1 respectivement pour une durée de 2h de trempage. Aux températures de 26 et 23°C les qualités de la bière préparées ne sont pas bonnes. Notons qu'à 26°C et 35°C la bière produite est acceptable mais de moindre qualité à celle produite à 30°C. Les températures optimales de germination du sorgho et du mil recueillies dans la littérature sont comprises entre 25°C et 30°C ce qui serait proche de nos résultats.

### 7.1.2. Effet du temps de trempage

Singh et al avait rapporté que le temps de trempage est de 48h [8]. Ces résultats sont aussi similaires à ceux de Esechie et al en 1994 (48h à température de 30°C), dans l'étude de l'interaction de la salinité et de la température sur la germination du sorgho [9]. Tchienbou et al en juillet 2006, avaient constaté que la teneur en eau et le pouvoir diastasique augmentent avec la durée de germination [10]. La température de trempage et la teneur en eau sont des principaux facteurs qui influencent la durée optimale de trempage du sorgho. Suite à notre étude nous avons observé que le sorgho kadag commence par germer après 16h passé dans l'eau. La durée de trempage des grains ne doit pas dépasser 48h, car au-delà de ce temps, la majorité de ces grains se gâtent suite à une absorption excessive d'eau. Le dépassement de la durée de trempage de certains grains peut engendrer une transformation de la couleur. On observe aussi que la durée de trempage dépend entre autre de la nature du grain et a une influence sur le taux germination. Ainsi entre 16h et 26h, nous avons un meilleur taux de germination des grains de sorgho sorvato1 et kadag. Par exemple à 30°C pour une durée de 2h, sorvato1 et kadag ont un taux de germination respectif de 54,67% et 82,33% alors qu'à 16h à la même température le taux augmente à 62,33% et 91,33%. Il ressort de tout ce qui précède que le meilleur temps de trempage est compris entre 16h et 26h.

### 7.1.3 Effet de la température sur le brassage

Igyor et al ont fait une étude portant sur l'effet de la température des méthodes de maltage et de brassage sur la composition du moût de sorgho et la saveur de la bière. Les méthodes de brassage adoptées comprenaient une infusion à 65°C, une décantation à 80°C et une seconde décantation à 100°C. Plus de 80% des constituants du moût de sorgho ont montré une corrélation significative entre le temps et la température du maltage d'une part et la composition du moût du sorgho d'autre part. La composition du moût en sucres fermentescibles et le développement des composés aromatiques étaient plus élevés dans le malt de sorgho écrasé avec décantation à 80 ou 100°C que dans l'infusion à 65°C [11]. Le brassage effectué par Taylor et al en 1992 avait permis d'obtenir des extraits riches en sucres fermentescibles à une température constante de 75°C [12]. L'étude de l'influence de la température sur le brassage est faite avec différentes variétés de sorgho et à des différents paliers de température : 78°C, 83°C, 89°C, et 92°C. Dans notre étude la bière obtenue à un brassage de 78°C est meilleure selon les consommateurs. Toutefois le taux d'alcool ne varie pratiquement pas pour Sorvato1, kadag et le mélange sorvato 28 et jery. Il est de 3,11% pour Sorvato1, 3,22% pour la variété kadag et 3,34% pour le mélange sorvato 28 et jery. Les dégustateurs ont favorablement apprécié les différentes bières brassées à cette température. Aux autres températures (83°C, 89°C, et 92°C) des qualificatifs comme « aigre, mauvaise, très sucré, manque de cuisson » ont été avancés par les dégustateurs. Il ressort de tout ce qui précède qu'un brassage à 78°C soit recommandé.

## 8. Conclusion

En résumé le Tchoukoutou, bière traditionnelle togolaise jadis produite dans le nord du Togo a débordé les cadres géographiques de sa production. Suite à la valeur de cette boisson locale et aux enquêtes que nous avons effectuées, notre travail était axé sur l'influence de la température dans le but d'une amélioration de cette bière. Nous avons retrouvé qu'à chaque niveau de fabrication de cette bière locale, depuis la germination du sorgho à la cuisson, il faut une température optimale pour un bon rendement. L'appréciation de cette boisson locale par les consommateurs et la valorisation de nos produits locaux nous conduira à standardiser la température correspondante à chaque étape de cuisson, afin d'obtenir et avoir un degré universel du taux d'alcool sur tout le territoire national. Ainsi pour des perspectives à venir, des travaux plus accentués portant sur la température et le degré alcoolique pourraient être effectués afin d'aboutir à une industrialisation définitive de cette boisson locale avec des retombées économiques plus grandes.

**9. Références bibliographiques**

- [1] D. N. Amane, K. B. Kouame, C. Kouame, et E. N. Assidjo, « Optimisation du procédé de fabrication du tchapalo, bière traditionnelle ivoirienne par le plan factoriel fractionné », *Afr. Sci. Rev. Int. Sci. Technol.*, vol. 8, n° 3, p. 69-81, 2012.
- [2] S. Aka, K. Djè, G. Fokou, D. Mohamed, J. Ahoussi, et B. Bonfoh, « Production Et Consommation Du Tchapalo À Abidjan : Typologie Des Brasseuses Et Des Consommateurs », *Eur. Sci. J.*, vol. 13, janv. 2017, doi: 10.19044/esj.2017.v13n1p148.
- [3] S. Aka, F. Camara, Y. G. Loukou, et K. M. Dje, « Evaluation of Organic Acids and Sugars Contents During the Production of “Tchapalo”, a Traditional Sorghum Beer in Côte D’ivoire », p. 7, 2008.
- [4] « Yao AK, Kadio G, Coulybaly A, Agbo GZ (1995) Production du ‘Tchapalo’ a` partir du sorgho en Co`te d’Ivoire. In: Menyonga JM, Bezuneh T, Nwasike CC, Sedogo PM, Tenkouano A (eds) Processing and industrial utilization of sorghum and related cereals in Africa. Proceeding of the OUA/STRCSAFGRAD regional symposium. Ouagadougou, Burkina Faso, 22–26 November 1993, pp 55–60 », 1993.
- [5] M. K. Djè, K. F. N’Guessan, T. N. Djeni, et T. A. Dadie, « Biochemical Changes during Alcoholic Fermentation in the Production of “Tchapalo”, a Traditional Sorghum Beer », *Int. J. Food Eng.*, vol. 4, n° 7, sept. 2008, doi: 10.2202/1556-3758.1408.
- [6] « N’guessan KF, Djeni NT, Dadie AT, Dje KM (2008) Influence of alcoholic fermentation temperature on sorghum beer quality. *Food* 2(2):119–123 », 2008.
- [7] « Morrall, P., Boyd, H. K., Taylor, J. R. N., & Walt, W. V. D. (1986). Effect of germination time, temperature and moisture on malting of sorghum. *Journal of the Institute of Brewing*, 92(5), 439-445 », 1986.
- [8] « Singh, A., Sharma, S., & Singh, B. (2017). Effect of germination time and temperature on the functionality and protein solubility of sorghum flour. *Journal of Cereal Science*, 76, 131-139. », 2017.
- [9] « Esechie, HA (1994). Interaction de la salinité et de la température sur la germination du sorgho. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 172 (3), 194-199. », 1994.
- [10] F. L. Tchuenbou, « MALTAGE DU MIL ET DU SORGHO : MISE AU POINT D OUTILS ET METHODES ET APTITUDE AU MALTAGE DE QUELQUES VARIETES DU BURKINA FASO ET DU BENIN », p. 130.
- [11] M. A. Igyor, A. Ogbonna, et G. H. Palmer, « Effect of malting temperature and mashing methods on sorghum wort composition and beer flavor », *Process Biochem.*, vol. 36, p. 1039-1044, mai 2001, doi: 10.1016/S0032-9592(00)00267-3.
- [12] « Taylor, J. R. N. (1992). Mashing with malted grain sorghum. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 50(1), 13-18. », 1992.

## Etude pharmacognostique et activité antibactérienne de trois plantes utilisées dans la prise en charge des infections urinaires au Mali.

Dembele Daouda L<sup>1</sup>, Haidara Mahamane<sup>1</sup>, Kone Claire<sup>2</sup>, Denou Adama<sup>1</sup>, Diarra Mamadou L<sup>1</sup>, Sanogo Rokia<sup>1-2</sup>.

<sup>1</sup>Faculté de Pharmacie, Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), BP 1805 Mali

<sup>2</sup>Département de Médecine Traditionnelle, Bamako, BP 1746 Mali

### Résumé

Dans le contexte de l'apparition de phénomènes de résistance des germes à certains antibiostiques classiques, les plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle peuvent constituer une source alternative de molécules antimicrobiennes. Le présent travail a pour objectif d'analyser les échantillons de trois plantes utilisées dans le traitement traditionnel des infections urinaires au Mali.

Des échantillons de parties aériennes de *Cassytha filiformis* et *Gomphrena celosioides*, les feuilles et rhizomes de *Nymphaea lotus* ont été analysés pour déterminer les caractéristiques botaniques, physicochimiques et les constituants chimiques. L'activité antibactérienne des extraits a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque. Les tanins, les saponosides, les coumarines, les stérols et triterpènes et leucoanthocyanes ont été caractérisés dans la partie aérienne de *Cassytha filiformis* et dans les feuilles de *Nymphaea lotus*. L'extrait de la partie aérienne de *Cassytha filiformis* a démontré une activité antibactérienne sur les souches cliniques de *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, avec des diamètres de zones d'inhibition de 10 et 24 mm.

Ces résultats justifient en partie, l'utilisation traditionnelle des extraits de ces plantes, notamment des parties aériennes de *Cassytha filiformis* dans la prise en charge des infections urinaires.

**Mots clés :** *Cassytha filiformis*, Contrôle de qualité, Activité antibactérienne, *Escherichia coli*, Mali

## Pharmacognostic study and antibacterial activity of three plants used in the management of urinary tract infections in Mali.

### Abstract

In the context of the emergence of phenomena of resistance of germs to certain classical antibiotics, medicinal plants used in traditional medicine can constitute an alternative source of antimicrobial molecules. The objective of this work is to analyze samples of three plants used in the traditional treatment of urinary tract infections in Mali.

Samples of aerial parts of *Cassytha filiformis* and *Gomphrena celosioides*, leaves and rhizomes of *Nymphaea lotus* were analyzed for botanical, physicochemical characteristics and chemical constituents. The antibacterial activity of the extracts was assessed by the disk diffusion method. Tannins, saponosides, coumarins, sterols and triterpenes and leucoanthocyanins have been characterized in the aerial part of *Cassytha filiformis* and in the leaves of *Nymphaea lotus*. The extract from the aerial part of *Cassytha filiformis* demonstrated antibacterial activity against clinical strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, with diameters of inhibition zones of 10 and 24 mm. These results partially justify the traditional use of extracts from these plants, in particular the aerial parts of *Cassytha filiformis*, in the management of urinary tract infections.

**Keywords:** *Cassytha filiformis*, Quality control, Antibacterial activity, *Escherichia coli*, Mali.

### Introduction

Les infections urinaires sont très répandues et constituent une préoccupation importante de santé publique notamment dans les pays en développement. Elles représentent le deuxième motif de consultation en pathologie infectieuse, après les infections pulmonaires [1]. Au cours de ces dernières années, une augmentation de l'incidence des résistances aux antibiotiques des germes responsables d'infection urinaire a été constatée [2]. Dans toutes les régions du monde, la résistance aux antibiotiques atteint désormais des niveaux élevés, notamment avec l'apparition et la propagation de nouveaux mécanismes de résistance, compromettant ainsi la capacité à traiter les maladies infectieuses courantes [3]. Face à cette menace, les plantes médicinales constituent une source de nouvelles molécules à activité antimicrobienne économiquement accessibles [1]. Au Mali, les espèces de 03 plantes locales sont utilisées en Médecine traditionnelle dans la prise en charge des infections urinaires

Les objectifs de ce travail qui a eu lieu au Département de Médecine Traditionnelle sont de :

- Identifier les caractéristiques botaniques et physicochimiques des échantillons ;
- Caractériser les principaux constituants chimiques des extraits ;
- Déterminer l'activité antibactérienne des extraits.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel

**2.1.1. Matériel végétal**

Il est constitué par les parties aériennes de *Gomphrena celosioides* et *Cassytha filiformis*, des feuilles et rhizomes de *Nymphaea lotus*. Les échantillons ont été récoltés respectivement en juin, juillet et août 2019 à Bamako et Wassoulo. Ils ont été identifiés par l'ingénieur des eaux et forêts du département et un spécimen a été déposé à l'herbier pour des raisons de référence. Les échantillons ont été séchés pendant deux semaines puis pulvérisés au moulin pour obtenir une poudre grossière qui a servi pour les analyses.

**2.1.2. Matériel bactériologique**

Il est constitué par des souches cliniques mutantes de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ; de souche clinique sauvage de *Klebsiella pneumoniae* et des souches standards de *Klebsiella pneumoniae* (ATC 700603) et de *Staphylococcus aureus* (ATC 43300). Les souches cliniques sont issues de prélèvements d'urines des sujets présentant des signes d'infections urinaires enregistrés au laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital du Mali entre novembre 2019 et janvier 2020.

**2.2. Méthodes**

Identification des caractéristiques botaniques et physicochimiques des échantillons

**2.2.1.1. Les caractéristiques botaniques**

Les éléments caractéristiques botaniques ont été identifiés en utilisant un microscope binoculaire : une petite quantité de poudre a été triturée avec le réactif de Gadzet Chatelier dans un verre de montre puis monté sur une lame de verre, recouvert avec une lamelle et observé au microscope avec l'objectif 40. Les éléments microscopiques ont été photographiés en utilisant un téléphone portable de marque Techno CamonXpro.

**2.2.1.2. Caractéristiques physicochimiques**

La teneur résiduelle en eau, cendres totales, substances extractibles par l'eau et par l'éthanol, le rendement des extraits ont été en utilisant les méthodes générales d'analyses de la pharmacopée africaine (1988).

**2.2.1.2.1. Teneur en eau**

Le dosage de l'eau résiduelle a été effectué par dessiccation à l'étuve à la température de  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 24 heures.

**2.2.1.2.2. Teneur en 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  $600^\circ\text{C}$  pendant 6 heures. Après refroidissement dans un dessiccateur, les cendres ont été pesées. Les quantités obtenues ont permis de déterminer les masses de cendres et de calculer la teneur en cendres totales, exprimée en pourcentage.

**2.2.1.2.3. Dosage des substances extractibles par l'eau**

Sur un décocté de 1 g de poudre de drogue dans 20 mL d'eau distillée, le filtrat obtenu a été évaporé à sec dans une capsule puis repesée. Le pourcentage (%) de substances extractibles par l'eau a été calculé par la formule :  $\% \text{ de substances extractibles} = \frac{\text{masse après étuve-tare}}{\text{nombre de capsules}} \times 100$

**2.2.1.2.4. Dosage des substances extractibles par l'éthanol 70%**

Nous avons effectué une macération pendant 24 heures avec 1 g de poudre et 20 mL d'éthanol 70%. Le filtrat obtenu a été mis dans une capsule préalablement pesée et évaporé à sec. La capsule est ensuite pesée à froid et la masse du résidu a été déduite.

**2.2.1.2.5. Préparation des extraits****2.2.1.2.5.1. Décoction à l'eau**

A 20 g de poudre de chaque drogue, a été ajouté 200 mL d'eau distillé et porté l'ensemble à l'ébullition pendant 15 minutes. Le produit obtenu a été filtré avec une compresse. Le filtrat obtenu a été concentré au Rotavapor à la température de  $50^\circ\text{C}$  environ puis lyophilisé après congélation.

**2.2.1.2.5.2. Infusion à l'eau**

Pour chaque drogue, 20 g de poudre a été ajouté dans 200 mL d'eau distillé bouillante dans un erlenmeyer. L'ensemble a été ensuite laissé reposer pendant 15 minutes. Le filtrat obtenu a été concentré au Rotavapor puis lyophilisé.

**2.2.1.2.5.3. Macération à l'éthanol 70°**

Pour chaque drogue, 20 g de poudre a été macéré dans 200 mL d'éthanol dilué à 70% dans un erlenmeyer. Après une agitation de 24 heures, le filtrat a été concentré au Rotavapor et lyophilisé. Le rendement de chaque extrait a été déterminé.

### 2.2.1.3. Caractérisation des principaux constituants chimiques des extraits

Les constituants chimiques et antiradicalaires des extraits des échantillons ont été caractérisés en utilisant des réactions colorées et de précipitation en tube selon les méthodes générales d'analyse des matières végétales selon OUA (1988) et par la chromatographie sur couche mince (CCM) selon Wagner et Bladt, (1996) ; Sanogo *et al.*, (2014). Ainsi, ont été caractérisés les constituants les coumarines (ammoniaque), flavonoïdes (réaction à la Cyanidine), mucilages (éthanol absolu), oses et holosides (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré et alcool saturé avec du thymol), les tanins (chlorure ferrique à 10%), les saponosides (détermination de l'indice de mousse).

Les résultats ont été exprimés en croix positif ou négatif selon la réaction.

La chromatographie sur couche mince a été utilisée pour confirmer la présence de certains constituants. Un volume d'environ 10 µL des extraits aqueux (décocté, infusé) et éthanolique 70% (10 mg/mL) a été déposé à l'aide de micropipettes sur une plaque de gel de silice 60GF254 de 0,25 mm d'épaisseur. Les plaques ont été migrées dans les systèmes de solvants : Butanol - Acide acétique - Eau (60-15-25) et Ethyle Acétate : Ethyle Méthyle cétone : Acide formique : Eau (50 : 30 : 10 : 10). Elles ont été ensuite séchées et observées à la lampe UV à 254 nm pour observer les taches visibles à la lampe ultraviolette et à 366 nm pour les taches qui donnent des fluorescences. Les paques ont été révélés avec les réactifs Godin : Solution A (Vanilline 1g + 100 mL Ethanol 95°) + Solution B (Acide perchlorique 3 mL + q.s.p 100 mL H<sub>2</sub>O) et Solution C (Acide sulfurique 10 mL + 90 mL Ethanol 95°) et le trichlorure de fer (FeCl<sub>3</sub> 1%). Pour la caractérisation des constituants antiradicalaires, les plaques ont été révélées avec la solution méthanolique de 1-1 Diphényl-2-Picryl-Hydrazine (DPPH), dans la proportion 2 mg/10 mL.

Le Rapport frontal (Rf) des taches relatives aux principaux constituants a été calculé.

### 2.2.1.4. Détermination l'activité antibactérienne des extraits

L'activité antibactérienne des extraits a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion en Agar selon Bauer *et al.*, (1966).

#### 2.4.1.4.1. Préparation des solutions à tester

Les solutions à tester ont été obtenues en dissolvant 100 mg de lyophilisat de chaque type d'extrait pour chaque plante dans 1 mL de Diméthyl sulfoxyde (DMSO). Chaque type d'extrait dissous a été déposé sur un disque de papier de 6 mm de diamètre. Les disques ont été préparés avec 1, 4, 9 et 10 µL de solution de 100 mg/mL correspondant à 100, 400, 900 et 1000 µg d'extrait.

Le DMSO a été utilisé comme un témoin négatif.

#### 2.4.1.4.2. Antibiotiques standards utilisées

Augmentin (30 µg) (Amoxicilline + Acide clavulanique), Colistine (30 µg), Cefotaxime (30 µg), Ciprofloxacine (30 µg), Cefuroxime (30 µg), Oxacilline (30 µg) ont été utilisés.

## 3. Resultats et discussion

### 3.1. Identification des caractéristiques botaniques

**Tableau I** : Principaux éléments caractéristiques

Drogue	Eléments caractéristiques
Partie aérienne de <i>Cassitha filiformis</i>	Xylème spiralé ; Parenchyme.
Partie aérienne de <i>Gomphrena celosioides</i>	Parenchyme aux cellules allongées ; Xylèmes spiralés à ponctués.
Feuilles de <i>Nymphaea lotus</i>	Poils tecteurs en étoile ; xylèmes spiralé à ponctué
Rizhomes de <i>Nymphaea lotus</i>	cristaux d'oxalate de calcium ; tapis de fibres

Ces éléments caractéristiques sont utiles dans l'identification botanique des espèces notamment pour éviter les falsifications. Ils pourront constituer un point de départ pour définir les normes de qualité botanique en absence de données rapportées dans la littérature.

### 3.2. Détermination des dosages physicochimiques

**Tableau II** : Dosages effectuées sur les échantillons

Dosages	Teneurs (%)			
	Drogues	<i>C. filiformis</i>	<i>G. celosioides</i>	<i>Nymphaea lotus</i>

	Partie aérienne	Partie aérienne	Feuilles	Rhizomes
<b>Eau</b>	7,75	8,66	9,66	8,16
<b>Cendres totales</b>	6,78	12,24	<b>20</b>	<b>20</b>
<b>Substances extractibles par H<sub>2</sub>O</b>	3	<b>17</b>	4	<b>5</b>
<b>Substances extractibles par CH<sub>3</sub>OH 70°</b>	<b>18</b>	<b>18</b>	13	8

Tous échantillons ont un teneur résiduel en eau < 10%, ce qui est en faveur de bonnes conditions de conservation des extraits. Les forts taux en cendres totales des feuilles et des rhizomes de *Nymphaea lotus* sont en faveur de leur richesse en éléments minéraux. Une partie importante (18%) des constituants chimiques de *C. filiformis* et de *G. celosioides* sont extractibles par l'éthanol et 17% de ceux de *C. filiformis* sont extractibles par l'eau. Cela pourrait indiquer que ces solvants seraient idéals pour extraire une grande majorité des constituants chimiques de ces espèces.

**Tableau III : Rendement des extraits**

Drogue	Extraits	Rendements (%)
Partie aérienne de <i>Cassythia filiformis</i>	Infusion	19,25
	Décoction	10,65
	Macération éthanol 70%	6,30
Partie aérienne de <i>Gomphrena celosioides</i>	Infusion	18,20
	Décoction	20,35
	Macération éthanol 70%	<b>16,65</b>
Feuilles de <i>Nymphaea lotus</i>	Infusion	22,50
	Décoction	<b>24,90</b>
	Macération éthanol 70%	18,25
Rhizomes de <i>Nymphaea lotus</i>	Infusion	20,10
	Décoction	19,85
	Macération éthanol 70%	10,90

Le meilleur rendement de l'extraction est obtenu avec les extraits aqueux comparativement à l'extrait éthanolique. Cela pourrait justifier la forme d'utilisation traditionnelle des drogues en tisane.

### 3.3. Caractérisation des principaux constituants chimiques

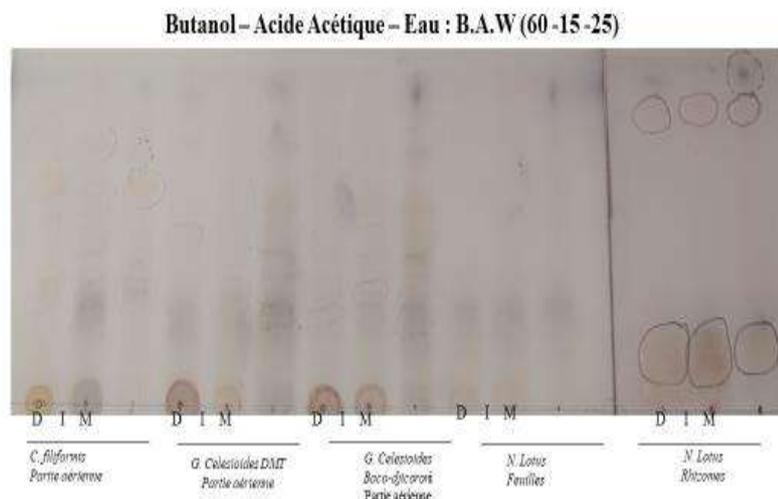
Les constituants caractérisés par les réactions colorées et de précipitations en tubes sont résumés dans le tableau IV.

**Tableau IV : Rendement des extraits**

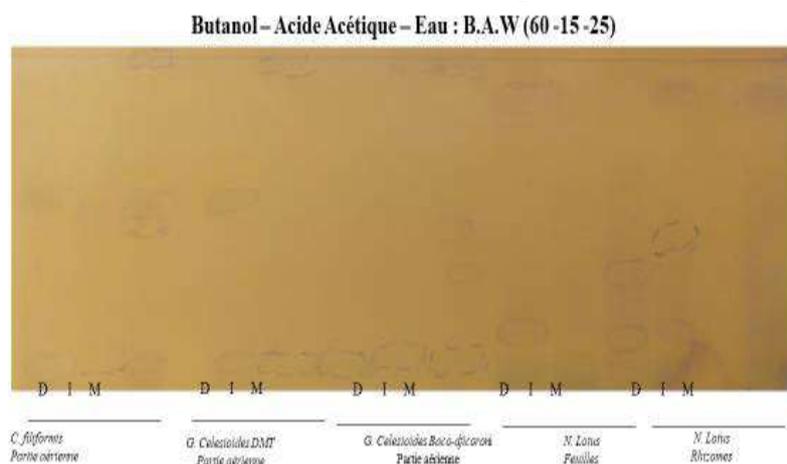
Constituants chimiques	Réactions colorées et de précipitation			
	<i>C. filiformis</i>	<i>G. celosioides</i>	<i>Nymphaea lotus</i>	
	Partie aérienne	Partie aérienne	Feuilles	Rhizomes
Coumarines	+	-	+	-
Tanins	+	+	+	+
Oses et holosides	+	+	+	+
Mucilages	+	+	+	+
Stérol et triterpène	+	-	+	-
Leucoanthocyanes	+	-	-	-
Saponosides	200	<b>500</b>	200	125
Indice de Mousse				

Les tanins, oses et holosides, mucilages et les saponosides sont les constituants communs caractérisés dans les trois échantillons.

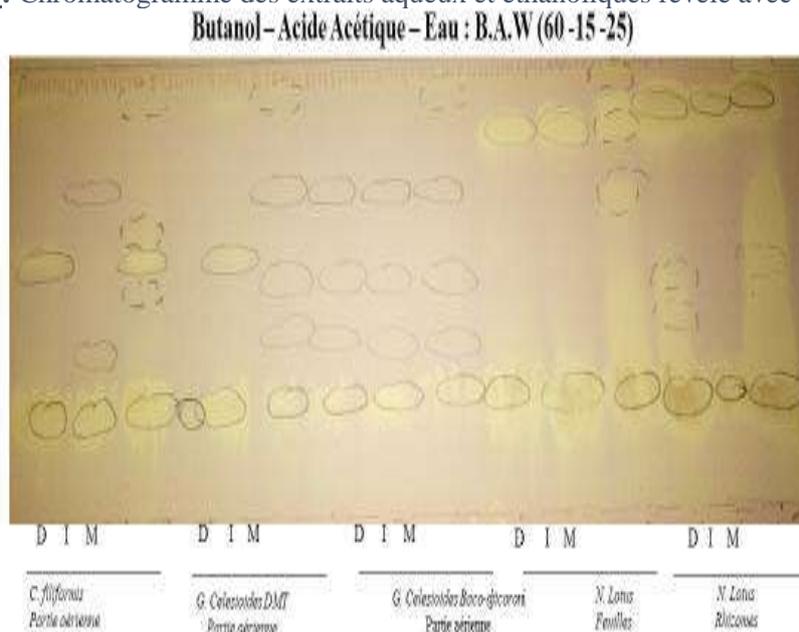
Les constituants chimiques caractérisés par la chromatographie sur couche mince après révélation des plaques par les réactifs de Godin, FeCl<sub>3</sub> et le DPPH sont représentés par les figures 1,2,3.



**Figure 23 :** Chromatogramme des extraits aqueux et éthanolique révéle avec Godin. Les tâches jaunes, vertes et violettes révélées par le réactif de Godin pourraient être respectivement des **flavonoïdes** et des **saponines**.



**Figure 2 :** Chromatogramme des extraits aqueux et éthanoliques révéle avec  $FeCl_3$  10%.



**Figure 3 :** Chromatogramme des extraits aqueux et éthanoliques révéle par le DPPH

Les taches noirâtres obtenues avec le  $FeCl_3$  10% pourraient être des tanins.

Les taches jaunes sur fond violet obtenues avec le réactif de DPPH pourraient être des **constituants antiradicalaires**.

Les principaux constituants chimiques caractérisés dans les échantillons sont comparables à ceux rapportés dans les travaux de Mythili *et al* (2012) ; Adelakun *et al* (2015) ; Adeoti *et al* (2016) à la différence de la présence d'alcaloïdes identifiés dans les parties aériennes de *Cassytha filiformis*.

### 3.4. Détermination de l'activité antibactérienne des extraits

**Tableau V: Diamètres d'inhibition des extraits**

Extraits & antibiotiques	Doses (µg)	Diamètres d'inhibition (mm) des extraits et des antibiotiques avec les souches bactériennes utilisées	
		<i>Escherichia coli</i> (souches cliniques)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (souche sauvage)
Disque contrôle	400	0	0
Infusé de la partie aérienne de <i>Cassytha filiformis</i>	1000	<b>24</b>	<b>19</b>
Macéré (CH <sub>3</sub> OH 70%) des rhizomes de <i>Nymphaea lotus</i>	1000	<b>10</b>	0
Augmentin	30	11	19
Colistine	30	15	14
Ceftazidime	30	20	20

L'infusé de la partie aérienne de *Cassytha filiformis* a obtenu le diamètre d'inhibition le plus élevé (24 mm) à la dose de 1000 µg sur *Escherichia coli* et sur *Klebsiella pneumoniae* (19 mm) suivi du macéré éthanolique du rhizome de *Nymphaea lotus* (10 mm) sur *Escherichia coli*. Ce résultat est similaire à celui des travaux Adonu *et al* 2013 qui ont permis de démontrer respectivement l'activité antibactérienne des extraits des parties aériennes de *Cassytha filiformis* et des feuilles de *Nymphaea lotus*. Par ailleurs, les travaux de Dosumu *et al* (2010) ; Adeoti *et al*. (2016) ont permis de démontrer respectivement activité antibactérienne, anti-oxydante, anti-inflammatoire et analgésique des extraits de *Gomphrena celosoides*. Aussi les données de sécurité des trois plantes sont rapportées dans les travaux de Sharaibi *et al* (2015).

### Conclusion

Au terme de ce travail, les éléments de qualité botanique des échantillons de *Cassytha filiformis* ; *Gomphrena celosoides* ; *Nymphaea lotus* ont été identifiées. Les espèces locales présentent des données physicochimiques de qualités et les principaux constituants chimiques comme les tanins, flavonoïdes, saponosides, oses et holosides, mucilages et les constituants anti-radicalaires déjà identifiés dans les plantes. L'infusé de *Cassytha filiformis* et le macéré de *Nymphaea lotus* ont obtenu des diamètres d'inhibition en faveur d'une activité bactérienne sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*.

Le résultat de ce travail et ceux de la littérature ayant confirmé *in vitro* un large éventail d'activités pharmacologiques (antibactériennes, antiradicalaires, antioxydantes, antalgiques et anti-inflammatoires) et la non toxicité des extraits aqueux et éthanoliques des trois plantes permettent de confirmer leurs utilisations traditionnelles dans la prise en charge des infections urinaires. Ces travaux pourraient être valorisés par la mise au point d'un nouveau MTA catégorie 2 (forme tisane) à base de ces trois plantes, notamment la partie aérienne de *Cassytha filiformis* pour la prise en charge des infections urinaires au Mali.

### 1. Références

- [1]. Sanogo, R., Diallo, D., Diarra, S., Ekoumou, C., Bougoudogo, F. (2006). Activité antibactérienne et antalgique de deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite au Mali. Mali Médical 2006 T XXI N° 1.
- [2]. Rakotovao-Ravahatra, Z.D., Randriatsarafara, F.M., Rasoanandrasana, S., Raverohanta, L., & Rakotovao, A.L. (2017). Phénotypes de résistance des souches de *Escherichia coli* responsables d'infection urinaire au laboratoire du Centre Hospitalo-Universitaire de Befelatanana Antananarivo. *Pan African Medical Journal*, 26. Doi:10.11604/pamj.2017.26.166.11828.
- [3]. OMS. (2020). Résistance aux antibiotiques. En ligne sur [www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance](http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance), consulté le 10/07/2021.
- [4]. OUA. (1988). Pharmacopée africaine. Méthodes générales d'analyses, Lagos, Vol.2. p264.

- [5]. Wagner, H., & Bladt, S. (1996). Plant drug analysis : a thin layer chromatography atlas. *Springer Science & Business Media*.
- [6]. Sanogo, R., Doucouré, M., Fabre, A., Diarra, B., Dénou, A., Kanadjigui, F., ... & Diallo, D. (2014). Standardisation et essai de production industrielle d'un sirop antipaludique à base d'extraits de *Argemone mexicana* L. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 17(1).
- [7]. Bauer, S.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Thurek, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. *American Journal of Pathology* 45 : 493-496.
- [8]. Khan, M.R. (2001). Antibacterial activity of some Tanzanian medicinal plants. *Pharmaceutical biology*, 39(3), 206-212.
- [9]. Adonu C.C., Esimone, C.O., Ugwu Okechukwu P.C., Bawa A et Ossai E.C (2013). In vitro evaluation of the antibacterial potential of extracts of the aerial parts of *Cassytha filiformis* against urogenital clinical gram positive organisms. *International Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences*, 2 (1), 1 – 9.
- [10]. Mythili, S., Sathivelu, A., & Sridharan, T. B. (2012). Antimicrobial activity of selected Indian folk medicinal plants. *Journal of Pharmacy Research*, 4(6), 1894-1898.
- [11]. Adalakun, K. M., Mustapha, M. K., Muazu, M. M., Omotayo, O. L., & Olaoye, O. (2015). Phytochemical screening and antibacterial activities of crude extract of *Nymphaea lotus* (water lily) against fish pathogens. *Journal of Biomedical Sciences*, 2(4), 38-42.
- [11]. Adeoti, M. F., Gogahy, K., Bidie, P. A., Camara-Cesse, M., Monteomo, F. G., Kolia, I. K., ... & Dosso, M. (2016). Anti-Inflammatory and Antioxidant Effects of Ethanol Extract of *Gomphrena Celosioides* (Amaranthaceae) in Wistar Rats. *Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 4(4), 503-511.
- [12]. Sahu, R. K., Roy, A., Kothiya, S., Maurya, A. K., & Kumar, R. (2012). Screening of Antipyretic and Analgesic Potential of Ethanol Extract of *Cassytha filiformis* Leaves. *Research Journal of Science and Technology*, 4(3), IV.
- [13]. Dosumu, O. O., Idowu, P. A., Onocha, P. A., & Ekundayo, O. (2010). Isolation of 3-(4-hydroxyphenyl) methylpropenoate and bioactivity evaluation of *Gomphrena celosioides* extracts. *EXCLI journal*, 9, 173.
- [14]. Sharaibi, O. J., Ogundipe, O. T., Magbagbeola, O. A., Kazeem, M. I., & Afolayan, A. J. (2015). Acute and sub-acute toxicity profile of aqueous leaf extract of *Nymphaea lotus* Linn (*Nymphaeaceae*) in wistar rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14(7), 1231-1238.

## Les plantes médicinales utilisées dans la prise en charge des maladies respiratoires en Afrique de l'Ouest.

\*Haidara Mahamane<sup>1</sup>, Diarra Mamadou L<sup>1</sup>, Dembele Daouda L<sup>1</sup>, Doumbia Sékou<sup>1</sup>, Diarra Birama<sup>2</sup>, Denou Adama<sup>1</sup>, Sanogo Rokia<sup>1-2</sup>.

<sup>1</sup>Faculté de Pharmacie, Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), BP 1805 Mali

<sup>2</sup>Département de Médecine Traditionnelle, Bamako, BP 1746 Mali

### Résumé

Les maladies respiratoires sont fréquentes dans la population et leur impact est considérable sur la morbidité et la mortalité. La présente étude avait pour objectif d'inventorier les plantes utilisées dans la prise en charge des maladies respiratoires en Afrique de l'Ouest dans le but d'identifier des potentiels plantes « candidates » pouvant être utiliser dans la prise en charge symptomatique du COVID – 19 qui constitue un réel problème de santé publique actuellement. Une étude bibliographique a été effectuée pour inventorier les plantes utilisées dans la prise en charge des maladies respiratoires. La qualité botanique et physicochimique de la poudre des feuilles de *Guiera senegalensis* récoltées dans cinq localités du Mali ont été déterminées. Sur les 145 plantes inventoriées, les plus fréquemment citées ont été *Guiera senegalensis*, *Sterculia setigera*, *Bridelia ferruginea*, *Euphorbia hirta* et *Terminalia avicennioides*. Les poudre des feuilles de *Guiera senegalensis* ont des caractéristiques botaniques et physicochimiques similaires quel qu'en soit les lieux de récolte. De nombreuses plantes sont utilisées dans la prise en charge des maladies respiratoires en Afrique de l'Ouest. Les résultats de cette étude pourraient servir de base de données des plantes utilisées dans la prise en charge des maladies respiratoire.

**Mots clés :** Plantes médicinales, Maladies respiratoires, Afrique de l'Ouest

## Medicinal plants used in the management of respiratory diseases in West Africa.

### Abstract

Respiratory diseases are frequent in the population and their impact is considerable on morbidity and mortality. The objective of this study was to inventory the medicinal plants used in the management of respiratory diseases in West Africa in order to identify potential “candidate” plants that can be used in the symptomatic management of COVID - 19 which is a real public health problem today. A bibliographic study was carried out to inventory the medicinal plants used in the management of respiratory diseases. The botanical and physicochemical quality of the powder from the leaves of *Guiera senegalensis* harvested from five localities in Mali has been determined. Of the 145 medicinal plants inventoried, the most frequently cited were *Guiera senegalensis*, *Sterculia setigera*, *Bridelia ferruginea*, *Euphorbia hirta* and *Terminalia avicennioides*. The powdered leaves of *Guiera senegalensis* have similar botanical and physicochemical characteristics whatever the places of harvest. Many medicinal plants are used in the management of respiratory diseases in West Africa. The results of this study could serve as a database of plants used in the management of respiratory diseases.

**Keywords :** Medicinal plants, Respiratory diseases, West Africa

### 1. Introduction.

Les maladies de l'appareil respiratoire touchent les voies aériennes (voies nasales, bronches et poumons). Ce sont soit des infections aiguës comme la pneumonie et la bronchite, soit des affections chroniques telles que l'asthme. Les maladies respiratoires sont fréquentes dans la population et leur impact sur la morbidité et la mortalité est important [1].

La vulnérabilité de la population mondiale face aux nouveaux agents pathogènes respiratoires a été mise en exergue par de récentes flambées épidémiques, notamment de grippe aviaire A(H5N1) hautement pathogène (GAHP) et de syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) [2]. Tout récemment, c'est le cas de la pandémie à la maladie à coronavirus apparue en décembre 2019 en Chine. Les agents responsables de ces flambées se sont propagés rapidement à l'échelle de plusieurs pays, entraînant d'importantes pertes en vie humaine et des perturbations économiques et sociales.

A travers l'histoire, les plantes issues des pharmacopées traditionnelles ont été sources de traitements et de principes actifs qui ont contribué à la lutte contre les maladies. A titre d'exemple, les deux principes actifs (quinine et artémisinine), utilisés dans la prise en charge du paludisme sont issus de pharmacopées traditionnelles de l'Amérique du Sud et de la Chine.

En Chine, *Artemisia annua* a joué un rôle particulier dans la lutte contre le coronavirus car elle est administrée seule et non pas mélangée à d'autres plantes. Elle est utilisée pour résoudre les symptômes de difficulté respiratoire modérée. C'est une plante qui est sûre et efficace [3,4].

Conformément, à l'expérience de la Chine, en Afrique des médicaments à base de plantes avec autorisation de mise sur le marché, peuvent contribuer à la prise en charge des difficultés respiratoires

et de la toux. Pour la toux, le sirop Balembo<sup>®</sup> est produit à base de *Crossopteryx febrifuga* Benth au Mali, le sirop Elooko<sup>®</sup> à base de *Guiera senegalensis* produit au Sénégal, le sirop Douba<sup>®</sup> à base de *Entada africana* est produit au Burkina Faso et le sirop Dissotis<sup>®</sup> à base de *Dissotis rotundifolia* est produit en Guinée [5]. Au Mali, le sirop Balembo<sup>®</sup> a été proposé dans la prise en charge de la toux sèche chez les personnes atteintes de Covid-19. Cela a été possible dans la le cadre d'un partenariat avec le Conseil National de l'Ordre des Pharmaciens (CNOP) du Mali.

Dans le but de contribuer à la lutte contre les affections respiratoires pouvant se manifester lors d'une infection à COVID-19, la présente étude a été initiée avec comme objectif d'inventorier les plantes médicinales utilisées dans la prise en charge des maladies respiratoires en Afrique de l'Ouest (Benin, Burkina-Faso, Cap-Vert, Côte d'Ivoire, Gambie, Ghana, Guinée, Guinée-Bissau, Liberia, Mali, Mauritanie, Niger, Nigeria, Sénégal, Sierra Leone et Togo).

## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2.1. INVENTAIRE DES PLANTES

#### 2.1.1. COLLECTE DES DONNEES

Une étude bibliographique exhaustive a été effectuée pour recenser les plantes utilisées dans la prise en charge des maladies respiratoires en consultant la base de données Google Scholar. Les mots clés tels que « plantes utilisées dans le traitement des maladies respiratoires en Afrique de l'Ouest » ou « medicinal plants used for the treatment of respiratory diseases in West Africa » ont été utilisés. La présente investigation a porté sur des articles originaux d'études ethnobotaniques, pharmacologiques et toxicologiques couplés à une revue de littérature.

Les informations relevées portaient surtout sur le nom des plantes utilisées dans la prise en charge des maladies respiratoires, les parties utilisées, le mode de préparation et la posologie si ceux-ci étaient mentionnés.

#### 2.1.2. ANALYSE DES DONNEES

Les données ont été saisies et analysées avec le logiciel Microsoft Excel version 10. La fréquence de citation (Fc) de chaque plante a été calculée selon la formule décrite par Guinnin et al. [6] :

$$F_c = \frac{\text{Nombre de citations de la plante considérée}}{\text{Nombre total de citations de toutes les plantes}} \times 100$$

Un score (S) de convergence d'usage bibliographique et de diffusion géographique [7] a été aussi calculé selon la formule suivante :  $S = I_1 \times I_2$

$I_1$  : Nombre de publications (extraits de la revue bibliographique) qui mentionne l'usage de l'espèce dans la prise en charge des maladies respiratoires,  $et I_2$  : Nombre des pays dans lequel est reporté l'usage de cette espèce pour la pathologie donnée.

### 2.2. CONTROLE DE QUALITE DE *GUIERA SENEGALENSIS*

*Guiera senegalensis* a été sélectionnée sur la base de la fréquence de citation dans la prise en charge des affections respiratoires. Les feuilles ont été récoltées dans cinq zones (Bougouni, Kangaba Kolokani, Kati et San) de peuplement naturel de la plante et séchées à l'ombre pendant deux semaines. Après séchage les feuilles ont été pulvérisés à l'aide du broyeur. Les poudres obtenues ont été soumis à un contrôle de qualité en déterminant les caractéristiques botaniques (caractères organoleptiques et éléments microscopiques)[8], les constantes physicochimiques (teneur en eau et cendres) et les constituants chimiques selon des méthodes d'analyses des matières végétales [9].

## 3. RESULTATS ET DISCUSSION

### 3.1. PLANTES INVENTORIEES

Un total de trois cent dix-huit (318) recettes issues de cent quarante-cinq (145) espèces végétales ont été inventoriées. Les espèces végétales les plus citées étaient *Guiera senegalensis* (4 citations), *Sterculia setigera*, *Bridelia ferruginea*, *Euphorbia hirta* et *Terminalia avicennioides* avec 3 citations chacune. Les meilleurs scores d'usages ont été obtenus aussi avec ces espèces : *Guiera senegalensis* (4 références provenant de 4 pays, S=16), *Sterculia setigera* (3 références provenant de 3 pays, S=9), *Bridelia ferruginea*, *Euphorbia hirta* et *Terminalia avicennioides* (3 références provenant de 2 pays, S=6).

Ces résultats suggèrent une forte convergence d'utilisation de ces espèces végétales dans la prise en charge des maladies respiratoires [7].

### 3.2. INDICATIONS SPECIFIQUES

Les indications spécifiques des espèces végétales inventoriées sont la toux, la tuberculose, l'asthme, la bronchite, l'irritation de la gorge, la pneumonie, le rhume, et la coqueluche. La toux était l'indication la plus citée des recettes (48,7%) et des espèces de plantes (70,3%) (voir tableau I).

*Guiera senegalensis* et *Terminalia avicennioides* sont utilisées principalement dans le traitement de la toux, la tuberculose et la bronchite. *Sterculia setigera* est utilisée dans le traitement de la toux et de la bronchite. *Bridelia ferruginea* en cas de toux, coqueluche et asthme. *Euphorbia hirta* en cas de toux rhume et asthme et toux, bronchite et tuberculose [3].

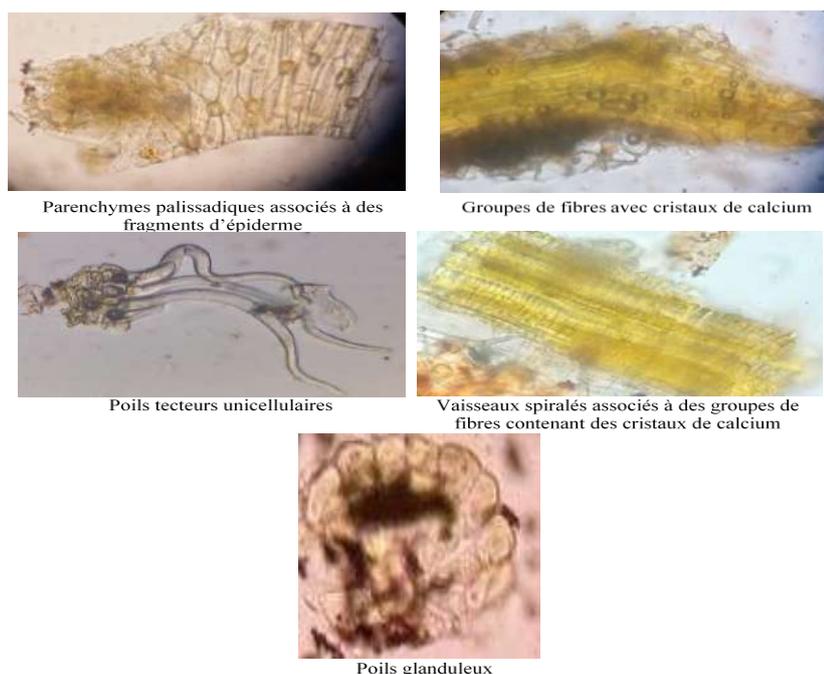
Les propriétés antitussives, bronchodilatatrices, antibactérienne ou antivirales des extraits de *Guiera senegalensis* [10–14], *Sterculia setigera* [3], *Bridelia ferruginea* [3], *Euphorbia hirta* [3], *Terminalia avicennioides* [3] rapportées dans la littérature pourraient justifier les différentes utilisations traditionnelles de ces plantes dans les maladies respiratoires.

**Tableau I :** Fréquence des recettes et des plantes utilisées dans les maladies respiratoires

Indications	Nombre de recette	% recette	Nombre de plante	% plante
Toux	155	48,7	102	70,3
Tuberculose	59	18,6	41	28,3
Asthme	42	13,2	38	26,2
Bronchite	23	7,2	17	11,7
Irritation de la gorge	15	4,7	10	6,9
Pneumonie	12	3,8	10	6,9
Rhume	9	2,8	8	5,52
Coqueluche	3	0,9	3	2,1
Total	318	100		

### 3.3. Qualité botanique

La poudre des feuilles des 5 échantillons était de couleur vert - grise avec une odeur non caractéristique et une saveur fade. L'examen microscopique des poudres a révélé la présence dans les 5 échantillons des poils tecteurs longs, unicellulaires, des groupes de fibres assez longues contenant des cristaux d'oxalate de calcium, vaisseaux spiralés associés à des groupes de fibres contenant des cristaux de calcium, poils glanduleux et des parenchymes palissadiques associés à des fragments d'épiderme (figure 1). Ces résultats sont légèrement différents de ceux rapportés par Silva et al. [15] qui ont trouvé la présence de stomate anomocytique qui fait partie des éléments caractéristiques de la famille des Combretaceae en plus des poils tecteurs, cristaux de calcium, vaisseaux spiralés [15].



**Figure 1 :** Les éléments microscopiques identifiés dans les cinq échantillons

### 3.4. QUALITE PHYSICOCHIMIQUE

#### 3.4.1. TENEURS EN EAU ET EN CENDRES

Les résultats de la teneur en eau et cendres sont montrés dans le tableau II. La teneur en eau a été inférieure à 10% dans les cinq échantillons. 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 [16]. La teneur en cendres insolubles est très faible (< 1%) dans les cinq échantillons. Ces résultats suggèrent que les échantillons contiennent très peu d'éléments siliceux (poussière et le sable) [16].

**Tableau II** : Teneur en eau et en cendres de la poudre des feuilles de *G. senegalensis* récoltées dans cinq localités du Mali.

Dosages	Teneur %				
	Bougouni	Kangaba	Kati	Kolokani	San
Eau	8,75	5,87	5,87	8,75	8,37
Cendres totales	4,12	3,47	4,02	4,28	3,51
Cendres insolubles dans HCl 10%	0,37	0,5	0,6	0,62	0,37

#### 3.4.2. CONSTITUANTS CHIMIQUES

Le criblage phytochimique a mis en évidence la présence des alcaloïdes, oses et holosides, stérols et triterpènes et tanins dans les cinq échantillons (voir tableau II). Les flavonoïdes étaient absents dans les cinq échantillons. Ces résultats sont légèrement différents de ceux rapportés par Somboro et al. [17] et Chedi et Mandawari [11] qui ont trouvé en plus de ces composés la présence des flavonoïdes dans les feuilles. Les propriétés antitussives des alcaloïdes de *Guiera senegalensis* ont été démontré ce qui pourrait justifier son utilisation dans le traitement de la toux [10].

**Tableau II** : Constituants chimiques caractérisés dans la poudre des feuilles de *G. senegalensis* récoltées dans cinq localités du Mali.

Groupes chimiques	Résultats				
	Bougouni	Kangaba	Kati	Kolokani	San
Alcaloïdes / Rendement (%)	+ (0,4)	+ / (0,2)	+ / (0,2)	+ / (0,4)	+ / (0,4)
Anthracénosides	+	+	+	+	+
Coumarines	++	++	++	-	-
Flavonoïdes	-	-	-	-	-
Oses et holosides	+	+	+	+	+
Saponosides (Indice de mousse)	-	+ (500)	-	+ (250)	+ (250)
Stérols et Tri terpènes	+	+	+	+	+
Tanins	+	+	+	+	+

### 4. Conclusion

De nombreuses espèces végétales sont utilisées dans la prise en charge des maladies respiratoires en Afrique de l'ouest. L'une des plantes la plus citée est *Guiera senegalensis*.

Les caractéristiques botaniques et les paramètres physicochimiques déterminés serviront pour identifier un bon échantillon des feuilles de *Guiera senegalensis*.

Les résultats de cette étude pourraient servir pour la mise en place d'une base de donnée des espèces végétales utilisées dans la prise en charge des maladies du tractus respiratoire en Afrique de l'ouest.

### 5. REFERENCES

- [1]. Lajoie P, Dagenais G, Ernst P, Neukirch F, Gérin M, Gosselin P, et al. Systèmes respiratoire et cardio-vasculaire. Environnement et santé publique—Fondements et pratiques. 2003;713–745.
- [2]. Organisation Mondiale de la Santé. Protocole d'investigation de la grippe non saisonnière et d'autres maladies respiratoires aiguës émergentes. 2018. Organisation mondiale de la Santé.
- [3]. Haidara M, Diarra ML, Doumbia S, Denou A, Dembele D, Diarra B, et al. Plantes médicinales de l'Afrique de l'Ouest pour la prise en charge des affections respiratoires pouvant se manifester au cours de la Covid-19. International Journal of Biological and Chemical Sciences. 2020;14(8):2941–2950.
- [4]. Van der Kooy F, Sullivan SE. The complexity of medicinal plants: The traditional *Artemisia annua* formulation, current status and future perspectives. Journal of Ethnopharmacology. 2013;150(1):1–13.

- [5]. Pousset JL. PLACE DES MÉDICAMENTS TRADITIONNELS EN AFRIQUE. Politiques Nationales Méd Trop., 2006;606–609.
- [6]. Guinnin FF, Sacramento TI, Sezan A, Ategbo J-M. Etude Ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel des hépatites virales B et C dans quelques départements du Bénin. International Journal of Biological and Chemical Sciences. 2015;9(3):1354–1366.
- [7]. Chassagne François. *Cancer du foie au Cambodge : état des lieux épidémiologiques ; description des médecines traditionnelles utilisées et évaluation de quelques espèces médicinales sélectionnées*. 2017.
- [8]. Haidara M. *Contribution à l'étude de l'activité pharmacologique de Terminalia macroptera Guill. et Perr.(Combretaceae) dans le but de l'élaboration d'un médicament traditionnel amélioré au Mali (Afrique de l'Ouest)*. 2018.
- [9]. Evans WC. *Trease and Evans' pharmacognosy*. 2009. Elsevier Health Sciences.
- [10]. Diatta W, Fall AD, Dieye AM, Faty S, Bassene E, Faye B. Experimental evidence of against cough activity of total alkaloids from *Guiera senegalensis* Lam. in guinea pig. Dakar medical. 2007;52(2):130–134.
- [11]. Chedi BA, Mandawari FK. In vitro evaluation of antiasthmatic activity of ethanol leaf extract of *Guiera senegalensis* j. F. GMEL (Combretaceae). African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2018;12(9):112–120.
- [12]. Arbab AH, Parvez MK, Al-Dosari MS, Al-Rehaily AJ. In vitro evaluation of novel antiviral activities of 60 medicinal plants extracts against hepatitis B virus. Experimental and therapeutic medicine. 2017;14(1):626–634.
- [13]. Parvez MK, Al-Dosari MS, Arbab AH, Al-Rehaily AJ, Abdelwahid MA. Bioassay-guided isolation of anti-hepatitis B virus flavonoid myricetin-3-O-rhamnoside along with quercetin from *Guiera senegalensis* leaves. Saudi Pharmaceutical Journal. 2020 ;28(5):550–559.
- [14]. Tine Y, Diop M, Ndoye I, Diallo A, Wele A. Revue bibliographique sur la composition chimique et les activités biologiques de *Guiera senegalensis* JF Gmel. (Combretaceae). International Journal of Biological and Chemical Sciences. 2019 ;13(7):3449–3462.
- [15]. Silva O, Serrano R, Gomes ET. Botanical characterization of *Guiera senegalensis* leaves. Microscopy and Microanalysis. 2008 ;14(5):398–404.
- [16]. Chanda S. Importance of pharmacognostic study of medicinal plants: An overview. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2014 ;2(5).
- [17]. Somboro AA, Patel K, Diallo D, Sidibe L, Chalchat JC, Figueredo G, et al. An ethnobotanical and phytochemical study of the African medicinal plant *Guiera senegalensis* JF Gmel. Journal of Medicinal Plants Research. 2011 ;5(9):1639–1651.

## Étude pharmacognostique et activité antiradicalaire de plantes de la famille des Combretaceae

Haidara Mahamane<sup>1\*</sup>, Denou Adama<sup>1</sup>, Marie Hortense Tienou<sup>2</sup>, Sanogo Rokia<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Faculté de Pharmacie, Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), BP 1805 Mali

<sup>2</sup>Département de Médecine Traditionnelle, Bamako, BP 1746 Mali

### Résumé

Les plantes médicinales constituent une source importante de principes actifs anticancéreux. Au Mali de nombreuses plantes de la famille des Combretaceae sont utilisées en médecine traditionnelle, entre autres pour la prise en charge des inflammations et des cancers. Le présent travail a pour objectif d'analyser les échantillons de feuilles de trois espèces de *Combretum* et d'évaluer l'activité antiradicalaire de leurs extraits.

Des échantillons des feuilles de *Combretum aculeatum*, *Combretum lecardii* et *Combretum molle* ont été analysés pour déterminer les caractéristiques botaniques, physicochimiques et les constituants chimiques des extraits. L'activité antiradicalaire des extraits a été évaluée par la méthode de réduction du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl. Les caractéristiques botaniques, paramètres physicochimiques et les constituants polyphénoliques caractérisés permettent l'identification d'un bon échantillon des feuilles de *Combretum aculeatum*, *Combretum lecardii* et *Combretum molle*. Pour l'activité antiradicalaire, les  $CI_{50}$  étaient comprises entre 2,1 – 9,4  $\mu\text{g/mL}$ . L'activité antiradicalaire est en faveur d'une activité anti-inflammatoire des extraits. Ces résultats peuvent en partie justifier l'utilisation de ces plantes dans la prise en charge traditionnelle du cancer.

**Mots clés :** *Combretum aculeatum*, *Combretum lecardii* et *Combretum molle*, Constituants antiradicalaires, Mali.

### Pharmacognostic study and antiradical activity of plants of the Combretaceae family

#### Abstract

Medicinal plants are an important source of anticancer active ingredients. In Mali, many plants of the Combretaceae family are used in traditional medicine, among other things for the treatment of inflammation and cancer. The objective of this work is to analyze leaf samples from three species of *Combretum* and to evaluate the antiradical activity of their extracts. Samples of the leaves of *Combretum aculeatum*, *Combretum lecardii* and *Combretum molle* were analyzed to determine the botanical, physicochemical characteristics and chemical constituents of the extracts. The antiradical activity of the extracts was evaluated by the reduction method of the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. The botanical characteristics, physicochemical parameters and the polyphenolic constituents characterized allow the identification of a good sample of the leaves of *Combretum aculeatum*, *Combretum lecardii* and *Combretum molle*. For antiradical activity, the  $IC_{50}$ s range from 2.1 - 9.4  $\mu\text{g} / \text{mL}$ . The antiradical activity supports the anti-inflammatory activity of the extracts. These results may in part justify the use of these plants in traditional cancer treatment.

**Keywords:** *Combretum aculeatum*, *Combretum lecardii* et *Combretum molle*, Antiradical constituents, Mali.

#### 1. INTRODUCTION

La famille des Combretaceae comprend 23 genres et environ 600 espèce [1]. Les genres *Combretum*, *Terminalia* et *Pteleopsis* sont connus pour contenir des plantes médicinales précieuses, dont beaucoup sont utilisées en médecine traditionnelle africaine, et certaines d'entre elles pour la prise en charge des cancers [2]. Les espèces de *Combretum* sont connues pour contenir de puissants composés anticancéreux [2]. C'est le cas par exemple de *Combretum caffrum*, *Combretum woodii*, *Combretum erythrophyllum* et *Combretum kraussi* à partir desquelles ont été isolées des combrestastatines (3–6)

Au Mali, les plantes de la famille des Combretaceae sont très largement répandues dont une vingtaine a été identifiée dans l'herbier du DMT avec 11 plantes du genre *Combretum* [3]. Les propriétés antiprolifératives de certaines de ces plantes ont été démontrées. C'est le cas par exemple de *Combretum fragans* [4], *Anogeissus leiocarpus* [5,6], *Combretum glutinosum* [7], *Pteleopsis suberosa* [8], *Guiera senegalensis* [9–11] et *Terminalia avicennioides* [6].

A l'image de *Combretum caffrum*, première source de combrestastatines, nous avons sélectionné le genre *Combretum* et retenu trois espèces les moins étudiées et les plus disponibles au Mali. Ces espèces sont *Combretum aculeatum*, *Combretum lecardii* et *Combretum molle*.

La présente étude avait pour objectif de déterminer les paramètres pharmacognostiques des feuilles de *Combretum aculeatum*, *Combretum lecardii* et *Combretum molle* et d'évaluer l'activité antiradicalaire de leurs extraits.

Les caractéristiques pharmacognostiques telles les caractères botaniques et les constantes physicochimiques sont des marqueurs de la qualité du matériel végétal. Les médicaments à base de plantes sont généralement facilement disponibles, moins chers et ont peu ou pas d'effets secondaires.

Cependant, l'un des inconvénients est la falsification de la matière première par des corps étrangers afin d'augmenter le poids. L'activité antiradicalaire des extraits pointe vers l'efficacité de la plante pour le traitement de nombreuses maladies telles que les cancers. Les radicaux sont des substances chimiques qui provoquent des dommages sur des cellules pouvant être ainsi responsable de nombreuses maladies parmi lesquelles les cancers.

## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2.1. Matériel végétal

Il était constitué des feuilles de *Combretum aculeatum*, *Combretum lecardii* et de *Combretum molle* récoltées en Juillet 2019 à Kati par M. Traoré herboriste au marché de Médine. L'identité botanique des plantes a été confirmée par M. Seydou M. Dembélé, ingénieur des eaux et forêts, chef du service ethnobotanique et matières premières du Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de Bamako. Les échantillons ont été séchés à l'ombre dans la salle de séchage du DMT pendant deux semaines. Les drogues séchées ont été broyées avec un pulvérisateur Resch de type SM 2000 OSI/1430 µpm.

### 2.2. Contrôle de qualité botanique

Il a consisté à déterminer les caractères organoleptiques (couleur, odeur et saveur) et les éléments microscopiques de la poudre des trois échantillons [12,13]

### 2.3. Préparation des extraits

Un total de 50 g de poudre de chaque échantillon a été infusé dans 500 mL d'eau distillée bouillante pendant 15 minutes. L'extrait a été filtré en utilisant un papier filtre Whatman N°1. Les filtrats ont été concentrés à l'évaporateur rotatif à 50 °C puis lyophilisés après congélation.

### 2.4. Contrôle de qualité physicochimique

Des dosages ont été effectués sur les échantillons pour déterminer les teneurs en eau, cendres totales, cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique et substances extractibles par l'eau et l'éthanol 70% en utilisant les méthodes de la pharmacopée africaine [12]. Les constituants chimiques ont été déterminés par chromatographie sur couche mince selon la méthode décrite par Haïdara et al. [14].

### 2.5. Evaluation de l'activité antiradicalaire

L'activité antiradicalaire des extraits a été évaluée en utilisant le test de réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). La méthode décrite par Zongo et al. [15] a été utilisée avec des modifications. Une gamme de concentration des extraits comprise entre 0,781 – 100 µg / mL obtenue par des dilutions au double ont été préparés et 700 µL de chaque dilution ont été mélangés 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. Le méthanol a été utilisé comme contrôle négatif et l'acide gallique comme contrôle positif. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Absorbance contrôle} - \text{Absorbance échantillons}}{\text{Absorbance contrôle}} \times 100$$

La CI<sub>50</sub> (concentration inhibitrice 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.

## 3. RESULTATS ET DISCUSSION

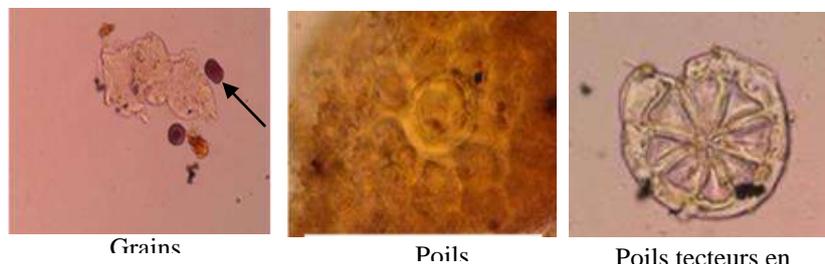
### 3.1. Qualité botanique

La poudre des feuilles des 3 échantillons était de couleur vert - avocat avec une odeur non caractéristique. La poudre des feuilles de *Combretum molle* avait une saveur amère. Par contre la poudre des feuilles de *Combretum aculeatum* et de *Combretum lecardii* était sans saveur.

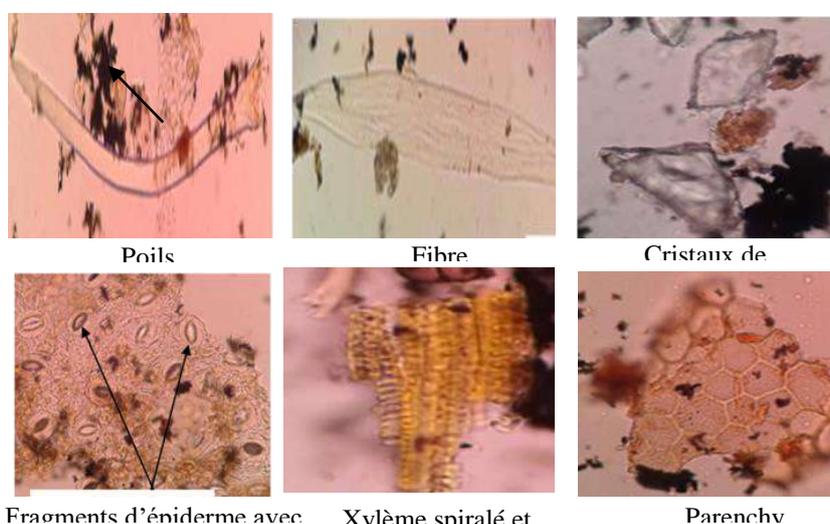
L'examen microscopique des poudres a révélé la présence dans les 3 échantillons des poils tecteurs longs, unicellulaires, à extrémité pointue, des fibres assez longues, très épaisses à lumière large, des cristaux d'oxalate de calcium de grande et petite taille, des fragments d'épiderme avec stomates de types anomocytiques, des xylèmes spiralés et ponctués et des parenchyme (figure 1)

Par contre quelques rares grains d'amidon ovoïdes (figure 2A) de petite taille ont été retrouvés dans la poudre des feuilles de *Combretum aculeatum* et *Combretum lecardii*. Les poils sécréteurs à pied unicellulaire et à tête pluricellulaire (figure 2B) ont été retrouvés uniquement dans la poudre des feuilles de *Combretum molle* et les polis tecteurs en parapluie (figure 2C) ont été retrouvés uniquement dans la poudre des feuilles de *Combretum aculeatum*.

Nous avons retrouvé dans les échantillons étudiés la présence de certains éléments caractéristiques de la famille des Combretaceae à savoir : les poils tecteurs et les macles d'oxalate de calcium [16,17]. Par contre l'un des éléments caractéristiques du genre Combretum à savoir les poils sécréteurs [16] n'ont pas été retrouvés dans la poudre des feuilles de *Combretum aculeatum* et *Combretum lecardii*. Il serait donc important de refaire des manipulations sur d'autres échantillons de *Combretum aculeatum* et *Combretum lecardii*.



**Figure 1 :** Les éléments microscopiques communs aux trois échantillons



**Figure 2 :** Les éléments microscopiques particuliers aux trois échantillons

### 3.2. Qualité physicochimique

#### ➤ Teneurs en eau, cendres et substance extractibles par l'eau et l'éthanol 70%

Les résultats de la teneur en eau, cendres et en substances extractibles par l'eau et l'éthanol sont montrés dans le tableau I. La teneur en eau a été inférieure à 10% dans les trois échantillons. 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.[18]. La teneur en cendres insolubles est très faible (< 0,5%) dans les trois échantillons. Ces résultats suggèrent que les échantillons contiennent très peu d'éléments siliceux (poussière et le sable) [18]. La teneur en substance extractible par l'eau était légèrement plus élevée par rapport à celle extractible par l'éthanol 70% pour *Combretum aculeatum* et *Combretum lecardii*. La teneur en substance extractible par l'eau avec la poudre des feuilles de *Combretum lecardii* était la plus élevée. Ces résultats sont en faveur des formes d'utilisation traditionnelle de ces deux plantes.

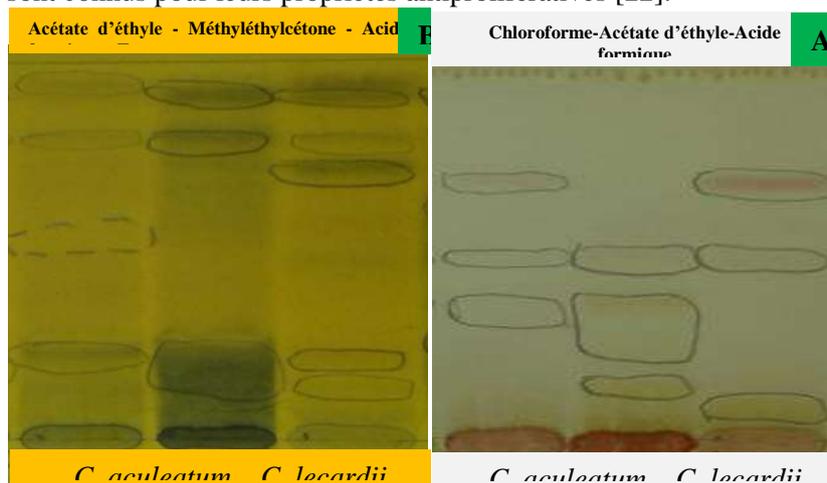
**Tableau I :** Teneurs en eau, cendres et en substances extractibles par l'eau et l'éthanol 70%

Teneurs (%)	<i>C. aculeatum</i>	<i>C. lecardii</i>	<i>C. molle</i>
Eau	9	7	7,5
Cendres totales	10,6	5,5	5,2
Cendres insolubles dans HCl 10%	0,3	0,3	0,1
Substances extractibles par l'eau	9	14	9
Substances extractibles par l'éthanol 70%	8	12	12

### ➤ Constituants chimiques

La CCM a permis de caractériser certains constituants chimiques. Les taches rouges, jaunes, violette apparues après révélation des chromatogrammes par la vanilline sulfurique pourraient être respectivement des tanins, des flavonoïdes et composés à génines triterpéniques tels que les saponosides (voir figure 3A). Les colorations noirâtres observées après révélation des chromatogrammes avec le FeCl<sub>3</sub> 10% pourraient être due à la présence des polyphénols (tanins) (voir figure 3B).

Les résultats obtenus avec *Combretum aculeatum* [19] et *Combretum molle* [20,21] sont en accords avec ceux rapportés dans la littérature. Par contre nous n'avons pas trouvé des travaux par rapport à la phytochimie de *Combretum lecardii*. La présence des polyphénols (tanins, flavonoïdes) et saponosides dans les extraits pourrait être bénéfique dans la prise en charge du cancer. En effet les polyphénols et les saponosides sont connus pour leurs propriétés antiprolifératives [22].



**Figure 3 :** Chromatogramme des extraits révélés par une solution de vanilline sulfurique suivie de chauffage à 105° C pendant 5 minutes (A) et par une solution de trichlorure ferrique à 10% (B)

### 3.3. Activité antiradicalaire

Les extraits ont démontré une activité antiradicalaire en inhibant le radical DPPH. La meilleure activité a été obtenue avec l'infusé des feuilles de *Combretum molle* (CI<sub>50</sub> : 2,1 µg/mL) (voir tableau II). L'activité antiradicalaire des extraits de *Combretum aculeatum* [19] et de *Combretum molle* [20,21] avait été rapportée dans la littérature. Cependant nous n'avons pas retrouvé de travaux concernant l'activité antiradicalaire de *Combretum lecardii*.

L'activité antiradicalaire de ces extraits pourrait être due à la présence des polyphénols (tanins, flavonoïdes) et des saponosides [23]. Cette activité antiradicalaire pourrait être bénéfique dans la prévention et le traitement des cancers. En effet de nombreuses études ont montré que les radicaux libres jouent un rôle dans la pathogenèse des cancers [24,25].

**Tableau II :** Concentration inhibitrice (CI<sub>50</sub>) des extraits sur le radical DPPH

Plantes	Extraits	CI <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>Combretum aculeatum</i>	Infusé	9,4
<i>Combretum lecardii</i>	Infusé	2,7
<i>Combretum molle</i>	Infusé	2,1

## 4. CONCLUSION

Les caractéristiques botaniques et les paramètres physicochimiques déterminés permettront l'identification d'un bon échantillon de la poudre des feuilles de *Combretum aculeatum*, *Combretum lecardii* et *Combretum molle* enfin d'éviter des falsifications. L'activité antiradicalaire pourrait justifier l'utilisation de ces plantes pour la prévention et la prise en charge de nombreuses maladies dont les cancers. Il serait intéressant de poursuivre les investigations sur ces plantes en évaluant les propriétés antiprolifératives de ces extraits.

## 5. REFERENCES

[1]. Akinsulire OP, Oladipo OT, Illoh HC, Mudasiru OM. Vegetative and reproductive morphological study of some species in the family Combretaceae in Nigeria. Ife Journal of Science. 2018;20(2):371–389.

- [2]. Fyhrquist P, Mwasumbi L, Vuorela P, Vuorela H, Hiltunen R, Murphy C, et al. Preliminary antiproliferative effects of some species of Terminalia, Combretum and Pteleopsis collected in Tanzania on some human cancer cell lines. *Fitoterapia*. 2006;77(5):358–366.
- [3]. Tienou MH. *Plantes de la famille des Combretaceae utilisées en médecine traditionnelle, sources de principes actifs anticancéreux*. 2020.
- [4]. Gade IS, Richard TS, Chadeneau C, Seite P, Vannier B, Atchade ADT, et al. Anticancer Activity of Combretum fragrans F. Hoffm on Glioblastoma and Prostate Cancer Cell Lines. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2021;22(4):1087–1093.
- [5]. Hassana LEA, Al-Suadea FS, Fadul SM, Majida A. Evaluation of antioxidant, antiangiogenic and antitumor properties of Anogeissus leiocarpus against colon cancer. *Angiotherapy*. 2018;1(2):56–66.
- [6]. Salau AK, Yakubu MT, Oladiji AT. Cytotoxic activity of aqueous extracts of Anogeissus leiocarpus and Terminalia avicennioides root barks against Ehrlich Ascites Carcinoma cells. *Indian journal of pharmacology*. 2013;45(4):381.
- [7]. Muhammad BY, Shaban NZ, Elrashidy FH, Ghareeb DA. Antioxidant, Anti-inflammatory, Antiproliferative and Antimicrobial Activities of Combretum glutinosum and Gardenia aqualla Extracts in vitro. *Free Radicals and Antioxidants*. 2019;9(2):66–72.
- [8]. De Leo M, Braca A, Sanogo R, Cardile V, DeTommasi N, Russo A. Antiproliferative activity of Pteleopsis suberosa leaf extract and its flavonoid components in human prostate carcinoma cells. *Planta medica*. 2006;72(07):604–610.
- [9]. Adebayo IA, Gagman HA, Balogun WG, Adam MAA, Abas R, Hakeem KR, et al. Detarium microcarpum, Guiera senegalensis, and Cassia siamea induce apoptosis and cell cycle arrest and inhibit metastasis on MCF7 breast cancer cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2019;2019.
- [10]. Abubakr M, Sirag N, Osman I, Osman M, Abakar S, Aboul-Enein AM. Anticancer and antioxidant activities of Guiera senegalensis. *Sudan Journal of Medical Sciences*. 2013;8(3):135–140.
- [11]. Kouamé J, Gnoula C, Palé E, Bassolé H, Guissou IP, Simporé J, et al. Etude des propriétés cytotoxiques et antiradicalaires d'extraits de feuilles et de galles de Guiera senegalensis JF Gmel (Combretaceae). *Science et technique. Sciences de la santé*. 2009;32(1–2):9–23.
- [12]. Evans WC. *Trease and Evans' pharmacognosy*. 2009. Elsevier Health Sciences.
- [13]. Haidara M. *Contribution à l'étude de l'activité pharmacologique de Terminalia macroptera Guill. et Perr. (Combretaceae) dans le but de l'élaboration d'un médicament traditionnel amélioré au Mali (Afrique de l'Ouest)*. 2018.
- [14]. Mahamane H, Corina-Ardine A, Adam MAB, Mamadou G, Mahamadou T, Rokia S. Enquête Ethnobotanique Des Plantes Utilisées Pour La Protection Cutanée Des Personnes Atteintes D'albinisme Dans Le District De Bamako (Mali) Et Analyse Qualitative De Bixa Orellana L. (Bixaceae). .
- [15]. Zongo C, Savadogo A, Ouattara L, Bassole IHN, 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.
- [16]. Tilney PM. A contribution to the leaf and young stem anatomy of the Combretaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2002;138(2):163–196.
- [17]. Verhoeven RL, Van der Schijff HP. A key to the South African Combretaceae based on anatomical characteristics of leaf. *Phytomorphology*. 1973;23(1–2):65–74.
- [18]. Chanda S. Importance of pharmacognostic study of medicinal plants: An overview. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2014;2(5).
- [19]. Fall AD, Sy AN, Fokou JBH, Fomi JON, Dieng M, Dieng SIM, et al. Phytochemical Screening, Polyphenol Content and Antioxidant Studies of Ethanol Leaf Extract of Combretum aculeatum vent. *European Journal of Medicinal Plants*. 2015;1–7.
- [20]. Koevi K-KA, Millogo V, Fokou JBH, Sarr A, Ouedraogo GA, Bassene E. Phytochemical analysis and antioxidant activities of Combretum molle and Pericopsis laxiflora. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 2015;9(5):2423–2431.
- [21]. Ntshanka NM, Ejidike IP, Mthunzi FM, Moloto MJ, Mubiayi KP. Investigation into the Phytochemical profile, Antioxidant and Antibacterial potentials of Combretum Molle and Acacia Mearnsii leaf parts. *Biomedical and Pharmacology Journal*. 2020;13(4):1683–1694.
- [22]. Ohiagu FO, Chikezie PC, Chikezie CM, Enyoh CE. Anticancer activity of Nigerian medicinal plants: a review. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021;7(1):1–21.
- [23]. Bruneton J. *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. 5th ed. 2016. Technique et Documentation Lavoisier.
- [24]. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radical Biology and Medicine*. 2010;49(11):1603–1616.
- [25]. Pelicano H, Carney D, Huang P. ROS stress in cancer cells and therapeutic implications. *Drug resistance updates*. 2004;7(2):97–110.

## Etude phytochimique et activité antiradicalaire de plantes et d'une recette utilisées dans le traitement traditionnel des affections hépatiques

<sup>1</sup>Sékou DOUMBIA, <sup>2</sup>Birama DIARRA, <sup>2</sup>Daouda DIARRA, <sup>3</sup>Abdoulaye DOLO, <sup>1,2</sup>Rokia SANOGO

<sup>1</sup>Faculté de Pharmacie (FAPH) de l'Université des Sciences, des techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) - BP 1805 Mali

<sup>2</sup>Département Médecine Traditionnelle (DMT) de l'INRSP - BP 1746 Bamako

<sup>3</sup>Pharmacie Dr Abdoulaye DOLO

### Résumé

Les affections hépatiques constituent un problème de santé publique dans le monde et plus particulièrement en Afrique. Au Mali, le Département Médecine Traditionnelle a mis au point des phytomédicaments pour la lutte contre les hépatites.

Ce travail avait pour objectif de caractériser les constituants chimiques et d'évaluer l'activité antiradicalaire des extraits de feuilles de *Manilkara multinervis*, de la plante entière de *Eclipta prostrata* et d'une recette, utilisées dans la prise en charge des affections hépatiques.

Les constituants chimiques ont été caractérisés par les réactions en tube et par chromatographie sur couche mince (CCM) des extraits. Les constituants antiradicalaires ont été caractérisés par la réduction du radical DPPH par CCM des extraits. La concentration inhibitrice 50 (CI<sub>50</sub>) des extraits, a été évaluée ensuite au spectrophotomètre.

Les constituants majoritaires ont été les tanins, les saponosides, les coumarines, les stérols/triterpènes, les leucoanthocyanes et les oses/holosides. Tous les extraits ont donné une bonne activité antiradicalaire avec plusieurs taches jaunes sur fond violet. *M multinervis* (infusé et décocté) et *E prostrata* (infusé) ont donné les meilleures CI<sub>50</sub> avec respectivement 2,220 ; 4,342 et 2,519 µg/mL.

L'activité antiradicalaire de ces extraits peut justifier leur utilisation dans la prise en charge des affections hépatiques.

**Mots clés :** *Eclipta prostrata*, - *Manilkara multinervis* - Constituants antiradicalaires - affections hépatiques

### Abstract

Liver diseases is becoming more and more frequent in the world and more particularly in Africa.

In Mali, the Traditional Medicine Department has developed phytomedicine against hepatitis

The objective of this study was to characterize the chemical constituents and evaluate the antiradical activity of leaves of *Manilkara multinervis*, whole plant of *Eclipta prostrata* and a recipe used to treat liver diseases.

The chemical constituents has been characterized by tube reactions and by Thin Layer Chromatography (TLC) of the extracts.

The antiradical constituents were characterized by the reduction of the DPPH radical by TLC of the extracts. The inhibitory concentration 50 (IC<sub>50</sub>) of the extracts was then evaluated with a spectrophotometer.

The major chemical constituents were tannins, saponosides, coumarins, sterols/triterpenes, leucoanthocyanins and oses/holosides.

All extracts gave good antiradical activity showing several yellow spots on TLC plates. *M multinervis* (infused and decocted) and *E prostrata* (infused) gave the best IC<sub>50</sub> with respectively 2.220; 4.342 and 2.519 µg / mL

The antiradical activity of both plants and the recipe could justify their use in the traditional management of liver diseases.

**Key words:** *Manilkara multinervis* - *Eclipta prostrata* - antiradical activity - liver disease

### Introduction

Les affections hépatiques sont des maladies se caractérisant par des lésions du foie affectant ainsi son fonctionnement normal. Elles deviennent de plus en plus fréquentes à travers le monde, occupent aujourd'hui une place de choix parmi les pathologies émergentes et répondent moins aux traitements actuels.

En absence d'une prise en charge adéquate, presque toutes les hépatopathies chroniques évoluent vers la cirrhose. La cirrhose a été la douzième cause de mortalité mondiale en 2013 [1].

L'hépatite virale est une inflammation du foie provoquée par des virus se développant aux dépens du tissu hépatique. Elle a causé 1,34 Millions de décès en 2015. La plupart de ces décès était imputable aux affections chroniques (720000 décès dus à une cirrhose) et aux cancers primitifs du foie (470000 décès dus au carcinome hépatocellulaire). En 2017, le nombre de personnes atteintes d'une infection chronique par le virus de l'hépatite B (VHB) était estimé à 257 millions et celui des personnes atteintes par le virus de l'hépatite C (VHC), à 71 millions [2].

L'hépatite B est fortement endémique en Afrique de l'Ouest, avec une prévalence de 8 %, la plus élevée au monde [3].

Au Mali, dans le service des Sciences Médicales du Département Médecine Traditionnelle (DMT), les hépatites virales ont représenté 24,79% des pathologies, soient 150 cas sur 605 en 2018, avec 135 cas d'hépatites virales B [4].

La prise en charge des affections hépatiques repose de nos jours sur l'utilisation de certaines molécules telles que les interférons et les antirétroviraux qui ont des coûts excessivement élevés et ne sont donc pas à la portée de la population moyenne. Ces médicaments ont d'ailleurs montré leur limite dans le traitement des hépatites virales.

Depuis la nuit des temps, les hommes utilisent les plantes pour se soigner, se nourrir, se parer, la plante est certainement le premier médicament utilisé par l'homme [5]. En Afrique comme dans la plupart des régions du monde, une grande partie de la population font recours aux ressources de la médecine traditionnelle pour les soins de santé primaires [6].

Au Mali, le département médecine traditionnelle (DMT) dont l'un des objectifs est la valorisation des recettes traditionnelles à bases de plantes, mène de recherches dans le but de mettre au point des MTA (médicaments traditionnels améliorés). C'est ainsi que l'**Hepatisane**<sup>®</sup>, un MTA à base des feuilles de *Combretum micranthum* a été mis sur le marché. Il est utilisé dans la prise en charge des symptômes d'insuffisance hépatique. Le **Samanéré**<sup>®</sup> (racines de *Entada africana*) est aussi un MTA possédant des propriétés hépatoprotectrices qui est sur le point d'être commercialisé.

Dans le but de contribuer à la prise en charge des affections hépatiques par les médicaments à base de plantes, nous nous sommes proposé d'étudier la phytochimie et l'activité antiradicalaire de *Manilkara multinervis*, de *Eclipta prostrata* et d'une recette de plantes de la médecine traditionnelle malienne.

## 1. Matériel et Méthodes

### Matériel végétal

Il était constitué de feuilles de *Manilkara multinervis*, de la plante entière de *Eclipta prostrata* et de la recette composée de : *Sclerocarya birrea* (écorces de tronc); *Vitellaria paradoxa* (écorces de tronc) ; *Parkia biglobosa* (écorces de tronc) ; *Xylopiya aethiopica* (fruits) et *Acacia senegal* (écorces de tronc). *M multinervis* et *E prostrata* ont été récoltées respectivement à Koulikoro (centre Mali) et à Sikasso (Sud Mali). La recette a été formulée par le tradithérapeute et envoyé pour étude.

### Réactifs et solvants

Les réactifs et solvants utilisés étaient entre autres l'eau, l'éthanol, le méthyléthylcétone, le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH), le chlorure ferrique et le réactif de Godin.

### Préparation des extraits

Les types d'extraction réalisés étaient une décoction, une infusion et une macération à l'éthanol à 70 %.

#### ○ Décoction

A 50 g de poudre, il a été ajouté 500 ml d'eau. Le tout a été porté à ébullition pendant 15 minutes. La solution obtenue a été filtrée sur compresse après refroidissement.

#### ○ Infusion

500 ml d'eau bouillante ont été versés sur 50 g de poudre d'échantillon. L'ensemble a été laissé en contact pendant 15 minutes et filtré sur compresse après refroidissement.

#### ○ Macération à l'éthanol 70 %

50 g de poudre de drogue ont été mis en contact avec 500 ml d'éthanol à 70 %. Cette préparation a été laissée en macération sous agitation pendant 24 heures, à la température ambiante. La solution ainsi obtenue a été filtrée.

Les extraits ainsi obtenus ont été concentrés au rotavapor, lyophilisés et utilisés pour la CCM et l'activité antiradicalaire.

### Etude phytochimique

#### ○ Réactions en tube

Les réactions en tube ont été utilisées pour caractériser les constituants chimiques des échantillons selon les méthodes rapportées dans la pharmacopée africaine [7].

Les résultats ont été classés selon l'intensité de la réaction : franchement positive (+++), positive (++) , moyennement positive (++) , faiblement positive (+) ou négative (-).

#### ○ Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

La plaque CCM était constituée de silicagel 60 F254 de 0,25 mm d'épaisseur étalée sur une feuille d'aluminium.

10 µl de la solution de chaque extrait ont été déposés sur les plaques qui ont été séchées avant d'être introduites dans les cuves de migration.

Le système de solvants utilisé était : Acétate d'éthyle – Méthyléthylecétone – Acide formique - Eau (6 :2 :1 :1)

Après migration, les plaques ont été séchées et révélées par le réactif de Godin (polyvalent) ou le chlorure ferrique (spécifique des tanins et autres composés polyphénoliques).

#### Activité antiradicalaire anti DPPH

○ Mise en évidence de l'activité antiradicalaire sur plaque CCM

Des chromatogrammes ont été réalisés comme en CCM. Les plaques ont été révélées avec une solution méthanolique de DPPH à 2 mg/ml. Les constituants antiradicalaires apparaissaient sous forme de colorations jaunes sous fond violet [8, 9].

○ Détermination de la Concentration inhibitrice 50 (CI<sub>50</sub>) des extraits

Elle a été réalisée selon la méthode décrite par Velazquez *et al* en 2003 [10], légèrement modifiée. 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 variant entre 0,1 et 100 µg/ml. Les solutions préparées ont été agitées puis incubées 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 résultats ont été analysés en utilisant le logiciel Graph Pad Prism.

## 2. Résultats et discussion

### Groupes chimiques caractérisés

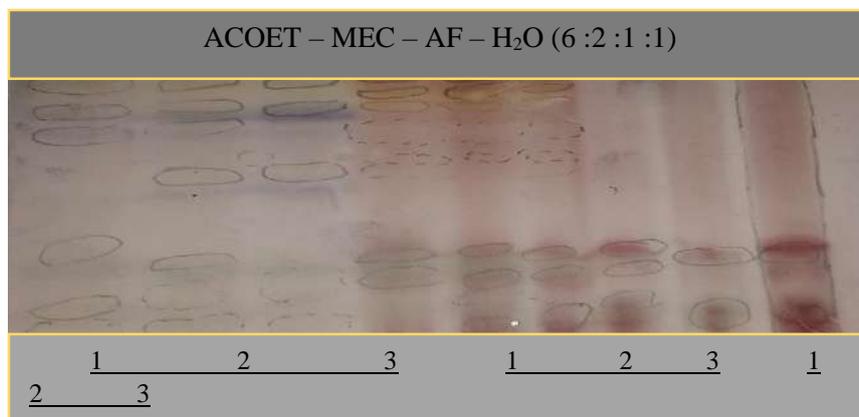
Les tanins, les saponosides, les stérols/triterpènes, les coumarines, les leucoanthocyanes, les oses et holosides ont été présents dans les échantillons. Les flavonoïdes étaient absents dans la recette tandis que les alcaloïdes étaient présents seulement chez *E prostrata*. Les réactions mettant en évidence la présence des anthocyanes et des composés réducteurs ont été négatifs partout (voir tableau I). Les résultats de *M multinervis* concordent avec ceux obtenus par Sambo, (2005) qui a mis en évidence les mêmes groupes dans la poudre de feuilles à l'exception des anthracénosides [11]. Les résultats obtenus avec *E prostrata* diffèrent de ceux de Yapi et al (2018) par l'absence d'alcaloïdes [12]. Quant à la recette, l'absence des flavonoïdes est contraire aux études déjà menées sur les plantes qui la constituent [13 ; 14 ;15 ;16]

**Tableau I** : Groupes chimiques caractérisés par les réactions en tube

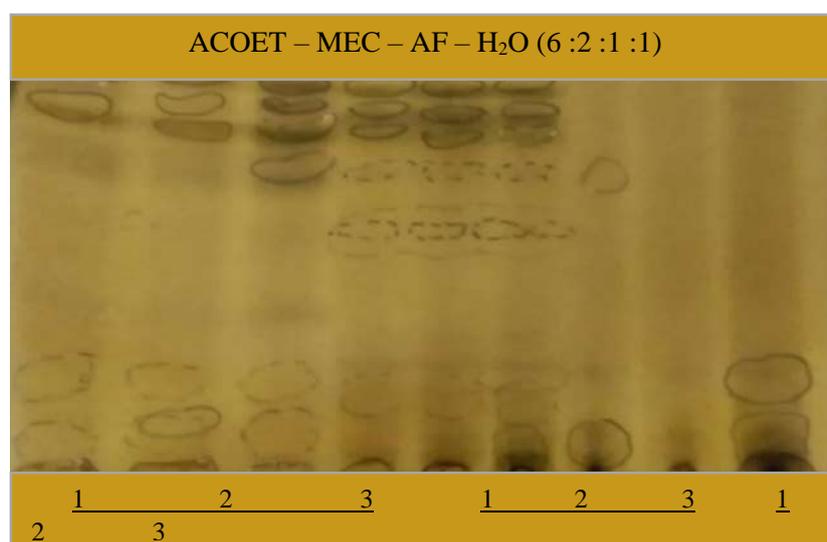
GROUPE CHIMIQUE	<i>M multinervis</i>	<i>E prostrata</i>	Recette
Tanins	+++	+++	+++
Flavonoïdes	+	++	-
Anthracénosides	+++	-	+++
Alcaloïdes	-	+	-
Saponosides : mousse	+++	+++	+
Stérols et triterpènes	++	+++	+++
Coumarines	+++	+++	+++
Anthocyanes	-	-	-
Leuco anthocyanes	++	++	++
Oses et Holosides	+++	+++	+++
Composés réducteurs	-	-	-

La CCM a confirmé la présence des triterpènes et des tanins. Les taches violettes, jaunes et rouges apparues sur les chromatogrammes révélés par le réactif de Godin pourraient signifier respectivement

des composés à génines triterpeniques, des flavonoïdes et des tanins. (voir figure 1). Les taches noires observées sur les chromatogrammes révélés au FeCl<sub>3</sub> indiqueraient également la présence des tanins et autres composés polyphénoliques (voir figure 3).

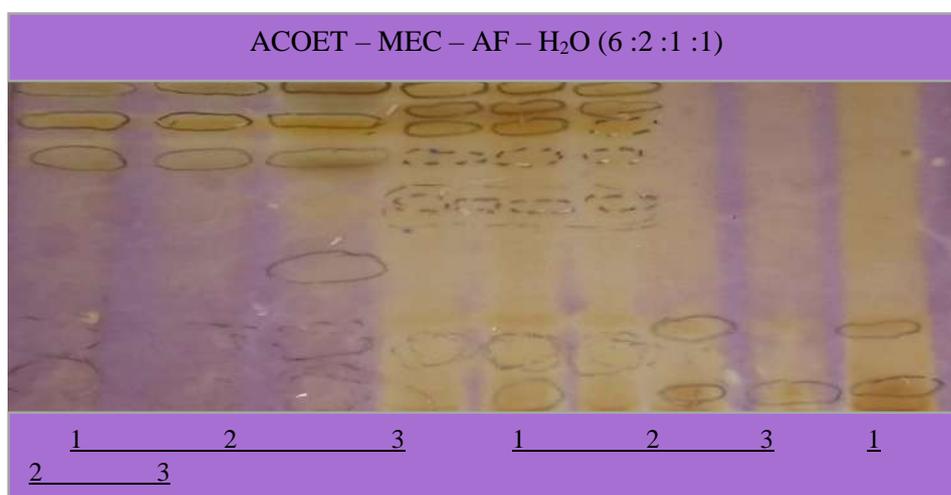


**Figure 1** : Chromatogramme des extraits révélés au Godin



**ACOET** : Acétate d'éthyle, **MEC** : Méthyléthylcétone, **AF** : Acide formique, **H<sub>2</sub>O** : Eau  
**1** : infusé, **2** : décocté, **3** : extrait éthanolique ; **MM** : Manilkara multinervis, **EP** : Eclipta prostrata, **R** : Recette

**Figure 2** : Chromatogramme des extraits révélés au chlorure ferrique



**Figure 3** : Chromatogramme des extraits révélés au chlorure ferrique

### Activité antiradicalaire

Plusieurs taches jaunes sur fond violet ont été observées sur les chromatogrammes révélés par le DPPH. L'activité antiradicalaire était plus évidente avec les extraits de *M multinervis* et de la recette (voir figure 3). Les meilleures CI<sub>50</sub> ont été obtenues avec les infusés de *M multinervis* (2,220 µg/mL) et de *E prostrata* (2,519 µg/mL) et le décocté de *M multinervis* (4,342 µg/mL). L'acide gallique utilisé comme référence dans les mêmes conditions a eu comme CI<sub>50</sub> 1,435 µg/mL (voir tableau II). Des études avaient déjà démontré l'activité anti DPPH des extraits. Chan et al., (2014) ont rapporté l'activité anti DPPH des extraits aqueux de la partie aérienne de *E prostrata* [17]. De même plusieurs études ont également rapporté l'activité anti DPPH des plantes et des drogues qui constituent la recette [13 ; 18; 19 ; 20 ; 14]

**Tableau II : Concentration inhibitrice 50 des extraits**

EXTRAIT		CI <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>M multinervis</i>	Infusé	<b>2,220</b>
	Décocté	<b>4,342</b>
	EtOH	8,517
<i>E prostrata</i>	Infusé	130,6
	Décocté	25,68
	EtOH	4,639
Recette	Infusé	<b>2,519</b>
	Décocté	9,343
	EtOH	10,36
<b>Acide gallique</b>		<b>1,435 µg/ml</b>

### Conclusion

Les extraits de *Manilkara multinervis*, de *Eclipta prostrata* et de la recette présentent des activités antiradicalaires. L'activité antiradicalaire des extraits peut justifier l'utilisation de ces plantes dans la prise en charge des affections hépatiques.

### Références

1. GBD 2013. Mortality and causes of death collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990\*2013: a systematical analysis for the global Burden of Disease Study 2013. The Lancet. 10 janv 2015; 385(9963):117-71. pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25530442/&ved. 98p. Consulté le 12/04/2021
2. Organisation Mondiale de la Santé. Rapport mondial sur l'hépatite, 2017. <http://www.who.int/hepatitis/publication/global-hepatitis-report2017-exexutive-summary/fr/&ved>. Consulté le 12/04/2021
3. Organisation Mondiale de la Santé, Comité régional de l'Afrique. Prévention et contrôle de l'hépatite virale – Stratégie intérimaire pour l'action mondiale 2012-2014. Genève, 2013.
4. Rapport d'activité, Département Médecine Traditionnelle (DMT, Mali), 2018.
5. Catier O et Roux D. 2007. Botanique Pharmacognosie Phytothérapie. 3<sup>ème</sup> édition, Paris, 113p.
6. Organisation Mondiale de la Santé, 2007. Rapport de l'atelier interrégional de l'OMS sur l'utilisation de la médecine traditionnelle dans les soins de santé primaires. Oulan-Bator, Mongolie 23-26 août. <http://digicollection.org>. Consulté le 29/04/2021
7. Organisation de l'unité africaine/commission scientifique, technique et de la recherche (OUA/CSTR), Pharmacopée africaine. Méthodes générales d'analyse. 1986. Première édition, Lagos, 2 (3) : 241p.
8. Blois MS. 1958. Déterminations antioxydantes par l'utilisation des radicaux libres stables. *Nature*, 181 (4617), 1199-1200.
9. Marston A. 2011. Chromatographie sur couche mince avec détection biologique en phytochimie. *Journal of Chromatography A*, 1218 (19), 2676-2683.
10. Velazquez, E., Tournier, H. A., Buschiazzo, P. M., Saavedra, G., et Schinella., 2003. Activité antioxydante des extraits des plantes du Paraguay. *Fitoterapia*, 74 : 91-97.
11. Sambo HM. 2006. Etude du traitement traditionnel du diabète. Thèse pharmacie, Bamako, 125p.
12. Yapi AB, Camara D, Coulibaly K, Zirihi GN. 2018. Étude botanique, tri phytochimique et évaluation de l'activité antifongique de l'extrait éthanolique des feuilles de *Eclipta prostrata* (L.) L. (Asteraceae) sur la croissance in vitro de trois souches fongiques. *Journal of Applied Biosciences*, 125: 12581-12589
13. Amadou A. 2006. Etude d'une recette traditionnelle, des écorces de tronc de *Sclerocarya birrea* (A. Rich) Hochst (*Anacardiaceae*) et de *Uapaca togoensis* Pax (*Euphorbiaceae*) utilisées dans le traitement du diabète. Thèse de pharmacie, Bamako, 107p.

14. Yusuf AA, Lawal B, Yusuf MA, Omonije YO, Adejoke AO,... ,and Wenawo DL. 2018. Free Radical Scavenging, Antimicrobial Activities and Effect of Sub-Acute Exposure to Nigerian *Xylopi aethiopica* Seed Extract on Liver and Kidney Functional Indices of Albino Rat. *Iranian Journal of Toxicology*, 12(3), 51-58.
15. Komolafe K, Olaleye T M, Omotuyi OI, Boligon AA., Athayde ML,..., & da Rocha JBT. 2014. In vitro antioxidant activity and effect of *Parkia biglobosa* bark extract on mitochondrial redox status. *Journal of acupuncture and meridian studies*, 7(4), 202-210.
16. Batra S, Batra N and Nagori BP. 2013. Preliminary Phytochemical Studies and Evaluation of Antidiabetic Activity of Stem Bark of *Acacia senegal* (L.) Willd. in Alloxan Induced Diabetic Albino Rats. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 1(8): 611-616.
17. Chan CF, Huang WY, Guo HY & Wang BR. 2014. Potent antioxidative and UVB protective effect of water extract of *Eclipta prostrata* L. *The Scientific World Journal*, 1-8
18. Talla E, Nyemb JN, Tiabou AT, Djou SGZ, Biyanzi P, Sophie L, & Tanyi JM. 2016. Antioxidant activity and a new ursane-type triterpene from *Vitellaria paradoxa* (Sapotaceae) stem barks. *European Journal of Medicinal Plants*, 1-20.
19. Millogo-Kone H, Lompo M, Kini F, Asimi S, Guissou IP, & Nacoulma O. 2009. Evaluation of flavonoids and total phenolic contents of stem bark and leaves of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth.(Mimosaceae)-free radical scavenging and antimicrobial activities. *Research Journal of Medical Sciences*, 3(2), 70-74.
20. Builders M, Alemika T, Aguiyi J. 2014. Antimalarial Activity and Isolation of Phenolic Compound from *Parkia biglobosa*. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 9(3), 78-85.

## News and know compounds from the leaves of *Lannea acida*

Koffi Kouamé Jean-Michel<sup>1</sup>, Yao-Kouassi Akoua Philomène<sup>1</sup>, Abdulmagid Alabdul Magid<sup>2</sup>, Laurence Voutquenne-Nazadioko<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR Sciences des Structures de la Matière et de Technologie, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan, Côte d'Ivoire.

<sup>2</sup> UMR 7312, Institut de Chimie Moléculaire de Reims (ICMR), UFR Sciences Exactes et Naturelles, CNRS, Université de Reims Champagne-Ardenne, 51097 Reims, France.

### Abstract:

*Lannea acida* 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 stomach pain, diarrhea, rheumatism, cancer etc [1].

This work consists in carrying out the chemical study of *L. acida* with a view to its valorization.

The study of ethyl acetate and butanol extracts from the leaves of *L. acida* allowed the isolation of a new eugenol glucoside sulfonate and 12 polyphenols, including: myricetin-3-(6''-galloyl)galactoside **2**, quercetin-3-O-glucuronic acid **3**, quercetin-3-O-glucopyranoside **4**, (-)-epigallocatechin-3-gallate **5**, (-)-epicatechin-3-gallate **6** [6], myricetin-3-O-rhamnopyranoside **7**, myricetin-3-O-glucopyranoside **8** [7], acide-3,4,5-trigalloylquinique **9** [8] and (-)-epigallocatechin **10**, myricetin-3-(6''-galloyl)glucoside **11** and (-)-epicatechin **12**[9] were isolated from the leaves of *L. acida*. 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 study yielded thirteen compounds including a new eugenol glucoside sulfate. The presence of these compounds could explain the use of this plant in traditional medicine. In future works, the study of the antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of these compounds should be considered.

**Keywords:** *Lannea acida*, anacardiaceae, sulfonate glucoside Eugenol.

### Résumé

*Lannea acida* 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 les douleurs d'estomac, la diarrhée, le rhumatisme, le cancer etc [1].

Ce travail consiste à réaliser l'étude chimique de *L. acida* en vue de sa valorisation.

L'étude des extraits acétate d'éthyle et butanol des feuilles de *L. acida* a permis d'isoler un nouveau eugenol glucose sulfate **1** et 12 polyphénols, dont: la myricétine-3-(6''-galloyl)galactoside **2**, l'acide quercétine-3-O-glucuronique **3**, la quercétine-3-O-glucopyranoside **4**, le (-)-épigallocatechine-3-gallate **5**, le (-)-épicatéchine-3-gallate **6** [6], la myricétine-3-O-rhamnopyranoside **7**, la myricétine-3-O-glucopyranoside **8** [7], acide-3,4,5-trigalloylquinique **9** [8], le (-)-épigallocatechine **10**, la myricétine-3-(6''-galloyl)glucoside **11** et le (-)-épicatéchine **12** [9]. 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.

Cette étude a livré treize composés dont un nouveau eugenol glucoside sulfate. La présence de ces composés pourrait expliquer l'usage de cette plante en médecine traditionnelle. Dans des travaux futurs, l'étude de l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et anticancéreuse de ces composés est envisagée.

**Mots clés:** *Lannea acida*, polyphénols, Eugénol glucoside sulfonate.

## 1. Introduction

The genus *Lannea* belongs to the family Anacardiaceae and consists of 77 genera with 600 species [1]. Most of them are used to treat several ailments such as ulcers, enteritis, diarrhea, dysentery rheumatism (Joseph et al). The chemical investigation of the genus *Lannea* has led to the isolation of various secondary metabolites, including: alkylphenols and alkylhexanones (Ibrahim SABO); flavonoids, tannins; saponins steroid [2], [3]. *Lannea acida* A. Rich (fam. Anacardiaceae) is a deciduous tree with a dense rounded crown that usually grows from 1.5 to 10 meters tall. It is found widely in Western tropical Africa, spanning from Senegal to Nigeria [4]. Preclinical data on traditional use show that *Lannea acida* treat diarrhea, stomach pains rheumatism and gonorrhoea [5].

This study deal to isolation of a new sulfonyl glucoside Eugenol **1** and eleven know compounds (**2-12**) in the leaves extracts of *L. acida*.

## 2. Experimental

### 2.1. General experimental procedures

NMR spectra were carried in MeOH-*d*<sub>4</sub> on Bruker Avance DRX III 500 instruments. HR-ESI-MS experiments were performed using a Micromass Q-TOF micro instrument. TLC was performed on pre-coated silica-gel 60 F<sub>254</sub> Merck and compounds were observed under UV light at 254 and 365 nm or visualized by spraying the dried plates with 50% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, followed by heating. CC was carried out on

Kieselgel 60 (63-200 mesh). 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. RP-18 column (VETIVER) was used for semi-preparative HPLC with binary gradient eluent (H<sub>2</sub>O (filtered at 0.22 with TFA); MeCN) and a flow rate of 4 mL/min; the chromatogram was monitored at 205, 210, 254, and 365 nm.

## 2.2 Plant material

The leaves of *L. acida* were collected in November 2018 at Flakièdougou, village located in the region of Gontougo east of the Ivory Coast. The plants were identified at the floristic center of cocody university (Abidjan, Ivory Coast), where a voucher specimen were identified (ref. Number UCJ 000961).

## 2.2. Extraction and isolation

*L. acida* leaves, 1,5 Kg coarsely powdered was exhaustively extracted first with ethyl acetate (15L) and secondary with methanol/water (80/20) (15L). The hydromethanolic extract (94.5g) concentrate, diluted with H<sub>2</sub>O (500 mL), then successively extracted with ethyl acetate egen (4×500 mL), and n-butanol (4×500 mL). After evaporation of the solvents 90.7295 g of EtOAc, 31.7 g of n-BuOH extracts and 33.6173g of aqueous extract were obtained. Separation of the butanol extract by HP-20 (8 cm x 62 cm) eluted with water-methanol with decreasing polarity to give five extracts : Bu1 (8.7g), Bu2 (5.6g), Bu3 (9.3g), Bu4 (6g) and Bu5 (1.1g). Separation of the aqueous extract by VLC-C18 (10 cm x 5 cm) eluted with water-methanol with decreasing polarity ;(100/0; 50/50; 0/100); to give three extracts: Aq1 (8.5207 g), Aq2 (4 g) and Aq3 (1.1793 g)

Analytical chromatography of Aq1, Aq2 and Aq3 show that Aq2 contained many pics and good separation than Aq1 and Aq3. So Aq2 extract (4 g) have been purified to give quercetin-3-O-glucuronic acid (Rt 16.02min; 2mg) and myricetin-3-O-glucuronic acid (Rt 12.50 min; 4mg), 3,4,5-trigalloylquinic acid (Rt 5.50min; 11.7mg).

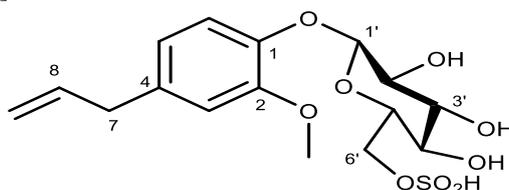
Than Bu4 extract (6g) was chromatographed on normal silica gel with a dichloromethane/methanol/water. 12 fractions were obtained. Fraction 7 (72.2 mg) was purified to give the new compound 2-Methoxy-4-(2-propenylphenyl)-o-β-D-glucopyranoside-6'-sulfonic-acid (Rt 19.19 min; 3.6 m)  $[\alpha]_D^{20} - 4.71$  (c 0.857, MeOH). UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  203 (1.434), 278 (0.266), <sup>1</sup>H NMR (MeOD, 500 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (MeOD, 500 MHz). HR-ESI-MS [M-H]<sup>-</sup> = 405.0857 (calcd for C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>9</sub>S, 406). Fraction 4 (205.7 mg) and Fraction 5 (510.2 mg) were mixed and purified to give myricetin-3-O-rhamnopyranoside (10 mg) and myricetin-3-O-glucopyranoside (Rt 19.50 min; 2.5 mg). The purification of ethyl acetate extract (8 mg) gave (-)-Epicatechin (Rt 19.12 min; 4.4 mg), (-)-Epigallocatechin (Rt 10.03 min; 1 mg), (-)-Epigallocatechin-3-gallate (Rt 19.39 min; 3.9 mg), myricetin-3-(6''-galloylglucopyranoside) (Rt 27.04 min; 2 mg), (-)-Epicatechin-3-gallate (Rt 30.22 min; 7.3 mg), quercetin-3-(6''-galloylgalactopyranoside) (Rt 13.05 min; 5.9 mg), quercetin-3-O-glucopyranoside (Rt min; 4.5 mg) and myricetin-3-O-rhamnopyranoside (Laf-5; 60)

## 2. Results and discussion

The n-BuOH and ethyl acetate extracts of the leaves of *Lannea acida* were separated by combined chromatographic methods to obtain 2-Methoxy-4-(2-propenylphenyl)-o-β-D-glucopyranoside-6'-sulfonic-acid 1 (new), myricetin-3-(6''-galloylgalactoside) 2, quercetin-3-O-glucuronic acid 3, quercetin-3-O-glucopyranoside 4 [6], (-)-Epigallocatechin-3-gallate 5, (-)-Epicatechin-3-gallate 6 [7], myricetin-3-O-rhamnopyranoside 7, myricetin-3-O-glucopyranoside 8 [8], 3,4,5-trigalloylquinic acid 9 [9], (-)-Epigallocatechin 10 [10], myricetin-3-(6''-galloylglucoside) 11 and (-)-Epicatechin 12. Their structural assignments were made by HR-ESI-MS, 1D-, and 2D-NMR analyses and by comparison with spectral data from the literature values. glycoside eugenol has been isolated from *Perilla frutescens* [11]. But in compound 1, protons 6 of glucose are highly deplete : H-6'a dd (4.29 ppm) ; H-6'b dd (4.51 ppm) against 3.68 ppm and 3.87 ppm of literature [11]. Concerning the carbon C-6', we have 63.3 ppm in the literature against 66.3 ppm in the compound 1 that expressed the presence of an attracting group. This group is not visible in nmr. We have supposed the presence of HSO<sub>3</sub>. This assertion was confirmed by HR-ESI-MS and RI. The band at 2356 cm<sup>-1</sup> expresses the presence of sulfur. So compound 1 is eugenol-1-(6'-sulphonylglucoside). The <sup>1</sup>H NMR (500 MHz) spectroscopic data of 7 in CD<sub>3</sub>OD showed δ 6.82 (1H, d, J = 1.75Hz, H-3) , δ 6.72 (1H, dd , J= 2.04 and 8.15Hz, H-5), δ 7.08 (1H, d, J = 8.31, H-6), δ 3.32 d (2H, d, J = 7.31Hz, H-7), δ 5.99 (1H, m, H-8), δ 5.03 (1H, dd, J = 1.72Hz and 10.05Hz, H-9a), δ

5.05 (1H, dd, J = 1.58 Hz and 17.1 Hz, H-9b),  $\delta$  4.56 (1H, d, J = 7.36Hz, H'-1),  $\delta$  3.49 (1H, t, J = 9.33 ; 7.79 H'-2),  $\delta$  3.43 (1H, t, J = 8.81Hz and 9.02Hz, H'-3),  $\delta$  3.38 t (1H, t, J = 8.92Hz and 8.81Hz, H'-4),  $\delta$  3.62 (1H, m, H'-5),  $\delta$  4.29 (1H, dd, J = 5.58 Hz and 6.74 Hz, H'-6a),  $\delta$  4.51 dd (1H, dd, J = 2.35 Hz and 2.35 Hz, H'-6b) and  $\delta$  3.83 (3H, s, OMe). The  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) NMR spectroscopic data of 1 in  $\text{CD}_3\text{OD}$  showed  $\delta$ 147.8 (C1),  $\delta$ 151.9(C2),  $\delta$ 119.4(C3),  $\delta$ 139.9(C4),  $\delta$ 123.0(C5),  $\delta$ 115.0(C6),  $\delta$ 41.3(C7),  $\delta$ 137.5(C8),  $\delta$ 117.5(C9),  $\delta$ 103.9(C1'),  $\delta$ 75.7(C2'),  $\delta$ 78.5(C3'),  $\delta$ 72.4(C4'),  $\delta$ 76.2(C5'),  $\delta$ 66.3(C6'),  $\delta$ 57.6(C1)

Natural sulfated compounds have been several times reported in the literature. These compounds are endowed with interesting biological activities. Juglanin B (11R)-O-sulfate, myricetin 3'-O-sulfate, and ampelopsin 3'-O-sulfate, were isolated from the leaves of *Myrica rubra* and gave good antiinflammatory cytokine activity [xxx] [12]. (2S,3S)-5-methylidihydromyricetin-3'-O-sulfate have been isolated from the *Limonium caspium*. His antimicrobial, antimalarial and antileishmanial activities were investigated. It showed good activity[xxx] [13]. Nayabin E is sulfated saponin isolated from *Fagonia indica* and have insulin secretory activity [14]. So it can be used in the treatment of diabete.



## Conclusion

The phytochemical investigation of *Lannea acida* led to the isolation of thirteen compounds including a new

2-Methoxy-4-(2-propenylphenyl)-o- $\beta$ -D-glucopyranoside-6'-sulfonic-acid. These molecules were isolated for the time in this plant. The presence of these compounds could explain the use of *L. acida* in traditional medicine. Further studies of the antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of these compounds should be considered.

## Acknowledgements

We express our sincere thanks to Pr. Laurence VOUTQUENNE-NAZADIOKO, Dr. Abdulmagid ALABDUL MAGID for the use of spectrophotometer. Our acknowledgements also go to the place of Mr. Téhé Henry and CNF (UFHB) for identification of plants.

## 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].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*, Vol 9, Issue 4, pp179-182
- [3].Hasan M. H. Muhaisen, (2013), Chemical constituents from the bark of *Lannea acida* Rich (Anacardiaceae), *Der Pharma Chemica*, 5(5):88-96
- [4].George O., Ofori-Amoah J. (2017), Anti-inflammatory and Analgesic Effects of an Aqueous Extract of *Lannea acida* Stem Bark, *British Journal of Pharmaceutical Research*, 16(6): 1-8,
- [5].Ouattara L., Koudou J., Zongo C., Barro N., Savadogo A., Bassole I. H. N., Ouattara A. S., Alfred S., (2011), Antioxidant and Antibacterial activities of three species of *Lannea* from Burkina Faso, *journal of Applied Sciences*, Vol. 11, No. 1, pp: 157-162
- [6].Helena D. Smolarz, (2002), Flavonoids from *Polygonum lapathifolium* ssp. Tomentosum, *Pharmaceutical Biology*, Vol.40, No. 5, pp. 390-394
- [7].Adrienne L. Davis, Ya Cai, Alan P. Davies, J. R. Lewis, (1996),  $^1\text{H}$  And  $^{13}\text{C}$  NMR Assignments of Some Green Tea Polyphenols, *Magnetic resonance in chemistry*, Vol. 34, pp : 887-890
- [8].Ghislaine H., Hamza T., Louis B., Eric P., Nassima C., Stéphanie C., Jean-Claude D., Natalie O., Serge D., Jean-Michel M., Eric G., Tristan R., (2015), Flavonol profiles in berries of wild vitis accessions using liquid chromatography coupled to mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectrometry, *Food Chemistry*, 169 pp : 49-59

- [9].Makoto N, Takashi Y, Ginger E. D, William B. P, Anne J. , Robert E. K, Yung-Chi C, Kuo-Hsiung L, (1989), Anti-AIDS Agents, Isolation and Characterization of four new Tetregalloylquinic acids as a new class of HIV reverse Transcriptase Inhibitors from tannic acid, *Journal of Natural Products*, Vol. 52, No. 4, pp. 762-768.
- [10].Touré Abdoulaye, Kablan Ahmont Landry Claude, Aka Faustin, Adiko N'dri Marcelline, Kablan Richmond Jean-François, Akoubet Ouayogodé Aminata, Konan Dibi Jacques, Gnaoré Dohouré Toussaint, Attioua Koffi Barthélémy, Coulibaly Adama, (2018), Isolation of (+)-catechin and (-)-epicatechin from the leaves of *Amaranthus cruentus* L.(Amaranthaceae), *International Journal of Chemical Studies*, Vol. 6, No. 2, pp : 3697-3700
- [11].Tomoyuki F., Mitsuru N., (1992), perilloside A, a monoterpene glucoside from *Perilla frutescens*, *phytochemistry*, Vol. 31, No. 9, pp. 3265-3267.
- [12].Han Hyuk Kim, Myeong Hwan Oh, Kwang Jun Park, Jun Hyeok Heo, Min Won Lee, (2014), Anti-inflammatory activity of sulfate-containing phenolic compounds isolated from the leaves of *Myrica rubra*, *Fitoterapia* 92 pp. 188–193.
- [13].Anastassiya V. Gadetskaya , Amer H. Tarawneh , Galiya E. Zhusupova , Nadezhda G. Gemejiyeva , Charles L. Cantrell , Stephen J. Cutler , Samir A. Ross, (2015), Sulfated phenolic compounds from *Limonium caspium*: Isolation, structural elucidation, and biological evaluation, *Fitoterapia* 104 pp. 80–85.
- [14].Nayab K., Achyut A., Abdul H., Rahman M. H., Syed G. M., (2017), Isolation and characterization of non-sulfated and sulfated triterpenoid saponins from *Fagonia indica*, *Phytochemistry* 143, pp. 151-159.

## Effet des extraits hydro-éthanoliques des feuilles de *Desmodium ramosissimum* sur les contractions utérines chez le rat wistar

Madjalani Hèzouwè<sup>1\*</sup>, Melila Mamatchi<sup>2</sup>, Pakoussi Tcha<sup>1</sup>, Kanabiya Essodjolon<sup>3</sup>, Nabede Aklesso<sup>4</sup>, Metowogo Kossi<sup>1</sup>

1 : Département de Physiologie Animale et Pharmacologie, Faculté des Sciences, Université de Lomé (Togo) ;

2 : Département de Biochimie/Nutrition, Faculté des Sciences, Université de Lomé (Togo) ;

3 : Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université de Lomé (Togo) ;

4 : Département de Chimie, Faculté des Sciences et Techniques, Université de Kara (Togo).

\*Auteur correspondant, E-mail : [ismaeltchedre981@Yahoo.fr](mailto:ismaeltchedre981@Yahoo.fr)

### Résumé

L'usage thérapeutique de plantes médicinales suscite de l'intérêt et les troubles de reproduction constituent un problème de santé publique. Dans le but de contribuer à la valorisation de la flore togolaise dans la promotion de la santé, ce travail a porté sur l'évaluation de l'effet des extraits hydro-éthanoliques des feuilles de *D. ramosissimum* sur les contractions utérines chez le rat de souche Wistar. Les feuilles de *D. ramosissimum* ont été prélevées dans la préfecture d'Agoè-Nyivé à 15 Km de Lomé. La force contractile isométrique des préparations utérines a été enregistrée à partir d'un capteur de force relié à un enregistreur, système MP100 de BIOPAC pour différentes concentrations d'extraits hydro-éthanoliques. Des résultats, il ressort que l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *D. ramosissimum* a réduit significativement les fréquences contractiles du muscle utérin. Cette réduction de la fréquence des contractions spontanées du myomètre montre que l'extrait a eu un effet inhibiteur ou relaxant sur la contraction du muscle lisse utérin. Ces résultats pourraient expliquer ainsi son utilisation dans la parturition lorsque les contractions deviennent trop fortes et incontrôlées dans le but d'éviter des Menace d'Accouchement Prématuro.

**Mots clés** : *Desmodium ramosissimum* ; contraction utérine ; activité parturiente ; MAP

## Effect of hydro-ethanolic extracts of *Desmodium ramosissimum* leaves on uterine contractions in the rat wistar

### Abstract

The therapeutic use of medicinal plants is of interest and reproductive disorders are a public health problem. In order to contribute to the valorization of the Togolese flora in the promotion of health, this work focused on the evaluation of the effect of hydro-ethanolic extracts of *D. ramosissimum* leaves on uterine contractions in Wistar rats. The leaves of *D. ramosissimum* were collected in the prefecture of Agoè-Nyivé, 15 km from Lomé. The isometric contractile force of the uterine preparations was recorded using a force transducer connected to a recorder, BIOPAC MP100 system, for different concentrations of hydro-ethanol extracts. The results show that the hydro-ethanol extract of *D. ramosissimum* leaves significantly reduced the contractile frequency of the uterine muscle. This reduction in the frequency of spontaneous myometrial contractions shows that the extract had an inhibitory or relaxing effect on the contraction of uterine smooth muscle. These results could explain its use in parturition when the contractions become too strong and uncontrolled in order to avoid the threat of premature delivery.

**Key words**: *Desmodium ramosissimum*; uterine contraction; parturient activity; MAP

### 1. Introduction

Durant ces dernières années, l'usage de la médecine traditionnelle est en plein expansion dans le monde entier particulièrement en milieu rural, bien qu'elle soit plus pratiquée dans certaines cultures que dans d'autres [1]. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) [2], 80% de la population mondiale dépendent de la médecine traditionnelle. L'usage thérapeutique de plantes médicinales s'applique dans différentes pathologies [2] et les troubles liés à la reproduction chez les femmes ne sont pas épargnés [3]. Ces troubles constituent en partie, les causes de morbidité et de mortalité maternelles dans bon nombre de pays africains [4]. Selon le rapport 2010 du RGPH4 au Togo, la mortalité maternelle au niveau national est de 437 décès maternels pour cent mille naissances vivantes, soit un taux de 0,59 ‰ [5]. En Afrique, le faible revenu de la population, le coût élevé des médicaments et l'inaccessibilité aux structures de santé, favorisent l'usage des plantes médicinales. Parmi ces plantes, se trouve *D. ramosissimum* qui est caractérisée par ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et thérapeutiques diverses telles que, les traitements des infections gastro-intestinales et des complications liées à l'accouchement [6]. Il apparaît donc nécessaire d'investiguer sur les propriétés pharmacologiques de ces des plantes qui facilitent l'accouchement, afin de développer des produits adaptés à la santé humaine et mettre à la disposition de la population des Médicaments Traditionnels

Améliorés (MTA) disponibles et à moindre coût. C'est dans ce contexte que s'inscrit cette étude dont l'objectif est d'évaluer de vérifier l'activité parturiente de *D. ramosissimum* à travers son effet sur les contractions spontanées du muscle lisse utérin.

## 2. Matériel

### 2.1. Matériel végétal et préparation de l'extrait

Le matériel végétal a été constitué des feuilles de *D. ramosissimum* collectés dans la préfecture d'Agoè-Nyivé à 15 km de Lomé (Togo). Cinquante grammes (50 g) de poudre végétale des feuilles de *D. ramosissimum* ont été macérés dans 500 ml d'un mélange Eau/Ethanol (50/50, v/v). Après filtration, les macérats ont été évaporés et l'extrait sec obtenu a été pesés et conservés à une température de 4 °C.

### 2.2 Matériel animal

Les expériences ont porté sur des rates de souches Wistar pubères (110 g et 180 g) élevés à l'animalerie du Département de Physiologie Animale de l'université de Lomé.

### 2.3. Outils pharmacologiques et Dispositif expérimental

Le DPPH, l'acide gallique, la solution de Krebs-Henseleit et divers réactifs de laboratoire ont été utilisés pour cette étude. L'enregistrement des contractions utérines est rendu possible grâce à un dispositif constitué d'une cuve à organe de 10 ml (SA-068, UGO BASILE), d'un capteur muni d'un amplificateur et d'un transducteur (BIOPAC Systems Inc, MODEL MP100A, Santa Barbara, California) couplé à un microordinateur piloté par le logiciel Acq Knowledge III MP100.

## 3. Méthodes

### 3.1. Préparation de l'organe

Les rates ont été sacrifiées sous anesthésie à l'éther. Les cornées utérines ont été rapidement prélevées, découpées en sections de 5 millimètres de long et 3 millimètres de large et ensuite montés dans une cuve à organe contenant la solution physiologique de Krebs-Henseleit (en millimoles) : NaCl 118 ; KCl 4,7 ; CaCl<sub>2</sub> 2,5 ; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2,5 ; MgSO<sub>4</sub> 1,2 ; NaHCO<sub>3</sub> 25 ; glucose 11 ; pH 7,4. L'organe a été fixé longitudinalement à l'aide d'un fil dans la cuve à organe et soumis à une précharge de 0,5 g. Il est ensuite continuellement oxygéné puis maintenu à une température de 37 °C.

### 3.2. Effet de l'extrait sur les contractions spontanées de l'utérus

Pour mesurer l'activité contractile, le lambeau d'utérus monté dans la cuve à organes contenant la solution de Krebs-Henseleit a été laissé pendant 45 min. Durant cette période, le lambeau a été lavé, trois fois, afin de retrouver l'équilibre. Après équilibration et stabilisation des contractions spontanées, différentes concentrations d'extrait à 100 mg/ml et à 200 mg/ml ont été ajoutés à la cuve de façon cumulée [7].

### 3.3. Evaluation de l'activité anti-radicalaire de *D. ramosissimum*

#### Test de piégeage du radical libre DPPH

La détermination de l'activité anti-radicalaire par le test de DPPH a été effectuée selon la méthode décrite par Molyneux [8]. L'extrait des feuilles de *D. ramosissimum* ainsi que la référence (acide gallique) ont été testés à différentes concentrations variant de 0 à 90 µg/ml, puis les absorbances ont été lues à une longueur d'onde de 517 nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (%), selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'activité anti-radicalaire} = \frac{\text{Absorbance contrôle} - \text{Absorbance échantillon}}{\text{Absorbance contrôle}} \times 100$$

**3.4. Screening phytochimique préliminaire de *D. ramosissimum*** Les différents groupes chimiques tels que les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins et les saponosides, ont été caractérisés en se référant aux techniques décrites par ses études antérieures [9] .

### 3.5. Analyse statistique des données

Les résultats ont été présentés sous forme de la moyenne assortie de l'erreur standard sur la moyenne (M ± ESM). Ils ont été traités grâce au logiciel Graph Pad Prism 8 (Graph Pad Software Inc. California). Les différences entre les résultats ont été considérées comme significatives au seuil de 5 % (valeur  $p < 0,05$ ).

## 4. Résultats

### 4.1. Screening phytochimique préliminaire de *D. ramosissimum*

Le tableau I présente les résultats des tests phytochimiques qualitatifs de l'extrait des feuilles de *D. ramosissimum*. Ce test a révélé la présence des tanins, des saponosides et des alcaloïdes.

**Tableau III:** Résultats du criblage phytochimique de *D. ramosissimum*

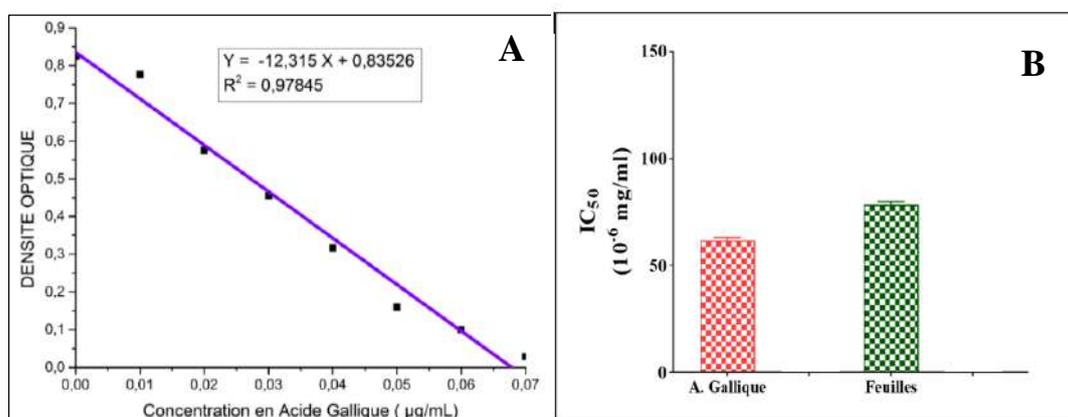
Chemical groups	Flavonoïdes	Saponosides	Tannins	Alcaloïdes
Feuilles	-	+	+	+

+ : Présence ; - : Absence

#### 4.2. Activité antioxydante de *D. ramosissimum*

##### 4.2.1. Test de piégeage du radical DPPH

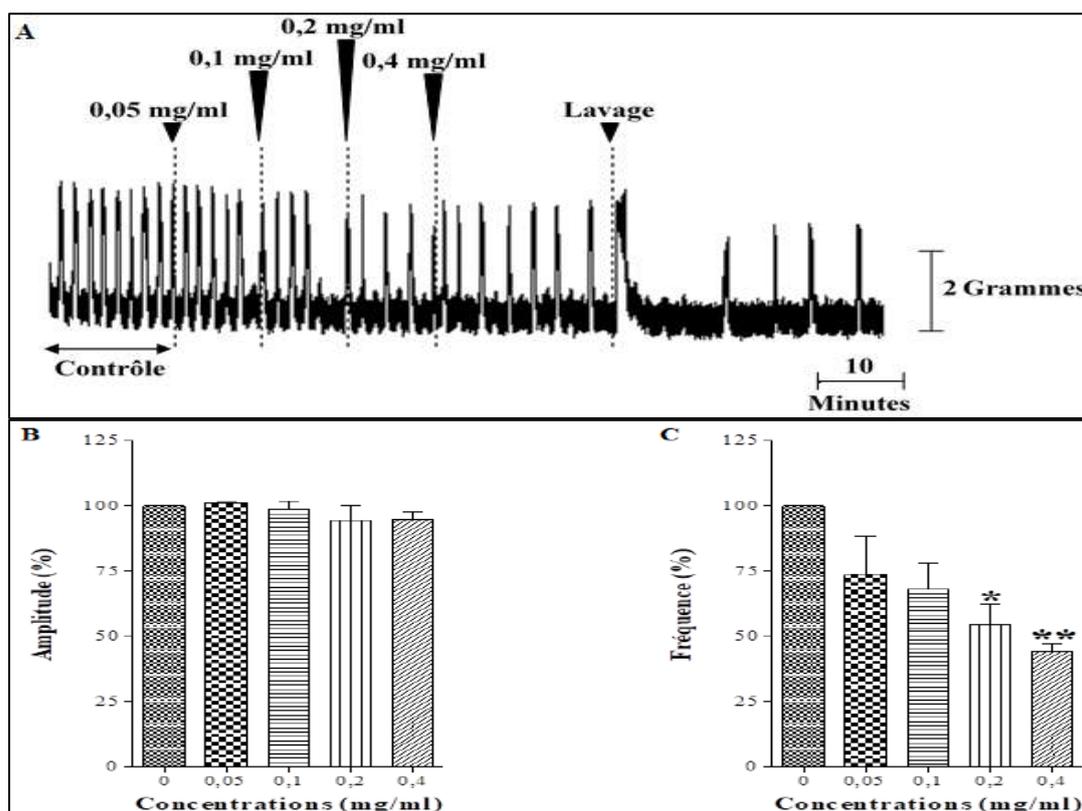
Les valeurs d'IC<sub>50</sub> pour l'acide gallique et l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *D. ramosissimum* sont représentées par la figure 2. D'après les IC<sub>50</sub> obtenus, on constate que l'extrait hydro-éthanolique des feuilles présente l'IC<sub>50</sub> faible (77,53 10<sup>-6</sup> mg/ml).



**Figure 2 :** Droite d'étalonnage de l'acide gallique (A) et histogrammes montrant les valeurs des IC<sub>50</sub> déterminées par le test du DPPH (B)

##### 4.1. Effets de l'extrait des feuilles sur la musculature lisse utérine

La figure 1A montre l'effet des différentes concentrations d'extrait de feuilles de *D. ramosissimum* sur les contractions spontanées du myomètre. Le résultat indique l'extrait n'a aucun effet sur l'amplitude des contractions spontanées du muscle lisse utérin (Figure 1B). Cependant, l'extrait a réduit significativement ( $p < 0,05$ ) la fréquence des contractions spontanées de la musculature lisse utérine (Figure 1C) avec des pourcentages de réduction de la fréquence de  $54,60 \pm 7,80$  % et de  $44,29 \pm 2,97$  % respectivement aux concentrations de 0,2 et 0,4 mg/ml d'extrait par rapport au contrôle estimée à 100 %.



**Figure 1 :** Effet de l'extrait des feuilles de *D. ramosissimum* sur les contractions spontanées du myomètre.

Réduction des contractions spontanées du muscle utérin à partir de la concentration de 0,1 mg/ml d'extrait (A). Les flèches indiquent le moment de l'addition de l'extrait au contenu de la cuve à organe. Histogrammes montrant le non-effet de l'extrait des feuilles sur l'amplitude des contractions spontanées du myomètre (B) et son effet sur la réduction de la fréquence des contractions spontanées du myomètre (C). Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne  $\pm$  E.S.M (n = 4). Significativement différent par rapport au control : \*  $p < 0,05$  ; \*\*  $p < 0,01$  (ANOVA suivi de Dunnett).

## 5. Discussion

L'usage des plantes médicinales dans le traitement et la prise en charge des pathologies est une pratique perpétuelle de la médecine traditionnelle malgré les avancées spectaculaires de la médecine moderne [10].

L'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *D. ramosissimum* a provoqué une réduction de la fréquence des contractions spontanées du muscle utérin. Cette réduction montre que cet extrait a eu un effet relaxant sur la contraction du muscle lisse utérin. Le screening phytochimique préliminaire a montré, la présence des tanins, des alcaloïdes, des saponosides et une absence des flavonoïdes dans l'extrait. Alli et al. [11] ont identifié des flavonoïdes, des tanins et des phénols dans les extraits aqueux des feuilles. Cette différence pourrait donc s'expliquer par le type de solvant utilisé. En effet, les alcaloïdes constituent un groupe de métabolites secondaires contenus dans les plantes qui ont un effet inhibiteur sur les contractions spontanées du muscle lisse utérin [12]. La réduction de la fréquence des contractions spontanées du myomètre en présence d'extraits de feuilles de *D. ramosissimum* serait probablement due à la présence des alcaloïdes.

Bade et al. [13], ont souligné dans une étude ethnobotanique que la tige feuillée de *D. ramosissimum* est traditionnellement utilisée pour soigner les complications de la délivrance. En effet, pour avoir une bonne délivrance il faut une dynamique utérine correcte [14] qui permet l'expulsion du placenta. La diminution de la fréquence des contractions utérines, par l'extrait des feuilles, montre que nos résultats s'opposent à ceux des investigations ethnobotaniques de Bade et al. [13]. Djoumbissie et al. [15] ont isolé de l'extrait méthanolique de la plante entière neuf (9) métabolites secondaires parmi lesquels le  $\beta$ -sitostérol qui augmente la contractilité du muscle lisse utérin de rates [16]. Ces résultats qui confirment

l'étude ethnobotanique de Bade et al. [13] et s'opposent à nos résultats s'expliqueraient par le type d'extraction utilisée dans notre étude. En effet, l'extraction et l'isolation du  $\beta$ -sitostérol commence par une macération dans du méthanol [16] et non dans de l'éthanol. Nos résultats montrent que les extraits hydro-éthanoliques de feuilles de *D. ramosissimum* peuvent être utilisés lors des menaces d'accouchement prématuré afin de permettre au muscle utérin de retrouver sa quiescence relative. Le stress est un facteur couramment cité dans les défaillances de la reproduction telles que les fausses couches, les accouchements prématurés et l'inhibition du développement fœtal [17]. Parmi les diverses méthodes utilisées pour évaluer l'activité antioxydante, nous avons utilisé la méthode du piégeage du radical DPPH. Les résultats obtenus ont montré une IC<sub>50</sub> faible (77,53 10<sup>-6</sup> mg/ml). En comparant les IC<sub>50</sub> de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *D. ramosissimum* par rapport à celle de l'antioxydant de référence (Acide gallique), nous remarquons que la capacité du piégeage du radical libre DPPH par cet extrait est relativement intéressante et proche de ce qu'il est avec l'acide gallique (60,2 10<sup>-6</sup> mg/ml). Cette activité anti-radicalaire serait probablement due aux constituants phénoliques [18]. Saker et al. [19] dans leurs études ont prouvées des teneurs élevées de marqueurs de stress oxydatif lors d'une grossesse normale. La période périnatale et l'accouchement en particulier sont des moments critiques pour maintenir un équilibre entre la production de radicaux libres et la protection antioxydante du fœtus et du nouveau-né. Nos résultats justifieraient l'utilisation traditionnelle de *D. ramosissimum* dans la lutte contre le stress oxydatif afin de prévenir les fausses couches ou les accouchements prématurés.

### Conclusion

La médecine traditionnelle fait usage des plantes médicinales pour le traitement de diverses pathologies y compris celles qui affectent la parturition. L'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *D. ramosissimum*, diminuent significativement la fréquence des contractions utérines spontanées chez les rates de souche Wistar. Le présent travail a révélé l'existence de métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, les saponosides et les tanins dans l'extrait de feuilles de *D. ramosissimum* ; ce qui pourrait justifier ses propriétés pharmacologiques. Cette étude étant une étude préliminaire visant à contribuer à la valorisation de l'utilisation thérapeutique de *D. ramosissimum* mérite d'être approfondie par d'autres études telles que le fractionnement des extraits et l'évaluation de l'activité de ces fractions sur la musculature lisse utérine, l'isolation et l'identification des composés chimiques contenus dans les différents organes de la plante par des techniques d'HPLC.

### Références bibliographiques

- [1] Bafor E. E. (2017). Potentials for use of medicinal plants in female reproductive disorders – the way forward / Potentiels d'utilisation des plantes médicinales dans les troubles de la reproduction chez la femme - La voie à suivre. *African Journal of Reproductive Health*, 21(4), 9-16. doi:10.29063/ajrh2017/v21i4.1.
- [2] Radji R., Kokou K. (2013). Classification et valeurs thérapeutiques des plantes ornementales du Togo. *VertigO - la revue électronique en sciences de l'environnement*(Volume 13 Numéro 3). doi:10.4000/vertigo.14519
- [3] Pakoussi T., Mouzou A., Metowogo K., Agbonon A., Eklou-Gadegbeku, K., Aklikokou K., Gbeassor M. (2013). Effects of *Spondias mombin* Linn (Anacardiaceae) on rat parturition. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 7(2), 441-446-446. doi:10.4314/ijbcs.v7i2.2
- [4] Akpadza K., Kotor T., Baeta S., Adama A., Hodonou A. K. S. (1994). La mortalité maternelle au CHU Tokoin Lomé 1990 à 1992. *Revue française de gynécologie et d'obstétrique*, 89(2), 81–85.
- [5] Badohoun K. Y., Adedzi K. (2016). Mortalité maternelle. Disponible sur : <https://www.inseed.tg>
- [6] Junni L., Gengqiu T., Rong L., Dong W., Shengguo J. (2019). Pharmacognostical study of *Desmodium caudatum* Retrieved from doaj.org/article.doi: 10.1590/0001
- [7] Pakoussi T., Mouzou A. P., Metowogo K., Aklikokou K. A., Gbeassor M. (2018). How do *Spondias mombin* L (Anacardiaceae) leaves extract increase uterine smooth muscle contractions to facilitate child birth in parturient women? *African Health Sciences*, 18(2), 235-243-243. doi:10.4314/ahs.v18i2.6.
- [8] Molyneux P. (2003). The use of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.

- [9] Hakim A., Bencharki B., Idrissi Hassani L. M., Barka, N. (2014). Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscus graveolens* subsp. *odoros*. *Afrique SCIENCE* 10(3) (2014) 316 - 328, 10, 316-328.
- [10] Gbekley H. E., Katawa G., Karou S. D., Anani K., Tchadjobo T., Ameyapoh Y., Simporé J. (2017). Ethnobotanical study of plants used to treat asthma in the maritime region in Togo. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 14(1), 196-212-212.
- [11] Alli A. I., Ehinmidu J. O., Ibrahim, Y. K. E. (2011). Preliminary Phytochemical Screening and Antimicrobial Activities of Some Medicinal Plants Used In Ebiraland. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 4(1), 10-16-16. doi:10.4314/bajopas.v4i1.2
- [12] Schläger S., Dräger B. (2016). Exploiting plant alkaloids. *Current Opinion in Biotechnology*, 37, 155-164. doi:10.1016/j.copbio.
- [13] Farid B., Rafiou M., Marcellin A., Durand D.N., Nabede A., Sylvestre A., Lamine B. M., (2018). Ethnobotanical Survey of Three Species of *Desmodium* genus (*Desmodium ramosissimum*, *Desmodium gangeticum* and *Desmodium adscendens*) Used in Traditional Medicine, Benin. *International Journal of Sciences*, 4(12), 26-33. doi:10.18483/ijSci.1860
- [14] Ducloy-Bouthors A.-S., Blondé-Zoonekynd É., Jaillette E., Richart P., Barre-Drouard C., Wibaut B., Susen, S. (2010). Transfusion et hémorragie du post-partum. *Transfusion Clinique et Biologique*, 17(5), 273-278. doi:10.1016/j.tracli.2010.09.156
- [15] Djoumbissie R., Nguekeu Y., Tane P., Morita H, Awouafack M. (2019). Secondary metabolites from *Desmodium ramosissimum* G. Don (Fabaceae) and their radical scavenging properties. *PKfokam Journal of Applied Science and Technology*, 44-49.
- [16] Promprom W., Kupittayanant P., Indrapichate K., Wray S., Kupittayanant S. (2010). The Effects of Pomegranate Seed Extract and  $\beta$ -Sitosterol on Rat Uterine Contractions. *Reproductive Sciences*, 17(3), 288-296. doi:10.1177/1933719109352687
- [17] Aliba, M. O., Ndukwe, I. G., Ibrahim, H. (2018). Isolation and characterization of  $\beta$ -sitosterol from methanol extracts of the stem bark of large-leaved rock fig (*Ficus abutilifolia* Miq). *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 22(10), 1639-1642. doi:10.4314/jasem.v22i10.19
- [18] Nepmnaschy PA, Mastorakos G, Arck PC. (2007). Stress, immune function, and women's reproduction. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1113: 350 – 364.
- [19] Saker M., Merzouk H., Berrahoui S., Merzouk A., Malti A., Narce M. (2017). Poids de naissance : un bon indicateur du statut oxydant/anti-oxydant chez la mère et le nouveau-né. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 31(1), 39-40.

## Etude de l'influence de la basicité sur l'enthalpie de réaction des sels N-méthoxycarbonyl-(oxy)-pyridiniums

Kokou Agbékonyi Agbodan<sup>1</sup>, Oudjaniyobi Simalou<sup>2</sup>, Whad Gneiny Tchani<sup>2</sup>, Adjo Cynthia Kouakou<sup>1</sup>, Bakpo Awédèwou<sup>1</sup> Et Koffi Jondo<sup>1</sup>

*1-Laboratoire de Génie des Procédés et Ressources Naturelles (LAGEPREN), Département de Chimie, Université de Lomé, 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé, Togo.*

*2-Laboratoire de Chimie Organique et des Substances Naturelles (LabCosNat), Département de Chimie, Université de Lomé, 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé, Togo.*

### Résumé

Les hétérocycles sont importants, aussi bien dans les domaines biologique, médicinal et thérapeutique (vitamines, hormones, antibiotiques, etc), que dans le secteur industriel et technologique (inhibiteurs de corrosion, colorants, agents stabilisants, pesticides, herbicides). Les chloroformiates ou chlorocarbonates sont les esters dérivés de l'acide chloroformique. La chimie des N-oxydes hétérocycliques (pyridine et N-oxydes) a connu un important développement au cours des dernières années. L'objectif principal du présent travail est l'étude de l'action du métoxycarbonylchlorure sur la pyridine et certains de ses dérivés. Après avoir trouvé les conditions optimales, de nouveaux composés à base de pyridine ont été synthétisés. En remplaçant l'ion chlorure par d'autres ions, les produits synthétisés ont été cristallisés avec un bon rendement. La structure des produits a été caractérisée à l'aide de la spectroscopie infra rouge et la résonance magnétique nucléaire. Spécifiquement, l'influence de la basicité du noyau hétérocyclique sur les enthalpies de formation des sels produits a été étudiée. En conclusion, la réaction chimique de formation est exothermique avec  $\Delta H^\circ < 0$  pour tous les sels étudiés. En utilisant les constantes de Hammett sur le noyau de la pyridine, l'étude a montré que ces chaleurs de réaction dépendent de la basicité du noyau hétérocyclique. En perspective on peut envisager une étude de l'influence de la basicité des différents noyaux pyridiniques sur les effets de conjugaison polaire directe sur le groupe azoté dans les sels N-méthoxycarbonyl-(oxy)-pyridiniums.

**Mots clés :** Pyridine N-Oxyde, chloroformiates, synthèse, constante de Hammett.

## Study of the influence of basicity on the enthalpy of reaction of N-methoxycarbonyl- (oxy) -pyridinium salts

### Abstract

Heterocycles are important, as well in the biological, medicinal and therapeutic fields (vitamins, hormones, antibiotics, etc.), as in the industrial and technological sector (corrosion inhibitors, dyes, stabilizing agents, pesticides, herbicides). Chloroformates or chlorocarbonates are esters derived from chloroformic acid. The chemistry of heterocyclic N-oxides (pyridine and N-oxides) has experienced significant development in recent years. The main objective of this work is to study the action of methoxycarbonylchloride on pyridine and some of its derivatives. After finding the optimal conditions, new pyridine-based compounds were synthesized. By replacing the chloride ion with other ions, the synthesized products have been crystallized with good yield. Specifically, the influence of the basicity of the heterocyclic nucleus on the enthalpies of salt formation produced has been studied. The enthalpies formation of salt produced have been determined. In conclusion, the chemical reaction of formation is exothermic with  $\Delta H^\circ < 0$  for all the salts studied. Using Hammett's constants on the pyridine nucleus, the study has shown that these reaction heats depend on the basicity of the heterocyclic nucleus. In perspective, we can study the influence of the basicity of the different pyridine rings on the effects of direct polar conjugation on the nitrogen group in the N-methoxycarbonyl- (oxy) -pyridinium salts.

**Key words:** Pyridine N-Oxide, chloroformates, synthesis, Hammett constant.

### 1-Introduction

La pyridine comme matière première pour synthétiser des alcaloïdes telle que la lentiginosine et ses épimères en très peu d'étapes avait été étudiée par Rabah. Les étapes clés sont une alkylation de pyridinium par réaction de Mitsunobu, ainsi qu'une réduction du pyridinium en pipéridinium. Les sels de pyridiniums sont donc très importants comme produits de synthèse prometteurs dans l'industrie [1, 2]. D'autres études incluant la pyridine et ses N oxydes sont mentionnées par la littérature scientifique [3, 4]. La synthèse et l'étude par des méthodes spectroscopiques comme la RMN et l'IR d'une série de ces sels en solution dans des solvants aprotiques ont été réalisées. Les caractéristiques des noyaux hétérocycliques des différentes bases utilisées ont été comparées avec celles des produits des réactions provoquées. Ainsi l'action du métoxycarbonylchlorure sur la pyridine, la pyridine N-oxyde et certains de ses dérivés en solution a été suivie. Malgré l'importance accordée à ces sels, l'analyse des données bibliographiques existantes montre qu'une étude systématique de la structure des sels N-alcoycarbonyl(oxy)pyridiniums dans un large diapason de changement de leurs structures et de leurs propriétés physico chimiques n'a pas été faite. L'objectif général est

l'étude de la structure des sels N-alcoylocarbonyl(oxy)pyridiniums. Spécifiquement il s'agit d'étudier l'influence de la basicité des différents noyaux hétérocycliques sur l'enthalpie de la réaction de formation des produits.

## 2-matériel et méthodes

Tous les réactifs comme les solvants ont été purifiés et déshydratés pour éviter l'hydrolyse. Les spectres IR ont été obtenus sur un spectromètre Perkin Elmer 180 FIR. L'étalonnage s'est effectué à base des données des composés étalons (CO<sub>2</sub> gazeux, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O). L'erreur absolue sur les mesures de fréquence ne dépasse pas  $\pm 0,5 \text{ cm}^{-1}$ , et sur les intensités intégrales, elle est de  $\pm 5-10\%$ . Les cuvettes avec des fenêtres en KBr et en polyéthylène utilisées ont des épaisseurs comprises entre 0,1-5,0 mm. Les spectres RMN furent enregistrés à l'aide des spectromètres Tesla BS-467 et VARIAN avec une fréquence de mesure de 60 MHz et Gemini-200 (VARIAN) avec 200 MHz comme fréquence. Un standard interne approprié fut utilisé. L'erreur sur les mesures des déplacements chimiques est de  $\pm 0,005 \text{ ppm}$ . Toutes les réactions chimiques s'accompagnent, sauf cas exceptionnelle, d'un dégagement ou d'une absorption de chaleur. Cette chaleur de réaction peut être mesurée par une méthode calorimétrique. En considérant deux variables qui sont la pression et le volume, on peut exprimer, la chaleur de réaction sous forme de variation d'enthalpie  $\Delta H$  (à pression constante) ou de variation d'énergie interne  $\Delta U$  (à volume constant). Il est possible de mesurer une variation d'enthalpie à l'aide d'un calorimètre ou la calculer grâce à l'observation d'un diagramme énergétique ou en utilisant le bilan énergétique d'une réaction. La méthode utilisée dans la présente étude est le dosage calorimétrique des solutions des produits de la réaction en solution dans le chloroforme. Dans le calorimètre isoperbolique utilisé, le dégagement ou l'absorption de chaleur est déterminé à partir du changement de température lors d'un échange de chaleur entre l'enceinte et la membrane thermostatique. Cela a permis la détermination des chaleurs de réactions produites par l'action des bases azotées dérivées de la pyridine et de son N oxyde avec le méthoxycarbonyl chloride.

Pour la mesure de la chaleur de réaction, le fondement de la méthode est la mesure de la quantité de chaleur (Qp) émise (ou absorbée) au cours de la réaction dans la cellule calorimétrique. La cellule est pleine de la solution à titrer de concentration CA pour les changements mesurables des concentrations CB de (B). A l'issue de réaménagements mathématiques des données expérimentales qui sont de la forme  $Q_p = f(CB)$ , le système stœchiométrique de la réaction étudiée a été défini et les paramètres thermodynamiques de toutes les étapes ont été déterminés.

### Purification de la pyridine N-oxyde

Elle a été purifiée à l'aide de méthodes standardisées et distillée sous vide.

### Synthèse et purification de l'agent CH<sub>3</sub>OCOCl

La synthèse du phosgène et du méthoxycarbonylchlorure a été effectuée selon des méthodes décrites dans la littérature. Les caractéristiques physico-chimiques des composés obtenus sont conformes aux données de la littérature [5].

### Synthèse du perchlorate-N-méthoxycarbonyl-4- diméthylaminopyridinium

Dans une solution  $10^{-3} \text{ M}$  de méthylchloroformiate (dans 10 ml CH<sub>3</sub>CN), il a été ajouté successivement  $10^{-3} \text{ M}$  du 4- diméthylaminopyridine (dans 10 ml CH<sub>3</sub>CN) et  $10^{-3} \text{ M}$  de perchlorate de sodium (dans 10 ml de CH<sub>3</sub>CN). Le précipité de NaCl a été filtré. Le filtrat a ensuite été traité avec de l'éther sec. Il s'est formé un précipité blanc cristallin qui a été traité par lavage encore avec de l'éther.

### Synthèse du Phénylsulfonate du MCMAP\*

Dans une solution  $10^{-3} \text{ M}$  de méthylchloroformiate (dans 10 ml de CH<sub>3</sub>CN) on a ajouté goutte à goutte 10 ml d'une solution  $10^{-3} \text{ M}$  de 4-diméthylaminopyridine (en solution dans CH<sub>3</sub>CN) et 10 ml d'une solution de phénylsulfonate d'argent (en solution dans CH<sub>3</sub>CN). Un précipité blanc de chlorure d'argent a été recueilli. Après traitement du filtrat par de l'éther sec, un précipité blanc sous forme de cristal a de nouveau été recueilli, et relavé avec de l'éther sec. Le produit synthétisé est le phénylsulphonate-N-méthoxycarbonyl-4-diméthylaminopyridinium avec un rendement de 95%

\*= N-méthoxycarbonyl- 4- diméthylaminopyridinium

### 3- Résultats et discussions

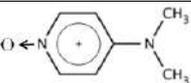
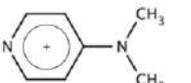
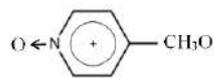
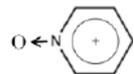
#### 3-1 Résultats

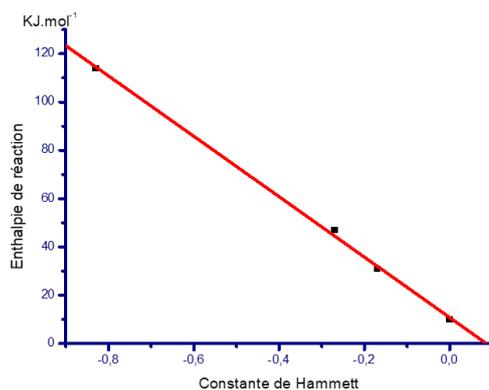
Le phosgène et le  $\text{CH}_3\text{OCOCl}$  ont été étalés sur couches minces entre les lamelles de KBr, et les vibrations squelettiques du groupe carbonyle ( $\nu_{\text{C=O}}$ ) sont de  $1807\text{ cm}^{-1}$  et  $1790\text{ cm}^{-1}$ , respectivement. Les températures d'ébullition ont été  $281,3\text{K}$  pour le  $\text{COCl}_2$  et  $344\text{ K}$  pour le méthoxycarbonylchloride et sont conformes aux données de la littérature. A la température ambiante, les sels étudiés se sont formés avec un rendement important (95% pour le phénylsulphonate-N-méthoxycarbonyl-4-diméthylaminopyridinium par exemple). La composition chimique des éléments est très concordante avec les résultats théoriques. Les formules brutes sont confirmées par microanalyse. Les pourcentages théoriques du carbone, de l'hydrogène, du chlore et de l'azote sont de 38,71, 4,68, 12,71 et 10,19, comparés aux valeurs expérimentales de 38,52, 4,67, 12,60 et 9,98 respectivement pour le perchlorate-N-méthoxycarbonyl-4-diméthylaminopyridinium. Dans nos conditions expérimentales les caractéristiques spectroscopiques ont été déterminées. Les structures des composés ont été déterminées par IR. Les caractéristiques spectroscopiques comme les fréquences de vibrations squelettiques du groupe carbonyle  $\nu_{\text{C=O}}$  des sels étudiés sont différentes de celles du méthoxycarbonylchloride mais varient très peu : de  $1820,5$  à  $1821\text{ cm}^{-1}$  pour les sels. Même avec de différents anions cette différence n'est pas remarquable et les valeurs sont identiques dans les limites des erreurs de manipulation. Les fréquences des vibrations de valence du noyau hétérocyclique  $\nu_{8a}$  et  $\nu_{8b}$  sont compris entre  $1590$  et  $1655\text{ cm}^{-1}$ . Les intensités intégrales de la vibration  $\nu_{\text{C=O}}$  dans les produits ont des valeurs pas très élevées. Les produits étudiés sont très polaires avec des moments dipolaires qui varient dans un large diapason, entre 15,6 et 20,9 D. Toutes les réactions de formation étudiées sont exothermiques avec des chaleurs de réaction qui varient de  $-114 \pm 5\text{ kJ.mol}^{-1}$  pour le chlorure-N-méthoxycarbonyl-oxy-4-diméthylaminopyridinium à  $-10 \pm 1\text{ kJ.mol}^{-1}$  pour le chlorure-N-méthoxycarbonylpyridinium. Les principaux résultats sont répertoriés dans le Tableau 1 et sur la Figure 1, la relation linéaire entre les constantes de Hammett et les enthalpies de formation des sels est démontrée.

**Tableau 1** : Intensités intégrales et enthalpies de formation de certains sels ( $\text{CHCl}_3$ ) et à  $298\text{K}$

Formule des sels étudiés :

$$\text{R}_1-\text{O}-\text{C} \begin{array}{l} \text{=O} \\ \text{R}_2 \end{array} \cdot \text{X}^- \quad \text{X} = \text{Cl}$$

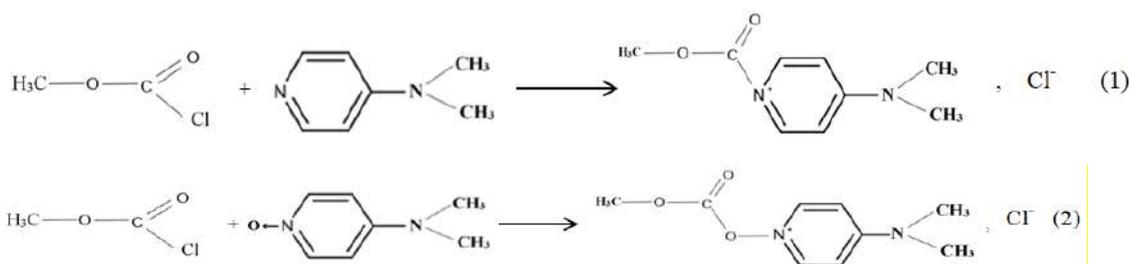
$\text{R}_1$	$\text{R}_2$	$r \pm .10^{10} (\text{m})$	$\alpha + .10^{30} (\text{m}^3)$	$\mu (\text{D})$	$\text{B} \pm (\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-2})$	$\Delta\text{H}^\circ$
$\text{CH}_3-$		4,4	20,9	20,9	11800	$-114 \pm 5$
$\text{CH}_3-$		4,54	20,5	16,3	10800	$-131 \pm 5$
$\text{CH}_3-$		4,34	18,3	18,3	11600	$-47 \pm 3$
$\text{CH}_3-$		4,4	17,6	14,8	10700	$-31 \pm 2$
$\text{CH}_3-$		4,21	15,6	15,8	12000	$-10 \pm 1$



**Figure 1** : Evolution de l'enthalpie de réaction de formation des sels en fonction de la constante de Hammett.

### 3-2 Discussion

A partir des équations (1) et (2), les structures des réactants présentent d'un changement dans leurs configurations électroniques. Les caractéristiques spectroscopiques ne seront pas les mêmes :



Pour supprimer l'influence de l'association ionique sur les caractéristiques spectroscopiques, toutes les valeurs du Tableau 1 sont trouvées après une extrapolation vers une concentration nulle. Les résultats ne dépendent plus de la nature de l'anion. Pour les dérivés de la pyridine, les modes d'étirement des molécules hétérocycliques apparaissent respectivement dans l'intervalle 1627-1598  $\text{cm}^{-1}$  pour 8a et dans la région 1583-1560  $\text{cm}^{-1}$  pour 8b [5]. Dans les spectres des sels ces fréquences des vibrations de valence du noyau hétérocyclique  $\nu(8a)$  et  $\nu(8b)$  sont supérieures à celles des bases azotées. Les fréquences de vibrations squelettiques du groupe carbonyle  $\nu_{\text{C=O}}$  (1820,5-1821,0  $\text{cm}^{-1}$ ) ne diffèrent pas fondamentalement de celles des chloroformates qui apparaissent vers 1790  $\text{cm}^{-1}$ . Le caractère d'action des différents fragments et le mécanisme d'évolution des effets électroniques dans les cations N-éthoxy carbonylum peuvent être quantifiés par les intensités intégrales des groupes carbonyles  $B_{\text{C=O}}$  et par les vibrations squelettiques  $\nu_{8a}$  et  $\nu_{8b}$  qui permettent de mesurer les effets de conjugaison des systèmes aromatiques. Des données du Tableau 1, on remarque que l'interaction du chlorure méthoxycarbone, aussi bien avec la 4-diméthylaminopyridine ou son N-oxyde, est une réaction exothermique. Les valeurs des enthalpies dépendent linéairement de la basicité de l'hétérocycle comme le montre la Figure 1. Cette basicité est exprimée par les constantes de Hammett [6]. Dans la présente étude, avec l'exemple des N-oxydes, la dépendance de la nature des groupes donneurs dans le noyau sur les enthalpies de formation des chlorures du N-méthoxycarbonylpyridinium, en solution dans le chloroforme, a été suivie. L'introduction du groupe donneur d'électron 4-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> augmente l'effet calorifique de la réaction de 104  $\text{KJ.mol}^{-1}$  par rapport au sel du N-oxyde correspondant. Les enthalpies de formation des chlorures N-méthoxyoxycarbonyl 4-diméthylaminopyridinium sont de 17  $\text{KJ.mol}^{-1}$  supérieures aux valeurs analogues des chlorures N-méthoxyoxycarbonyloxy-4-diméthylaminopyridinium.

L'analyse des données thermodynamiques montre que cela est dû au fait que les enthalpies de formation de liaison de C-N et de C-O sont très différentes. L'enthalpie standard de formation de la liaison C-N est de 292  $\text{KJ.mol}^{-1}$  et celle de C-O est de 350  $\text{KJ.mol}^{-1}$  [7]. Au cours des réactions (1) et (2) la liaison C-Cl du chlorure de méthoxycarbone se casse et de nouvelles liaisons ioniques (cation<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>), de covalence C-O (dans le cas du N-méthoxyoxycarbonyloxy-4-diméthylaminopyridinium) et C-N (dans le cas du N-méthoxyoxycarbonyl-4-diméthylaminopyridinium), se forment.

#### 4-Conclusion

Les résultats montrent que, les réactions du méthoxycarbonylchloride sur la pyridine, la pyridine N-Oxyde et les dérivés, en position para, conduisent à la formation de sels N-métoxy(oxy)pyridiniums. Les intensités intégrales et les pics caractéristiques et analytiques des vibrations dans l'Infra Rouge des sels étudiés sont déterminés. Les moments dipolaires des paires ioniques sont trouvés. Les enthalpies de formation des sels furent déterminées. Une relation de l'influence des effets structuraux sur les caractéristiques thermodynamiques est trouvée. La réaction est exothermique et les enthalpies de réaction dépendent de la basicité du noyau hétérocyclique.

#### 5-Bibliographie

- 1- Petit S. 2010. *Réduction de pyridines pour la synthèse de Building-Blocks chiraux : peptidomimétiques de type imidazolique: synthèse et application à la synthèse d'analogues d'intérêt*. Thèse de doctorat à l'Institut National des Sciences Appliquées de Rouen, 226p.
- 2- Xiao H, Mei C, Ding N, Wei T, Zhang Y, & Li B. 2014. Synthesis and photophysical properties of a novel pyridinium salt based on dipicolinate. *Journal of Photochemistry and Photobiology Chemistry*, **273**, 29-33pp. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2013.09.005>
- 3- Boulebd H. 2016. *Synthèse, caractérisation et évaluation biologique de nouveaux dérivés poly-hétérocycliques à base d'imidazole*. Thèse de doctorat de l'Université des Frères Mentouri-Constantine, Algérie, 278p.
- 4- Sowmiah S, Esperança JM, Rebelo LP, & Afonso CA. 2018. Pyridinium salts: from synthesis to reactivity and applications. *Organic Chemistry Frontiers*, **5**(3), 453-493pp.
- 5- Agbodan KA. 1994. *Caractéristiques physico-chimiques et structures des sels N-méthoxycarbonyl-(oxy)-pyridinium*. Thèse de doctorat de l'Université de Donetsk, Ukraine, 100p.
- 6- Fakhfakh M. 2008. *Étude de nouveaux complexes de type cis-et trans-Pt (Ypy)(L) Cl<sub>2</sub> (Ypy= dérivé de la pyridine et L= pyrazine ou pyrimidine) par spectroscopies infrarouge et de résonance magnétique multinucléaire*. Mémoire de Maîtrise de Chimie à l'Université du Québec à Montréal, 160p.
- 7- García W, Lezama H, & Pumachagua R. 2019. Estudio teórico de la actividad antioxidante de compuestos aromáticos con bases de Schiff heterocíclicas sustituidos en posiciones meta y para. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, **85**(2), 242-257pp.
- 8- Paul A, Jamart B, Bodiguel J, & Brosse N. 2016. *Les cours de Paul Arnaud-Exercices résolus de chimie organique*, Dunod, 696p

## Rendement d'extraction et composition des huiles essentielles des feuilles de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. Poaceae de quatre zones du Mali

Brahima Coulibaly<sup>1</sup>, Cheickna Daou<sup>2\*</sup>, Fassé Samake<sup>2</sup>, Rokia Sanogo<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Unité de Production de Commercialisation des Huiles Essentielles (U. PRO. CO. HE) sise marche de Boukassoumbougou  
Tel : 00223

<sup>2</sup>Institut des Sciences Appliquées (ISA) de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) Tel : 00223 BP : E3206 Bamako – République du Mali

<sup>3</sup>Departement de Médecine Traditionnelle de l'Institut National de Sante Publique (INSP)  
Tel : 00223 20 22 46 20 BP : 1740 Bamako – République du Mali

### Résumé :

*Cymbopogon citratus* est une plante aromatique et médicinale et de ses feuilles sont extraites des huiles essentielles. Par ailleurs, la quantité et la qualité de celles-ci sont dues surtout aux conditions agro climatologiques. Le but de l'étude est de déterminer les rendements d'extraction et la composition des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* de quatre zones du Mali.

L'extraction est faite par vapo distillation à Alambic et le rendement est déterminé en mL d'huile essentielle par kg de matière végétale. La composition est déterminée par chromatographie sur couche mince (CCM).

Le rendement moyen d'extraction le plus élevé (4,9 mL/kg) est obtenu avec les feuilles des régions de Ségou et Sikasso. Par contre, celui des feuilles de la région de Koulikoro (3,34 mL/kg) est le plus faible. Les chromatographes révélés a la solution d'Anis aldéhyde, des 17 échantillons des huiles essentielles des quatre régions ont donné six (6) avec plus de 10 composés dont Sabalibougou et Banamba 15 composés, Ségou ville 14 composés et Sikasso ville, Koutiala et Yanfolila 13 composés.

Les feuilles de *Cymbopogon citratus* étudiées du Mali sont riches en huiles essentielles de qualité. La caractérisation se poursuivra avec la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse.

**Mots clés :** *Cymbopogon citratus*, huiles essentielles, rendement, composition, Mali

## Extraction yield and composition of essential oils from the leaves of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. Poaceae from four areas of Mali

### Abstract:

*Cymbopogon citratus* is an aromatic and medicinal plant and from its leaves are extracted essential oils. In addition, the quantity and quality of these oils are mainly due to agro-climatological conditions. The aim of this study is to determine the extraction yields and the composition of essential oils of *Cymbopogon citratus* from four areas of Mali.

The extraction is carried out by still steam distillation and the yield is determined in mL of essential oil per Kg of plant material. The composition is determined by thin layer chromatography (TLC).

The highest average extraction yield (4.9 ML/kg) is obtained with leaves from Segou and Sikasso regions. On the other hand, that of leaves the region of Koulikoro (3.34 mL/kg) is the lowest. Chromatographs revealed with Anis aldehyde solution, sample of essential oils from areas gave six (6) with more than 10 compounds including Sabalibougou and Banamba (15 compounds), Segou city (14 compounds) and Sikasso city, Koutiala and Yanfolila (13 compounds).

The studied leaves of *Cymbopogon citratus* from Mali are rich in essential oils containing various compounds. The characterization of essential oils with gas chromatography coupled with mass spectrophotometry should be the next step.

**Keywords:** *Cymbopogon citratus*, essential oils, yield, composition, Mali

### Introduction

*Cymbopogon citratus* couramment appelé verveine des indes ou citronnelle est de la famille des poacées (graminées). C'est une plante herbacée aux feuilles longues vert bleu que nous rencontrons dans les régions tropicales, semi-tropicales d'Asie, d'Amérique du sud et du centre et d'Afrique ainsi que dans tous les pays tropicaux. [1] [2] [3]

Ces feuilles *Cymbopogon citratus* sont d'un grand intérêt en raison de ses huiles essentielles largement utilisées dans la technologie alimentaire, médecine traditionnelle ainsi que dans la cosmétique.[4] Elles sont également utilisées en infusion, en décoction ou en macération pour lutter contre la toux la grippe la gingivite, paludisme, pneumonie troubles vasculaires, l'indigestion et la gastro-entérite, l'hypertension artérielle etc... [5] [6] [7]

L'extraction des huiles essentielles est réalisée par différents procédés. Le choix du procédé est souvent lié à la nature de la matière végétale à traiter, à la fragilité des huiles essentielles aux températures

élevées et à l'eau. Parmi les procédés d'extraction nous pouvons citer : extraction par solvants organiques volatils, extraction par solvants fixes (enfleurage, macération), expression à froid, distillation (entraînement à la vapeur, hydrodistillation, hydrodiffusion), extraction par CO<sub>2</sub> liquide ou supercritique et Distillation–Extraction Simultanées (SDE). [8]

Par ailleurs, les huiles essentielles peuvent être définies comme suite : « *les huiles essentielles sont des produits, généralement odorants, obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau de végétaux ou de parties de végétaux, soit par expression du péricarpe frais de certains hespéridés* ». [8]

Le rendement d'extraction et la composition des huiles essentielles sont généralement influencés par de nombreux paramètres. Ceux-ci sont soit d'ordre naturel, d'origine intrinsèque (génétique, localisation, maturité), d'ordre extrinsèque (sol, climat...) ou d'ordre technologique, c'est-à-dire liés aux modes d'exploitation du matériel végétal. Ainsi, Les caractéristiques écologiques ont un effet déterminant sur la composition des huiles essentielles : facteurs géographiques (altitude, latitude, etc), nature du sol, climat (ensoleillement, température, pluviométrie, etc) sont autant de paramètres responsables de variations. [8] [9] [10] [11] [12].

Ainsi, le but de la présente étude est de déterminer le rendement d'extraction et la composition des huiles essentielles des feuilles de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. Poaceae provenant de quatre différentes agro climatiques zones du Mali.

## Matériel et Méthodes

### Echantillonnage

Les échantillons des feuilles des feuilles de citronnelle ont été achetés dans des jardins, vergers et marchés des quatre différentes zones écologiques du Mali. Ils ont ensuite été emballés dans des sacs en plastique perforés permettant ainsi de les stocker.

Les zones d'échantillonnage étaient Bamako (Bamako marchés et péri-urbain), les régions de Sikasso, de Ségou et de Koulikoro. Dans chaque région, quatre (04) zones de prélèvement ont été choisies comme suite :

- ✓ Région de Koulikoro : Banamba, Dioila, Kolokani et Koulikoro ;
- ✓ Région de Ségou : Baraweli, Niono, San et Ségou ;
- ✓ Région de Sikasso : Bougouni, Koutiala, Sikasso et Yanfolila.

### Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles de citronnelle a été faite à l'aide de l'extracteur « Alambic ».

### Prétraitement

Les feuilles de citronnelle ont été triées manuellement pour enlever les autres espèces végétales puis lavées au jet d'eau. Ensuite, elles ont été découpées à l'aide d'un hachoir pour faciliter la diffusion de l'huile essentielle dans la vapeur d'eau et améliorer le rendement de l'extraction.

### Extraction

Les feuilles de citronnelle ainsi découpés ont été pesés (détermination du rendement d'extraction) puis introduit dans le ballon de l'extracteur avec de l'eau suivant le rapport 1 :4 (kg/litre). Le ballon a été chauffé à l'aide d'une bombonne de gaz à la température de 95 °C. A l'ébullition, les vapeurs d'eau entraînent l'huile essentielle à travers un serpentin en inox plongé dans un réfrigérant. Après condensation le distillat a été recueilli dans une ampoule à décanter pour la séparation de l'huile essentielle de l'eau. Le mélange huile essentielle – vapeur d'eau a été recueilli dès l'apparition des premières gouttes et cela durant 90 min.

### Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction a été calculé en divisant la quantité d'huile essentielle extraite par la quantité de feuilles de citronnelle utilisée.

Soit :  $R = V / M$  avec **R** : Rendement (mL / kg) ; **V** : Quantité d'huile essentielle extraite (mL) et **M** : Quantité de feuilles de citronnelle (Kg)

Caractérisation des échantillons d'huiles essentielles de citronnelle par chromatographie sur couche mince

**Supports** : plaque CCM de 5 x 10 cm de gel de silice ; 60 feuilles d'aluminium F254 de 0,25 mm d'épaisseur.

### Solution à tester :

La solution à tester a été préparée en dissolvant 100 µL d'huile essentielle dans 500µL (0,50ml) d'éthanol absolu.

**Application :**

Sur chaque plaque CCM la ligne de départ a été tracée à 1,5cm du bas et à 1,5 cm du côté gauche et cela avant application. Ensuite 0,5 et 1µL (HE et témoin) ont été déposés sur la ligne de départ à l'aide de micropipettes.

Le développement des plaques a été faite dans deux (02) phases mobiles à la température ambiante : Toluène - acétate d'éthylène (95 :5) et Dichlorométhane : (CH<sub>2</sub>CL<sub>2</sub>).

Après séparation chromatographique, les couches absorbantes ont été séchées à 90°C, pendant 5min pour éliminer complètement le solvant.

La visualisation des composées séparées a été faite après révélation avec le Réactif vanilline-acide sulfurique, documentée à la lumière visible (réactif éthanolique-vanilline-acide sulfurique) et une solution d'anis aldéhyde suivi d'un chauffage.

L'observation a été faite avec la lumière UV 254 nm et la fluorescence UV365 nm.

La richesse des échantillons en composées chimiques et leurs groupes chimiques d'appartenance ont été déterminés en mesurant les différentes RF, la couleur et son intensité.

**Résultats et discussion****Echantillonnage et Extraction**

Les quantités de feuilles de citronnelle provenant des différentes zones d'échantillonnage sont données dans le tableau I.

Les mêmes nombre de sacs ont échantillonnés que sur les sites de Bamako (Bamako-marchés et Bamako Péri-urbain) et des régions soit 3 et 1 respectivement. D'autres parts, le poids des sacs a varié d'une zone a une et d'un fournisseur a un autre.

Les quantités d'huiles essentielles extraites et les taux d'extraction des échantillons de chaque zone sont donnés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau I:** Quantités des feuilles de *Cymbopogon citratus* issues de chaque zone d'échantillonnage  
Zones d'échantillonnage Citronnelles

	Nombre de sacs	Poids de citronnelle (kg)
<b>Bamako marchés</b>		
Namassa Dangan	03	21
Marché de Médina -Coura	03	30
Marché de Sabalibougou	03	15
<b>Bamako Péri-urbain</b>		
Sala	03	72
Sébénikoro	03	20
<b>Région de Koulikoro</b>		
Banamba	01	3,75
Dioila	01	15
Kolokani	01	08
Koulikoro ville	01	05
<b>Région de Ségou</b>		
Baraweli	01	10
Niono	01	07

San	01	09
Ségou ville	01	10
<b>Région de Sikasso</b>		
Bougouni	01	08
Koutiala	01	15
Sikasso ville	01	10
Yanfolila	01	05

Les rendements ou taux d'extraction des huiles essentielles des feuilles *Cymbopogon citratus* ont varié d'un site à un autre entre 3,00 mL/kg et 6,66 mL/kg pour Baraweli et San respectivement de la région de Ségou. Par ailleurs, nous constatons également que les échantillons provenant de zones où les conditions hydriques et pédologiques sont favorables (Niono, San, Yanfolila Koutiala Sikasso ville) donnent un rendement supérieur à ceux récoltés dans les zones sèches notamment Dioila, Kolokani, Banamba 5 à 8 contre 2 à 5 mL/kg. Il faut aussi noter que les résultats peuvent varier selon les périodes de récolte, l'état de maturité, le climat, la méthode d'extraction ainsi que la qualité des équipements utilisés. [9]

Ces résultats sont supérieurs à ceux habituellement obtenus par l'unité de production et de commercialisation des huiles essentielles 2 à 4 mL/kg mais inférieurs aux rendements obtenus par Aura Industrie qui est de 6 à 10 mL/kg pour la citronnelle. [13]

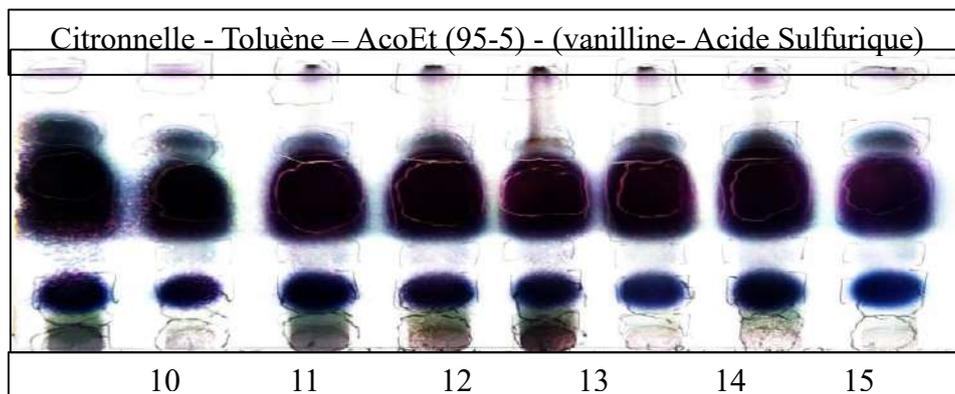
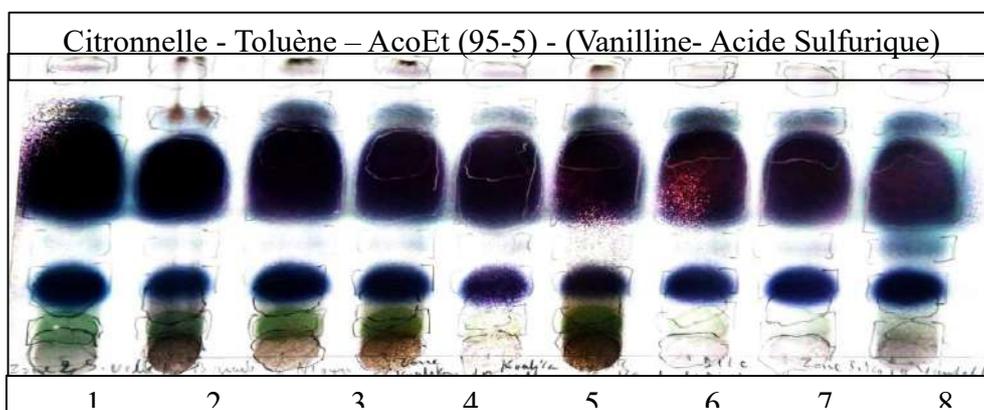
**Tableau II:** Quantité d'huile essentielle extraite et Rendement d'extraction Citronnelles

Provenances	Poids Feuilles de citronnelles (Kg)	Quantité huile essentielle (mL)	Rendement d'extraction (mL/ kg)
<b>Bamako-Marchés</b>			
Namassa Dangan	21	80	3,80
Marché de Medina-Coura	30	120	4,00
Marché de Sabalibougou	15	50	3,33
<b>Bamako Péri-urbain</b>			
Sala	72	230	3,19
Sébénikoro	20	100	5,00
<b>Région de Koulikoro</b>			
Banamba	3,75	12	3,2
Dioila	15	50	3,15
Kolokani	08	24	3,00
Koulikoro ville	05	20	4,00
<b>Région de Ségou</b>			
Baraweli	10	30	3,00

Niono	07	35	5,00
San	09	60	6,66
Ségou ville	10	50	5,00
<b>Région de Sikasso</b>			
Bougouni	08	35	4,37
Koutiala	15	80	5,33
Sikasso ville	10	50	5,00
Yanfolila	05	26	5,2

### Caractérisation des huiles essentielles de citronnelle

La caractérisation des huiles essentielles des feuilles de citronnelle, des 17 sites de collecte, faite chromatographie sur couches minces (CCM) a donné les chromatogrammes suivants (figures 1).



**Figure 1 :** Chromatogramme des huiles essentielles des feuilles de Citronnelle des 17 sites après révélation avec la vanilline – acide Sulfurique

**Légende :** 1= Ségou ville ; 2 = Baraweli ; 3 = Niono ; 4 = Kolokani ; 5 = Koulikoro ville ; 6 = Banamba ; 7 = Dioila ; 8 = Bougouni ; 9 = Yanfolila ; 10 Sikasso ville ; 11=Koutiala ; 12 = Marché Médine ;

13 = marché Sabalibougou ; 14 = Namassa Dagan ; 15 = Moribabougou ; 16 = Sébénikoro ;  
17 = San

Les chromatogrammes des échantillons de citronnelle de tous les sites comparés entre eux présentent le même profil. Le nombre des éléments constitutifs des huiles essentielles de *Cymbopogon Citratus* a varié entre 10 et 16 selon les différents sites. Il a varié entre : 11 et 13 respectivement pour Marché de Medina coura, Namassa dangan et Sala et Sabalibougou marché pour la zone de Bamako, 12 et 16 respectivement pour Dioila et Banamba pour la zone de Koulikoro, 10 et 14 pour Baraweli et Ségou ville respectivement (zone de Ségou) et 11 et 16 pour Sikasso ville, Koutiala, Bougouni et Yanfolila (zone de Sikasso). Ce résultat est inférieur à celui trouvé par Sidibé [14] qui était de 27 constituants. La différence pourrait être due à la maturité, la période de récolte et les conditions d'extraction. [9]

Les éléments constitutifs des échantillons et leur intensité après le traitement avec la vanilline acide sulfurique sont semblables. Pour les 17 échantillons, il existe deux principales tâches communes de coloration violette et verdâtre pouvant être caractéristiques. La majorité des constituants chimiques selon les Rf, sont présents dans plus de 50 pourcents des échantillons analysés. Les échantillons de citronnelle des sites de la zone de Sikasso et de Bamako, présentent une bonne similitude.

Le profil chromatographique des 17 échantillons, montrent la présence de deux principales tâches, à Rf inférieur 0,5 (tache ronde) et à Rf égale à 0,5 (tache ovale), d'intensité forte, dans toutes les huiles essentielles. Ces deux tâches sont de coloration violette d'où la présence des terpénoïdes.

Les tâches de couleur verdâtre qui apparaissent avec la même intensité dans les huiles essentielles des échantillons 1, 2, 3, 4, 6, 10, 12, 13, 14 et moins intense dans celles des échantillons 9 et 16, indiquent la présence des stérols. Pour l'huile essentielle de l'échantillon 9, il existe entre les deux principales tâches, une tache de couleur bleu, pouvant indiquée aussi la présence des stérols. Sidibé [14] et Opeyemi [15] avaient eu des teneurs élevées de Citral, de  $\alpha$  citral ou géraniol, du  $\beta$  citral ou néral et du myrcène.

### Conclusion

La teneur en huiles essentielles des feuilles de *Cymbopogon citratus* à varié d'un site à un autre avec des fortes concentrations pour les échantillons provenant des zones où les conditions hydriques et pédologiques sont favorables. Par ailleurs, la caractérisation nous a révélé que ces huiles essentielles sont très riches en constituants chimiques et la majorité de ceux-ci seraient des terpénoïdes et des stérols. Pour mieux en savoir sur les composés chimiques de ces huiles essentielles, il est prévu de faire leur analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée de spectrophotométrie de masse (GC-MS).

### Remerciement

Nous remercions :

Le Fonds Compétitif pour la Recherche et l'Innovation Technologique (FCRIT) du Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (CNRST) du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique (MESRS) de la République du Mali,  
L'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB),  
Le Département de Médecine Traditionnelle (DMT),  
L'Unité de Production et de Commercialisation des Huiles Essentielles (U.PRO.CO.HE).

### Références bibliographiques

- [1] Gagan Shah, Richa Shri, Vivek Panchal, Narender Sharma, Bharpur Singh and A.S Mann. Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus* Staff (Lemon grass). Journal of Advanced pharmaceutical technology and Research (2011) 2 (1): 3-8
- [2] Berteau CM, Maffei, ME. The genus *cymbopogon* botany including anatomy, physiology, biochemistry and molecular biology. Akhila A (Ed) Essential oil bearing grasses: the genus *cymbopogon*-CRC-Press Boca Raton, (2010). FL, PP1-24.
- [3] Karkala Manvitha, Bhushan Bidya. Review on pharmacological activity of *Cymbopogon citratus*. International Journal of Herbal Medicine (2014) 1 (6): 5-7.
- [4] Mirghani MES, Liyana Y, Parveen J. Bioactivity analysis of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil. International Food Research Journal (2012); 19(2):569-575.
- [5] Carbajal D, Casaco A, Arruzazabala L, Gonzalez R, Tolon Z. Pharmacological study of *Cymbopogon citratus* leaves. Journal of ethnopharmacology (1989) vol 25 (1): 103-107.

- [6] Ojo OO, Kabutu FR, Bello M. Babayo Inhibition of paracetamol-induced oxidative stress in rats by extracts of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) and green tea (*Camellia sinensis*) in rats. African Journal of Biotechnology (2006) 5(12):1227-1232
- [7] Lemongrass. Available from: [www.dehydrate2store.com](http://www.dehydrate2store.com), 2013
- [8] HAZZIT Mohamed. Arômes Alimentaires : Contribution à L'étude des Huiles Essentielles de Mandarine et de la Fraction Volatile de Jus d'orange. Mémoire de magister en chimie industrielle de la faculté de Génie Mécanique et de Génie des Procédés Département de génie des Procédés de L'Université Des Sciences et de la Technologie HOUARI BOUMEDIENE – ALGER (2002).
- [9] BOUSBIA Nabil. Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et coproduits agroalimentaire. Thèse de Doctorat en Sciences (Chimie) de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse et l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'Alger (2011) p-176.
- [10] [HAZZIT Mohamed. Arômes Alimentaires : Contribution à L'étude des Huiles Essentielles de Mandarine et de la Fraction Volatile de Jus d'orange. Mémoire de magister en chimie industrielle de la faculté de Génie Mécanique et de Génie des Procédés Département de génie des Procédés de L'Université Des Sciences et de la Technologie HOUARI BOUMEDIENE – ALGER (2002)
- [11] BOUKHATEM Mohamed Nadjib, FERHAT Amine et KAMEL Abdelkim. Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: Revue de littérature. Revue Agrobiologia (2019) 9(2) 1653-1659
- [12] ZRIRA Saadia, BENJILALI Bachir et LAMATY Gerard. Effet du séchage a l'air libre des feuilles d'*E Camaldulensis* sur le rendement et la composition de l'huile essentielle. Actes Inst. Agron. Vet. 1995 Vol 15 (4) 27-29
- [13] <http://alambic-inox.com/informations/rendements.html>
- [14] Lassine Sidibé , Jean-Claude Chalchat , Raymond-Philippe Garry , Luce Lacombe & Moussa Harama 1999 Aromatic Plants of Mali (IV): Chemical Composition of Essential Oils of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf and *C. giganteus* (Hochst.) Chiov. Journal of Essential Oil Research 13, (2001) -110-112
- [15] Opeyemi Avoseh, Opeoluwa Oyedeji, Pamela Rungqu, Benedicta Nkeh-Chungag and Adebola Oyedeji. *Cymbopogon* Species; Ethnopharmacology, Phytochemistry and the Pharmacological Importance. *Molecules* (2015), 20, 7438-7453; doi:10.3390/molecules20057438. [www.mdpi.com/journal/molecules](http://www.mdpi.com/journal/molecules)

## Rendement d'extraction et composition des huiles essentielles des zestes d'orange de quatre zones du Mali

Brahima Coulibaly<sup>1</sup>, Cheickna Daou<sup>2\*</sup>, Fassé Samake<sup>2</sup>, Rokia Sanogo<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Unité de Production de Commercialisation des Huiles Essentielles (U. PRO. CO. HE) sise marche de Boulkassoumbougou  
Tel : 00223

<sup>2</sup>Institut des Sciences Appliquées (ISA) de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) Tel : 00223 BP : E3206 Bamako – République du Mali

<sup>3</sup>Departement de Médecine Traditionnelle de l'Institut National de Sante Publique (INSP)  
Tel : 00223 20 22 46 20 BP : 1740 Bamako – République du Mali

### Résumé :

Les oranges (*Citrus sinensis* L. osbeck) sont pressées pour en extraire le jus. La peau ou zeste d'orange comme celle de tous les agrumes contient de l'huile essentielle. La quantité et la qualité de celles-ci sont dues surtout aux conditions agro climatologiques. Le but de l'étude est de déterminer les rendements d'extraction et la composition des huiles essentielles des zestes de *Citrus sinensis* L. osbeck de quatre zones du Mali.

L'extraction est faite par vapo distillation à Alambic et le rendement est déterminé en mL d'huile essentielle par kg de matière végétale. La composition est déterminée par chromatographie sur couche mince (CCM).

Le rendement d'extraction le plus élevé (5,10 mL/kg) est obtenu avec les zestes de la région de Sikasso et le plus faible avec les zestes de la région de Bamako (3,46 mL/kg). Les chromatographes révélés à la solution vanille-acide sulfurique, des 17 échantillons des huiles essentielles des quatre régions ont donné trois (3) avec plus de 10 composés dont Banamba (14 composés), Sabalibougou et Bougouni (12 composés).

Les zestes d'orange étudiées du Mali sont riches en huiles essentielles de qualité.

La caractérisation se poursuivra avec la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse.

**Mots clés :** zestes d'orange, huiles essentielles, rendement, composition, Mali

## Extraction yield and composition of essential oils from orange peels from four areas of Mali

### Abstract:

Oranges (*Citrus sinensis* L. osbeck) are pressed to extract the juice. The orange peel like that of all citrus fruits contains essential oils. The quantity and quality of these are mainly due to agro-climatological conditions. The aim of this study is to determine the extraction yields and composition of essential oils of the peels of *Citrus sinensis* L. osbeck from four areas of Mali

The extraction is carried out by still steam distillation and the yield is determined in mL of essential oil per Kg of plant material. The composition is determined by thin layer chromatography (TLC).

The highest extraction yield (5.10 mL/kg) is obtained with the orange peel from Sikasso region and the lowest with the peel from Bamako region (3.46 mL/kg). Chromatographs revealed with vanilla-sulfuric acid solution, samples of essential oils from four areas three (3) with more than 10 compounds including Banamba (14 compounds), Sabalibougou and Bougouni (12 compounds).

The studied orange peels from Mali are rich in essential oils containing various compounds. The characterization of essential oils with gas chromatography coupled with mass spectrophotometry should be the next step.

**Keywords:** *Citrus sinensis* peels, essential oils, yield, composition, Mali

### Introduction

Les oranges (*Citrus sinensis* L., Osbeck) sont des agrumes comestibles des zones tropicales et subtropicales [1]. Elles sont très riches en glucides (Saccharose), en vitamines (vitamine C), en Calcium, pectine etc. Elle joue un rôle régulateur du transit intestinal et sa flore mésophile est indispensable à une bonne digestion [2] [3]. Leur production mondiale est de 62 709 636 tonnes, dont 141874 tonnes pour le Mali [4]. Les oranges sont pressées pour extraire le jus. La peau d'orange restante ou zeste d'orange est très riche en huiles essentielles et présente des vertus nutritionnelles, thérapeutiques et aromatiques [5].

L'extraction des huiles essentielles est réalisée par différents procédés. Le choix du procédé est souvent lié à la nature de la matière végétale à traiter, à la fragilité des huiles essentielles aux températures élevées et à l'eau. Parmi les procédés d'extraction nous pouvons citer : extraction par solvants organiques volatils, extraction par solvants fixes (enfleurage, macération), expression à froid, distillation (entraînement à la vapeur, hydrodistillation, hydrodiffusion), extraction par CO<sub>2</sub> liquide ou supercritique et Distillation-Extraction Simultanées (SDE). [6]

Par ailleurs, les huiles essentielles peuvent être définies comme suite : « *les huiles essentielles sont des produits, généralement odorants, obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau de végétaux ou de parties de végétaux, soit par expression du péricarpe frais de certains hespéridés* ». [6]

Le rendement d'extraction et la composition des huiles essentielles sont généralement influencés par de nombreux paramètres. Ceux-ci sont soit d'ordre naturel, d'origine intrinsèque (génétique, localisation, maturité), d'ordre extrinsèque (sol, climat...) ou d'ordre technologique, c'est-à-dire liés aux modes d'exploitation du matériel végétal. Ainsi, Les caractéristiques écologiques ont un effet déterminant sur la composition des huiles essentielles : facteurs géographiques (altitude, latitude, etc), nature du sol, climat (ensoleillement, température, pluviométrie, etc) sont autant de paramètres responsables de variations. [6] [3] [7] [8].

Ainsi, le but de la présente étude est de déterminer le rendement d'extraction et la composition des huiles essentielles des zestes d'orange (*Citrus sinensis* L., Osbeck) provenant de quatre différentes agro climatiques zones du Mali.

## Matériel et Méthodes

### Echantillonnage

Les échantillons d'oranges ont été achetés dans des jardins, vergers et marchés des quatre différentes zones écologiques du Mali. Ils ont ensuite été emballés dans des sacs en plastique perforés permettant ainsi de les stocker.

Les zones d'échantillonnage étaient Bamako (Bamako marchés et péri-urbain), les régions de Sikasso, de Ségou et de Koulikoro. Dans chaque région, quatre (04) zones de prélèvement ont été choisies comme suite :

- ✓ Région de Koulikoro : Banamba, Dioila, Kolokani et Koulikoro ;
- ✓ Région de Ségou : Baraweli, Niono, San et Ségou ;
- ✓ Région de Sikasso : Bougouni, Koutiala, Sikasso et Yanfolila.

### Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles des zestes d'orange a été faite à l'aide de l'extracteur « Alambic ».

### Prétraitement

Les oranges ont épluchées afin d'avoir leurs zestes. Ensuite, ils ont été triés manuellement puis lavés au jet d'eau. Après essorage, ils ont été découpés en petits morceaux pour faciliter la diffusion de l'huile essentielle dans la vapeur d'eau et améliorer le rendement de l'extraction.

### Extraction

Les zestes d'orange ainsi découpés ont été pesés (détermination du rendement d'extraction) puis introduit dans le ballon de l'extracteur avec de l'eau suivant le rapport 1 :4 (kg/litre). Le ballon a été chauffé à l'aide d'une bombonne de gaz à la température de 95 °C. A l'ébullition, les vapeurs d'eau entraînent l'huile essentielle à travers un serpentin en inox plongé dans un réfrigérant. Après condensation le distillat a été recueilli dans une ampoule à décanter pour la séparation de l'huile essentielle de l'eau. Le mélange huile essentielle – vapeur d'eau a été recueilli dès l'apparition des premières gouttes et cela durant 90 min.

### Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction a été calculé en divisant la quantité d'huile essentielle extraite par la quantité de feuilles de citronnelle utilisée.

Soit :  $R = V / M$  avec **R** : Rendement (mL / kg) ; **V** : Quantité d'huile essentielle extraite (mL) et **M** : Quantité de zestes d'orange (Kg)

### Caractérisation des échantillons d'huiles essentielles de zestes d'orange par chromatographie sur couche mince

**Supports** : plaque CCM de 5 x 10 cm de gel de silice ; 60 feuilles d'aluminium F254 de 0,25 mm d'épaisseur.

### Solution à tester :

La solution à tester a été préparée en dissolvant 100 µL d'huile essentielle dans 500µL (0,50ml) d'éthanol absolu.

### Application :

Sur chaque plaque CCM la ligne de départ a été tracée à 1,5cm du bas et à 1,5 cm du côté gauche et cela avant application. Ensuite 0,5 et 1µL (HE et témoin) ont été déposés sur la ligne de départ à l'aide de micropipettes.

Le développement des plaques a été faite dans deux (02) phases mobiles à la température ambiante : Toluène - acétate d'éthylène (95 :5) et Dichlorométhane : (CH<sub>2</sub>CL<sub>2</sub>).

Après séparation chromatographique, les couches absorbantes ont été séchées à 90°C, pendant 5min pour éliminer complètement le solvant.

La visualisation des composées séparées a été faite après révélation avec le Réactif vanilline-acide sulfurique, documentée à la lumière visible (réactif éthanolique-vanilline-acide sulfurique) et une solution d'anis aldéhyde suivi d'un chauffage.

L'observation a été faite avec la lumière UV 254 nm et la fluorescence UV365 nm.

La richesse des échantillons en composées chimiques et leurs groupes chimiques d'appartenance ont été déterminés en mesurant les différentes RF, la couleur et son intensité.

### Résultats et discussion

#### Echantillonnage et Extraction

Les quantités de zestes d'orange provenant des différentes zones d'échantillonnage sont données dans le tableau I.

**Tableau I:** Quantités des zestes d'orange issues de chaque zone d'échantillonnage

Zones d'échantillonnage	Poids d'orange (kg)	Poids de zestes d'orange (kg)
<b>Bamako marchés</b>		
Namassa Dangan	66	21
Marché de Médina -Coura	66	21
Marché de Sabalibougou	66	21
<b>Bamako Péri-urbain</b>		
Sala	100	35
Sébénikoro	100	35
<b>Région de Koulikoro</b>		
Banamba	25	10
Dioila	35	12
Kolokani	25	07
Koulikoro ville	25	04
<b>Région de Ségou</b>		
Baraweli	25	08
Niono	30	10
San	25	07
Ségou ville	25	08
<b>Région de Sikasso</b>		
Bougouni	25	07
Koutiala	25	09
Sikasso ville	14	05

Yanfolila 25 10

Les quantités de zestes d'orange ont varié selon les sites en fonction des quantités d'orange échantillonnées. D'autres parts les mêmes quantités d'orange n'ont pas donné des poids de zestes égaux.

Les quantités d'huiles essentielles extraites et les taux d'extraction des échantillons de chaque zone sont donnés dans le tableau ci-dessous.

L'analyse des rendements d'extraction des huiles essentielles d'orange nous a montré une grande variation. Le rendement d'extraction a varié de 2 à 7 mL/kg. Sikasso et Yanfolila arrivent en tête avec 7 et 6 mL/kg tandis que Dioila a enregistré le plus faible (2,9 mL/kg). Il faut aussi noter que les résultats peuvent varier selon les périodes de récolte, l'état de maturité, le climat, la méthode d'extraction ainsi que la qualité des équipements utilisés [3].

Ces résultats sont supérieurs à ceux habituellement obtenus par l'unité de production et de commercialisation des huiles essentielles 2 à 4 mL/kg mais inférieurs aux rendements obtenus par Aura Industrie qui est de 5 à 12 mL/kg pour le zeste d'orange [8].

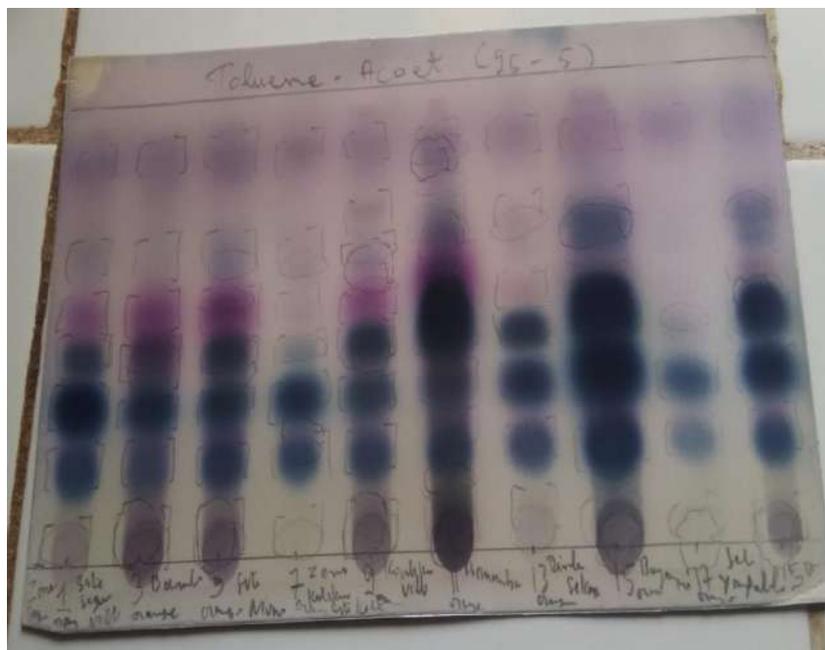
#### **Caractérisation des huiles essentielles d'orange et de citronnelle**

La caractérisation des huiles essentielles des zestes d'orange des 17 sites de collecte, faite par chromatographie sur couches minces (CCM) a donné le chromatogramme suivant.

**Tableau II:** Quantité d'huile essentielle extraite et Rendement d'extraction

Provenances	Poids zestes d'orange (Kg)	Quantité huile essentielle (mL)	Rendement d'extraction (mL/ kg)
<b>Bamako-Marchés</b>			
Namassa Dangan	21	70	3,33
Marché de Medina-Coura	21	80	3,80
Marché de Sabalibougou	21	67	3,19
<b>Bamako Péri-urbain</b>			
Sala	35	124	3,54
Sébénikoro	35	120	3,42
<b>Région de Koulikoro</b>			
Banamba	10	50	5
Dioila	12	25	2,9
Kolokani	07	25	3,75
Koulikoro ville	04	15	3,75
<b>Région de Ségou</b>			
Baraweli	08	30	3,75
Niono	10	48	4,8
San	07	38	5,42
Ségou ville	08	35	4,37
<b>Région de Sikasso</b>			

Bougouni	07	30	4,28
Koutiala	09	28	3,12
Sikasso ville	05	35	07
Yanfolila	10	60	6



**Figure 1 :** Chromatogramme des huiles essentielles des zestes d’oranges des 17 sites après révélation avec la vanilline – acide Sulfurique

Les chromatogrammes, des 17 échantillons d’huiles essentielles de zestes d’orange de tous les sites, présentent le même profil avec un nombre important d’éléments constitutifs diverses. Les huiles essentielles des échantillons de Banamba, Bougouni et Sabalibougou se sont apparues les plus riches en constituants chimique soit 14 et 12 respectivement. Ce résultat est inférieur à celui trouve par Bousbia [9]. La différence pourrait être due à la maturité, la période de récolte et les conditions d’extraction. [3].

Les éléments constitutifs des échantillons et leur intensité après le traitement avec la vanilline acide sulfurique sont semblables. Pour les 17 échantillons, il existe deux principales tâches communes de coloration violette et verdâtre pouvant être caractéristiques. La majorité des constituants chimiques selon les Rf, sont présents dans plus de 50 pourcents des échantillons analysés. Les échantillons de citronnelle des sites de la zone de Sikasso et de Bamako, présentent une bonne similitude.

Le profil chromatographique des 17 échantillons, montent la présence de deux principales tâches, à Rf inférieur 0,5 (tache ronde) et à Rf égale à 0,5 (tache ovale), d’intensité forte, dans toutes les huiles essentielles. Ces deux taches sont de coloration violette d’où la présence des terpénoïdes. Ensuite, on note la présence de plusieurs autres taches colorées différemment et d’intensité faible. Opeyemi [10] avaient eu des teneurs élevées de Citral, de  $\alpha$  citral ou géraniol, du  $\beta$  citral ou néral et du myrcène.

Après révélation avec la vanilline - acide sulfurique, le profil

A la différence des huiles essentielles de citronnelle, celles des zestes d’orange présentent les mêmes colorations donc les mêmes constituants chimiques mais avec moins d’intensité. Cependant l’orange renferme d’autres éléments constitutifs mineurs qui lui donnent une diversité de composés de faible intensité.

## Conclusion

La teneur en huiles essentielles des zestes d’orange a varié d’un site à un autre. Par ailleurs, la caractérisation nous a révélé que ces huiles essentielles sont très riches en constituants chimiques et la majorité de ceux-ci seraient des terpénoïdes et des stérols. Pour mieux en savoir sur les composés

chimiques de ces huiles essentielles, il est prévu de faire leur analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée de spectrophotométrie de masse (GC-MS).

### Remerciement

Nous remercions :

Le Fonds Compétitif pour la Recherche et l'Innovation Technologique (FCRIT) du Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (CNRST) du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique (MESRS) de la République du Mali,

L'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB),

Le Département de Médecine Traditionnelle (DMT),

L'Unité de Production et de Commercialisation des Huiles Essentielles (U.PRO.CO.HE).

### Références bibliographiques

[1] Suryawanshi J.A.S. An overview of *Citrus aurantium* used in treatment of various diseases. *AJPS* (2011). 5(7): 390-395

[2] Mbogo G.P., Mubofu E.B. & Othman C.C. Post-harvest changes in physico-chemical properties and levels of some inorganic elements in off vine ripened orange (*Citrus sinensis*) fruits CV (Navel and Valencia) of Tanzania. *AJB* (2010). 9(12):1809-1815

[3] BOUSBIA Nabil. Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et coproduits agroalimentaire. Thèse de Doctorat en Sciences (Chimie) de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse et l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'Alger 2011 p-176.

[4] FAO Données de FAOSTAT (2004)

[5] ASSA Rebecca Rachel, KONAN Brou Roger, KONAN Guessan Ysidor & BIEGO Godi Henri  
Zestes d'oranges : des résidus de consommation à valoriser en Côte d'Ivoire SEPRI, 04-05 Septembre 2015, Abidjan, Côte d'Ivoire

[6] HAZZIT Mohamed. Arômes Alimentaires : Contribution à L'étude des Huiles Essentielles de Mandarine et de la Fraction Volatile de Jus d'orange. Mémoire de magister en chimie industrielle de la faculté de Génie Mécanique et de Génie des Procédés Département de génie des Procédés de L'Université Des Sciences et de la Technologie HOUARI BOUMEDIENE – ALGER (2002).

[7] BOUKHATEM Mohamed Nadjib, FERHAT Amine et KAMEL Abdelkim. Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: Revue de littérature. *Revue Agrobiologia* 2019 9(2) 1653-1659

[8] <http://alambic-inox.com/informations/rendements.html>

[9] Bousbia, N., Vian, M. A., Ferhat M. A., Meklati, B. Y., Chemat, F. A new process for extraction of essential oil from Citrus peels: microwave hydrodiffusion and gravity. *Journal of Food Engineering* (2009) vol. 90, p.409 – 413.

[10] Opeyemi Avoseh, Opeoluwa Oyedeji, Pamela Rungqu, Benedicta Nkeh-Chungag and Adebola Oyedeji. *Cymbopogon* Species; Ethnopharmacology, Phytochemistry and the Pharmacological Importance. *Molecules* (2015), 20, 7438-7453; doi:10.3390/molecules20057438.  
[www.mdpi.com/journal/molecules](http://www.mdpi.com/journal/molecules)

## Activités antioxydantes des extraits de cinq légumes-feuilles du Mali-sud

Cheickna Daou<sup>1</sup>, Ousmane Keita<sup>2</sup>, Julien Coulibaly<sup>2</sup>, Mamadou Wele<sup>2</sup>

<sup>1</sup>. Laboratoire de Technologie Alimentaire. Institut des Sciences Appliquées de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) – Mali, P B : 423 Bamako, Mali.

<sup>2</sup>. Laboratoire de Biochimie Alimentaire. Institut des Sciences Appliquées de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) – Mali, P B : 423 Bamako, Mali.

### Résumé

Au Mali, les légumes feuilles sont utilisés par les populations dans l'alimentation comme compléments alimentaires et ingrédients des sauces. Ils ont également des vertus thérapeutiques diverses telles que les activités antioxydantes. Ainsi, le but de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante de : *Arachis hypogaea*, *Solanum aethiopicum*, *Hibiscus sabdariffa*, *Ipomea batatas* Lan et de *Manihot esculentus* Gantz. L'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique a été évaluée par le piégeage du radical libre DPPH : 50 µL de chaque extrait à différentes concentrations est ajouté à 1,95 mL de la solution méthanoïque du DPPH (0,025g/L) et l'absorbance est lue 515 nm et par Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) : l'absorbance du mélange d'extrait, solution tampon, phosphate solution de ferricyanure de potassium à 1%, solution d'acide trichloracétique et solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 0,1% est lue à 700 nm. Les résultats ont montré que les extraits méthanolique et aqueux des feuilles de *Arachis hypogaea* et de *Solanum aethiopicum* ont eu les pourcentages d'inhibition les plus élevés soit respectivement 80,65%, 79,76 %, 96,97 %, et 94,04 % à la concentration de 5 mg/mL.

Ces légumes feuilles ont montré des activités antioxydantes, il serait important d'évaluer leurs activités biologiques.

**Mots clés :** Légumes-feuilles, activités antioxydantes, DPPH, FRAP

## Antioxidant activities of extracts of five leafy vegetables from southern Mali

### Abstract :

In Mali, the leaves vegetables are used by the populations in the food as food complements and ingredients of sauces. They also have various therapeutic virtues such as antioxidant activities. Thus, the goal of this study is to investigate the antioxidant activities of: *Arachis hypogaea*, *Solanum aethiopicum*, *Hibiscus sabdariffa*, *Ipomea batatas* Lan and *Manihot esculentus* Gantz. The antioxidant activities of the aqueous and methanolic extracts has been determined by trapping of the DPPH free radical: 50 mL of each extract at different concentrations is added to 1.95 mL of the methanolic solution of the DPPH (0.025g/L) and the absorbance is read at 515 nm and by Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP): the absorbance of the mixture of extract, phosphate solution, solution tampon, phosphate 1% of solution of potassium ferricyanide, solution of acid trichloracetic and 0.1 % of aqueous solution of FeCl<sub>3</sub> is read at 700 nm. The results showed that the methanolic and aqueous extracts of leave of *Arachis hypogaea* and *Solanum aethiopicum* had the highest percentages of inhibition, i.e. 80.65%, 79.76%, 96.97% and 94.04% respectively at the concentration of 5 mg / mL.

These leaves vegetables have shown antioxidant activities, it would be important to investigate their biological activities.

**Key words:** leaves vegetables, antioxidant activities, DPPH, FRA

### 1. Introduction

Les espèces forestières par leurs diverses productions occupent une place importante dans la vie socio-économique des populations locales. Les forêts continuent de nos jours à jouer un rôle dans la satisfaction des besoins essentiels des populations, surtout à travers le secteur informel. [1].

L'Afrique subsaharienne est dotée d'une grande diversité de plantes alimentaires. Parmi celles-ci se trouvent les légume-feuilles [2]. Ils jouent un grand rôle dans l'agriculture et dans l'alimentation et génèrent des revenus non négligeables aussi bien dans les zones rurales que dans les zones urbaines [3]. Au Mali et comme dans la plupart des pays sahéliens, les populations rurales font recours aux feuilles des plantes sauvages (légumes-feuilles sauvage) ayant des vertus alimentaires et thérapeutiques diverses et variées. . Ils sont cultivés comme plantes maraichères et vendus sur les marchés [1]. Elles possèdent des propriétés antioxydantes, très bénéfiques contre les maladies cardio-vasculaires [4] [5].

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la multiplication mitochondriale de radicaux [6], [7], [8]. Le stress oxydant est la principale cause initiale de plusieurs maladies [9]. C'est le facteur potentialisant l'apparition des maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardio-vasculaires [10].

Cependant, ces légumes-feuilles malgré leurs multiples vertus et le grand intérêt qu'ils suscitent chez certains consommateurs, très peu de données sont disponibles sur leurs activités antioxydantes. C'est dans ce but que cette étude a été menée.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal était composé de poudre de feuilles de dix plantes alimentaires sauvages dont : *Arachis hypogaea*, *Solanum aethiopicum*, *Hibiscus sabdariffa*, *Ipomea batatas* et de *Manihot esculentus*.

### 2.2. Méthodes

#### 2.2.1. Echantillonnage

Les feuilles des légumes et des plantes ont été achetées avec les producteurs ou cueillies dans la brousse. Ces échantillons provenaient de cinq localités choisies au hasard dont Banamba, Bamako, Bougouni, Kati et Ségou.

Les feuilles achetées ou cueillies ont été transportées au laboratoire de technologie alimentaire de l'ISA où elles ont été lavées avec de l'eau javellisée et séchées à l'ombre dans les conditions naturelles.

Les feuilles une fois séchées ont été broyées puis tamisées pour avoir des poudres. Ces poudres ont été amenées au laboratoire de Biochimie alimentaire de l'ISA pour l'évaluation de leur activité antioxydante.

#### 2.2.2. Extraction

12, 5 g de chaque échantillon ont été introduits dans 100 mL de l'eau distillée et l'ensemble a été bouilli pendant 2 heures. 12, 5 g de chaque échantillon ont été introduits dans 100 mL de méthanol et l'ensemble a été sous agitation pendant 2 heures. Après refroidissement et filtration, les extraits ont été concentrés au Rotavapor à 40°C. Les extraits ont été congelés puis lyophilisés pendant 3 jours. Les lyophilisats ont été conservés à l'abri de l'humidité.

#### 2.2.3. Détermination de l'activité antioxydante des extraits par la méthode du DPPH

50 µL de chaque extrait méthanolique et aqueux à différentes concentrations sont ajoutés à 1,95 mL de la solution méthanoïque du DPPH (0,025g/L). Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 50 µL de méthanol avec 1,95 mL de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration.

Les résultats sont exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou en pourcentage (%) d'inhibition des radicaux libres en utilisant la formule suivante:

$$I(\%) = [(Abs \text{ Échantillon} - Abs \text{ Contrôle négatif}) / Abs \text{ Échantillon}] \times 100$$

Avec :  $I(\%)$  : Pourcentage d'inhibition ;  $Abs \text{ Échantillon}$  : Absorbance de l'échantillon ;

$Abs \text{ Contrôle négatif}$  : Absorbance du contrôle négatif.

#### 2.2.4. Détermination de l'activité antioxydante des extraits par la méthode de FRAP

1 mL de chaque extrait méthanolique et aqueux à différentes concentrations (de 0,007 à 2,5 mg/mL) est mélangé avec 2,5 mL d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 minutes. Ensuite, 2,5 mL d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 minutes. Un aliquote (2,5 mL) de surnageant est combinée avec 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL d'une solution aqueuse de  $FeCl_3$  à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait au spectrophotomètre UV-visible à 700 nm contre un blanc semblablement préparé. Le contrôle positif est représenté par un standard d'un antioxydant; l'acide ascorbique. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

#### 2.2.5. Analyse statistique

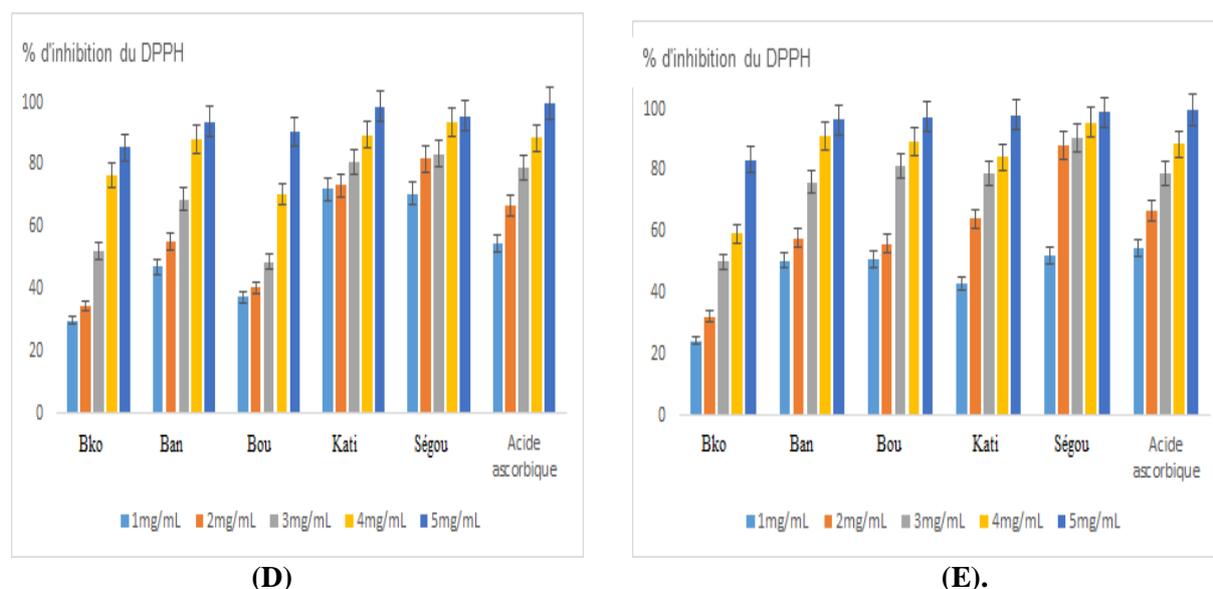
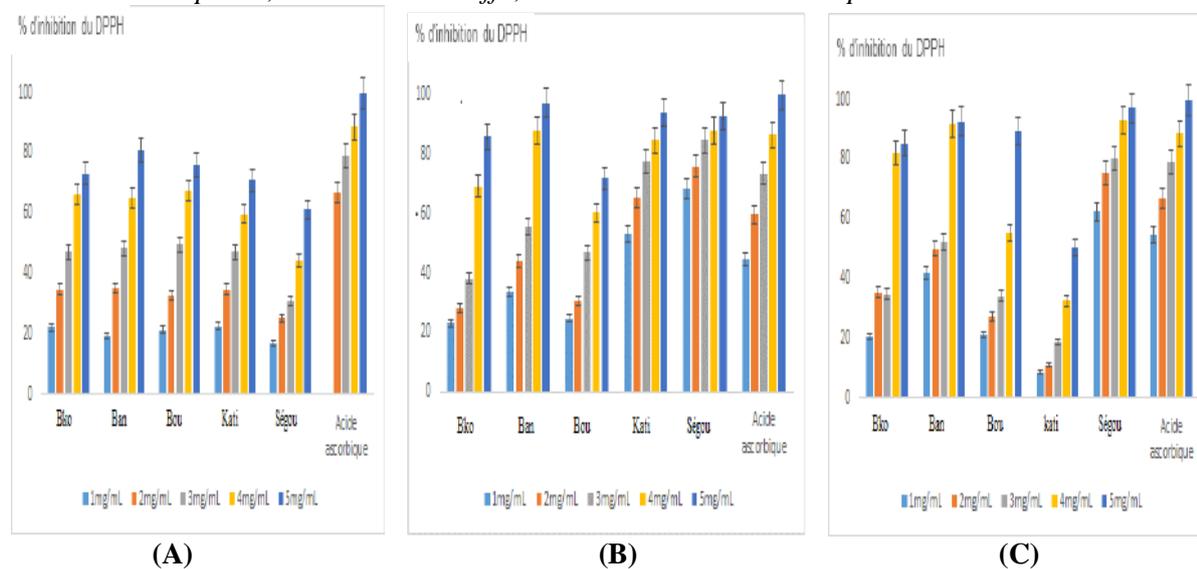
Chaque concentration a été lue trois fois ( $n=3$ ). La valeur obtenue est la moyenne de ces trois lectures. La moyenne, les écart-types et figures ont été faits à partir du logiciel Excel.

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Résultats

##### 3.1.1. Analyses quantitatives de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des plantes (% d'inhibition du DPPH)

Les figures A, B, C, D et E représentent le pourcentage d'inhibition du DPPH de *Arachis hypogaea*, *Solanum aethiopicum*, *Hibiscus sabdariffa*, *Manihot esculentus* et de *Ipomea batatas*.

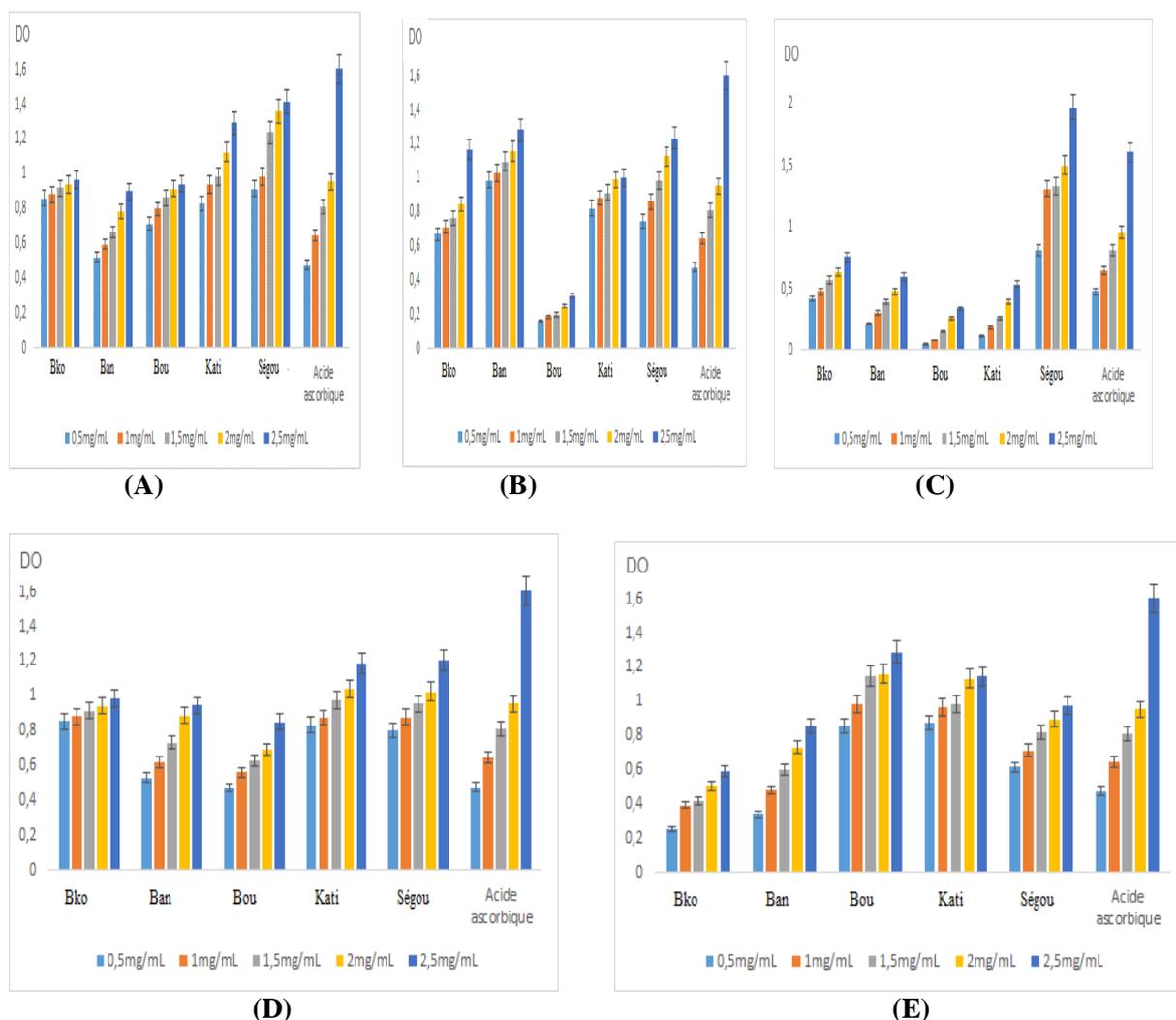


**Bko:** Bamako, **Ban:** Banamba, **Bou:** Bougouni

**Figure 1 :** Pourcentage d'inhibition du DPPH de *Arachis hypogaea* (A), *Solanum aethiopicum* (B), *Hibiscus sabdariffa* (C), *Manihot esculentus* (D) et de *Ipomea batatas* (E)

##### 3.1.2. Analyses quantitatives de l'activité antioxydante des extraits aqueux des plantes (FRAP)

Les figures A, B, C, D et E représentent la réduction du Fer de *Arachis hypogaea*, *Solanum aethiopicum*, *Hibiscus sabdariffa*, *Manihot esculentus* et de *Ipomea batatas*.



**Bko:** Bamako, **Ban:** Banamba, **Bou:** Bougouni

**Figure 2 :** Réduction du Fer de *Arachis hypogaea* (A), *Solanum aethiopicum* (B), *Hibiscus sabdariffa* (C), *Manihot esculentus* (D) et de *Ipomea batatas* (E)

### 3.2. Discussion

L'étude a permis de montrer que parmi les cinq (5) légumes-feuilles testés, *Ceratotherca sesamoides* et *Corchorus tridens* possèdent les plus fortes activités anti radicalaires par le test au DPPH et antioxydantes par la méthode au FRAP. Les extraits méthanolique et aqueux des feuilles de *Arachis hypogaea* et de *Solanum aethiopicum* ont eu les pourcentages d'inhibition les plus élevés soit respectivement 80,65%, 79,76 %, 96,97 %, et 94,04 % faibles que ceux de l'acide ascorbique (99,78 %). Il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, tocophérol, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène [11]. Selon Hsu [12] et *al.* (2007), les composés phénoliques sont largement distribués dans les tissus des plantes parmi lesquels se retrouvent de nombreuses molécules anti radicalaires et antioxydantes. L'activité antioxydante des extraits méthanolique et aqueux des légumes-feuilles ont été évaluées en utilisant la méthode de FRAP. Cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible [13]. Il est universel peut être appliqué aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux [14]. Par ailleurs, Duh [15] *et al.* (1999) et N'guessan [16] *et al.* (2007) ont montré l'existence d'une corrélation entre les teneurs en phénols totaux et l'activité anti radicalaire. Selon Chen et Ho [17], les groupements fonctionnels présents dans les composés phénoliques en général peuvent céder facilement un électron ou un proton pour neutraliser les radicaux libres. Le pouvoir réducteur de ces légumes-feuilles sont probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants [18]. Quelques études antérieures ont

également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle [19] [20].

#### 4. Conclusion

Cette étude a permis de montrer que les extraits de *Arachis hypogaea*, *Solanum aethiopicum*, *Hibiscus sabdariffa*, *Ipomea batatas* et de *Manihot esculentus* possèdent les activités anti radicalaires et antioxydantes et qui doit conduire à l'approfondissement des études chimiques et biologiques.

#### 5. Remerciements

Nous remercions le rectorat de l'Université des sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) du Mali pour le financement de la présente étude et l'Institut des Sciences Appliquées (ISA) pour sa réalisation.

#### 6. Références bibliographiques

- [1]. Batawila K., Akpavi S., Wala K. & Akpagana K. Diversité et valorisation des légumes feuilles au Togo. Rapport de recherche, IPGRI, (2005), 37 p
- [2]. Almekinders C. & Boef W. Encouraging diversity. The conservation and development of plant genetic resources. Intermediate Technology. Publication, London (UK), (2000), 14 P.
- [3]. Chweya J. A. & Eyzaguirre P. The biodiversity of traditional leafy vegetables. IPGRI Rome (Italy), (1999). 182 p.
- [4]. Bougandoura N., Bendimerad N. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. Nature & Technologie. (2013) ; (9): 15p.
- [5]. Bidié, A. P., N'guessan, B. B., Yapo, A. F., N'guessan, J. D., & Djaman, A. J. Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. Sciences & Nature. (2011) ; 8(1-2), 1-12.
- [6]. Gironde F., Blache D., Monget A.D., Lombart M., Galan P. Effect of a two-year supplementation with low doses of antioxidant vitamins and/or minerals in elderly subjects on levels of nutrients and antioxidant defense parameters. J Am Col Nutr. (1997), 16: 357-365
- [7]. Sohal R.S., Mockett R.J., Orr W.C. Mechanism of Aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. Free rad Biol Med. (2002), 33: 575- 86
- [8]. Pincemail, J., Heusele, C., Bonté, F. Limet, R., & Defraigne, J. O. Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. Act Med Int, (2001). 4, 18-23.
- [9]. Mates J.M., Sanchez-Jimenez F.M. Role of reactive oxygen species in apoptosis: implications for cancer therapy. Int J Biochem Cell Biol. (2000), 32:157-170.
- [10]. Sergeant C., Hamon C., Simonoff M., Constans J., Conri C., Peuchant C., Delmas-Beauvieux M-C., Clerc C., Pellegrin J.L., Leng B., Pellegrin I. & Fleury H.. Oxidative Stress in Cancer, AIDS and neurodegenerative diseases. Editors: L. Montagnier, R. Olivier, C. Pasquier; Marcel Dekker. Inc. New York/Basel-Hong Kong, (1998), 409-427.
- [11]. De Pooter H.L. et Schamp N. Comparaison de la composition volatile de certaines espèces de *Calamintha satureja*. In: Progress in essential oil research. Ed. E-J. Brunk, Walter De Gruyter, Berlin. (1986), 139-150p
- [12]. Hsu C.Y., Chan Y.P. & Chang J. Antioxidant activity of extract from *Polygonum cuspidatum*. Biol Res, (2007), 40: 13-21
- [13]. Benzie I.F.F. et Strain J.J. The ferric reducing ability of plasma as a measure of "antioxidant power" the FRAP assay. Analytical Biochemistry. (1996), 239, 70– 76
- [14]. Li H-B., Wong C-C., et Cheng K-W., Feng C. Antioxidant properties in vitro and total Phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. Lebensmittel- Wissenschaft and Technology. (2008), 41(3), 385–390
- [15]. Duh P.D., Tu Y.Y. & Yen G.C. Antioxydantactivité of water extract of harnng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). Lebensm.wiss. Technol. (1999) 32: 269-277
- [16]. N'guessan J.D., Zirihi G.N., Kra A.K.M., Kouakou K., Djaman A.J. & Guede-Guina F. Free radical scavenging activity, flavonoid and phenolic contents of selected Ivoirian plants. IJONAS, (2007), 4: 425-429
- [17]. Chen C.W. & Ho C.T. Antioxidant properties of polyphenols extracted from green tea and black tea. J Lipids, (1995), 2: 35-46.
- [18]. Siddhuraju P. et Becker K. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. Food Chemistry. (2007), 101(1), 10-19
- [19]. Jeong S.M., Kim S.Y., Kim D.R., Jo S.C., Nam K.C., Ahn D.U., et Lee S.C. Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. Journal of Agriculture and Food Chemistry. (2004), 52, 3389–3393
- [20]. Kumaran, A. et Karunakaran, R.J. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie. ((2007), 40, 344–352.

## Activités antioxydantes des extraits de cinq légumes-feuilles sauvages du Mali-sud

Cheickna Daou<sup>1</sup>, Ousmane Keita<sup>2</sup>, Julien Coulibaly<sup>2</sup>, Mamadou Wele<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Technologie Alimentaire. Institut des Sciences Appliquées de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) – Mali, P B : 423 Bamako, Mali.

<sup>2</sup>Laboratoire de Biochimie Alimentaire. Institut des Sciences Appliquées de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) – Mali, P B : 423 Bamako, Mali.

### Résumé

Au Mali et comme dans la plupart des pays sahéliens, les populations rurales font recours aux feuilles des plantes sauvages ayant des vertus alimentaires et thérapeutiques diverses et variées. Elles possèdent des propriétés antioxydantes, très bénéfiques contre les maladies cardio-vasculaires. Ainsi, le but de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante des feuilles de : *Moringa oleifera*, *Portulaca oleracea*, *Ceratotheca sesamoides* Endl., *Cordia myxa* L et *Corchorus tridens* L. L'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique a été évaluée par le piégeage du radical libre DPPH : 50 µL de chaque extrait à différentes concentrations est ajouté à 1,95 mL de la solution méthanoïque du DPPH (0,025g/L) et l'absorbance est lue 515 nm) et par Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) : l'absorbance du mélange d'extrait, solution tampon, phosphate solution de ferricyanure de potassium à 1%, solution d'acide trichloracétique et solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 0,1% est lue à 700 nm.

A 5 mg/mL, les pourcentages d'inhibition de *Corchorus tridens* et *Ceratotheca sesamoides* de Banamba sont respectivement 95,19 % et 96,06 % tandis que l'activité réductrice de fer de ces extraits respectifs est de 0,999 et de 0,937.

Ces plantes possèdent des activités antioxydantes, nécessitant l'évaluation de leurs activités biologiques.

**Mots clés :** Légumes-feuilles sauvages, activités antioxydantes, DPPH, FRAP

## Antioxidant activities of extracts of five wild leafy vegetables from southern Mali

### Abstract:

In Mali as well as in most sahelians countries, rural populations use the leaves of wild plants with various and varied nutritional and therapeutic properties. They have also the antioxidant properties very important against cardiovascular diseases. Thus, the aim of this study is to investigate the antioxidant activities of the leaves of: *Moringa oleifera*, *Portulaca oleracea*, *Ceratotheca sesamoides* Endl. *Cordia myxa* L. and *Corchorus tridens* L. The antioxidant activities of the aqueous and methanolic extracts has been determined by Trapping of the DPPH free radical: 50 mL of each extract at different concentrations is added to 1.95 mL of the methanolic solution of the DPPH (0.025g/L) and the absorbance is read at 515 nm et by Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP): the absorbance of the mixture of extract, phosphate solution, solution tampon, phosphate 1% of solution of potassium ferricyanide, solution of acid trichloracetic and 0.1 % of aqueous solution of FeCl<sub>3</sub> is read at 700 nm.

At 5 mg / mL, the inhibition percentages of *Corchorus tridens* and *Ceratotheca sesamoides* from Banamba are 95.19 % and 96.06 % respectively, while the iron-reducing power of these extracts were 0.999 and 0.937.

These plants have antioxidant activities, requiring investigation of their biological activities.

**Key words:** Wild leafy vegetables, antioxidant activities, DPPH, FRAP

### 1. Introduction

Les espèces forestières par leurs diverses productions occupent une place importante dans la vie socio-économique des populations locales. Les forêts continuent de nos jours à jouer un rôle dans la satisfaction des besoins essentiels des populations, surtout à travers le secteur informel. [1].

L'Afrique subsaharienne est dotée d'une grande diversité de plantes alimentaires. Parmi celles-ci se trouvent les légumes-feuilles [2]. Ils jouent un grand rôle dans l'agriculture et dans l'alimentation et génèrent des revenus non négligeables aussi bien dans les zones rurales que dans les zones urbaines [3]. Au Mali et comme dans la plupart des pays sahéliens, les populations rurales font recours aux feuilles des plantes sauvages (légumes-feuilles sauvage) ayant des vertus alimentaires et thérapeutiques diverses et variées. . Ils sont cultivés comme plantes maraichères et vendus sur les marchés [1]. Elles possèdent des propriétés antioxydantes, très bénéfiques contre les maladies cardio-vasculaires [4] [5].

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la multiplication mitochondriale de radicaux [6], [7], [8]. Le stress oxydant est la principale cause initiale de plusieurs maladies [9]. C'est le facteur potentialisant l'apparition des maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardio-vasculaires [10].

Cependant, ces légumes-feuilles malgré leurs multiples vertus et le grand intérêt qu'ils suscitent chez certains consommateurs, très peu de données sont disponibles sur leurs activités antioxydantes. C'est dans ce but que cette étude a été menée.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal était composé de poudre de feuilles de dix plantes alimentaires sauvages dont : *Moringa oleifera*, *Portulaca oleracea*, *Ceratotheca sesamoides* Endl., *Cordia myxa* L et *Corchorus tridens* L.

### 2.2. Méthodes

#### 2.2.1. Echantillonnage

Les feuilles des légumes et des plantes ont été achetées avec les producteurs ou cueillies dans la brousse. Ces échantillons provenaient de cinq localités choisies au hasard dont Banamba, Bamako, Bougouni, Kati et Ségou.

Les feuilles achetées ou cueillies ont été transportées au laboratoire de technologie alimentaire de l'ISA où elles ont été lavées avec de l'eau javellisée et séchées à l'ombre dans les conditions naturelles.

Les feuilles une fois séchées ont été broyées puis tamisées pour avoir des poudres. Ces poudres ont été amenées au laboratoire de Biochimie alimentaire de l'ISA pour l'évaluation de leur activité antioxydante.

#### 2.2.2. Extraction

12, 5 g de chaque échantillon ont été introduits dans 100 mL de l'eau distillée et l'ensemble a été bouilli pendant 2 heures. 12, 5 g de chaque échantillon ont été introduits dans 100 mL de méthanol et l'ensemble a été sous agitation pendant 2 heures. Après refroidissement et filtration, les extraits ont été concentrés au Rotavapor à 40°C. Les extraits ont été congelés puis lyophilisés pendant 3 jours. Les lyophilisats ont été conservés à l'abri de l'humidité.

#### 2.2.3. Détermination de l'activité antioxydante des extraits par la méthode du DPPH

50 µL de chaque extrait méthanolique et aqueux à différentes concentrations sont ajoutés à 1,95 mL de la solution méthanoïque du DPPH (0,025g/L). Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 50 µL de méthanol avec 1,95 mL de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration.

Les résultats sont exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou en pourcentage (%) d'inhibition des radicaux libres en utilisant la formule suivante:

$$I (\%) = [(Abs \text{ Échantillon} - Abs \text{ Contrôle négatif}) / Abs \text{ Échantillon}] \times 100$$

Avec :  $I (\%)$  : Pourcentage d'inhibition ;  $Abs \text{ Échantillon}$  : Absorbance de l'échantillon ;

$Abs \text{ Contrôle négatif}$  : Absorbance du contrôle négatif.

#### 2.2.4. Détermination de l'activité antioxydante des extraits par la méthode de FRAP

1 mL de chaque extrait méthanolique et aqueux à différentes concentrations (de 0,007 à 2,5 mg/mL) est mélangé avec 2,5 mL d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 minutes. Ensuite, 2,5 mL d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 minutes. Un aliquote (2,5 mL) de surnageant est combinée avec 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL d'une solution aqueuse de  $FeCl_3$  à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait au spectrophotomètre UV-visible à 700 nm contre un blanc semblablement préparé. Le contrôle positif est représenté par un standard d'un antioxydant; l'acide ascorbique. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

#### 2.2.5. Analyse statistique

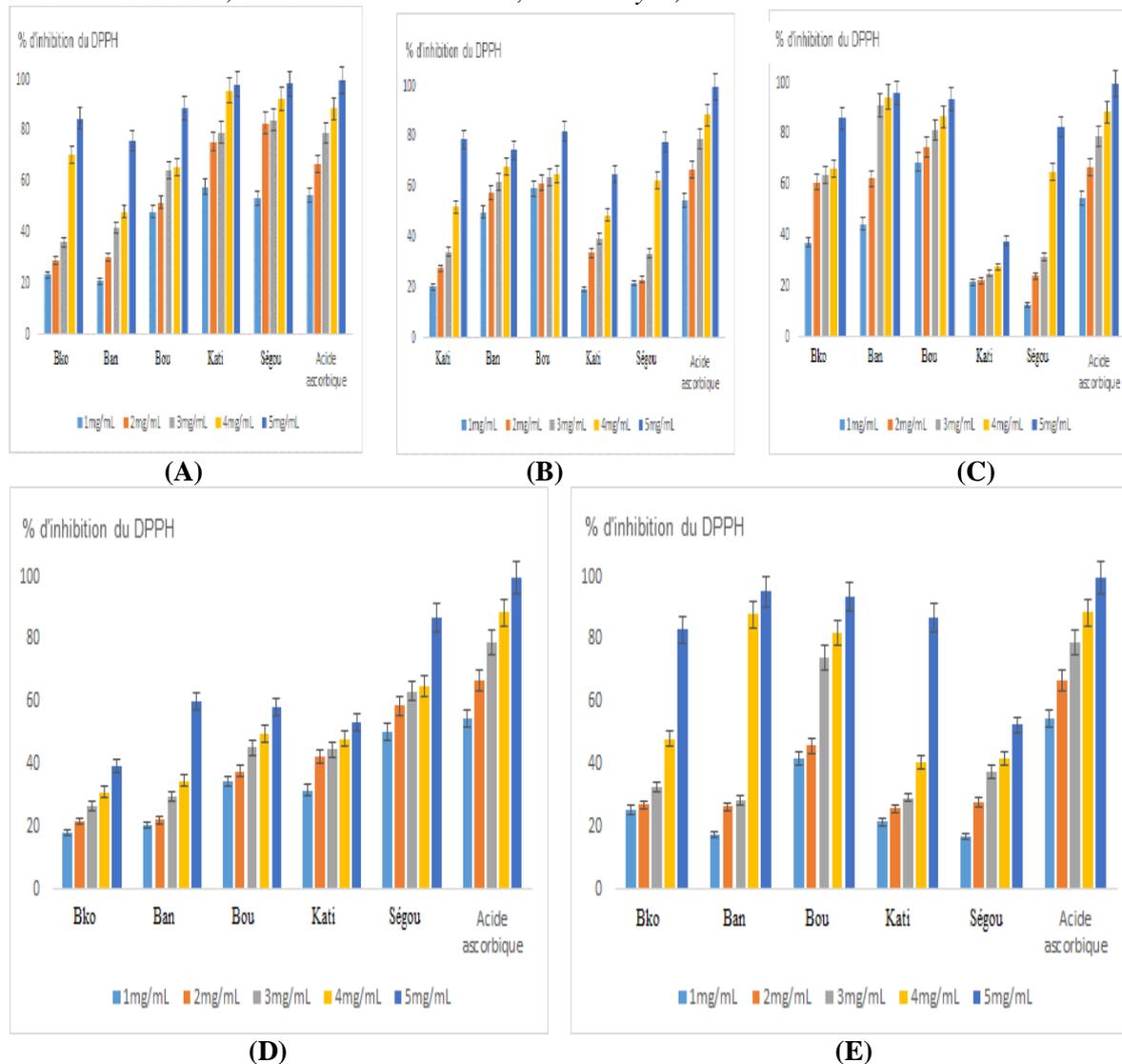
Chaque concentration a été lue trois fois ( $n=3$ ). La valeur obtenue est la moyenne de ces trois lectures. La moyenne, les écart-types et figures ont été faits à partir du logiciel Excel.

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Résultats

##### 3.1.1. Analyses quantitatives de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des plantes (% d'inhibition du DPPH)

Les figures A, B, C, D et E représentent le pourcentage d'inhibition du DPPH de *Moringa Oliefera*, *Portulaca oleracea*, *Ceratotheca sesamoides*, *Cordia myxa*, et *Corchorus tridens*.

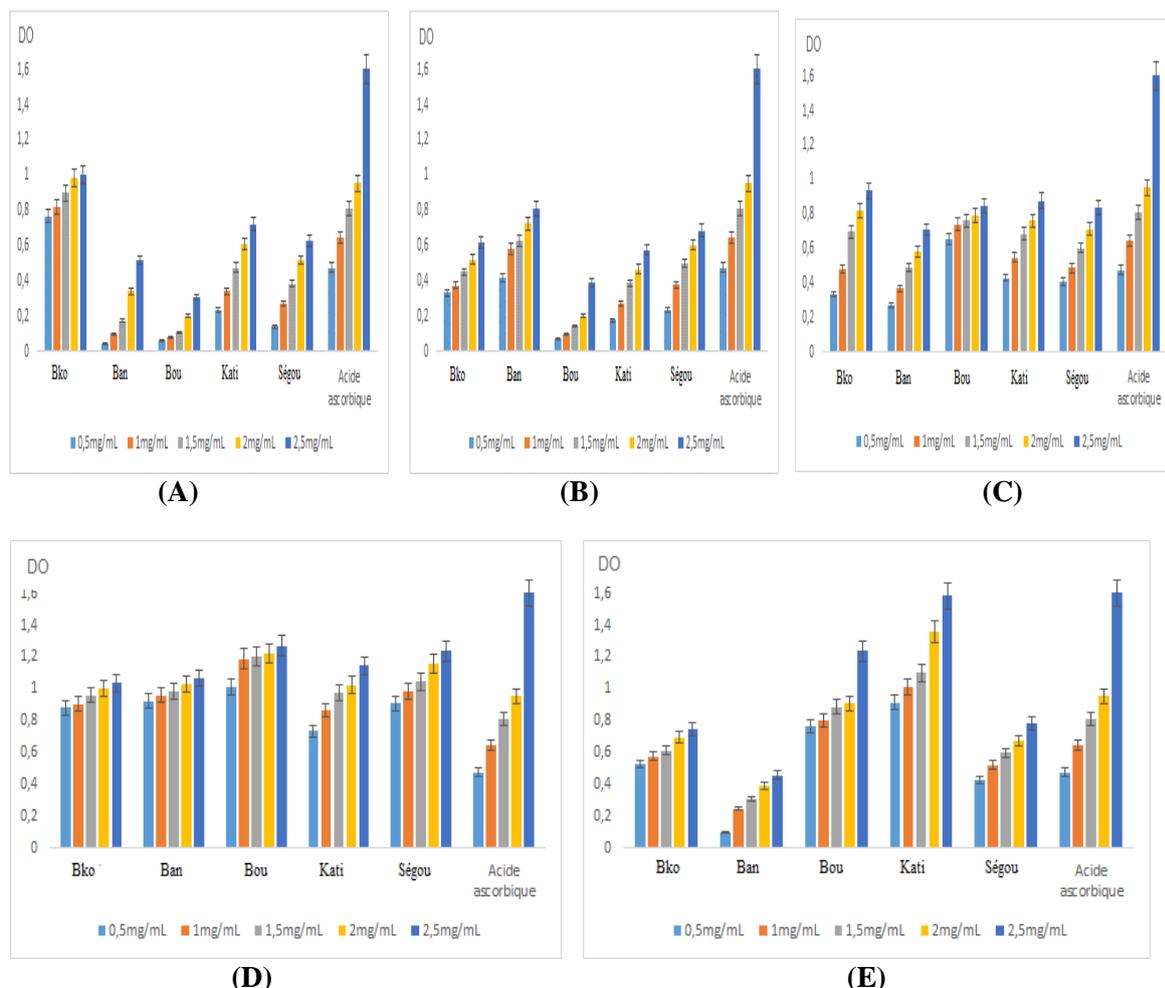


**Bko:** Bamako, **Ban:** Banamba, **Bou:** Bougouni

**Figure 1 :** Pourcentage d'inhibition du DPPH de *Moringa Oliefera* (A), *Portulaca oleracea*, (B), *Ceratotheca sesamoides* (C), *Cordia myxa* (D), et *Corchorus tridens* (D)

##### 3.1.2. Analyses quantitatives de l'activité antioxydante des extraits aqueux des plantes (FRAP)

Les figures A, B, C D et E représentent la réduction du Fer par *Moringa Oliefera*, *Portulaca oleracea*, *Ceratotheca sesamoides*, *Cordia myxa*, et *Corchorus tridens*.



**Bko:** Bamako, **Ban:** Banamba, **Bou:** Bougouni  
**Figure 2 :** Réduction du Fer de *Moringa Oliefera* (A), *Portulaca oleracea*, (B), *Ceratotheca sesamoides* (C), *Cordia myxa* (D), et *Corchorus tridens* (E)

### 3.2. Discussion

L'étude a permis de montrer que parmi les cinq (5) légumes-feuilles testés, *Ceratotheca sesamoides* et *Corchorus tridens* possèdent les plus fortes activités anti radicalaires par le test au DPPH et antioxydantes par la méthode au FRAP. Les pourcentages d'inhibition de *Corchorus tridens* et *Ceratotheca sesamoides* de Banamba sont respectivement 95,19 % et 96,06 % tandis que l'activité réductrice de fer de ces extraits respectifs est de 0,999 et de 0,937 faibles que ceux de l'acide ascorbique (99,78 % et 1,603). Il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, tocophérol, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène [11]. Selon Hsu [12] et al. (2007), les composés phénoliques sont largement distribués dans les tissus des plantes parmi lesquels se retrouvent de nombreuses molécules anti radicalaires et antioxydantes. L'activité antioxydante des extraits méthanolique et aqueux des légumes-feuilles ont été évaluées en utilisant la méthode de FRAP. Cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible [13]. Il est universel peut être appliqué aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux [14]. Par ailleurs, Duh [15] et al (1999) et N'guessan [16] et al. (2007) ont montré l'existence d'une corrélation entre les teneurs en phénols totaux et l'activité anti radicalaire. Selon Chen et Ho [17], les groupements fonctionnels présents dans les composés phénoliques en général peuvent céder facilement un électron ou un proton pour neutraliser les radicaux libres. Le pouvoir réducteur de ces légumes-feuilles sont probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants [18]. Quelques études antérieures ont

également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle [19] [20].

#### 4. Conclusion

Cette étude a permis de montrer que les extraits de *Moringa oleifera*, *Portulaca oleracea*, *Ceratothera sesamoides* Endl., *Cordia myxa* L et *Corchorus tridens* L possèdent les activités anti radicalaires et antioxydantes et qui doit conduire à l'approfondissement des études chimiques et biologiques.

#### 5. Remerciements

Nous remercions le rectorat de l'Université des sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) du Mali pour le financement de la présente étude et l'Institut des Sciences Appliquées (ISA) pour sa réalisation.

#### 6. Références bibliographiques

- [1]. Batawila K., Akpavi S., Wala K. & Akpagana K. Diversité et valorisation des légumes feuilles au Togo. Rapport de recherche, IPGRI, (2005), 37 p
- [2]. Almekinders C. & Boef W. Encouraging diversity. The conservation and development of plant genetic resources. Intermediate Technology. Publication, London (UK), (2000), 14 P.
- [3]. Chweya J. A. & Eyzaguirre P. The biodiversity of traditional leafy vegetables. IPGRI Rome (Italy), (1999). 182 p.
- [4]. Bougandoura N., Bendimerad N. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. Nature & Technologie. (2013) ; (9): 15p.
- [5]. Bidié, A. P., N'guessan, B. B., Yapo, A. F., N'guessan, J. D., & Djaman, A. J. Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. Sciences & Nature. (2011) ; 8(1-2), 1-12.
- [6]. Gironde F., Blache D., Monget A.D., Lombart M., Galan P. Effect of a two-year supplementation with low doses of antioxidant vitamins and/or minerals in elderly subjects on levels of nutrients and antioxidant defense parameters. J Am Col Nutr. (1997), 16: 357-365
- [7]. Sohal R.S., Mockett R.J., Orr W.C. Mechanism of Aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. Free rad Biol Med. (2002), 33: 575- 86
- [8]. Pincemail, J., Heusele, C., Bonté, F. Limet, R., & Defraigne, J. O. Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. Act Med Int, (2001). 4, 18-23.
- [9]. Mates J.M., Sanchez-Jimenez F.M. Role of reactive oxygen species in apoptosis: implications for cancer therapy. Int J Biochem Cell Biol. (2000), 32:157-170.
- [10]. Sergeant C., Hamon C., Simonoff M., Constans J., Conri C., Peuchant C., Delmas- Beauvieux M-C., Clerc C., Pellegrin J.L., Leng B., Pellegrin I. & Fleury H.. Oxidative Stress in Cancer, AIDS and neurodegenerative diseases. Editors: L. Montagnier, R. Olivier, C. Pasquier; Marcel Dekker. Inc. New York/Basel-Hong Kong, (1998), 409-427.
- [11]. De Pooter H.L. et Schamp N. Comparaison of the volatils composition of some *Calamintha satureja* species. In: Progress in essential oil research. Ed. E-J. Brunk, Walter De Gruyter, Berlin. (1986), 139-150p
- [12]. Hsu C.Y., Chan Y.P. & Chang J. Antioxidant activity of extract from *Polygonum cuspidatum*. Biol Res, (2007), 40: 13-21
- [13]. Benzie I.F.F. et Strain J.J. The ferric reducing ability of plasma as a measure of "antioxidant power" the FRAP assay. Analytical Biochemistry. (1996), 239, 70– 76
- [14]. Li H-B. , Wong C-C., et Cheng K-W., Feng C. Antioxidant properties in vitro and total Phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. Lebensmittel- Wissenschaft and Technology. (2008), 41(3), 385–390
- [15]. Duh P.D., Tu Y.Y. & Yen G.C. Antioxydantactivity of water extract of harnng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). Lebensm.wiss. Technol. (1999) 32: 269-277
- [16]. N'guessan J.D., Zirih G.N., Kra A.K.M., Kouakou K., Djaman A.J. & Guede-Guina FFree radical scavenging activity, flavonoid and phenolic contents of selected Ivoirian plants. IJONAS, (2007), 4: 425-429
- [17]. Chen C.W. & Ho C.T. Antioxidant properties of polyphenols extracted from green tea and black tea. J Lipids, (1995), 2: 35-46.
- [18]. Siddhuraju P. et Becker K. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. Food Chemistry. (2007), 101(1), 10-19
- [19]. Jeong S.M., Kim S.Y., Kim D.R., Jo S.C., Nam K.C., Ahn D.U., et Lee S.C. Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. Journal of Agriculture and Food Chemistry. (2004), 52, 3389–3393
- [20]. Kumaran, A. et Karunakaran, R.J. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie. ((2007), 40, 344–352.

## **Activités biologiques des huiles essentielles de citronnelle et de zeste d'orange sur les micro-organismes responsables de l'altération des jus de tamarin et de fleurs d'oseille.**

Brahima Coulibaly<sup>1</sup>, Cheickna Daou<sup>2\*</sup>, Fassé Samake<sup>2</sup>, Rokia Sanogo<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Unité de Production de Commercialisation des Huiles Essentielles (U. PRO. CO. HE) sise marche de Boukassoumbougou Tel : 00223

<sup>2</sup>Institut des Sciences Appliquées (ISA) de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) Tel : 00223  
BP : E3206 Bamako – République du Mali

<sup>3</sup>Departement de Médecine Traditionnelle de l'Institut National de Sante Publique (INSP)  
Tel : 00223 20 22 46 20 BP : 1740 Bamako – République du Mali

### **Résumé :**

L'activité biologique des huiles essentielles de citronnelle et de zeste d'orange sur la flore d'altération des jus de tamarin et de fleurs d'oseille a été déterminée. Des solutions de stabilisation huile essentielle de citronnelle-gomme arabique/éthanol et huile essentielle de zeste d'orange-gomme arabique/éthanol ont été préparées. La flore d'altération des jus de tamarin et de fleurs d'oseille ont été isolés, identifiés et leurs sensibilités ont été testées selon la méthode de diffusion sur disque.

L'isolement et l'identification ont montrés la présence de levures et de bactéries dans les jus altérés de tamarin et de fleurs d'oseille. La solution de gomme arabique à 15% avec une teneur de 7,5% d'huile essentielle absorbés directement par la poudre a été utilisée.

Les diamètres d'inhibition ont varié de 5mm à 34mm et de 4mm à 22mm respectivement pour l'huile essentielle de citronnelle et de zeste d'orange.

Les solutions de stabilisation huile essentielle citronnelle-gomme arabique et huile essentielle orange-gomme arabique testées sur flore d'altération des jus de tamarin et de fleurs d'oseille ont été très efficaces sur les moisissures, les levures, et bactéries. Cela prouve que ces huiles essentielles peuvent servir d'agents de conservation alimentaires pour limiter les activités microbiennes dans les jus de fruits.

**Mots Clés :** huile essentielle, altération, jus, microorganismes, citronnelle, l'orange.

## **Biological activities of essential oils of lemongrass and orange peel on microorganisms responsible for spoiling tamarind and sorrel flower juices**

### **Abstract:**

The biological activity of essential oils of lemongrass and orange peel on the spoilage flora of tamarind and sorrel flower juices was determined. Solutions of Lemongrass essential oil-Arabic gum/ethanol and essential oil orange peel-Arabic gum / ethanol were prepared as stabilization solutions. The spoilage flora of tamarind and sorrel flower juices were isolated, identified and their sensitivities tested using the disk diffusion method.

Isolation and identification showed the presence of yeasts and bacteria in the spoiled juices of tamarind and sorrel flowers. The 15 % Arabic gum solution with a content of 7.5 % essential oil absorbed directly by the powder was used.

The inhibition diameters ranged from 5 mm to 34 mm and 4mm to 22 mm for the essential oil of lemongrass and orange peel respectively.

The lemongrass essential oil –Arabic gum and orange peel essential oil stabilization solutions tested on the spoilage flora of tamarind and sorrel flower juices were very effective against molds, yeasts and bacteria.

This proves that these essential oils can be used as food preservatives to limit microbial activities in fruit juices.

**Keywords:** Essential oil, spoilage, juice, microorganisms, lemongrass, orange peel

### **1. Introduction :**

D'une façon générale, les jus de fruit sont une bonne source des minéraux, vitamines, oligo-éléments et antioxydants. Des fruits sont également connus comme ayant des propriétés alimentaires et médicinales, qui peuvent être attribué à leurs effets antioxydants et peuvent être employé pour enrichir les principaux aliments en particulier pour les enfants sous-alimentés [1].

La boisson à base de jus de Tamarin à une saveur douce, acidulée et légèrement sucrée. Elle est naturellement riche en vitamines, sels minéraux et est très riche en fibres. Parmi les acides organiques et les sels qu'elle renferme, l'acide tartrique et le potassium sont les plus importants et responsables de son pouvoir laxatif. Le jus de **fleur d'hibiscus**, riche en polyphénols, il joue tout d'abord un rôle favorable dans l'élimination des toxines, favorise également la fluidité du sang. Également riche en vitamines, protéines, minéraux et antioxydants, ce jus possède de nombreuses autres vertus (diurétiques, digestives).

Cependant, pour cette raison de richesse, la boisson à base de jus de Tamarin ou de **fleur d'hibiscus** est un substrat préféré pour des germes de fermentation entraînant leur altération. L'altération des jus peut être causée fréquemment par les germes souvent pathogènes qui peuvent provoquer des toxi-infections. Les microorganismes responsables de l'altération des jus de fruits sont des levures (*Kleockera apis*,

*candida guilliermondii*, *candida holmii*, *saccharomyces sp* des moisissures, des bactéries lactiques, (*lactobacillus*, *Bacillus*) des bactéries acétiques, *Alicyclobacillus spp*, [2].

Pour lutter contre ces micro-organismes, deux méthodes de conservation sont souvent employées par des producteurs de jus de fruit en Afrique: pasteurisation et utilisation des conservateurs chimiques [3]. De même, en absence de traitement thermique, les antimicrobiens de synthèse chimique sont également utilisés dans la conservation des aliments. Cependant, l'application des concentrations élevées de ces produits chimiques synthétiques dans la conservation de nourriture, augmenterait le risque de résidus toxiques dans les aliments. La sensibilité des consommateurs aux polluants résiduels et aux effets toxiques des beaucoup de conservateurs de synthèse chimique, font que l'emploi des solutions de rechange devienne nécessaire [4]. De même, la restriction imposée par l'industrie alimentaire et les organismes de normalisation dans l'utilisation de certains additifs synthétiques ont mené à la recherche de solutions de rechange, telles que les composés antimicrobiens normaux, particulièrement ceux d'origine végétale [5]. Les huiles essentielles et les composés dérivés ont des activités importantes mais l'activité antimicrobienne est la plus étudiée [6]. Une première recherche a signalé que l'huile essentielle de citronnelle, dans le milieu gélosé, était active sur *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* [7]. D'autres études ont indiqué que l'huile essentielle a également une activité contre des mycètes de stockage de nourriture [8].

Les huiles essentielles ne peuvent pas être utilisées dans leurs états naturels, elles sont incorporées dans des supports. La gomme arabique est un additif alimentaire (codeE414) beaucoup utilisée dans l'industrie alimentaire comme support de l'extrait aromatique. Grâce à sa solubilité élevée dans l'eau et sa basse viscosité, elle est utilisée en tant qu'émulsifiant, épaississant ou encore adhésif [9].

Au regard des activités biologiques des huiles essentielles sur les microorganismes l'objectif de ce travail était d'évaluer l'activité biologique des huiles essentielles de citronnelle et de zeste d'orange sur les micro-organismes responsables de l'altération des jus de tamarin et de fleurs d'oseille.

## 2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Isolement et identification des micro-organismes responsables de l'altération des boissons à base de pulpe de tamarin ou de fleurs d'oseille

Des échantillons altérés de boissons à base de pulpe de tamarin et de fleur d'oseille fournis par U.PRO.CO.HE ont été soumis à une analyse microbiologique. Chaque échantillon de jus de tamarin et de fleur d'oseille a été dilué au 1/10<sup>ème</sup>.

Sous une hotte, 1ml de la dilution 10<sup>-3</sup> et 10<sup>-4</sup> ont été prélevés respectivement des échantillons altérés de jus de pulpe de tamarin et de fleurs d'oseille et étales sur la gélose Plates Count Agar (PCA) probablement coulée dans les boîtes pétri en deux répétitions.

Les boîtes de Pétri ont été laissées sous la hotte jusqu'à l'absorption totale de inoculum par le milieu PCA. Le tous a été incubé dans un incubateur à 37°C pendant 72 heures.

Après incubation, les colonies formées ont été dénombrées dans les différentes boîtes et les résultats ont été exprimés en UFC/ml de jus. Puis différents types de colonies ont été repiquées sur de nouvelles boîtes jusqu'à l'obtention des cultures pures.

Les galeries API 20 ont été ensuiteensemencées avec ces cultures pures. Pour l'identification des levures, la galerie « API 20 C AUX » a été utilisée. L'identification est obtenue à l'aide du logiciel d'identification.

## 2.2. Test de sensibilité des microorganismes responsables de l'altération des boissons à base de pulpe de tamarin ou de fleurs d'oseille

Compte tenu de la non-miscibilité des huiles essentielles avec les jus, nous avons choisi la gomme arabique comme support à cause de son affinité et de sa solubilité dans les jus. Des solutions de stabilisation ont été préparées avec ce support.

Après séchage, la gomme purifiée a été broyée à l'aide d'un mixeur de NIKAI puis tamisé à l'aide d'un tamis à maille fine afin d'obtenir une poudre fine.

Les huiles ont été directement absorbées par la poudre de la gomme arabique à raison de 7,5mL pour 15g de poudre. Ensuite, ces poudres imprégnées de ces huiles essentielles ont été diluées dans de l'eau distillée pour avoir la solution de stabilisation huiles essentielles-gomme arabique. De même, une solution de stabilisation huiles essentielles-éthanol a été préparée en mettant 7,5 ml d'huile essentielle (citronnelle et orange) dans 92,5 ml d'éthanol.

La sensibilité des microorganismes responsables de l'altération des boissons à base de pulpe de tamarin ou de fleurs d'oseille aux huiles essentielles de citronnelle et d'orange a été évaluée selon la méthode de diffusion sur disque.

A partir des colonies jeunes des isolats (colonies de 24h), 5 mL du MH ont étéensemencés et mis en incubation pendant 24h à 37°. La culture obtenue a étéensemencée sur la gélose MH préalablement coulée à raison 0,1 mL (100µL) par boîte. A l'aide d'une pince stérile, les disques imprégnés d'huiles essentielles ont été déposés sur la géloseensemencée. Toutes les boîtes de Pétri ont ensuite été scellées avec du parafilm stérile pour éviter l'évaporation éventuelle des huiles essentielles. Elles ont été maintenues à 4°C pendant 2 heures, puis incubée à 37°C pendant 24 heures.

Après la période d'incubation, la valeur des diamètres de la zone d'inhibition clairement visible ou les microorganismes testés n'ont pas poussés a été mesurée en millimètre et la moyenne a été enregistrée. L'expérience a été répétée 2 fois.

L'appréciation de l'efficacité des huiles essentielles a été faite selon le critère de Touré (2018). Ainsi une substance est dite inefficace si le diamètre d'inhibition est inférieur 8 mm alors qu'elle est dite efficace si le diamètre est compris entre 9mm et 14mm. Cependant elle, est jugée très efficace et extrêmement efficace si le diamètre est respectivement compris entre 15 et 19mm, supérieur à 20.

La détection de l'activité antimicrobienne des huiles a été appréciée par la mesure des zones.

Les concentrations d'huile ayant données un effet antagoniste vis-à-vis des souches microbiennes peuvent être retenues pour plus de test (CMI, CMB).

### 3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

#### 3.1. Souches de bactéries et de levures isolées des jus de tamarin et de fleurs d'oseille altérés.

Les souches de bactéries et de levures responsables de l'altération des jus de tamarin et de fleurs d'oseille ont été isolées dans les échantillons de jus provenant de l'unité de production et de commercialisation des huiles essentielles (UPROCOHE).

Les résultats révèlent que ces jus hébergent de nombreux micro-organismes d'altération dont les levures (*Kleockera apis*, *candida guilliermondii*, *candida holmii*, et *saccharomyces sp*), les staphylocoques et autres bactéries appartenant aux genres *lactobacillus*, *Micrococcus* et *Bacillus* (Tableau I). Ils hébergent également des coliformes thermotolérants (*Enterobacter agglomerans* et *serratia rubidaea*, *serratia sp*).

**Tableau I :** Liste des espèces de bactéries et de levures impliquées dans l'altération des boissons à base de pulpe de tamarin ou de fleurs d'oseille.

Types de Microorganismes	Espèces isolées des jus
Levure	<i>Candida pelliculosa</i> , <i>Candida guilliermondii</i> , <i>Kleockera apis</i> , <i>Saccharomyces sp</i> ,
	<i>Candida holmii</i>
Bactérie	<i>Bacillus sp</i> , <i>Serratia sp</i> , <i>Serratia rubidaea</i> ,
	<i>Lactobacillus sp</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Micrococcus sp</i> , <i>Staphylococcus sp</i>

#### 3.2. Activité antimicrobienne des huiles essentielles de citronnelle et de zeste d'orange dans la gomme arabique sur les souches de bactérie et de levure.

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles de citronnelle et de zeste d'orange dans la gomme arabique sur les souches de bactérie et de levure provenant des jus de tamarin et de fleurs d'oseille a été déterminée. Les résultats montrent que les huiles essentielles de citronnelle et de zeste d'orange ont une activité antimicrobienne sur l'ensemble de la flore d'altération des boissons à base de des jus de tamarin et de fleurs d'oseille. Ces résultats sont en accord avec ceux de [10] Guici El Chouacheur et Boucetta (2017) qui ont évalué le pouvoir antimicrobien, anti-inflammatoire et cicatrisante d'une plante à parfum *Cymbopogon citratus*, pour une éventuelle utilisation en aromathérapie anti-infectieuse et/ou comme

ingrédient en nutraceutique. Ces auteurs ont révélé que l'huile essentielle de citronnelle est douée d'un pouvoir inhibiteur de la croissance de *Saccharomyces cerevisiae* dans une matrice alimentaire (Boisson Orangina) seule ou en combinaison avec un traitement thermique et qu'en phase liquide, l'essence a montré une activité inhibitrice remarquable sur la croissance de toutes les souches étudiées. Ce qui confirme que les huiles essentielles sont utilisables comme conservateurs dans la production de jus.

L'activité antimicrobienne varie avec la nature de l'huile essentielle et de la dose. Des résultats similaires ont trouvés par [10] Guici El Chouacheur et Boucetta (2017) qui ont l'action inhibitrice de l'huile était « dose-dépendant » avec une CMI qui a varié entre 0.625% et 0.007%.

Elle varie également en fonction du support alimentaire utilisé. La sensibilité des souches microbiennes varie d'une souche à l'autre (Tableau II).

Les souches de levure et bactérie les moins sensibles à la solution de stabilisation huile essentielle de citronnelle-gomme arabique sont respectivement *Candida guilliermondii* avec un diamètre de 4 mm et *Serratia sp* avec un diamètre de 5 mm.

Celles de la solution de stabilisation huile essentielle d'orange-gomme arabique sont respectivement *Saccharomyces sp* avec un diamètre de 1mm et *Candida guilliermondii* avec un diamètre de 5mm (Tableau II).

Dans la solution de stabilisation d'huile essentielle-gomme arabique, les levures semblent être moins sensibles à l'effet antimicrobienne des huiles essentielles de citronnelle et celle de zeste d'orange avec respectivement des diamètres moyens de la zone d'inhibition faibles de 6,75 mm et 7,5 mm. Par contre, dans cette solution de stabilisation, les souches bactériennes apparaissent plus sensibles à l'effet antimicrobienne des huiles essentielles de citronnelle et celle de zeste d'orange avec respectivement des diamètres moyens de la zone d'inhibition larges respectivement de 13,4 mm et 8,2 m. Contrairement à la première solution de stabilisation, dans la solution de stabilisation d'huile essentielle-éthanol, les levures semblent être plus sensibles à l'effet antimicrobienne des huiles essentielles de citronnelle et celle de zeste d'orange avec respectivement des diamètres moyens de la zone d'inhibition faibles de 20,28mm et 15,14mm. Par contre, dans cette solution de stabilisation, les souches bactériennes apparaissent un peu moins sensibles à l'effet antimicrobienne des huiles essentielles de citronnelle et celle de zeste d'orange avec respectivement des diamètres moyens de la zone d'inhibition larges respectivement de 17 mm et 14,57mm.

**Tableau II:** Activité antimicrobienne des huiles essentielles de citronnelle et de zeste d'orange dans la gomme arabique sur les souches de bactérie et de levure.

Souches	Citronnelle 7,5%		Orange 7,5%	
	Diamètre (mm)	d'inhibition	Diamètre (mm)	d'inhibition
LEVURES	<i>Candida pelliculosa</i>	9	12	
	<i>Saccharomyces sp</i>	7	15	
	<i>Candida guilliermondii</i>	4	2	
	<i>Saccharomyces sp</i>	7	1	
BACTERIES	<i>Bacillus sp</i>	11	8	
	<i>Serratia sp</i>	5	4	
	<i>Enterobacter agglomerans</i>	14	4	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	18	8	
	<i>Micrococcus sp</i>	19	17	

**Tableau III :** Diamètres d'inhibitions des huiles essentielles de citronnelle et de zeste d'orange avec l'éthanol sur les souches de bactérie et de levure.

	Souches	Citronnelle 7,5%		Orange 7,5%	
		Diamètre (mm)	d'inhibition	Diamètre (mm)	d'inhibition
LEVURES	<i>Candida pelliculosa</i>		34		18
	<i>Saccharomyces sp</i>		14		14
	<i>Kleockera apis</i>		29		32
	<i>Candida guilliermondii</i>		13		12
	<i>Saccharomyces sp</i>		23		12
BACTERIES	<i>Bacillus sp</i>		11		22
	<i>Serratia sp</i>		5		4
	<i>Serratia rubidaea</i>		12		12
	<i>Enterobacter agglomerans</i>		17		9
	<i>Staphylococcus aureus</i>		8		13
	<i>Micrococcus sp</i>		22		10
	<i>Staphylococcus sp</i>		17		9

La gomme arabique a été utilisée comme support pour les huiles essentielles de citronnelle et de zeste d'orange pour tester la sensibilité des microorganismes d'altération des boissons à base des jus de tamarin et des fleurs d'oseilles. Les diamètres d'inhibition ont varié de 5mm à 34mm et de 4mm à 22mm respectivement pour l'huile essentielle de citronnelle et de zeste d'orange. Selon le critère de [11], la solution de stabilisation huile essentielle de citronnelle-gomme arabique ou huile essentielle orange-gomme arabique est efficace sur la souche de levures et de bactérie.

Les solutions de stabilisation huile essentielle citronnelle-gomme arabique et huile essentielle orange-gomme arabique testées sur les microorganismes responsables des altérations des jus de tamarin et de fleurs d'oseille ont été très efficaces sur les moisissures, les levures, et bactéries. Cela prouve que les huiles essentielles de citronnelles et de zeste d'orange peuvent être utilisées comme conservateurs dans les jus de tamarin et de fleurs d'oseille.

#### 4.CONCLUSION

L'activité biologique des huiles essentielles de citronnelle et de zeste d'orange sur les micro-organismes responsables de l'altération des jus de tamarin et de fleurs d'oseille a été évaluée en utilisant la gomme arabique ou l'éthanol comme support alimentaire.

Les huiles essentielles de citronnelle et de zeste d'orange ont une activité antimicrobienne sur l'ensemble de la flore d'altération des boissons à base de des jus de tamarin et de fleurs d'oseille. Les huiles essentielles ainsi étudiées sont des agents antimicrobiens naturels efficaces et par conséquent peuvent servir d'agents de conservation alimentaires pour limiter les activités des levures et des bactéries dans les jus à base de fruits.

#### 5. Remerciements

Nous remercions :

Le Fonds Compétitif pour la Recherche et l'Innovation Technologique (FCRIT) du Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (CNRST) du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique (MESRS) de la République du Mali,

L'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB),

Le Département de Médecine Traditionnelle (DMT),

L'Unité de Production et de Commercialisation des Huiles Essentielles (U.PRO.CO.HE).

## 6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Barminas JT., Maina H.M., Ali J. (1998). Nutrient content of *Prosopis africana* seeds. *Plant foods for Human Nutrition* volume 52, pages 325-328.
- [2] Konan A. H. (2016). Altération microbienne des boissons. Université Nangui Abrogoua.
- [3] Bazemore R., Goodner K., and R. Rouseff, 1999. Volatiles from Unpasteurized and Excessively Heated Orange Juice Analyzed with Solid Phase Micro extraction and GC-Olfactometry. *Journal of Food Science*, Volume 64, No. 5.
- [4] Smith-Palmer A., Stewart J., Fyle L., 2001. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, Volume 18, Issue 4, pp. 463-470.
- [5] Moosavy, M. H., A. A. Basti, A. Misaghi, T. Z. Salehi, R. Abbasifar, H. A. E. Mousavi, M. Alipour, N. E. Razavi, H. Gandomi & N. Noori, 2008. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil and nisin on *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in a food model system and on the bacterial cell membranes. *Food Research International*, 41, 1050–1057.
- [6] BANKOLE S.A. and JODA A.O., 2004. Effect of lemon grass (*Cymbopogon citratus* Stapf) powder and essential oil on mould deterioration and aflatoxin contamination of melon seeds (*Colocynthis Citrullus* L.). *African Journal of Biotechnology* Vol. 3 (1), pp. 52-59
- [7] Melo, E. P. de; Macedo, F. de A. F. de; Martins, E. N. ; Zundt, M. ; Nieto, L. M. ; Yamamoto, S. M. ; Mexia, A. A., 2001. Availability and chemical composition of pasture with different growth habits, grazed by sheep. *Acta Scientiarum*, 23 (4): 973-980
- [8] Mishra AK, Dubey NK (1994). Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 1101-1105. Ogundero VW (1981). Isolation of thermophilic and thermotolerant fungi from stored groundnuts and determination of their lipolytic activity. *Int. Biodeter. Bull.* 17: 51-56.
- [9] CNUCED, (2020). Coup d'œil sur les produits de base –Édition spéciale sur la gomme arabique en Afrique Centrale et Occidentale. Genève, page 10 et p12
- [10] Guici E.K.K & Boucetta F. (2017). Essence Aromatique de Citronnelle (*Cymbopogon citratus*) : potentiels Applications comme conservateur Nutraceutique. Mémoire de Master en science Biologique. Université Saad Dahleb-Blida 1 Faculté de science de la Nature et de vie, DER de Biologie Cellulaire ; P 54
- [11]. Toure D, (2015). Etudes Chimique et Biologique des Huiles essentielles de quarte plantes aromatiques médicinales de cote d'ivoires. Chimie organique. Université Felix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire, Français. NNT : 29/2015.

## Étude phytochimique et activités antifongiques, antibactériennes des extraits des feuilles de *Stylosanthes erecta* de Konobougou Segou Mali

Mamadou Wele<sup>2</sup> Singou Keita\*<sup>1</sup>, Lassina Sissoko, Ousmane Keita, Checkiné Cissé, Moriba Doumbia

<sup>1</sup>Laboratoire de biochimie Végétale Alimentaire de Biotechnologie (LBVA-B) de la Faculté des sciences et Techniques de Bamako, Université des Sciences des Techniques et des Technologie, Mali.

<sup>2</sup>Laboratoire de Biologie Tropicale Intégrative et Exploratoire, Faculté des Sciences et Techniques, des Techniques et des Technologies de Bamako, Université des Sciences des Techniques et des Technologie, Mali.

### Résumé :

*Stylosanthes erecta* est une plante fourragère utilisée dans la médecine traditionnelle. Cette étude a pour objectif déterminer les maladies traitées par *Stylosanthes erecta* par une enquête et d'évaluer les activités antifongique et antibactérienne des extraits de feuilles. Des analyses phytochimiques et qualitatives ont été réalisées sur la poudre des feuilles de *Stylosanthes erecta* P. Des tests antifongiques et antibactériennes ont été réalisées par la méthode de diffusion et par la méthode de dilution.

L'enquête a montré que 55% des thérapeutes l'utilisent pour traiter des infections urinaires et 71% pour les infections alimentaires et 100% l'utilisent pour les infections plasmodiales.

L'activité antifongique : les concentrations de 200 µL et 300µL ont montré une inhibition totale de la densité fongique. Les extraits de macération ont plus d'activité antifongique que les extraits de décoction. L'activité antibactérienne : Les diamètres d'inhibition les plus importants sont 15± 0,05 mm, 16 ± 0,04 mm sur des souches cliniques. La concentration minimale inhibitrice est autour de 0,5 mg/mL sur *E. coli*, sur *S. typhi*, et sur *N. gonorrhée*.

**Mots clés :** *Stylosanthes erecta*, extraits, antibactérienne, antifongique, diffusion, dilution,

### Abstract:

*Stylosanthes erecta* P. is a fodder plant used in traditional medicine. The objective of this study is to identify the diseases treated with *Stylosanthes erecta* by investigation and to assess the antifungal and antibacterial activities of the leaf extracts. Phytochemical and qualitative analyzes were carried out on the powder of the leaves of *Stylosanthes erecta* P. Antifungal and antibacterial tests were carried out by the diffusion method and by the dilution method.

The survey showed that 55% of therapists use it to treat urinary tract infections and 71% in food infections and 100% for plasmodium infections.

Antifungal activity: Concentrations of 200 µL and 300 µL showed complete inhibition of fungal density. Maceration extracts have more antifungal activity than decoction extracts. Antibacterial activity: The most important diameters of inhibition are 15 ± 0.05 mm, 16 ± 0.04 mm in clinical strains. The minimum inhibitory concentration is around 0.5 mg / mL on *E. coli*, on *S. typhi*, and on *N. gonorrhoea*.

**Passwords:** *Stylosanthes erecta*, extracts, antibacterial, antifungal, diffusion, dilution,

### 1. Introduction :

Arbuste fourrager, *Stylosanthes erecta* P (Abib *et al.* 2015) est utilisé dans l'agriculture (Bulakali *et al.* 2015) dans la médecine traditionnelle en Afrique (Teodardo *et al.* 2010), dans la prise en charge des infections diarrhéiques, urinaires, plasmodiales Dénou *et al.* (2016).et dans le nettoyage des voies urinaires. Les infections urinaires, alimentaires, et plasmodiales constituent une large cause de consultation dans les centres de santé au Mali. Des infections causées par des souches d'espèce d'*Escherichia coli*, de *Salmonella typhi*, de *Neisseria gonorrhée* et de *Candida albicans* (Roland Quentin 2014).

Les antibiotiques de demain doivent répondre à plusieurs facteurs dont la résistance de certaines souches bactériennes, l'accessibilité de la population, et des nouvelles cibles d'action chez les bactéries. L'exploration des ressources naturelles apparaît comme des plus prometteuses car celles-ci constituent, de par leur biodiversité, la plus grande réserve de substances bioactives (Jalila *et al.* 2014).

Peu d'études ont été faites sur les activités antibactériennes et antifongiques des extraits de *Stylosanthes erecta*.

Ce présent travail a pour but d'évaluer l'activité antibactérienne et antifongique des extraits de feuilles de *Stylosanthes erecta* P. Elle permettra de contribuer à la valorisation d'une plante utilisée dans la médecine traditionnelle par l'évaluation des propriétés antibactériennes et antifongiques des extraits aqueux (décoction et macération) justifiant ses vertus thérapeutiques.

## 2. Matériel et Méthode :

### 2.1. Matériel :

Le matériel bactérien est composé d'*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *N. : Neisseria* et de *Candida albicans*.

Le matériel végétal est composé des feuilles de *Stylosanthes erecta* P. recueilli à Konodimini (Ségou).



Figure 24 : Un pot de *Stylosanthes erecta* P. Laboratoire LBVA-B (2010)

### 2.2. Méthode :

#### 2.2.1. Enquête ethnobotanique :

Une enquête a été menée auprès de vendeurs de drogues dans sept (7) marchés de Bamako avec une fiche d'enquête (Dénou *et al.* 2016). Le but était d'identifier les vertus thérapeutiques du *Stylosanthes erecta* P. dans la prise en charge des infections urinaires et alimentaires.

#### 2.2.2. Extraction par la macération des extraits testés:

À 5 g de poudre de feuilles de *Stylosanthes erecta* ont été complétés à 100 mL par l'eau distillée et mis sous agitation pendant 24 Heures. La solution a été filtrée puis lyophilisée après congélation. La poudre obtenue a été utilisée pour les tests antibactériens et antifongiques. (Adjou et Soumanou 2013)

Les tanins totaux ont été extraits dans 5 grammes de poudre par la macération dans l'acétone diluée au 7/3. La solution a été filtrée et concentrée au rotavapor. Les tanins condensés ont été précipités avec le chlorure de sodium, la solution est centrifugée à 3000 rpm pendant 10min. le culot est récupéré dans 3 mL d'eau distillée. (Nallabini *et al.* 2011).

#### 2.2.3. Extraction par la décoction :

À 5gramme de poudre de feuilles nous avons ajouté 100 mL d'eau distillée stérile le mélange a été porté ç ébullition pendant 30 munîtes puis filtré et lyophilisé. L'extrait brut obtenu a été utilisé pour le test antibactérien (Adjou et Soumanou 2013)

Dans le filtrat les tanins totaux ont été précipités par le Na Cl et centrifuger le culot est recueilli dans 10mL d'eau distillée stérile puis lyophilisé. Le lyophilisat est utilisé pour les tests antibactériens sur les souches cliniques.

#### 2.2.4. Le rendement des extraits ont été calculés par la formule suivante :

$$\text{Rendement} = \frac{\text{Poids de l'extrait lyophilisé en poudre} \times 100}{\text{Poids total de la poudre d'organe}}$$

#### 2.2.5. Activité antifongique des extraits par la méthode de dilution sur *Candida albicans* :

L'activité antifongique a été testée avec les volumes d'extrait de macération suivants : 300 µL, 200 µL, 100µL, 50µ. La concentration de la solution mère est 5mg/mL

Dans une suspension bactérienne de densité (DI) connue une série de 10 mL de solution ont été prélevées et incubées avec des volumes croissants de chaque extrait pendant 24 heures à 37°C. La densité finale a été déterminée. La comparaison deux densités (initiales et finales) permet d'évaluer l'activité antifongique de l'extrait testé.

Détermination de la densité bactérienne :

La densité bactérienne d'un bouillon de culture ou d'un liquide physiologique est la quantité de bactéries par unité de volume (Koffi *et al.* 2013). La densité bactérienne a été déterminée par la préparation d'une série de dilution de la solution mère dans six (6) tubes contenant 9 mL d'eau physiologique.

Au premier tube un (1) mL de la suspension bactérienne mère est ajouté, on obtient une concentration bactérienne de  $10^{-1}$

Au second tube, 1 mL de la solution de concentration bactérienne de  $10^{-1}$  a été ajouté on obtient une concentration bactérienne de  $10^{-2}$

Les autres suspensions bactériennes de concentrations décroissantes de  $10^{-1}$  à  $10^{-6}$  ont été ainsi préparées. Un millilitre (1mL) de la dilution  $10^{-6}$  ont été mis en culture dans trois milieux par la méthode de râteau. Après 24 heures d'incubation, la moyenne des colonies de trois boîtes est multipliée par le facteur de dilution  $10^6$ , qui détermine la densité bactérienne (DI ou DF). (Bosson *et al.* 2015)

### 2.2.6. Activité antibactérienne par la méthode de diffusion :

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées. Une colonie de *E. coli* a été placée dans 10 mL d'eau physiologique stérile dans des tubes à essai et la densité cellulaire initiale ou la turbidité a été ajustée à celle de 0,5 Mc Farland. Ensuite la surface du milieu Muller Hinton a été inoculée par la suspension d'inoculum bactérien. (Jalila *et al.* 2014)

Le *Neisseria gonorrhée* a été cultivé sur le sang cuit et gélose de Chapman en présence d'un générateur de  $CO_2$  le *Neisseria gonorrhée* est une bactérie anaérobie. Les extraits ont été dissous dans l'eau distillée stérile. Des disques vierges ont été imbibés de concentration décroissantes d'extraits de 5mg/mL, de 1mg/mL et de 0,5mg/mL et déposer sur des souches bactérienne inoculées dans les milieux Muller Hinton. (Traoré *et al.* 2012). Les boîtes de pétri sont incubées pendant 24 heures à 37°C. L'activité antibactérienne a été déterminée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait (Wélé *et al.* 2018)

## 3. Résultats :

### 3.1. Enquête ethnobotanique sur le *Stylosanthes erecta* :

Les résultats de l'enquête ethnobotanique sont consignés dans les tableaux suivants :

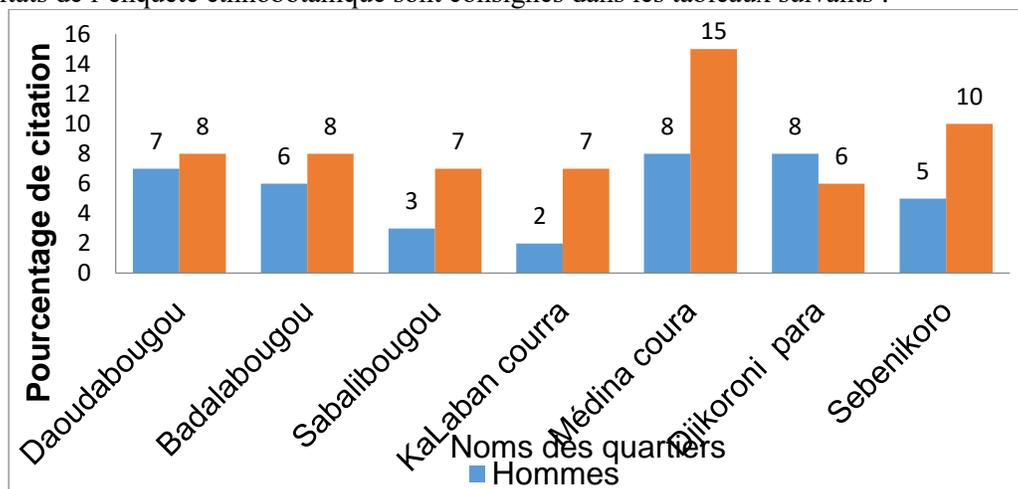


Figure 25 : Histogramme des thérapeutes enquêtés

### 3.2. Rendements des extraits:

Les résultats du rendement des extraits sont consignés dans le tableau ci-dessous

Tableau 4: Rendement des extraits :

Teneur en % de  $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait

Extraits	Macération	Décoction
Bruts	0,745±0,06	1,025 ± 0,2

Tanins totaux 0,166 ± 0,02 0,564 ± 0,1

### 3.3. Activité antifongique des extraits de macération sur *Candida albicans* :

La méthode utilisée est la méthode de dilution en milieu de culture de bouillon sabouraud. Les résultats de l'activité antifongique de 50µL, de 100µL, de 200µL et 300µL d'extraits sur *Candida albicans* sont indiqués sur le graphe.

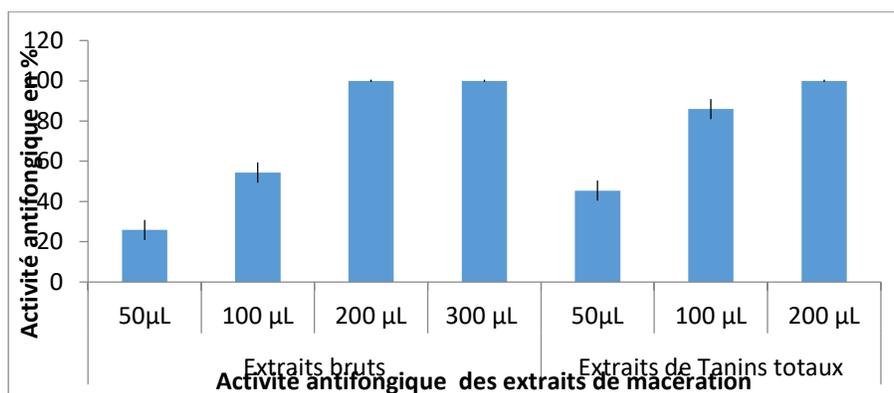


Figure 26 : Histogramme de pourcentage fongicide des extraits de macération

Le *Candida albicans* est sensible aux extraits de feuilles de *Stylosanthes erecta* P. une inhibition totale de la concentration fongique a été obtenue avec les volumes de 200 µL et 300 µL d'extrait.

### 3.4. Activité antibactérienne des extraits bruts de la macération :

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits bruts de feuilles de *Stylosanthes erecta* sont les moyennes de trois tests effectués

Bactéries	Diamètres d'inhibition des extraits bruts de la macération en mm			
	5 mg/mL	2mg/mL	1 mg/ml	0,5 mg/mL
<i>E. coli</i> ,	11 ± 0,5	9 ± 0,5	8 ± 0,5	7 ± 0,5
<i>S. typhi</i>	10 ± 0,2	9 ± 0,3	6,5 ± 0,2	6 ± 0,2
<i>N. gonorrhée</i>	16 ± 0,2	15 ± 0,2	15 ± 0,2	9 ± 0,2

**Légende :** *E.* : *Escherichia*, *S.* : *Salmonella*, *N.* : *Neisseria*

### 3.5. Activité antibactérienne des extraits de tanins totaux de la macération:

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits de tanins sont les moyennes de trois tests effectués

Bactéries	Diamètres d'inhibition des extraits de tanins totaux de la macération en mm			
	5 mg/mL	2 mg/mL	1 mg/ml	0,5 mg/mL
<i>E. coli</i> ,	10,4 ± 0,5	9 ± 0,2	8,5 ± 0,4	7,1 ± 0,6
<i>S. typhi</i>	10,8 ± 0,5	9 ± 0,2	7 ± 0,5	-
<i>N. gonorrhée</i>	14 ± 0,2	12 ± 0,5	10 ± 0,4	7 ± 0,3

**Légende :** *E.* : *Escherichia*, *S.* : *Salmonella*, *N.* : *Neisseria*

### 3.6. Activité antibactérienne des extraits bruts de décoction :

Bactéries Diamètres d'inhibition des extraits bruts de la décoction en mm

	5 mg/mL	2 mg/mL	1 mg/mL	0,5 mg/mL
<i>E. coli</i> ,	10 ± 0,5	8,5 ± 0,5	7 ± 0,5	6,4 ± 0,5
<i>S. typhi</i>	15 ± 0,5	13 ± 0,5	10 ± 0,5	7 ± 0,5
<i>N. gonorrhée</i>	12 ± 0,5	9,2 ± 0,5	8 ± 0,5	7,4 ± 0,5

**Légende :** *E.* : *Escherichia*, *S.* : *Salmonella*, *N.* : *Neisseria*

### 3.7. Activité antibactérienne des extraits de tanins totaux de la décoction:

Bactéries	Diamètres d'inhibition des extraits de tanins totaux de la décoction en mm			
	5 mg/mL	2 mg/mL	1 mg/mL	0,5 mg/mL
<i>E. coli</i> ,	9 ± 0,5	7,5 ± 0,2	6,5 ± 0,5	-
<i>S. typhi</i>	10,8 ± 0,5	9 ± 0,2	7 ± 0,2	-
<i>N. gonorrhée</i>	14 ± 0,2	12 ± 0,5	10 ± 0,4	7 ± 0,3

**Légende :** *E.* : *Escherichia*, *S.* : *Salmonella*, *N.* : *Neisseria*

## 4. Discussion :

Cette étude a permis de montrer que *Stylosanthes erecta* est une plante médicinale largement utilisée par les tradipraticiens au Mali, selon les résultats de notre enquête plus de 61 % des thérapeutes sont des femmes. Les teneurs d'extraits bruts et de tanins totaux ont été 0,745 ± 0,6 0,166 ± 0,5 dans les extraits de macération et 1,025 ± 0,2 et 0,564 ± 0,1 dans les extraits de la décoction. Nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Nallabini Lokeswari et Peela Sujatha dans les extraits de *Caesalpinia coriaria* ont. Ils ont obtenu 0,58 mg/mL, 0,74 mg/mL et 0,78 mg/mL Nallabini et Peela (2011).

L'activité antifongique des extraits de tanins totaux sur *Candida albicans* est plus importante que les extraits bruts. Nos résultats sont proches de ceux de Fatiha et collaborateurs qui ont obtenu avec 6,25 mg/mL, 125 mg/mL et 25mg/mL d'extrait aqueux de *Penicillium digitatum* 75,3%, 85,9%, 88,9% d'inhibition de la croissance bactérienne, de ceux de Koffi et collaborateurs qui ont obtenu avec des extraits aqueux sur *Candida albicans* 80,74%, 57,8% et 31,5% respectivement pour les extraits aqueux de *Pteleopsis suberosa* de *Psidium guajava* et de *Momordica charantia*. Koffi *et al.* (2013).

Les souches testées ont été plus sensibles à 5 mg/mL d'extrait brut de feuilles de *Stylosanthes erecta*. La concentration minimale inhibitrice serait autour de 0,5 mg/mL. Les souches d'*E. coli*, de *N. gonorrhée* ont été sensibles aux extraits de tanins totaux les diamètres d'inhibition les plus élevés ont 14 ± 0,02 mm sur *N. gonorrhée*. La concentration minimale serait autour de 0,5 mg/mL.

Nos résultats sont proches de ceux de R S Mamadou et collaborateurs qui ont obtenu avec les extraits de *Sebastiania chamaelea* 9,30 ± 1,50b sur *E. coli*, R.S. Mamadou *et al.* (2014).

## 5. Conclusion:

Cette étude a permis de montrer que les feuilles de *Stylosanthes erecta* P. sont riches en métabolites primaires (protéines, sucres) et secondaires (Tanins, saponosides) et d'évaluer l'activité antifongique et antibactérienne des extraits bruts et de tanins totaux des feuilles de *Stylosanthes erecta* P. sur *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* et *Neisseria gonorrhée*» Les extraits de tanins du *Stylosanthes erecta* beau P. ont une activité antifongique sur *Candida albicans*. *Neisseria gonorrhée* est plus sensible aux extraits que *E. coli*. Les extraits bruts de macération ont plus d'activités antibactériennes que les extraits de tanins. Les tanins totaux ont plus d'activité antifongique que les extraits bruts.

## Remerciements :

Les auteurs sont reconnaissants à la direction de l'Institut National en Santé Publique (INSP) pour l'accès au service bactériologie.

### Références bibliographiques :

- [1] – Abib CAMARA, Abdoulaye DIENG, Guy MERGEAI (2015) : Amélioration des systèmes de production mixtes en Afrique soudano-sahélienne. Rôle de l'espèce *Stylosanthes hamata* (L.) Université de Thiès. École Nationale Supérieure d'Agriculture. Km 3,5, Route de Khombole. BP A296 Thiès (Sénégal). Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2015 19(3), 281-289.
- [2] - B.P. BULAKALI, J. Aloni, J.C. PALATA & G. MERGEAI (201) : Performances de trois variétés de manioc (*Manihot esculenta* Crantz) cultivées en association avec *Stylosanthes guianensis* (Aublet) Swartz dans les conditions du plateau des Batéké (ville-province de Kinshasa, RDC). TROPICULTURA, 2014, 32, 4, 158-167.
- [3] - TEODARDO Calles et RAINER Schultze-Kraft (2010) : *Stylosanthes* (*Leguminosae*, Dalbergieae) of Venezuela. Willdenowia 40 –: 305 – 329, A1 – A8. – Online ISSN 1868-6397; © 2010 BGBM Berlin-Dahlem.
- [4] - DÉNOU A, KOUDOUVO K, TOGOLA A, HAÏDARA M, DEMBÉLÉ S.M, BALLO F.N, SANOGO R., DIALLO D, GBEASSOR Mb (2016) : Savoir traditionnel sur les plantes antipaludiques à propriétés analgésiques, utilisées dans le district de Bamako (Mali). Journal of Applied Biosciences 112: 10985-10995, 2016.
- [5] - ROLAND Quentin (2014) : Prescrire, Interpréter, traiter un ECBU un Prélèvement Vaginal chez la Femme enceinte. UFR Médecine - Université François Rabelais de Tours, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, Equipe "Bactéries et risque materno- foetal, Bd Tonnellé F-37032. pp1-70
- [6] - JALILA El amri, KHALID Elbadaoui, TOURIA Zair, HAYATE Bouharb, saïD chakir, Taj Imolk ALAOUI (2014) Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silene vulgaris* sur différentes souches testées. Journal of Applied Biosciences 2014. 82:7481 – 74 92. ISSN 1997–5902
- [7] - JOANNA Gdula-Argasińska, PAWEŁ Paško, KATARZYNA Sułkowska-Ziaja (2017) : Anti-inflammatory activities of garlic sprouts, a source of  $\alpha$ -linolenic acid and 5-hydroxy-L-tryptophan, in RAW 264.7 cells. Epub: No 2017\_1534 Vol. 64, 2017.
- [8] - Euloge S. ADJOU et Mohamed M. SOUMANOU (2013) : Efficacité des extraits de plantes dans la lutte contre les moisissures toxigènes isolées de l'arachide en post-récolte au Bénin. Journal of Applied Biosciences 70:5555–5566. ISSN 1997–5902
- [9] - NALLABINI Lokeswari et PEELA Sujatha (2011): Isolation of tanins from *Caesalpinia corlaria* and action of physical parameters. University Srikakulam, Ethcherla International Research Journal of Pharmacy. ISSN 2230-8407, P: 146-152.
- [10] TALBI H., BOUMAZA A., El-mostafa K., TALBI J., HILALI A. (2015) : Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. Mater. Environ. Sci. 6 (4) (2015) 1111-1117.
- [11] - Victorin HOUMÉNOU, Arlette ADJATIN, Fidèle ASSOGBA, Joachim GBÉNOU, Akpovi AKOÈGNINO. (2018) : Étude Phytochimique Et De Cytotoxicité De Quelques Plantes Utilisées Dans Le Traitement De La Stérilité Féminine Au Sud-Bénin European Scientific Journal February 2018 edition Vol.14, No.6 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431
- [12] - Gbogbo KOFFI, Apeti DOURMA, Marra Akpavi SEMIHINVA, Batawila KOMLAN Akpagana KOFFI (2013) : Evaluation de l'activité antifongique de *Ficus platyphylla* del. (Moraceae) European Scientific Journal November 2013 edition vol.9, No.33 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431.
- [13] - BOSSON Arobia Marie Bernadine, ORSOT Sibirina SORO, N'dri Gilles KONKON, Daouda KONE, Guédé Noël ZIRIHI: (2016): Etude 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 98:9309 – 9322 ISSN 1997–5902. 2016
- [14] - TRAORÉ Y, OUATTARA K., Yéo D, Doumbia, Coulibaly A (2012) Recherche des activités antifongique et antibactérienne des feuilles d'*Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae). Journal of Applied Biosciences 58: 42 34 – 42 42 ISSN 1997–5902 2012.
- [15] - Singou KEITA, Mamadou WÉLÉ, Cheickna CISSE Nouhoum DIARRA, Laura KIRKMAN and Lamine Baba-MOUSSA (2018) : Antibacterial and Antiplasmodial Activities of Tannins Extracted from *Zizyphus mauritiana* in Mali. International Journal of Biochemistry Research & Review 24(2): 1-8,
- [16] - Fatiha FADEL, Bouchra CHEBLI, Saida TAHROUCH, Abdelaziz BENDDO, Abdelhakim HATIMI (2011) : Activité antifongique d'extraits de *Ceratonia siliqua* sur la croissance *in vitro* de *penicillium digitatum* (\*). Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 2011, 150(1-4), 19-30.

[17] - ROUMANATOU Sadou Mamadou, IDRISSE Moussa, PHILIPPE Sessou, Boniface YEHOUEYOU Pascal D.C. AGBANGNAN (2014) : Étude phytochimique, activités antiradicalaire, antibactérienne et antifongique d'extraits de *Sebastiania chamaelea* (L.) Müll.Arg. Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie J. Soc. Ouest-Afr. Chim.(2014), 037 : 10- 17 19<sup>ème</sup> Année, Juin 2014

## Identification de flavonoïdes majoritaires par HPLC-MS/MS et potentiel antioxydant des extraits graines de *Vigna radiata*

Mahamadi Ouedraogo<sup>1</sup>, Adama Hema<sup>1(\*)</sup>, Bazoin Sylvain Raoul Bazié<sup>2</sup>, Elie Kabré<sup>2</sup>, Serge W. F. M. Zida<sup>3</sup>, Benoit Joseph T. Batiéno<sup>3</sup>, Eloi Palé<sup>1</sup>, Mouhoussine Nacro<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Chimie Organique et Physique Appliquées, Département de Chimie, UFR-SEA, Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

<sup>2</sup> Laboratoire national de santé publique (LNSP), 09 BP 24, Ouagadougou 09, Burkina Faso

<sup>3</sup> Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles du Burkina Faso (INERA) 04 BP 8545 Ouagadougou 04, Burkina Faso

### Résumé :

Des graines de *Vigna radiata* importées d'Australie et acclimatées au Burkina Faso ont été étudiées pour leur teneur en composés phénoliques totaux, flavonoïdes, anthocyanes et caroténoïdes totaux. La méthode DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) nous a permis de déterminer leurs activités antioxydantes. Les résultats ont été comparés à ceux de *Vigna subterranea* et *Glycine max* cultivés au Burkina Faso. La diversité des flavonoïdes dans l'extrait brut de *Vigna radiata* a été également étudiée par chromatographie liquide haute performance-spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS). Les teneurs en composés phénoliques, en flavonoïdes, en anthocyanes et en caroténoïdes étaient respectivement de 5,479±0,026 mg d'EAG/g, 4,482±0,456 mg d'EQ/g, 0,848±0,063 mg/g et 0,228±0,013 mg d'EBC/g. Les teneurs en antioxydants mesurés étaient similaires à celles de *Vigna subterranea* et de *Glycine max*. Enfin, sur la base de l'analyse LC-MS/MS, nous avons pu démontrer que les graines de *Vigna radiata* renferment majoritairement l'isovitexine, la vitexine et l'orientine. Ces composés C-glycosylés identifiés dans les graines de *Vigna radiata* sont moins répandus et font l'objet d'un intérêt de recherche croissant en raison de leur potentiel biologique élevé.

**MOT-CLES :** *vigna radiata* ; flavonoïdes ; activité antioxydants ; LC-MS/MS.

## Identification of major flavonoids using HPLC-MS/MS and determination of antioxidant potential of *Vigna radiata* seed extracts

### Abstract :

Seeds of *Vigna radiata* imported from Australia and acclimatized in Burkina Faso were studied for their content of total phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins and total carotenoids. The DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) method allowed us to determine their antioxidant activities. The results were compared with those of *Vigna subterranea* and *Glycine max* grown in Burkina Faso. The diversity of flavonoids in the crude extract of *Vigna radiata* was also studied by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The levels of phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins and carotenoids were respectively 5.479 ± 0.026 mg GAE / g, 4.482 ± 0.456 mg QE / g, 0.848 ± 0.063 mg / g and 0.228 ± 0.013 mg of BCE / g. The antioxidant contents measured were similar to those of *Vigna subterranea* and *Glycine max*. Finally, on the basis of the LC-MS /MS analysis, we were able to demonstrate that the seeds of *Vigna radiata* mainly contain isovitexin, vitexin and orientin. These C-glycosylated compounds identified in the seeds of *Vigna radiata* are less widespread and are the subject of increasing research interest due to their high biological potential.

**Key words:** *vigna radiata* ; flavonoids ; antioxydant activity ; LC-MS/MS

### 1. Introduction

Les légumineuses occupent une importante place dans la sécurité nutritionnelle dans le monde <sup>[1]</sup> car elles contribuent à l'atteinte de la sécurité alimentaire qui englobe aussi bien les aspects quantitatifs que qualitatifs. Ce sont d'excellentes sources de protéines, de minéraux, de vitamines et de composés bioactifs <sup>[2]</sup>. Leur production mondiale a considérablement augmenté et l'industrie de la transformation des aliments développe de nouvelles utilisations de ces légumineuses pour créer des produits alimentaires ayant un effet bénéfique sur la santé humaine <sup>[3,4]</sup>.

Les légumineuses sont une bonne source de composés phénoliques bioactifs pour les humains car elles jouent un rôle important dans de nombreux processus physiologiques et métaboliques. En outre, les régimes alimentaires dans les pays en développement sont principalement basés sur les légumineuses et les produits céréaliers <sup>[5]</sup>. La plupart des composés phénoliques sont concentrés dans les épicarpes des graines de ces légumineuses <sup>[6,7]</sup>.

*Vigna radiata*, encore appelé mung bean ou haricot mungo est une légumineuse de la famille des Fabaceae dans l'ordre des Fabales. Il est cultivé en Inde depuis les temps préhistoriques comme culture de rotation avec des céréales comme le blé et le riz. Les graines de *Vigna radiata* sont consommées dans le monde entier, en particulier au Burkina Faso (beng tigré) car connu traditionnellement pour être une excellente source de vitamines, de minéraux, d'acides aminés essentiels, de glucides et de protéines [8]. Cette légumineuse contient également des composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes) et des caroténoïdes qui sont bénéfiques pour guérir et prévenir de nombreux maux chroniques comme le cancer, le diabète, les maladies cardio-vasculaires en raison de leurs propriétés antioxydantes [9]. Au cours de la dernière décennie, plusieurs études se sont concentrées sur l'isolement et l'identification de composés bioactifs de *Vigna radiata*. Ces études ont montré que les flavonoïdes sont les métabolites secondaires les plus abondants. Cinq sous-classes de flavonoïdes, à savoir les flavones, les flavonols, les isoflavonoïdes, les flavanols et les anthocyanes, ont été trouvées dans le mung bean. Ils s'accumulent dans les tissus végétaux sous forme de conjugués de glycosylation ou d'estérification, mais parfois ils peuvent également être trouvés sous forme d'aglycones [10]. Les flavones (vitexine, isovitexine, isovitexine-6'-O- $\alpha$ -L-glucoside et lutéoline) et les flavonols (quercétine, myricétine et kaempférol) ont été révélés être les flavonoïdes les plus abondants détectés dans le mung bean [11,12]. Les flavonoïdes représentent une grande famille de composés phénoliques présents dans les fruits et légumes dans toutes les parties des plantes. Ils sont connus pour avoir des propriétés antioxydantes [13,14]. Cette famille phytochimique est également connue pour posséder plusieurs propriétés biologiques, notamment anti-hypertensive [15], anti-VIH et anti-plasmodiale [16], anticancéreux [17] et antifongiques [18].

La présente étude fait partie de notre programme de recherche sur les substances phytochimiques bénéfiques pour la santé. Elle a pour but de déterminer les teneurs en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes, en anthocyanes et en caroténoïdes totaux de divers extraits de *Vigna radiata*. Les teneurs en antioxydants ont également été mesurées par la méthode au radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et comparée avec celles du soja noir (*Glycine max*) et du voandzou (*Vigna subterranea*) connus pour leurs effets bénéfiques pour la santé. Enfin, les flavonoïdes majoritaires dans les extraits de *Vigna radiata* ont été identifiés en utilisant la chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en mode tandem (LC-MS/MS).

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Matériel végétal

Les graines de *Vigna radiata* ont été fournies par le laboratoire de Génétique et Biotechnologies Végétales de l'Institut de l'Environnement et de Recherche Agricole (INERA) de Kamboinsin (Ouagadougou ; Burkina Faso). Celles de *Glycine max* et de *Vigna subterranea* ont été reproduites dans le jardin expérimental du Laboratoire de Chimie Organique et de Physiques Appliquées (LCOPA) de l'Université de Ouagadougou.

### 2.2. Extraction

Les composés phénoliques totaux du mung bean, du soja noir et du voandzou ont été extraits en utilisant de l'acétone/eau/acide acétique (70 : 29,5 : 0,5 ; v/v/v). Les extraits totaux d'anthocyanes ont été obtenus par utilisation du mélange méthanol-acide chlorhydrique (99 : 1 ; v/v). Quant aux caroténoïdes, le système acétone/hexane (50 : 50 ; v/v) a été utilisé. En effet, 1 g du broyat des graines de chaque variété ont été extraits par macération pendant 24 heures à 4 °C avec 3 mL de chaque solvant. Les extraits sont filtrés et les résidus ont été extraits de nouveau deux fois avec 2 mL de solvant pendant 24 heures. Les filtrats sont rassemblés et conservés au réfrigérateur à 4 °C pour la détermination des teneurs en composés phénoliques, en caroténoïdes totaux et en antioxydants totaux [19].

**2.3. Détermination des teneurs en composés phénoliques totaux (CPT) :** les teneurs en composés phénoliques totaux des extraits ont été mis en évidence par la méthode de Folin-Ciocalteu [20]. Elle a consisté à faire réagir 60  $\mu$ L de l'échantillon étudié avec 60  $\mu$ L du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois). Après 8 min, 120  $\mu$ L de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 7,5 % (p/v) y sont ajoutés. Après 30 min d'incubation,

l'absorbance est lue à 765 nm. Les blancs sont préparés pour chaque variété en remplaçant le réactif de Folin-Ciocalteu par de l'eau distillée. Une courbe-étalon est établie en utilisant l'acide gallique comme standard (**Tableau I**) et les résultats sont exprimés en mg d'équivalents d'acide gallique (EAG)/g de matériel sec.

**2.4. Détermination des teneurs en flavonoïdes totaux (TFT) :** les teneurs en flavonoïdes totaux ont été évaluées à l'aide de la méthode au trichlorure d'aluminium <sup>[21,22]</sup>. En bref, 20 µL de quercétine standard de concentration variant entre 0,001 et 0,5 mg/mL ou d'extrait a été mélangé avec 10 µL de NaNO<sub>2</sub> (5 %) dans des microplaques 96 puits et laissé réagir pendant 5 min à température ambiante. Puis 10 µL d'une solution d'AlCl<sub>3</sub> (10 %) est ajoutée. Après 6 min de réaction à température ambiante, 40 µL de NaOH (1 M) sont ajoutés au milieu. Le mélange est dilué avec 130 µL d'eau bidistillée et homogénéisé. L'absorbance est lue immédiatement à 510 nm en utilisant un spectrophotomètre de type SAFAS. La teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait est obtenue en rapportant les absorbances lues sur la courbe-étalon établie à partir de la quercétine (**Tableau I**).

**2.5. Détermination des teneurs en anthocyanes totales (TAT) :** les teneurs en anthocyanes totales des extraits ont été estimées par la méthode de pH-différentiel <sup>[23]</sup> utilisant deux systèmes tampon : la solution de chlorure de potassium, pH<sub>1,0</sub> (0,025 M) et la solution d'acétate de sodium, pH<sub>4,5</sub> (0,025 M). 0,5 mL de l'extrait sont mélangés à 3,5 mL des tampons correspondants et l'absorbance a été lue par rapport au blanc à 510 nm et à 700 nm, 15 minutes plus tard en utilisant un spectrophotomètre mono cuve de type SAFAS.

L'absorbance A est obtenue par la relation :

$$A = (A_{510} - A_{700}) \text{pH}_{1,0} - (A_{510} - A_{700}) \text{pH}_{4,5}$$

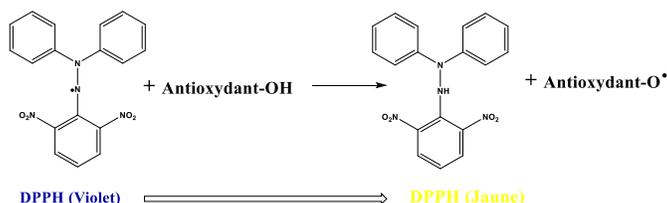
et la teneur en anthocyanes est obtenue par la formule suivante :

$$\text{TAT (mg/ L)} = \frac{A \cdot \text{PM} \cdot \text{FD} \cdot 1000}{\varepsilon \cdot \ell}$$

PM : masse molaire de la cyanidin-3-O-glucoside ; FD : facteur de dilution et  $\varepsilon$  le coefficient d'extinction molaire. PM = 449,2 g/mol et  $\varepsilon = 26900$  <sup>[24]</sup>. Elle est exprimée en milligrammes de cyanidin-3- glucoside par gramme de graine sèche.

**2.6. Détermination des teneurs en caroténoïdes totaux (TCT) :** les teneurs en caroténoïdes totaux des extraits ont été évaluées suivant la méthode décrite par McMurry et ses collègues <sup>[25-27]</sup> mais légèrement modifiée. Après une dilution convenable, les absorbances des extraits gardés à la température ambiante et à l'abri de la lumière, sont lues à 450 nm. Les teneurs en caroténoïdes totaux sont obtenues en rapportant les absorbances des extraits sur une courbe-étalon établie en utilisant le  $\beta$ -carotène comme standard (**Tableau 1**). Les teneurs en caroténoïdes son exprimées en Equivalents de  $\beta$ -carotène par gramme de matériel végétal sec.

**2.7. Détermination des teneurs en antioxydants totaux :** la méthode utilisée est celle de la mesure directe décrite par Stéphanie et al <sup>[28]</sup>. Le radical commercial de DPPH est dissout dans du méthanol à une concentration de  $4 \cdot 10^{-2}$  mg/mL et gardé à 4°C à l'abri de la lumière. À chaque échantillon d'extrait (50 µL) sont ajoutés 200 µL de solution de DPPH. Les antioxydants possédant la propriété de céder un électron singulet au radical DPPH, engendre une décoloration de la solution de DPPH qui prend une couleur allant du rose foncé au jaune pâle en fonction de la teneur en antioxydants (**Figure 1**). L'absorbance est lue après 10 min à 517 nm <sup>[28]</sup>. Les résultats sont exprimés en mg d'Equivalents de Trolox par gramme de matériel végétal (**Tableau 1**).



**Figure 1 :** réaction de la réduction de DPPH avec les antioxydants

**Tableau I** : établissement des courbes-étalons

Courbes-étalons	Standards	Equations	Coefficients de corrélation
CPT	Acide gallique	$y = 17,814x + 0,0485$	$R^2 = 0,9997$
FT	Quercétine	$y = 0,767x + 0,0862$	$R^2 = 0,9963$
CT	$\beta$ -carotène	$y = 11,618x - 0,0075$	$R^2 = 0,9994$
DPPH	Trolox	$y = -16,096x + 0,5709$	$R^2 = 0,9995$

**2.8. Identification des flavonoïdes par CLHP-MS/MS (LC-MS/MS) :** des expériences CLHP couplée à la spectrométrie de masse en tandem équipé d'une source d'ionisation par electrospray en mode positif (ESI) ont été réalisées 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  $\mu$ m. L'éluion 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'éluion 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<sub>2</sub> 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 quadropole version B.06.00 Buld 6.0.6025.0.

**2.9. Analyses statistiques :** toutes les expériences ont été réalisées en triple et les données sont représentées sous forme de moyenne  $\pm$  écart type. L'analyse de variance (ANOVA) a été réalisée à l'aide du logiciel statistique IBM SPSS Statistics version 25.0. La relation entre les différents dosages d'antioxydants a été décrite comme le coefficient de corrélation produit-moment de Pearson (r). Les différences étaient considérées comme statistiquement significatives si  $P < 0,05$ . Différences significatives ( $P < 0,05$ ) des moyennes ont été calculées à l'aide de la méthode de comparaison multiple post hoc, LSD.

### 3. Résultats et discussion

Trois (3) extraits différents ont été obtenus à partir des graines de *Vigna radiata*, *Vigna subterranea* et de *Glycine max*, avec différents solvants, afin de disposer de tous les métabolites secondaires étudiés.

Les teneurs en composés phénoliques totaux des trois variétés sont présentées dans le **Tableau II**. L'analyse statistique de ces teneurs a montré des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les extraits. En effet, *glycine max* (soja noir) contient plus de composés phénoliques (5,584 $\pm$ 0,037 mg d'EAG/g) que *Vigna radiata* (haricot mungo) et *Vigna subterranea* qui en contiennent respectivement 5,479 $\pm$ 0,026 mg d'EAG/g et 5,397 $\pm$ 0,224 mg d'EAG/g.

En ce qui concerne les flavonoïdes, les teneurs sont de 4,482 $\pm$ 0,456 mg d'EQ/g pour *Vigna radiata*, 4,558 $\pm$ 0,156 mg d'EQ/g pour *Glycine max* et 4,282 $\pm$ 0,093 mg d'EQ/g pour *Vigna subterranea* (**Tableau II**). Aucune différence significative n'a été observée. Toutes les variétés étudiées ont approximativement les mêmes teneurs en flavonoïdes totaux.

Les anthocyanes des extraits mesurés présentent statistiquement des différences significatives ( $P < 0,05$ ). *Glycine max* est la variété la plus riche en anthocyanes avec une teneur moyenne de 1,205 $\pm$ 0,027 mg/g suivi de *Vigna radiata* (0,848 $\pm$ 0,063 mg/g) et de *Vigna subterranea* qui a la teneur la plus faible (0,535 $\pm$ 0,025 mg/g).

Les résultats obtenus montrent que la teneur en flavonoïdes totaux de *Vigna radiata* est comparable à celles de *Vigna subterranea* et *Glycine max*. Cependant, on observe une variation de 36 % des anthocyanes de *Glycine max* par rapport à celles de *Vigna radiata*. Les anthocyanes étant une des classes de flavonoïdes, la teneur comparable en flavonoïdes est probablement due à d'autres types de flavonoïdes dans les extraits de *Vigna radiata*. Des études précédentes ont montré que les graines de *Vigna radiata* contiennent des

flavonoïdes comme la vitexine et l'isovitexine <sup>[11]</sup>. Il faut également noter que le contenu en composés phénoliques totaux de *Vigna radiata* est à 10 % moins élevé que celui de *Glycine max* et 8 % plus riche que celui de *Vigna subterranea*.

Les teneurs en caroténoïdes totaux exprimées en mg d'équivalent de  $\beta$ -carotène par gramme de graines sèches (mg EBC/g) montrent également des différences significatives entre les trois variétés étudiées. C'est *Vigna radiata* qui présente la meilleure teneur (0,228±0,013 mg d'EBC/g) soit 6 fois supérieure à celle de *Glycine max* (0,038±0,008 mg d'EBC/g) et 15 fois plus élevée que celle de *Vigna subterranea* (0,015±0,002 mg d'EBC/g). Harina et Ramirez ont montré que les caroténoïdes du *Vigna radiata* sont présents sous forme de  $\beta$ -carotène et de xanthophylle <sup>[29]</sup>. Ces métabolites secondaires sont connus comme des antioxydants piègeurs de radicaux libres.

La détermination des teneurs en antioxydants basée sur le radical DPPH • est l'une des méthodes spectrophotométriques les plus populaires pour déterminer la capacité antioxydante des aliments, des boissons et des extraits végétaux <sup>[24]</sup>. Dans le test DPPH, le radical DPPH• stable en solution méthanolique est réduit en diphényl-picrylhydrazine (solution de couleur jaune) en présence d'antioxydants en raison de la formation du [DPPH + H] par transfert d'atomes d'hydrogène au radical libre (DPPH •).

Les résultats des teneurs en antioxydants sont consignés dans le **Tableau II**. Il ressort des résultats que les extraits des différentes variétés présentent des teneurs en antioxydants similaires. L'estimation des teneurs en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes, en anthocyanes et en caroténoïdes totaux est importante car souvent utilisée pour la détermination de l'activité antioxydante d'une matière végétale. Plusieurs études ont montré d'excellentes corrélations linéaires entre le « contenu phénolique total » et l'activité antioxydante <sup>[30,31]</sup>. Cette activité antioxydante serait également liée à la présence des flavonoïdes et des anthocyanes. Ces observations pourraient justifier les bonnes corrélations obtenues entre le dosage de piégeage des radicaux DPPH et les composés phénoliques (**Tableau III**). Les propriétés antioxydantes des composés phénoliques sont liées à leurs cycles aromatiques portant un ou plusieurs groupes hydroxyles et sont donc potentiellement capables d'éteindre les radicaux libres en formant des radicaux phénoxydes stabilisés par résonance. Il est aussi bien connu que les caroténoïdes ont de bonnes propriétés antioxydantes <sup>[32]</sup>. En effet, ces molécules sont caractérisées par une forte conjugaison de polyènes qui se prêtent à des réactions d'oxydation et de photooxydation <sup>[32]</sup>. Ils sont alors convertis en radicaux stabilisés selon des réactions de transfert d'électrons ou d'atome d'hydrogène ou des réactions d'addition électrophile.

**Tableau II** : teneurs en composés phénoliques, flavonoïdes, anthocyanes, caroténoïdes et teneurs en antioxydants

Variétés	CPT (mg /g)	FT (mg/g)	TAT (mg/g)	TCT (mg/g)	TAO (mg/g)
<i>vigna radiata</i>	5,479±0,026 <sup>b</sup>	4,482±0,456 <sup>a</sup>	0,848±0,063 <sup>b</sup>	0,228±0,013 <sup>c</sup>	2,059±0,043 <sup>a</sup>
<i>vigna subterranea</i>	5,397±0,224 <sup>a</sup>	4,282±0,093 <sup>a</sup>	0,535±0,025 <sup>a</sup>	0,015±0,002 <sup>a</sup>	2,033±0,005 <sup>a</sup>
<i>glycine max</i>	5,584±0,037 <sup>c</sup>	4,558±0,156 <sup>a</sup>	1,205±0,027 <sup>c</sup>	0,038±0,08 <sup>b</sup>	2,085±0,035 <sup>a</sup>

**Tableau III** : corrélation entre les dosages

	CPT	FT	TAT	TCT
DPPH	0,652*	0,896**	0,596*	0,41*
CPT	-	0,459*	0,927**	0,408

\*\* La corrélation est significative au niveau 0,01 (bilatéral).

\* La corrélation est significative au niveau 0,05 (bilatéral).

Les résultats obtenus suggèrent que les graines de *Vigna radiata* peuvent être utilisées comme ingrédient fonctionnel avec une forte activité antioxydante car elles contiennent des composés phénoliques en particulier les flavonoïdes qui jouent un rôle protecteur contre les maladies cardiovasculaires, cancer, diabète type B etc....

#### Identification des flavonoïdes majoritaires du *Vigna radiata* par LC-MS/MS

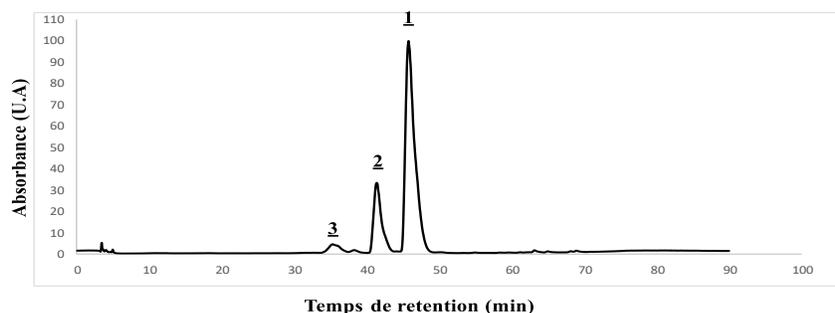
La CLHP de l'extrait brute de *Vigna radiata* a donné trois signaux significatifs (**1** ; t<sub>R</sub>= 45,76 min, **2** ; t<sub>R</sub>= 41,78 min, **3** ; t<sub>R</sub>= 35,98 min) susceptible de correspondre à des flavonoïdes (**Figure 2**).

Tout d'abord, les trois temps de rétention observés correspondent à des molécules protonées  $[M+H]^+$ , détectées respectivement à  $m/z$  433, 433, 449. Fait intéressant, nous sommes alors confrontés à deux compositions d'ions différents qui correspondraient respectivement à des masses calculées des formules brutes  $C_{21}H_{21}O_{10}$  et  $C_{21}H_{21}O_{11}$ . Ces formules pouvant correspondre à celles de flavonoïdes de type flavones monoglycosylés (mono-*O*-glycosylés ou mono-*C*-glycosylés). Une étude précédente a révélé que les flavonoïdes les plus abondants dans *Vigna radiata* sont monoglycosylés et possèdent l'aglycone de l'apigénine ou de lutéoline<sup>[11]</sup>.

Une analyse par LC-MS/MS a été effectuée afin d'identifier les natures de l'aglycone et du sucre lié. Il faut également rappeler que des pertes neutres d'ions caractéristiques du sucre sont observées en MS/MS. En effet, dans le cas de flavonoïdes mono-*O*-glycosylés, il y aura respectivement une perte de 162 u pour un hexose, 146 u pour un déoxyhexose, 132 u pour un pentose et 176 u pour un motif d'acide glucuronique<sup>[33-35]</sup>. Dans le cas de flavonoïdes mono-*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 déoxyhexose 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<sup>[33-35]</sup>.

Lors de l'activation par collision ESI<sup>+</sup>, l'ion moléculaire  $m/z$  433 subit une perte de 120 u  $[M+H-C_4H_8O_4]^+$ , révélant la présence d'un résidu hexose attaché (en position *C*-glycoside) au groupement aglycone (**Figure 3 et 4**). Comme le montre le **Tableau IV**, les composés **1** et **2** sont des isomères. Les données LC-MS/MS des ions  $[M+H]^+$  de ces isomères sont similaires et montrent des pertes caractéristiques de 120 u. Seulement, le spectre MS/MS du composé **2** indique moins de fragments que le composé **1**. Les ions apparus à  $m/z$  313 et 283 correspondent au clivage cyclique du glycosyl par une perte de 30 u ( $CH_2O$ )<sup>[36]</sup>. Les ions fragments  $m/z$  415, 397 et 379 correspondants à des pertes respectives d'un, deux et trois molécules de  $H_2O$  sont des voies de fragmentation caractéristiques de la vitexine (apigénine 8-*C*-glycosylé) ou de l'isovitexine (apigénine 6-*C*-glycosylé)<sup>[36]</sup>. L'ion  $m/z$  271  $[M+H-162]^+$  produit du spectre du composé **1** correspond à la perte d'une molécule de glucose. Ces résultats montrent que ces isomères correspondraient bien à la vitexine et l'isovitexine.

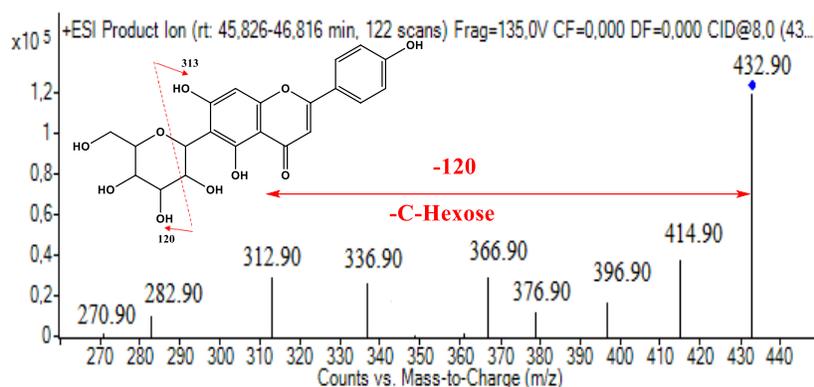
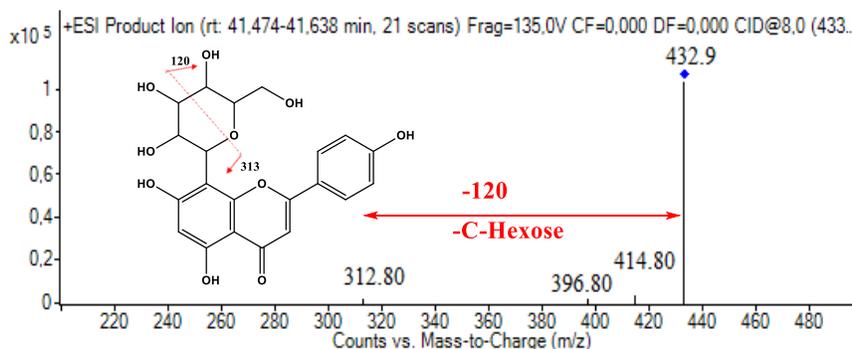
Selon la littérature, la position du sucre *C*-glycosylé peut être déterminée en observant l'intensité de l'ion correspondant à la première perte d'eau. Si en ESI positif, l'ion  $[M+H-H_2O]^+$  est le pic fragment le plus abondant du spectre MS/MS, alors le sucre est lié au carbone 8 de la génine, sinon il est en position *C*-6<sup>[37]</sup>. Cette hypothèse n'est pas en accord avec notre cas car les spectres des deux isomères ici présentent tous l'ion  $m/z$  415 le plus abondant. De plus, on ne peut pas se baser sur l'abondance relative des ions puisque selon le type d'analyseur avec lequel les expériences de fragmentation sont menées, les abondances relatives de l'ensemble des ions ne seront pas toujours équivalentes. Ainsi, l'une des hypothèses la plus probable est celle liée à la polarité des molécules. La vitexine étant plus polaire que l'isovitexine, il sera détecté avant l'isovitexine en CLHP de phase mobile polaire. En outre, des études ont montré que l'isovitexine est présente en quantité plus élevée que la vitexine dans les graines de *Vigna radiata*<sup>[9;38]</sup>. Ce qui correspond bien au chromatogramme obtenu (**Figure 2**). Compte tenu de tous ces résultats ainsi que les données rapportées de la littérature<sup>[36]</sup>, nous identifions le composé **1** comme l'apigénine 6-*C*-glycosylé (isovitexine) et le composé **2** l'apigénine 8-*C*-glycosylé (vitexine).



**Figure 2** : chromatogramme CLHP de l'extrait brut de *vigna radiata*

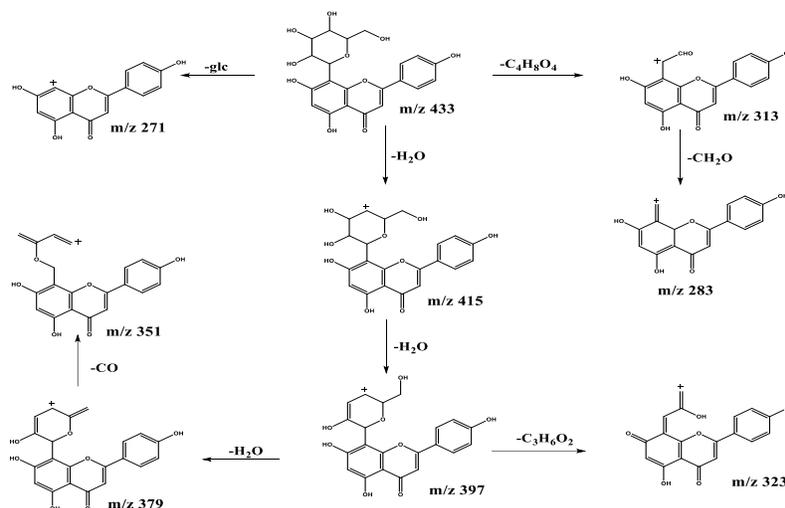
**Tableau IV** : données CLHP et ESI<sup>+</sup>-MS/MS de l'extrait brut des graines de *vigna radiata*

Composés	Temps de rétention (min)	Ions parents [M+H] <sup>+</sup>	ESI <sup>+</sup> -MS/MS (m/z)
<u>1</u> (C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>10</sub> )	45,76	433	<b>433</b> [M+H] <sup>+</sup> ; <b>415</b> [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> ; <b>397</b> [M+H-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> ; <b>379</b> [M+H-3H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> ; <b>313</b> [M+H-C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> ; <b>283</b> [M+H-C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub> -CH <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> ; <b>271</b> [M+H-glc] <sup>+</sup>
<u>2</u> (C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>10</sub> )	41,78	433	<b>433</b> [M+H] <sup>+</sup> ; <b>415</b> [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> ; <b>313</b> [M+H-C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>
<u>3</u> (C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub> )	35,98	449	<b>449</b> [M+H] <sup>+</sup> ; <b>431</b> [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> ; <b>413</b> [M+H-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> ; <b>395</b> [M+H-3H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> ; <b>329</b> [M+H-C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> ; <b>299</b> [M+H-C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub> -CH <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>

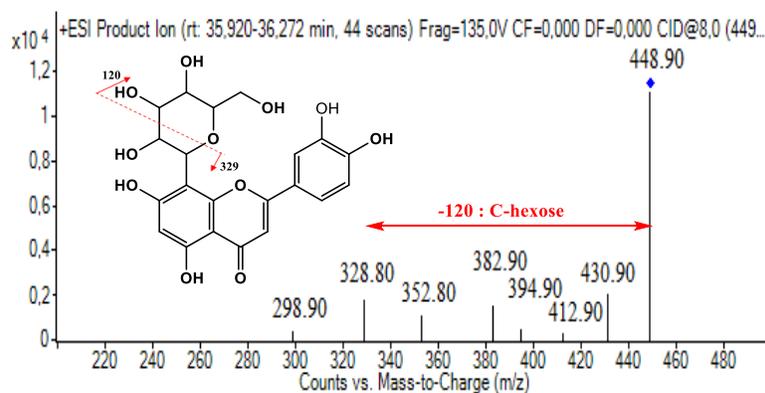
**Figure 3** : spectre de masse de dissociation induite par collision (CID) du m/z 443 (tr=45,76)**Figure 4** : spectre de masse de dissociation induite par collision (CID) du m/z 443 (tr=41,78)

Les spectres CID du composé **3** est présenté sur la **Figure 6**. Sur CID, le m/z 449 subit principalement les pertes neutres de 120 u et 150 u conduisant aux ions fragments à m/z 329 [M+H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup> et 299 [M+H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>-CH<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> respectivement. Comme déjà rappelé, ces pertes sont compatibles avec les ions caractéristiques d'un C-glycoside indiquant la présence d'un hexose (dans ce cas, un glucose) lié à un carbone de la génine. Ces ions correspondent également au clivage cyclique du glycosyl par une perte de 30 u comme le cas de la vitexine. L'ion m/z 329 correspondant à l'ion [Aglycone + 42]<sup>+</sup> permet de calculer la masse de la génine qui donne 287 u, soit une lutéoline <sup>[40]</sup>. Les ions fragments à m/z 431, 413, 395 correspondent respectivement à des pertes d'un, de deux et de trois molécules de H<sub>2</sub>O. Le composé **3** pourrait être la lutéoline 8-C-glycosylé (orientine) ou la lutéoline 6-C-glycosylé (isorientine). La différence est relevée en observant la présence du pic m/z 431 correspondant à la première perte de H<sub>2</sub>O et l'intensité des pics m/z 329 et 299. En effet, une étude récente a montré qu'en mode d'ionisation positif,

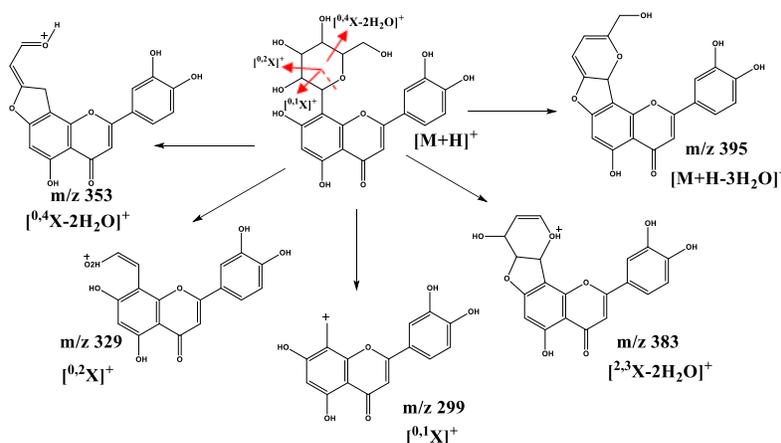
l'ion  $m/z$  431 correspondant à la première perte de  $H_2O$  est présent pour l'isomère en C-8. Pour l'isomère en C-6, l'ion  $m/z$  329 est plus intense que l'ion  $m/z$  299 et inversement pour C-8 [40]. Ainsi, le composé **3** est identifié comme étant la lutéoline 8-C-glycoside (Orientine).



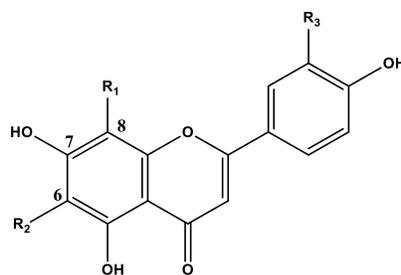
**Figure 5** : les voies de clivage de la vitexine en mode positif [39]



**Figure 6** : spectre de masse de dissociation induite par collision (CID) du  $m/z$  449 ( $t_r=35,98$ )



**Figure 7** : schéma de fragmentation de l'orientine en mode d'ionisation positif [39]



- Composé **1** : R<sub>1</sub> = Glc ; R<sub>2</sub> = H et R<sub>3</sub> = H  
 Composé **2** : R<sub>1</sub> = H ; R<sub>2</sub> = Glc et R<sub>3</sub> = H  
 Composé **3** : R<sub>1</sub> = Glc ; R<sub>2</sub> = H et R<sub>3</sub> = OH

**Figure 8** : structure des composés **1**, **2** et **3** identifiées des graines de *Vigna radiata*

#### 4. Conclusion

Les graines de *Vigna radiata* sont non seulement perçues comme une source protéino-énergétique mais aussi comme une source de substances phytochimiques possédant des effets bénéfiques sur la santé des consommateurs. Sa teneur en antioxydants est comparable à celle de *Vigna subterranea* et de *Glycine max*. L'analyse LC-MS/MS des extraits brutes de *Vigna radiata* a conduit à l'identification de trois flavonoïdes dont la vitexine, l'isovitexine et l'orientine. Ces composés C-glycosylés sont moins répandus et font l'objet d'un intérêt de recherche croissant en raison de leur potentiel biologique élevé.

#### 5. Références

- [1] Balwinder S, Jatinder PS, Amritpal K, Narpinder S. Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds : A Review. *Food Research International*, (2017) 101, 1-16
- [2] Magalhães SC, Taveira M, Cabrita AR, Fonseca AJ, Valentão P, Andrade PB. European marketable grain legume seeds : Further insight into phenolic compounds profiles. *Food Chemistry*, (2017) 215, 177-184.
- [3] Aguilera Y, Estrella I, Benitez V, Esteban RM, Martín-Cabrejas, MA. Bioactive phenolic compounds and functional properties of dehydrated bean flours. *Food Research International*, (2011) 44, 774-780.
- [4] Vol I, Clifton P. Grains de céréales et de légumineuses dans la prévention de la maladie coronarienne et d'AVC : Une revue de la littérature. *European Journal of Clinical Nutrition*, (2006) 60, 1145-1159.
- [5] Sabaté J, Soret S. Sustainability of plant-based diets : Back to the future. *The American Journal of Clinical Nutrition*, (2014) 100(Suppl. 1), 476S-482S.
- [6] Amarowicz R, Shahidi F. Antioxidant activity of broad bean seed extract and its phenolic composition. *Journal of Functional Foods*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2017.04.002> (In Press).
- [7] Gan RY, Deng ZQ, Yan AX, Shah NP, Lui WY, Chan CL, Corke H. Pigmented edible bean coats as natural sources of polyphenols with antioxidant and antibacterial effects. *LWT- Food Science and Technology*, (2016) 73, 168-177.
- [8] Mubarak AE. Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes. *Food Chem*. (2005) 89, 489-495.
- [9] Luo J, Cai W, Wua T, Xu B. 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* (2016) 201, 350-360
- [10] Nayak B, Liu RH, Tang J. Effect of processing on phenolic antioxidants of fruits, vegetables, and grains-A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, (2015) 55, 887-918.
- [11] Cao D, Li H, Yi J, Zhang J, Che H., Cao J, Yang L, Zhu C, Jiang W. Antioxidant properties of the mung bean flavonoids on alleviating heat stress. (2011) *PLoS ONE*, 6, e21071.
- [12] Peng X, Zheng Z, Cheng KW, Shan F, Ren GX, Chen F, Wang M. Inhibitory effect of mung bean extract and its constituents vitexin and isovitexin on the formation of advanced glycation endproducts. *Food Chem*. (2008) 106, 475-481.
- [13] Jeong JM, Choi CH, Kang SK, Lee IH, Lee JY. Antioxidant and chemosensitizing effects of flavonoids with hydroxy and/or methoxy groups and structure-activity relationship. *J Pharm Pharm Sci*, (2007) 10, 537-546.
- [14] Hidalgo M, Sánchez-Moreno C, Pascual-Teresa S. Flavonoid-flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. *Food Chem*, (2010) 121, 691-696.
- [15] Duarte J, Pérez PR, Vargas F, Ocete MA, Pérez VF. Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats. *Br J Pharmacol*, (2001) 133, 117-124.
- [16] Casano G, Dumètre A, Pannecouque C, Hutter S, Azas N. Anti-HIV and antiplasmodial activity of original flavonoid derivatives. *Bioorg Med Chem*, (2010) 18, 6012-6023.
- [17] Liu HL, Jiang WB, Xie MX. Flavonoids : recent advances as anticancer drugs. *Recent Pat AntiCancer Drug Discov*, (2010) 5, 152-164.

- [18] 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.
- [19] Asami KD, Yun-Jeong H, Diane MB, Alyson EM. Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. *J. Agric. Food Chem.*, (2003) 51, 1237-1241.
- [20] Nihal TY, Sedat V, Ferda S, Gokce, P. Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules*, (2007) 12, 484-496.
- [21] Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.*, (1999) 64, 555.
- [22] Kim D, Chun O, Kim Y, Moon, H, Lee C. (2003). Quantification of phenolics and their antioxidant capacity in fresh plum. *J. Agric. Food Chem.* vol. (2003) 51.
- [23] Adama Héma. Etude de molécules bioactives isolées de plantes du Burkina Faso. Thèse de doctorat unique. Université de Ouagadougou 170 pages.
- [24] Abel M, Adama, H., Eloi, P., Michel, N., Yaya, M., & Nouhoussine, N. Etude comparative des teneurs en polyphénols et en antioxydants totaux d'extraits de graines de 44 variétés de voandzou (*Vigna subterranea (L) verdcout*). *Int J Biol Chem Sci*, (2013) 7, 861-871.
- [25] Jun Y, Lingling F, Jian X, Yedan X. Ultrasound-assisted extraction of corn carotenoids in ethanol. *Food Science and Technology*, (2011) 46, 2131-2136.
- [26] Mc Murray J. (2008). *Organic Chemistry*, 7th edn. California : Brooks/ Cole. P504 chapter 14.
- [27] Moumouni K., Adama H, Koussao S, Eloi P, Abdoulaye, S, Jerome B, Mouhoussine N. (2013). Evaluation of Eight Orange Fleshed Sweetpotato (OFSP) Varieties for Their Total Antioxidant, Total Carotenoid and Polyphenolic Contents. *Journal of Natural Sciences Research* (2013) 4, 67-72.
- [28] Stephanie D, Xavier V, Philippe C, Marion W, Jean-Michel, M. (2009). Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant
- [29] Harina TH, Ramirez DA. (1978). The amount and distribution of carotenoids in the mung bean seed (*Vigna radiata*). *J. philippine crop sci.* (1978) 3, 65-70
- [30] Bouzid W, Yahia M, Abdeddaim M, Aberkane MC, Ayachi A. (2010). Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubepine monogyne. *Lebanese Science Journal*, (2010) 12, 59-69.
- [31] Merouane A, Noui A, Medjahed H, Nedjar BK, Saadi A. (2014). Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, (2014) 8, 1865-1870.
- [32] Moumouni K, Adama H, Eloi P, Rosella S, François D, Chrétien F, Abdoulaye S, Mouhoussine N, Yves C, Dominique LM. Farine de la Patate Douce à Chair Orange : caractérisation des caroténoïdes et conservation *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* (2014) 038, 42-49
- [33] Cuyckens F, Claeys M. Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids, *Journal of mass spectrometry*, (2004) 39, 1-15
- [34] Ferreres F, Gil-Izquierdo A, Andrade PB, Valentão P, Tomás-Barberán FA. (2007). Characterization of C-glycosyl flavones O-glycosylated by liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, (2007) 1161, 214-223
- [35] Figueirinha A, Paranhos A, Pérez-Alonso JJ, Santos-Buelga C, Batista MT. *Cymbopogon citratus* leaves : characterization of flavonoids by HPLC-PDA-ESI/MS/MS and an approach to their potential as source of bioactive polyphenols, *Food chemistry*, (2008) 110, 718-728
- [36] Abad-García B, Garmón-Lobato S, Berrueta LA, Gallo B, Vicente F. New features on the fragmentation and differentiation of C-glycosidic flavone isomers by positive electrospray ionization and triple quadrupole mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, (2008) 22, 1834-1842
- [37] Waridel P, Wolfender JL, Ndjoko K, Hobby KR, Major HJ, Hostettmann K. (2001). Evaluation of quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry and ion-trap multiple-stage mass spectrometry for the differentiation of C-glycosidic flavonoid isomers, *Journal of chromatography A*, (2001) 926, 29-41.
- [38] Bai Y, Zhang Q, Wang B, Zhang M, Xu Y, Li S, Zhao Y, Yu Z. Plasma pharmacokinetics, bioavailability, and tissue distribution of four c-glycosyl flavones from mung bean (*Vigna radiata* L.) seed extracts in rat by ultrahigh-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, (2017) 65, 5570–5580.
- [39] Laëtitia F. Signature moléculaire de milieux complexes : Stratégie de couplage à la spectrométrie de masse et interprétation des données. (2019). Université d'Orléans.
- [40] Wen R, Hongyuan C, Yuzhi T, Yanmei Z, and Yifan F. (2010). Rapid Analysis of the Main Components of the Total Glycosides of *Ranunculus japonicus* by UPLC/Q-TOF-MS, *Natural Product Communications Vol. 5* (5).

## Amélioration de la qualité du « tchoukoutou » et utilisation de deux techniques d'évaluation du degré alcoolique : densimétrie et réfractométrie.

Awèdeéou Bakpo\*, Agbékonyi Koukou Agbodan, Kwami Lumo Awaga, Koffi Jondo

Laboratoire de Génie des Procédés et Ressources Naturelles(LAGEPREN), Département de chimie, Université de Lomé, OIBP 1515 Lomé 01, Lomé Togo.

\*Auteur correspondant ; E-mail: [bakpocharlote@gmail.com](mailto:bakpocharlote@gmail.com)

### Résumé

Les Tchoukoutou sont des bières de sorgho préparées à partir de sorgho cependant, les brasseurs sont confrontés aux problèmes de conservation et de stabilisation. Général de cette étude vise l'amélioration de la qualité et la stabilité des « Tchoukoutou ». Des feuilles de *O. gratissimum* et *vernonia amygdalina* ont été utilisées pour améliorer la qualité de la bière. Trois procédés de brassage ont été utilisés : méthode traditionnelle ; méthode traditionnelle améliorée et industrielle avec adjonction des feuilles de *O. gratissimum* et *Vernonia amygdalina* suivie d'une fermentation anaérobie pendant 7 jours. Les caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques ont été évaluées. La fermentation anaérobie et l'ajout des feuilles de *O.gratissimum* et *V.amygdalina* ont permis la conservation et la stabilité de « Tchoukoutou » au moins pendant 10 jours à la température ambiante. Une légère amertume a été constatée à cause *V. amygdalina* avec un arôme de *O. gratissimum*. Les bières obtenues présentent les caractéristiques physico-chimiques suivantes : procédé traditionnelle améliorée: taux d'alcool 8,87%.vol et pH 4,37; procédé industrielle : et taux d'alcool 3,08%.vol et pH 3,78. La fermentation anaérobie du moût et l'ajout des feuilles de *O.gratissimum* et *V.amygdalina* contribuent à l'amélioration de la qualité de conservation et la stabilité du Tchoukoutou et les méthodes de densimétrie et de réfractométrie sont des techniques de contrôle simples et faciles à utiliser pour évaluer le taux d'alcool des « Tchoukoutou ».

**Mots clé** : Tchoukoutou, fermentation, *O.gratissimum*, *V.amygdalina*, taux d'alcool

## Improvement of the quality of "tchoukoutou" and use of two techniques to evaluate the alcoholic degree: densimetry and refractometry

### Abstract

Tchoukoutou are sorghum beers prepared from sorghum. However, brewers are faced with problems of conservation and stabilization. The general objective of this study is to improve the quality and stability of Tchoukoutou. Leaves of *O. gratissimum* and *V. amygdalina* were used to improve the quality of the beer. Two chemical methods of evaluation of the alcoholic degree were used to find the physico-chemical characteristics. Three brewing processes were used: traditional method; improved traditional method and industrial method with the addition of *O. gratissimum* and *Vernonia amygdalina* leaves followed by anaerobic fermentation for 7 days. Organoleptic and physicochemical characteristics were evaluated. The anaerobic fermentation and the addition of *O.gratissimum* and *V.amygdalina* leaves allowed the preservation and stability of "Tchoukoutou" for at least 10 days at room temperature. A slight bitterness was observed due to *V. amygdalina* with an aroma of *O. gratissimum*. The beers obtained have the following physico-chemical characteristics: improved traditional process: alcohol content 8,87%.vol and pH 4,37; industrial process: alcohol content 3.08%.vol and pH 3,78. The anaerobic fermentation of the must and the addition of *O.gratissimum* and *V.amygdalina* leaves contribute to the improvement of the conservation quality and the stability of the Tchoukoutou and the densimetry and refractometry methods are simple and easy to use control techniques to evaluate the alcohol content of the " Tchoukoutou ".

Key words : Tchoukoutou, fermentation, *O.gratissimum*, *V.amygdalina*, alcohol content.

### 1. Introduction

Les« Tchoukoutou » sont des bières opaques pour la plupart préparées avec du sorgho rouge ou brun, mais d'autres céréales telles que le mil ou le maïs peuvent être utilisées comme adjuvant ou comme substitut [1] et les plus consommées en Afrique. Les noms de cette boisson diffèrent d'une région à une autre. Au Togo, on note l'existence de différentes typologies de cette bière, en fonction de différents groupes ethniques du nord. Ainsi, on distingue : le « Kablè-Missine », produit par les Kabyè ; le « Losso-Missine », produit par les Nawdemba et le « Tchakpa-Missine » ou « Tchakpalo », produit par les Moba [2]. Le processus de fabrication souffre d'un manque crucial d'instrument de mesures de précision et de bonnes pratiques d'hygiène [3]. Dans la technologie de production de Tchoukoutou, on note la double fermentation : une fermentation lactique qui confère un goût aigre et une fermentation alcoolique initiée par ajout au moût sucré d'une partie de l'infusion précédente ou de levure séchée récoltée à partir de la boisson précédente renferment d'autres microorganismes sans qu'on ne connaisse la nature du ferment [4;5;6] qui détériore la qualité de la bière. Les brasseuses sont confrontées à des difficultés de production

et de conservation. Le produit résultant est instable et ses caractéristiques organoleptiques continuent de changer, et en 72 h, il devient trop acide pour être consommé [6]. Ce qui limite la consommation de cette bière traditionnelle à moins d'un jour de sa production. Il est alors important d'améliorer la technologie de production et de conservation de Tchoukoutou afin de préserver ses qualités nutritionnelles et marchandes et réduire les risques d'intoxications alimentaires. Les composés chimiques antimicrobiens avaient été largement utilisés comme conservateurs alimentaires, cependant, leur utilisation augmente le risque de résidus toxiques dans les produits [7]. Certains chercheurs de la sous-région ouest africaine ont utilisé les antioxydants naturels qui ont des effets bénéfiques sur la santé pour conserver cette bière. La présente étude a pour but de contribuer à l'amélioration de la conservation et de la stabilisation de Tchoukoutou par ajout des feuilles d'*Ocimum gratissimum* et *Vernonia amygdalina*. Il s'agira plus spécifiquement de produire la bière selon la technologie traditionnelle afin de relever les problèmes d'instabilité ; optimiser la technologie de production par addition des feuilles de l'*Ocimum gratissimum* et *vernonia amygdalina* pour obtenir un produit stable et comparer deux techniques d'évaluation du degré alcoolique : la densimétrie et la réfractométrie enfin de trouver la méthode la plus pratique et facile à utiliser par les brasseuses.

## **2. Matériels et méthodes**

### **2.1. Matériel végétal**

Les variétés de sorghos utilisées sont sélectionnées et cultivées dans la région des savanes : sorgho blanc (Sorvato 1) ; sorgho rouge (Kadag) ; mélange (Sorvato 28 et Jerry). Elles ont été collectées à l'Institut Togolais de Recherche Agronomique (ITRA-Togo). Les feuilles d'*Ocimum gratissimum* (Esro en ewe) et *Vernonia amygdalina* (Aloma en ewe) ont été achetées au marché d'Agoè Assi yéyé, lavées et séchées au laboratoire.

### **2.2. Procédés de préparation de bières**

#### **2.2.1. Procédé traditionnel de préparation de Tchoukoutou**

Deux variétés de sorgho ont été utilisées : sorgho rouge (Kadag) et sorgho blanc (Sorvato 1) pour la préparation suivant les étapes de procédé traditionnel des brasseurs au Togo dont les grandes étapes sont : maltage, brassage et fermentation.

Les grains de sorgho sont trempés dans de l'eau pendant 18 heures. Puis lavés et égouttés suivent de 72h. Et sécher pendant 12 h pour le Kablè-missine au laboratoire et 48h au soleil pour le Tchakpalo. Le malt obtenu est ensuite moulu en farine pour empâter. Le dépôt est précuit pendant 2 h. Après filtration, la partie prélevée est ajoutée au filtrat alors commence la fermentation lactique spontanée. Après 12 h à 15 h de fermentation lactique, le moût aigre obtenu est porté à ébullition pendant 2 h 30min pour concentrer et stériliser le moût. Et ensuite refroidi jusqu'à 30°C, puis ensemencé avec la levure de bière (*S.cerevisia*), la bière locale Tchoukoutou est obtenue après 12 h de fermentation alcoolique.

#### **2.2.2. Procédé optimisation et de stabilisation**

##### **- Procédé du laboratoire**

Le sorgho est malté dans les mêmes conditions que précédemment. Empâtage a été fait en paliers de température à des intervalles de temps : 50-55°C pendant 30 h ; 55-65°C pendant 30 min ; 65- 70 -80°C pendant 1 h. Ensuite le moût est filtré et porté à ébullition pendant 1 h30 -2 h du temps. Les feuilles sèches d'*O.gratissimum* et de *V. amygdalina* sont ajoutées au moût au cours de l'ébullition à la place de houblon. Le moût est refroidi après cuisson et ensemencé avec *S. cerevisiae* en anaérobie pendant 7 jours.

##### **- Procédé traditionnel amélioré**

Le sorgho est malté et empâter par procédé traditionnel. Les feuilles sèches d'*O. gratissimum* et de *V. amygdalina* sont ajoutés au moût au cours de l'ébullition. Le moût obtenu après cuisson est ensemencé avec *S. cerevisiae* en anaérobie pendant 7 jours. Après la fermentation, la bière obtenue est prélevée pour tester les caractéristiques organoleptiques et physico- chimiques.

### **2.3. Caractéristiques organoleptiques**

Les caractéristiques organoleptiques déterminées sont: le goût, l'arôme et la couleur des échantillons. Cette évaluation a été faite grâce à un panel de sept (7) dégustateurs composés de consommateurs et non consommateurs de Tchoukoutou

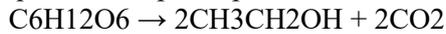
## 2.4. Caractéristiques physico-chimique des bières

### 2.4.1. Détermination du degré alcoolique des bières

Le degré alcool les bières a été déterminé par la méthode densimétrique[8] et réfractométrie

#### - Densimétrie

En mesurant la densité du moût avant et après fermentation, il a été possible d'estimer la teneur en alcool d'une boisson fermentée et alcoolisée. Le moût obtenu à partir du sorgho contient des sucres et les sucres fermentescibles se transforment en alcool et en gaz carbonique (CO<sub>2</sub>). En faisant une approximation que le sucre participant à la réaction soit du glucose, l'équation bilan est la suivante :



A partir de l'équation-bilan de formation de l'alcool, le calcul du rapport de la masse de l'alcool produit, sur celle de la masse du dioxyde de carbone est:

$$\frac{\text{Masse de l'alcool}}{\text{Masse du dioxyde de carbone}} = \frac{\text{Masse molaire moléculaire de l'alcool}}{\text{Masse molaire du dioxyde de carbone}}$$

Ce rapport est une constante égale à 1, 04678  $\approx$  1, 05. Le calcul de l'atténuation se fait à partir des densités initiale et finale. [Densité initiale] – [densité finale] = Atténuation ( $\Delta D$ )

$$[\text{Masse d'alcool}] = [\text{Masse molaire de dioxyde de carbone}] \times 1, 05$$

En considérant la masse du moût fermenté pour 100%, et connaissant la masse de l'alcool, il est possible d'estimer le pourcentage en masse de l'alcool dans la bière avec la formule suivante:

$$[\text{Pourcentage en masse d'alcool}] = \times 100$$

$$[\text{Pourcentage en volume}] = \frac{\text{pourcentage en masse}}{\text{Densité d'alcool}} \cdot [8]$$

Le logiciel BIRRAPPS version2.0 pilsener permet de corriger la densité du moût en fonction de la température.

#### - Réfractométrie

Le taux des matières solubles totales en degré Brix (°Brix) a été mesuré par un réfractomètre portable de marque ATC gradué de 0 à 32° Brix de précision 0,01. L'appareil a été étalonné en utilisant l'eau distillée à 20 °C. Après la mesure du degré Brix, le taux de sucre et la densité spécifique correspondant sont trouvés en utilisant la table de conversion (Table de correspondance\* des différentes échelles de mesure de la concentration en sucres des moûts de LAFFORT) et le taux d'alcool est calculé par le logiciel Brewing calculator (d'écart-type 1,04)

### 2.4.2. Mesure du pH

Le pH des boissons a été mesuré par un pH-mètre électronique de type MP522 de précision  $\pm$  0,002 pH, préalablement étalonné.

### 2.5. Traitement des données

Les valeurs de taux d'alcool par réfractométrie ont été calculées par le logiciel brewing calculator version : 2.2.5 d'écart type 1,04. La réalisation des courbes et des graphiques a été réalisé avec le logiciel Origine.8.

## 3 Résultats et discussion

### 3.1. Procède traditionnel

#### 3.1.1. Densité obtenue par le densimètre

La densité avant la fermentation DI= 1075 pour le moût de sorgho blanc (Sorvato 1) et 1076 pour le sorgho rouge (Kadag). Les densités obtenues après la fermentation sont consignées dans les Tableaux I et II. Ces résultats montrent que la densité diminue au cours de la fermentation et se stabilise à partir du quatrième jour pour la bière de Kadag et à partir du cinquième pour la bière de Sorvato 1.

Tableau I: Densité de la bière de Sorvato1.

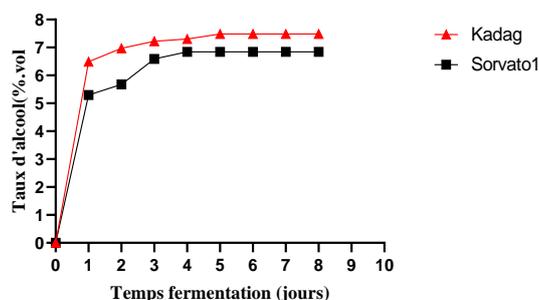
Temps de fermentation	1	2	3	4	5	6	7	8
Densité	1032	1032	1027	1024	1022	1022	1022	1022

Tableau II: Densité de la bière de Kadag

Temps de fermentation	1	2	3	4	5	6	7	8
Densité	1026	1022	1021	1020	1019	1019	1019	1019

### 3.1.2. Taux d'alcool par densimétrie

Le taux d'alcool de la bière du sorgho rouge (Kadag) est de 7,48%.vol et 6,84%.vol pour le sorgho blanc (Solvato1). C'est résultats montrent que la bière de Kadag est plus alcoolisée. La Figure 1 illustre l'évolution du degré alcoolique des bières au cours de la fermentation. On constate que la bière de Kadag s'est vite stabilisée par rapport à celle de Solvato 1



**Figure 1:** Variation du degré alcoolique de bières de Solvato1 et de Kadag en fonction de la durée de fermentation.

## 3.2. Procédés d'optimisation et de stabilisation de la bière du sorgho

### 3.2.1. Caractéristiques organoleptiques des bières

Après une semaine de fermentation anaérobie, les caractéristiques organoleptiques à savoir le goût, l'arôme, l'aspect et autres ont été évalués par un panel de dégustation et les résultats sont consignés dans les Tableaux III et IV.

#### Procédé du laboratoire

*Tableau III: Caractéristiques organoleptiques des bières obtenues par procédé du laboratoire.*

Type de sorgho	Quantité de sorgho(g)	Type de séchage	Quantité de <i>O.gratissimum</i> (g)	Quantité de <i>V. amygdalina</i> (g)	Taux d'alcool % .vol	pH	Caractéristiques organoleptiques
Kadag	500	Torréfié	5	5	-		La bière était très lourde : mauvaise
		Soleil	5	1	3,07	3,78	arôme et gout aigre pas bon
S28	500	Soleil	5	1	3.10	3,50	Pas bon
Jerry		Soleil	5	1	2.44	3,10	arôme et goût peu bon
S28 & Jerry	500	Soleil	3	1	4,10	3,29	Peu aigre
S <sub>1</sub>	500	Soleil	3	2	5,51	3,75	Bon

- Procédé traditionnel amélioré

*Tableau IV: Caractéristiques organoleptiques des bières obtenues par la méthode traditionnelle améliorée.*

Type de sorgho	Quantité de sorgho (g)	Type de séchage	Quantité d' <i>O.gratissimum</i> (g)	Quantité de <i>V. amygdalina</i> (g)	Taux d'alcool % .vol	pH	Caractéristiques organoleptiques
----------------	------------------------	-----------------	--------------------------------------	--------------------------------------	----------------------	----	----------------------------------

Kadag	500	Ombre 12h	5	5	6.59	3,60	Bon ; gout un peu amer
	500	Soleil 48h	5	1	4.86	3,14	Bon
Jerry	500	Ombre	5	1	6.46	3,35	Assez bon
	500	Soleil 48h	5	1	5.10	3,10	Assez bon
S28 & Jerry	500	Soleil	5	1	4.58	3,23	Bon
S1	500	Ombre	3	2	8,87	4,37	Aigre et arôme peu bon
		Soleil	3	2	6,39	3,93	Bon et arôme peu bon

L'évaluation des caractéristiques organoleptiques des bières montre que la couleur de la bière dépend du type de sorgho utilisé et les bières ont l'arôme de *O. gratissimum* avec une amertume de *V. amygdalina* semblable au houblon. Les bières obtenues par la méthode industrielle sont plus acides et moins alcoolisées avec un arôme désagréable. Le sorgho Sorvato1 produit plus d'alcool mais les bières de Kadag étaient plus appréciées. Les bières obtenues avec 5 g de *V. amygdalina* présentaient une grande amertume et la quantité a été réduite à 1 g pour avoir une amertume légère.

### 3.2.1. Comparaison de la densimétrie et de la réfractométrie

Les Figures 2, 3 et 4 mettent en comparaison les deux méthodes utilisées pour la détermination du taux d'alcool dans les bières préparées à base de sorgho. En effet, les deux méthodes utilisées devraient donner un même résultat. Les valeurs du degré alcoolique calculées par la méthode densimétrique sont peu différentes de celles calculées par la méthode réfractométrique. Les résultats des Figures 2 et 3 montrent que la bière de Sorvato 1 est plus alcoolisée

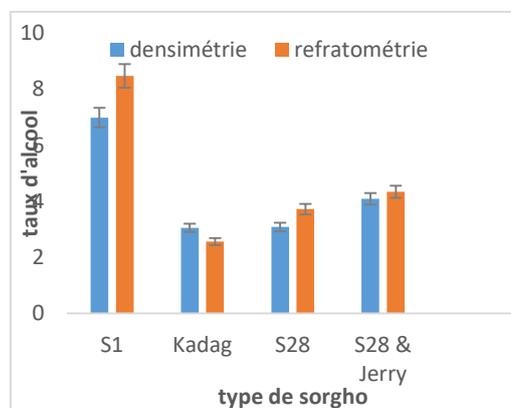


Figure 2: Degré alcoolique des bières obtenues par la méthode du laboratoire

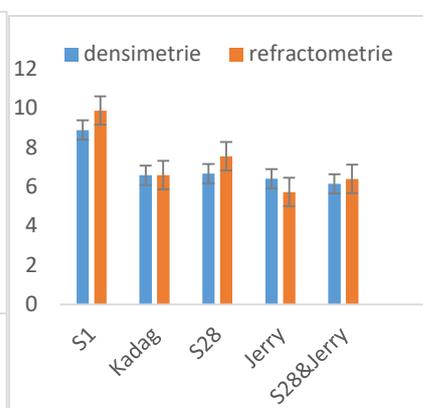


Figure 3: Degré alcoolique de Kablè-missine amélioré

### 3.2.2. Evaluation du taux d'alcool selon les procédés de préparation de la bière

La Figure 4 montre que la bière de sorvato1 obtenue par la méthode traditionnelle améliorée (Kablè-missine amélioré) est plus alcoolisée.

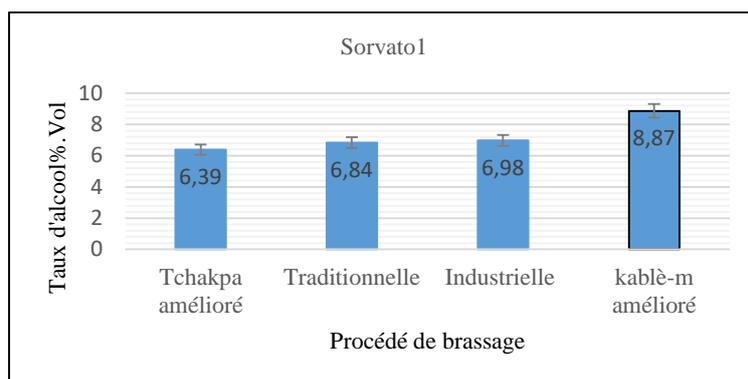


Figure 4: Evaluation du degré alcoolique des bières en fonction des méthodes de préparation

La réfractométrie et la densimétrie sont des méthodes physiques qui sont faciles à utiliser. Les valeurs du degré alcoolique calculées par la méthode densimétrique sont peu différentes de celles calculées par la méthode de réfractométrie. Etant donné que le réfractomètre ne prend en compte que le sucre contenu dans la solution, la réfractométrie serait la méthode la plus précise que celle de la densimétrie qui prend en compte toutes les matières dissoutes dans solution. Mais le densimètre est simple et plus facile à utiliser. Les brasseuses de la bière locale pourraient l'utiliser pour avoir une bière de qualité stable. Le degré alcoolique de ces bières est proche des pourcentages alcooliques des bières industrielles vendues sur le marché togolais et ceux des Tchoukoutou de Lomé analysés par [9]. Le sorgho Sorvato1 produit plus d'alcool quel que soit la méthode de brassage. Sorvato 1 aurait contenu plus de sucres fermentescibles que d'autres sorghos. Cependant, la bière de Kadag et S 28 & Jerry sont plus appréciée. Le mélange de ces deux types pourrait avoir un effet bénéfique sur la qualité de la bière.

### 3.3. Etude de la stabilité des bières obtenues

Bières obtenues par adjonction des feuilles de *O. gratissimum* et de *V. amygdalina* suivie de la fermentation anaérobie montrent que les caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques sont restées constants après 7 jours de fermentation. De plus le pH varie peu au cours de la fermentation alcoolique. Les bières obtenues ont gardé leur qualité organoleptique pendant au moins 10 jours au début. D'autres bières (Kablè-missine amélioré de Sorvato 28 et du mélange de Sorvato 28 & Jerry) ont gardé leurs qualités organoleptiques jusqu'à quatre mois et plus clarifié avec un arôme plus agréable. Cependant, les bières traditionnelles présentaient des moisissures et un goût très acide à partir du 4<sup>e</sup> jour de fermentation et cette détérioration continuait au fil du temps. Les feuilles de *O. gratissimum* et de *V. amygdalina* ont libéré certaines substances qui inhibent les agents responsables de la dégradation de la qualité de la bière de sorgho mais n'ont pas un effet sur les levures. L'activité de l'huile essentielle de *O. gratissimum* a été prouvée par [10] au Kenya et [11] au Brésil sur les bactéries à gram négatif et positif. L'effet des feuilles de *V. amygdalina* dans la bière rwandais a été rapporté par [12]. De plus, la fermentation anaérobie ne permet pas aux autres microorganismes de participer à la fermentation alcoolique. Ces résultats sont semblables à ceux [12, 3 et 13].

### 4. Conclusion

Cette étude est une contribution à l'amélioration de la qualité de Tchoukoutou. Les méthodes de densimétrie et de réfractométrie sont des techniques de contrôle simples et faciles à utiliser pour évaluer le taux d'alcool des « Tchoukoutou ». Les productrices de la boisson locale peuvent se former sur l'utilisation de l'une de ces méthodes afin d'améliorer la qualité dégustatrice de leur bière. Les études se poursuivent l'analyse microbiologique sera effectuée et plantes antioxydantes seront étudiées pour stabiliser la bière locale Tchoukoutou.

### 5. Bibliographie

[1] A. P. Polycarpe Kayode, A. Adegbidi, J. D. Hounhouigan, A. R. Linnemann, et M. J. Robert Nout, « Quality of Farmers' Varieties of Sorghum and Derived Foods as Perceived by Consumers in Benin », *Ecology of Food and Nutrition*, vol. 44, n° 4, p. 271-294, juill. 2005, doi: 10.1080/03670240500187302.

- [2] C. Coffi Aholou, « Construction identitaire et urbaine autour du cabaret à Lomé (Togo) », *Hommes & migrations. Revue française de référence sur les dynamiques migratoires*, n° 1283, Art. n° 1283, janv. 2010, doi: 10.4000/hommesmigrations.985.
- [3] E. Dahouenon-Ahoussi, R. G. Degnon, E. S. Adjou, et D. C. K. Sohounhloue, « Stabilisation de la bière produite à partir de matières amylacées locales (Sorghum bicolor et Musa acuminata) par adjonction de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* », p. 13, 2012.
- [4] F. K. N'Guessan, D. Y. N'Dri, F. Camara, et M. K. Djè, « *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida tropicalis* as starter cultures for the alcoholic fermentation of tchapalo, a traditional sorghum beer », *World J Microbiol Biotechnol*, vol. 26, n° 4, p. 693-699, avr. 2010, doi: 10.1007/s11274-009-0224-y.
- [5] S. Aka, N. Djéni, K. N'guessan, K. Yao, et K. Dje, « Variabilité des propriétés physico-chimiques et dénombrement de la flore fermentaire du tchapalo, une bière traditionnelle de sorgho en Côte d'Ivoire », *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, vol. 4, n° 2, 2008, doi: 10.4314/afsci.v4i2.61688.
- [6] C. T. R. Konfo, N. W. Chabi, E. Dahouenon-Ahoussi, M. Cakpo-Chichi, M. M. Soumanou, et D. C. K. Sohounhloue, « Improvement of african traditional sorghum beers quality and potential applications of plants extracts for their stabilization: A review », *JMBFS*, vol. 05, n° 02, p. 190-196, nov. 2015, doi: 10.15414/jmbfs.2015.5.2.190-196.
- [7] B. Yehouenou, V. Wotto, H. Bankole, P. Sessou, J.-P. Noudogbessi, et D. Sohounhloue, « Chemical study and antimicrobial activities of volatile extracts from fresh leaves of *crascephalum rubens* (juss & jack) S. moore against food-borne pathogens », p. 11, 2010.
- [8] K. Tcha-sosso, A. K. Agbékonyi, T. G. Whad, A. K. M. Léonard, et B. Pakoupati, « Valorisation de la bière locale à base de sorgho par l'utilisation d'une méthode chimique simple de contrôle de la qualité (la densimétrie) », vol. 29, n° 3, p. 11, 2020.
- [9] K. M. Novidzro, M. Melila, B. V. S. Houndji, K. Koudouvo, K. Dotse, et K. H. Koumaglo, « Étude de quelques caractéristiques physico-chimiques de « Tchoukoutou », un type de bières locales produit au Togo et évaluation de la performance de quatre méthodes de détermination du degré alcoolique », *Int. J. Bio. Chem. Sci*, vol. 12, n° 6, p. 2871, févr. 2019, doi: 10.4314/ijbcs.v12i6.31.
- [10] L. G. Matasyoh, J. C. Matasyoh, F. N. Wachira, M. G. Kinyua, T. Muigai, et T. K. Mukiana, « Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. growing in Eastern Kenya », *Afr. J. Biotechnol.*, p. 6, 2007.
- [11] F. B. Holetz, T. Ueda-Nakamura, B. P. D. Filho, A. G. Cortez, J. A. Morgado-Díaz, et C. V. Nakamura, « Effect of Essential Oil of *Ocimum gratissimum* on the Trypanosomatid *Herpetomonas samuelpeesoai* », p. 8, 2003.
- [12] F. L. Lyumugabe, « Caractérisation et amélioration de la qualité de la bière traditionnelle Rwandaise “Ikigage” fabriquée à base de sorgho », 2013.
- [13] C. T. R. Konfo, N. W. Chabi, J. Agbadjizo, E. Dahouenon-Ahoussi, M. M. Soumanou, et D. C. K. Sohounhloue, « Influence de la feuille de *Hemizygia bracteosa* (Benth) sur la qualité de la bière du sorgho “tchakpalo” produite au Bénin », vol. 7, n° 2, p. 11, 2014.

## Effet de la poudre et des extraits acétonique et éthanolique de *Ritchiea reflexa* sur *Amitermes evuncifer*

Kodjo Adande<sup>1\*</sup>, Boris Dodji Kassene<sup>2</sup>, Oudjaniyobi Simalou<sup>1</sup>, Eyabana Mollong<sup>2</sup>, Kafui Kpegba<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Chimie Organique et des Substances Naturelles (Lab COSNat),  
Faculté des Sciences, Université de Lomé, 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé, Togo.

<sup>2</sup> Laboratoire d'Entomologie Appliquée, Département de Zoologie, Faculté des Sciences, Université de Lomé, 01 BP 1515  
Lomé 01, Lomé, Togo

### Résumé

Les termites sont des insectes xylophages qui causent des dégâts aux cultures et aux structures en bois. Leur lutte longtemps basée sur l'utilisation des insecticides chimiques (toxiques pour l'environnement), se focalise actuellement sur les bio pesticides (non toxique pour l'environnement). Dans le but de rechercher un bio-insecticide efficace contre les termites, la poudre et les extraits acétonique et éthanolique de *Ritchiea reflexa* ont été testés sur *Amitermes evuncifer* (un termite ravageur). Cinq différentes concentrations de chaque formulation ont été comparées avec deux témoins (négatif et positif). 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 suivi quotidiennement jusqu'à la mort du dernier individu. L'étude phytochimique faite sur les deux extraits a montré la présence de tanins, de terpénoïdes (dans les deux extraits) et de stéroïdes uniquement présent dans l'extrait éthanolique. Ces composés possèdent des propriétés insecticides. Toutes les doses des poudres et extraits ont réduit la durée de survie et l'espérance de vie des termites par rapport aux témoins, même si l'extrait éthanolique a été plus efficace. En effet, en  $1,83 \pm 0,41$  jours, la forte concentration de l'extrait éthanolique a tué tous les termites contre  $6,67 \pm 1,63$  et  $8,67 \pm 0,57$  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:** *Ritchiea reflexa*, biopesticides,, activité anti-termite, *Amitermes evuncifer*

### Abstract

Termites, because of their feeding habit (essentially on lignocellulose material) cause damage to crops and wooden structures. During several decades, their control was mainly based on the use of synthetic chemicals with serious environment concern. Actually, these chemicals tend to be replaced by environment friendly chemicals known as bio-pesticide. This study aimed to evaluate the effect of the powder and the extracts (with acetone and ethanol) of *Ritchiea reflexa*, on the survival duration and life expectancy of *Amitermes evuncifer* (a pestiferous termite). Five different concentrations of each tested formulation were compared to two controls (negative and positive). For each tested concentrations, six replicates were done with 20 and 30 workers, respectively for extracts and powders inside Petri dishes. Termites were checked daily until the death of the last individual. The phytochemical analysis carried out on both extracts showed the presence of tannins, terpenoids (in both extracts) and steroids (only in the ethanolic extract). These compounds have insecticidal properties. All the tested formulations at any concentration affected significantly the survival duration and life expectancy of termites. However the ethanolic extract appeared to be the most effective. Indeed, in  $1.83 \pm 0.41$  days, the higher concentration of the ethanolic extract killed all the termites while  $6.67 \pm 1.63$  and  $8.67 \pm 0.57$  days (respectively for the same concentration of the acetonetic extract and powder) were reached before the death of the last termite. These formulations of *Ritchiea reflexa* could be regarded as potential bio-insecticide against *Amitermes evuncifer*.

**Keywords :** *Ritchiea reflexa*, 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. Kassaney 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 (*Ritchiea reflexa*) 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 *R. reflexa* n'ont pas été rapportés précédemment et constituent l'objectif de cet travail. Ainsi, dans cette étude, nous avons évalué l'activité antitermite de trois formulations comprenant deux extraits et une poudre de *R. reflexa* contre *A. evuncifer* afin de trouver les bonnes formulations pour la gestion des termites nuisibles.

## 2. Matériel et méthodes

### Matériel végétal

La plante aromatique de la flore togolaise, *Ritchiea reflexa* (Capparaceae) a été utilisée pour cette étude. Les feuilles de *R. reflexa* ont été collectées dans la localité de Zanguera (6°16'21.59292 "N ; 1°6'49.15152 "E). Cette plante a été identifiée par le Laboratoire Botanique de l'Université de Lomé (Togo) et un numéro de lot a été attribué, TOGO 15508. Les feuilles ont été séchées et broyées et le matériel broyé a été conservé dans un endroit frais.

### Préparation d'extraits de *R. reflexa*

Les feuilles récoltées de *R. reflexa* 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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 éthanologique) et des poudres de *R. reflexa* en suivant la méthodologie proposée par [11].

Trois formulations, poudres, extraits acétonique et éthanologique 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/cm<sup>2</sup>.

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 éthanologique) 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 éthanologique de *R. reflexa*. Seul l'extrait éthanologique a révélé la présence des stéroïdes (tableau1).

*Ritchiea reflexa*

Groupes chimiques	Extrait acétonique	Extraits éthanologique
Tannins	+	+
Terpenoïdes	+	+

Stéroïdes	-	+
-----------	---	---

+ : présence ; - : absence.

L'étude phyto-chimique ainsi faite a révélé la présence de tanins et de terpénoïdes dans les deux extraits acétonique et éthanolique, et les stéroïdes ont été uniquement présents dans l'extrait 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, de tanins et de stéroïdes 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 *R. reflexa* 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 *Ritchiea reflexa*.

	Durée de survie (jours)		
	Poudre	Extrait acétonique	Extrait éthanolique
<b>Témoin négatif</b>	34±2,45a	28,67±2,88a	28,67±2,88a
<b>Témoin positif</b>		24,5±2,26a	26±2,19a
<b>0,5 mg/cm<sup>2</sup></b>	20,5±3,39b	16±2,1b	12,83±5,34b
<b>1mg/cm<sup>2</sup></b>	19,83±2,48b	15,17±4,67b	11,83±4,36b
<b>2mg/cm<sup>2</sup></b>	17,33±1,86b	8,33±2,66c	4,83±2,4c
<b>4mg/cm<sup>2</sup></b>	11,50±2,17c	7,17±2,4c	4,17±1,72c
<b>6mg/cm<sup>2</sup></b>	8,67±0,52c	6,67±1,63c	1,83±0,41c
	F <sub>(5,35)</sub> =8,690; p<0,001 Bonferroni post hoc test	F <sub>(6, 35)</sub> = 228,294, p<0,001 Bonferroni post hoc test	F <sub>(6, 35)</sub> = 232,844, p<0,001 Bonferroni post hoc test

L'analyse de variance à 2 facteurs a montré une différence entre les traitements de *R. reflexa* ( $F_{(2,120)}=71,209$ ,  $p<0,001$ ) et aussi entre les concentrations ( $F_{(6,120)}=191,516$ ,  $p<0,001$ ). L'analyse a également montré une interaction entre les traitements et les concentrations ( $F_{(11,120)}=2,174$ ,  $p=0,002$ ). 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/cm<sup>2</sup> 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].

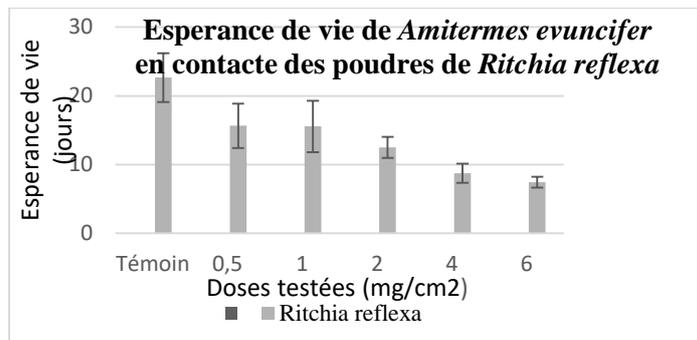
### 3.3. Effet des poudres et des extraits de *R. reflexa* sur l'espérance de vie de *A. evuncifer*

#### Effet des poudres de *R. reflexa* sur l'espérance de vie de *A. evuncifer*

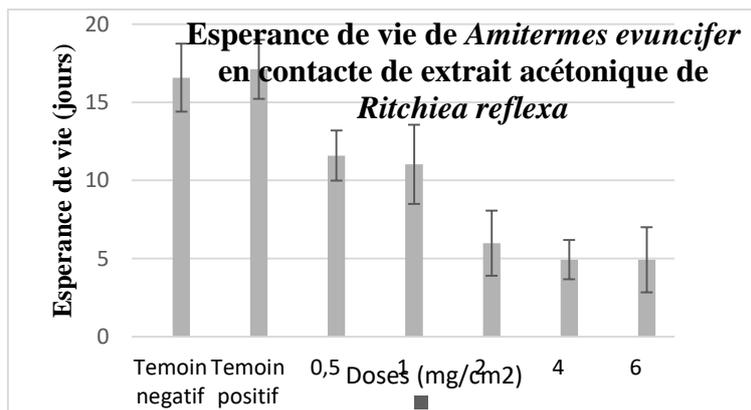
La formulation poudre de cette plante a significativement affecté l'espérance de vie des termites ( $F_{(5, 30)}=26,232$ ,  $p<0,001$ ). Pour *R. reflexa*, toutes les concentrations ont significativement ( $p<0,001$ ) réduit l'espérance de vie des termites par rapport aux témoins (22,66±3,55 jours). De plus la réduction de l'espérance de vie n'a pas été concentration dépendante pour cette formulation (poudre) car aucune différence significative ( $0,162 \leq p \leq 1$ ) n'a été trouvée entre les valeurs de l'espérance de vie calculée pour les différentes concentrations testées (Figure 1).

**Effet de l'extrait acétonique de *R. reflexa* sur l'espérance de vie de *A. evuncifer***

L'extrait acetonique a également entraîné une réduction significative de l'espérance de vie des termites ( $F(6,35)=41,708$   $p<0,001$ ) par rapport aux deux témoins négatif et positif ( $16,58\pm 2,17$  et  $17,11\pm 1,89$  jours respectivement). Pour cet extrait les plus faibles réductions de l'espérance de vie ont été enregistrées dans les concentrations 0,5 et 1 mg/cm<sup>2</sup> ( $11,59\pm 0,7$  et  $11,02\pm 0,61$  jours respectivement). Aucune différence n'a été trouvée entre les espérances de vie enregistrées dans les concentrations supérieures ( $5,98\pm 2,08$  ;  $4,93\pm 1,26$  et  $4,92\pm 2,09$  jours respectivement pour les concentrations 2, 4, et 6 mg/cm<sup>2</sup>) (Figure 2).



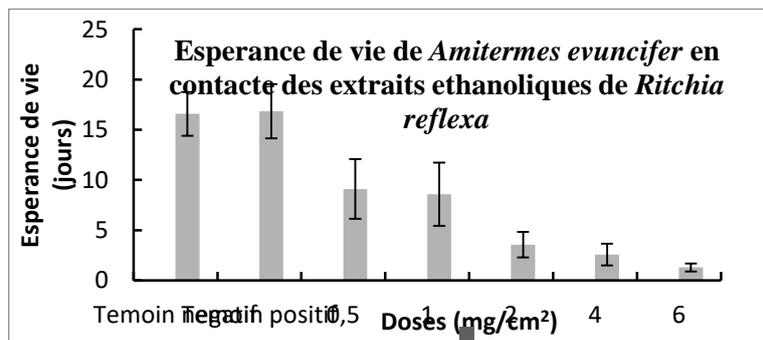
**Figure 1 :** Esperance de vie des termites en contact des poudres de *Ritchiea reflexa*



**Figure 2 :** Esperance de vie des termites en contact de l'extrait acétonique de *Ritchiea reflexa*

**Effet de l'extrait éthanolique de *R. reflexa* sur l'espérance de vie de *A. evuncifer***

L'extrait éthanolique des deux plantes 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/cm<sup>2</sup> ont été les moins efficaces ( $9,1\pm 2,96$  et  $8,58\pm 3,14$  jours respectivement) (Figure 3). Les concentrations 2, 4 et 6 mg/cm<sup>2</sup> de l'extrait éthanolique de cette plante ont été très efficaces dans la réduction de l'espérance de vie des termites (respectivement  $3,55\pm 1,27$ ,  $2,57\pm 1,09$  et  $1,29\pm 0,4$  jours).



**Figure 3 :** Esperance de vie des termites en contact de l'extrait éthanolique de *Ritchiea reflexa*

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 éthanolique a présenté un effet insecticide plus efficace que l'extrait acétonique. 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 extraits par l'éthanol que l'acétone, donc plus solubles dans l'éthanol que l'acétone. Cette suggestion a été confirmée par le screening phyto-chimique de l'extrait éthanolique qui a révélé qu'en plus de tanins et de terpénoïdes qui étaient présents dans les extraits de *R. reflexa*, se trouvaient aussi les stéroïdes qui sont par ailleurs absents dans l'extrait acétonique. En effet, les stéroïdes ont été signalées comme possédant des propriétés insecticides contre certains insectes ravageurs des caféiers[13].

#### 4. Conclusion

L'objectif de ce travail visait à évaluer l'effet de la poudre et des extraits de *Ritchiea reflexa* 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. Mais seuls les stéroïdes étaient présents dans l'extrait éthanolique. Ces composés possèdent tous des propriétés insecticides; ce qui nous a permis d'une part de justifier l'activité insecticide dont disposent les extraits des deux plantes. 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](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] Kassene, 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](http://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 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] Obsbrink, 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 bruche du niebé (Vigna unguiculata walp). », *Improving Food systems in subsaharan Africa : responding to changing environnement*, Food africa, p. 4p, 2002.

## Effets des huiles essentielles des feuilles de *Ritchiea reflexa* sur *Amitermes evuncifer*

Denis Sènouwa Dossouvi <sup>1</sup>, Boris Dodji Kassene <sup>2</sup>, Oudjaniyobi Simalou <sup>1\*</sup>, Kodjo Elo <sup>3</sup>, Eyabana Mollong <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Chimie Organique et des Substances Naturelles (Lab COSNat),  
Faculté des Sciences, Université de Lomé, 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé, Togo.

<sup>2</sup> Laboratoire d'Entomologie Appliquée, Département de Zoologie, Faculté des Sciences, Université de Lomé, 01 BP 1515  
Lomé 01, Lomé, Togo

<sup>3</sup> Faculté des Sciences et Techniques, Université de Kara, BP 404, Togo

### Résumé:

Les huiles essentielles (HE) sont des substances aromatiques, complexes et volatiles, extraites des plantes. Elles sont utilisées dans la parfumerie, la cosmétique mais également comme pesticides biologiques (à cause de leurs propriétés insecticides et insectifuges). Elles sont de plus en plus utilisées contre les insectes ravageurs, comme alternatifs aux pesticides de synthèse toxiques pour l'environnement. Ici, il a été envisagé d'extraire, de caractériser les HE des feuilles fraîches et sèches de *Ritchiea reflexa* et en suite d'évaluer leurs effets sur *Amitermes evuncifer*, l'un des termites ravageurs. Vingt ouvriers de termites ont été mis en contact avec 4 différentes concentrations d'HE (6 répétitions par concentration) et deux témoins (négatif et positif) dans des boîtes de pétri. Les termites ont été suivi quotidiennement jusqu'à la mort du dernier individu. L'analyse CG-SM des HE a permis d'identifier trois composés dans les échantillons de *Ritchiea reflexa* avec comme composé très majoritaire le cyanométhyle de benzène (> 80% de teneur), un potentiel composé antitermite. Ces HE ont significativement réduit la durée de survie et l'espérance de vie des termites comparativement aux deux témoins qui, avec une durée de survie respective de 976h ±104,52 et 704h±116,26, n'ont présenté aucune différence significative entre eux. L'HE a été dose dépendante. Dans les concentrations les plus fortes (0.19 et 0.30 µl/cm<sup>2</sup>) tous les termites ont été tués dans l'intervalle d'une heure. Il apparait clairement que les HE des feuilles de *Ritchiea reflexa* ont affecté la durée de survie et de l'espérance de vie de *Amitermes evuncifer*.

**Mots clés:** Huile essentielle; *Ritchiea reflexa*; activité antitermite; *Amitermes evuncifer*

## Effects of essential oils of *Ritchiea reflexa* and *Ctenium elegans* on *Amitermes evuncifer*

### Abstract:

Essential oils (EOs) are complex aromatic and volatile substances extracted from different parts of plants. They are used in perfumery and cosmetics but also as biological pesticides due to their insecticidal and repellent properties. They are increasingly used against insect pests, as excellent alternatives to synthetic pesticides which are toxic to the environment. Here, it was envisaged to extract, characterized EOs from fresh and dry leaves of *Ritchiea reflexa* and then assess their effects on *Amitermes evuncifer*, a pestiferous termite. Twenty workers were put in contact with 4 different concentrations of EOs (6 replicates per concentration) and two control (negative and positive) inside petri dishes. Termites were checked daily until the death of the last individual. GC-MS analysis of oil samples revealed three compounds with Benzylcyanide (a potential antitermite compound) as predominant (>80% content). EOs have significantly reduced the survival duration and the life expectancy of termites compared to the two controls which showed no significant difference between them (respective 976h ±104.52 and 704h±116.26 of survival duration). The effect of EOs is based on concentrations. In the higher concentrations (0.19 et 0.30 µl/cm<sup>2</sup>) all the termites were killed within an hour. It is clear that EOs of *Ritchiea reflexa* affected the survival duration and life expectancy of *Amitermes evuncifer*.

**Keywords:** Essential oil; *Ritchiea reflexa*; anti-termite activity; *Amitermes evuncifer*.

### 1. Introduction

La majorité des plantes aromatiques sont distinctives par leur particularité à dégager une forte odeur caractéristique. L'une de leurs utilisations reconnues par les hommes de l'antiquité était de mettre en valeur cette forte odeur pour repousser les espèces nuisibles en vue de protéger les cultures et les biens [1]. Les dommages causés par les termites sont souvent importants et les coûts des réparations énormes. Les termites sont reconnus aussi comme ravageurs des cultures vivrières et les stocks des denrées alimentaires [1]. Pour limiter les attaques et les dégâts des insectes nuisibles, les hommes ont souvent recours à l'utilisation des pesticides de synthèse. C'est l'exemple du soufre qui fut utilisé sur les cultures dans l'ancienne Mésopotamie [2]. Egalement, les risques sont énormes par rapport à l'utilisation de ces pesticides chimiques: on parle de la pollution des eaux, des sols, de l'air et même des denrées alimentaires. Suite à ces constats amers, des études se sont penchées sur l'usage des insecticides biologiques respectueux de l'environnement. C'est l'exemple des huiles essentielles qui sont reconnues pour leurs propriétés insecticides. Les huiles essentielles sont des substances volatiles, complexes, odorantes obtenues des plantes aromatiques à partir d'une technique de distillation. Ils contiennent généralement des métabolites qui leur confèrent des propriétés biologiques: insecticides [3],

antioxydantes, anti-inflammatoires, antibactériens [4]. C'est dans cette optique que l'huile essentielle de *Ritchiea reflexa* (*R. reflexa*) une plante de la flore aromatique togolaise, a attiré notre attention. En outre les études antérieures sur l'huile essentielle de l'espèce [5] se sont limitées à la détermination de la composition chimique et ont révélé la présence en teneurs importantes de composé à activité anti termites reconnue tels que le phénylacétonitrile [6].

L'objectif général de notre étude est la gestion des insectes nuisibles par l'utilisation des substances végétales biologiquement actives notamment les huiles essentielles. Plus, spécifiquement il s'agira au cours de ce travail; d'extraire l'huile essentielle de *R. reflexa* par la technique d'entraînement à la vapeur; déterminer la composition chimique de l'huile essentielle et d'évaluer l'activité anti termites de l'huile essentielle sur *A. evuncifer*.

## 2. Matériel et méthodes

### ❖ Récolte et séchage de la biomasse

Une masse de 2,855 kg de biomasse de *R. reflexa*, a été échantillonnée respectivement dans le canton de Mission Tové à Kpala aux coordonnées suivantes: latitude Nord 6° 16'21, 59292'' et longitude Est 1°6'49, 15152''. L'espèce a été identifiée à partir de la flore togolaise et enregistrée par l'herbier du Département de botanique et écologique de l'Université de Lomé sous le numéro TOGO 15508. Une partie de la biomasse a été séchée dans les conditions de laboratoire sur la paillasse à la température ambiante (25 °C) et à l'abri du soleil pendant 24 jours avant la distillation. La première partie étant distillée à l'état frais.

### ❖ Huiles essentielles

Les échantillons analysés étaient constitués d'HE pures distillées à frais et à sec de l'espèce aromatique récoltée (*R. reflexa*). Les HE ont été extraites des feuilles de *R. reflexa* par hydrodistillation à l'aide de la technique d'entraînement à la vapeur pour récupérer les huiles essentielles. Les huiles essentielles obtenues sont conservées en dessous de 5 °C au réfrigérateur, dans des tubes en verre recouverts de papier aluminium et bien scellés à l'abri de l'air, de la lumière et des principaux agents de dégradation.

### ❖ Analyse chimique des huiles essentielles

L'analyse chromatographique des huiles essentielles diluées dans l'hexane a été réalisée sur un chromatographe de type Agilent Technologies 6850 couplé à un détecteur sélectif de masse 5973 et un injecteur automatique 7683B Series Injector, et l'injection a été réalisée en mode splitless.

Les données obtenues ont été traitées en utilisant le logiciel ChemStation MSD. La colonne utilisée était du 5% phénylméthylpolysiloxane apolaire (30 m x 0,25 mm; épaisseur du film = 0,25 µm). La température de l'injecteur était maintenue à 250°C. La température du four a été programmée comme suit: de 50 à 230°C (5°C/min) en 36 min et maintenue en isotherme pendant 2 min. Le gaz vecteur était de l'hélium avec un débit de 1 mL/min; et 1 µL de l'échantillon a été injecté. Les réglages de la spectrométrie de masse étaient les suivantes : énergie d'ionisation, 70 eV; vitesse de balayage, 2,91 scan/s; plage de masse, 50-550; ligne de transfert, 230°C. Les composés des huiles essentielles ont été identifiés par (a) la comparaison de leurs temps de rétention relatifs et leur fragmentation de masse avec ceux des étalons authentiques au cas où ils sont disponibles et (b) la recherche informatique confrontée avec NIST98, ainsi que les indices de rétention tels que calculés selon Kovats, en utilisant des alcanes C9 à C24 par rapport à ceux rapportés par [7].

### ❖ Echantillonnage et acclimatation des termites

*Amitermes evuncifer* (Blattodea, Termitidae) a été choisie à cause des dégâts que cause cette espèce sur les cultures et autres structures contenant de la cellulose [1]. Les termites ont été prélevés dans le jardin botanique de l'Université de Lomé aux coordonnées suivantes : latitude Nord 06°30'14,9'' et longitude Est longitude 1°20'08,1''. Ils ont été acclimatés dans les conditions du laboratoire (28 ° C, humidité relative 80%) dans l'obscurité totale (12H : 12H DD), 24 heures avant le début des tests.

### ❖ Tests biologiques

Les tests biologiques ont été réalisés par contact. Quatre concentrations des huiles essentielles ont été testées: les concentrations 0,1 ; 0,15 ; 0,19 et 0,3 µl/cm<sup>2</sup>. Pour obtenir ces concentrations, un volume correspondant à chaque concentration testée de chaque huile essentielle a été initialement dissoutes dans 15 ml d'hexane. La solution obtenue a été versée sur une rondelle de papier filtre Wattman contenu dans la boîte de petri en verre (de rayon 3,5 cm). La rondelle de papier-filtre trempée a ensuite été laissée sous la hotte pendant 3 heures afin de laisser évaporer tout l'hexane et de maintenir l'huile essentielle

sur la rondelle de papier filtre. Les rondelles préparées ont été conservées au réfrigérateur (5-10°) 24 heures avant le début des tests biologiques.

Deux témoins (négatif et positif) ont été réalisés afin de vérifier d'éventuel effet du solvant sur les termites. Le témoin négatif est constitué de rondelle (sans huile essentielle plus hexane) de papier filtre placé dans la boîte de petri. Le témoin positif est constitué de rondelle de papier filtre imbibée de 15ml d'une solution d'hexane puis laissée sous hotte pour évaporation complète de l'hexane.

Pour les tests biologiques, vingt (20) ouvriers d'*A. evuncifer* ont été mis en contact avec chacune des concentrations préalablement préparées dans des boîtes de petri et placés à l'obscurité totale (12H : 12H DD) dans les conditions de laboratoire (28 °C et 90% d'humidité relative). Au total six (06) répétitions ont été faites pour chaque concentration ainsi que les témoins négatifs et positifs. Les termites ont été vérifiés à chaque heure pendant 6 heures. Après la sixième heure, la vérification a été effectuée après chaque 24 heures jusqu'à la mort du dernier termite. A chaque vérification, les termites vivants et morts sont dénombrés et les morts sont retirés des boîtes de petri.

#### ❖ **Traitement des données**

##### • **La durée de survie**

La durée de survie est le temps que les individus de termites mettent pour mourir après le contact avec les différentes concentrations testées. Elle est évaluée en heure.

$$Ds = Tx - To$$

Ds : durée de survie

Tx : temps mis par le dernier individu de termite pour mourir

To : temps initial de mise en contact des termites sur les différentes concentrations.

##### • **L'espérance de vie des termites**

Il s'agit d'une estimation du nombre d'heures qu'un individu de termite mis en contact avec l'huile essentielle est supposé atteindre avant de mourir.

#### ❖ **Analyse statistique**

La proportion de survie de même que l'espérance de vie des termites ont été calculées avec le logiciel Ecological Methodology 7.3 [8].

L'analyse de variance à deux facteurs (two way Anova) a été utilisée pour vérifier la différence entre les durées de survie et l'espérance de vie des termites mis en contact avec les huiles essentielles des feuilles fraîches et sèches de *R. reflexa* et celle de *C. elegans* avec le test de Bonfferroni. Ensuite, L'analyse de variance à un facteur (Anova one way) a été utilisée pour vérifier la différence entre les durées de survie et l'espérance de vie des termites au sein des concentrations d'une même huile essentielle. Ces analyses ont été effectuées avec le logiciel SPSS 20.

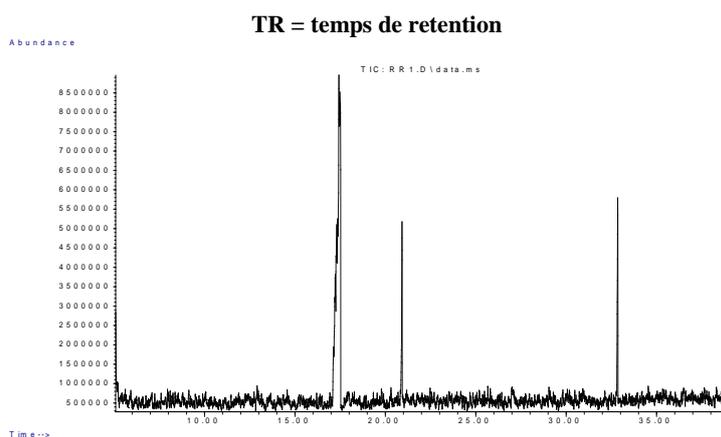
### **3. Résultats et discussion**

#### **3.1. Composition chimique des huiles essentielles**

L'extrait de l'huile essentielle de *R. reflexa* biomasse fraîche analysé par CPG-SM a montré trois pics (Figure1) d'après le chromatogramme, et ceci indique la présence de trois composés. En effet, l'échantillon d'huile essentielle de RRFK présente trois composés dont un prédominant qui est le phénylacétonitrile (82,48%). Les composés identifiés dans le cas de *R. reflexa*, seraient, d'après leurs structures, probablement dérivés de phénylpropanoïdes via la biosynthèse du shikimate [9 ; 6]. En outre, le cyanure de benzyle (phénylacétonitrile) a de nombreuses utilisations connues [10] De plus, il a été trouvé que le phénylacétonitrile est sécrété par des insectes criquets comme substance nature défensive contre les prédateurs [6] Ainsi, son utilisation comme bio-pesticide contre les insectes ravageurs ne devrait pas avoir assez de conséquences fâcheuses. Les deux autres avec presque la même teneur sont l'Isothiocyante de benzyle (8,54%) et le Phtalate de diisooctyle (8,98 %) (Tableau I). De plus, les origines similaires ont été attribuées à l'isothiocyante de benzyle [11] qui est reconnu comme anthelminthique [12]. Le phtalate de diisooctyle, quant à lui est utilisé principalement comme plastifiant mineur dans l'industrie du plastique et a une toxicité limitée [13]. En fait, la teneur en isothiocyante de benzyle a chuté tandis que celle du phtalate de diisooctyle a complètement disparu dans l'échantillon d'huile des feuilles séchées de *R. reflexa* (Tableau I). Le phtalate de diisooctyle est un ester, de nature volatile et serait donc être dissipé durant le processus de séchage des feuilles [14]

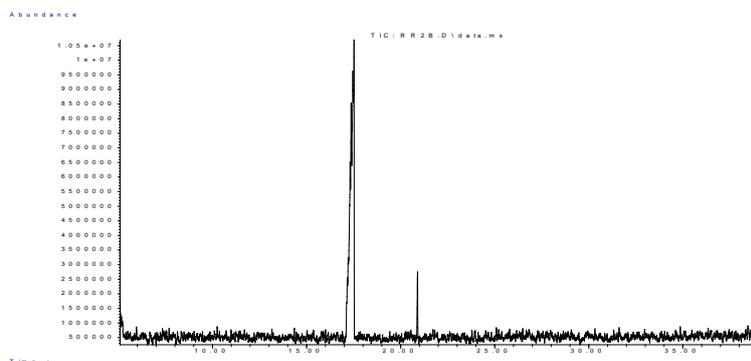
Tableau I: Composition chimique des huiles essentielles de *R. reflexa*

Pic	Feuilles fraîches		Feuilles sèches		Constituants identifiés
	TR	Teneur (%)	TR	Teneur (%)	
1	17,232	82,47	17,318	95,5	Phénylacétonitrile
2	20,924	8,51	20,895	4	Isothiocyanate de benzyle
3	32,852	8,90	-	-	Phtalate de diisooctyle



**Figure 1** : Chromatogramme de l'huile essentielle des feuilles fraîches de *R. reflexa*.

Par contre, le chromatogramme de l'échantillon RRSK (biomasse séchée) a affiché deux pics qui coïncident avec deux des trois retrouvés sur le chromatogramme de l'échantillon RRFK, confirmant la présence de deux composés (Figure 2). Il s'agit du phénylacétonitrile avec 95,5% de teneur et l'isothiocyanate de benzyle avec 4% (Tableau I). Le phtalate de diisooctyle a complètement disparu dans RRSK.



**Figure 2** : Chromatogramme de l'huile essentielle des feuilles sèches de *R. reflexa*.

### 3.2. Effets insecticides des huiles essentielles de *R. reflexa* sur *A. evuncifer*

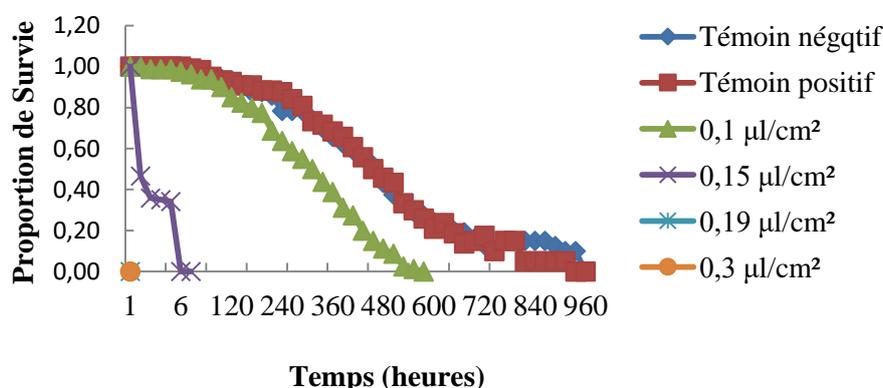
Pour l'huile essentielle des feuilles fraîches de *R. reflexa*, bien que toutes les concentrations aient réduit de manière significative la durée de survie des termites ( $F(5, 33) = 190,559$ ,  $p < 0,001$ ), son effet semble être dose dépendante (Tableau II). Aux faibles concentrations (0,1 et 0,15  $\mu\text{l} / \text{cm}^2$ ), l'huile essentielle de feuilles sèches de *R. reflexa* a réduit la durée de survie des individus d'*A. evuncifer* plus rapidement que les huiles essentielles des feuilles fraîches de *R. reflexa*. Cette activité anti termite peut être due au composé le phénylacétonitrile (95,5%) un composé anti termite [6] qui peut être à l'origine de la réduction de survie des *A. evuncifer*.

Les moyennes suivies de la même lettre dans la même colonne ne sont pas significativement différentes. En effet, une différence significative a été trouvée entre la concentration la plus faible (0,1  $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ ) et les trois autres au niveau des feuilles sèches.

Pour les feuilles fraîches de *R. reflexa*, la concentration plus faible (0,1 µl/cm<sup>2</sup>) de cette formulation a provoqué une diminution graduelle de la proportion de survie jusqu'à 576 heures après le contact (Figure 3). Par contre, pour les concentrations plus élevées (0,19 et 0,3 µl/cm<sup>2</sup>), il a été difficile d'établir une proportion de survie car tous les termites ont été tués dans l'intervalle d'une heure. Cette activité anti termite serait due à la présence en forte teneur du phénylacétonitrile (> 80% de teneur) dans les deux huiles essentielles de *R. reflexa* [6].

Tableau II: Durée de survie (moyenne) d'*A. evuncifer* après le contact avec les deux types d'huiles essentielles

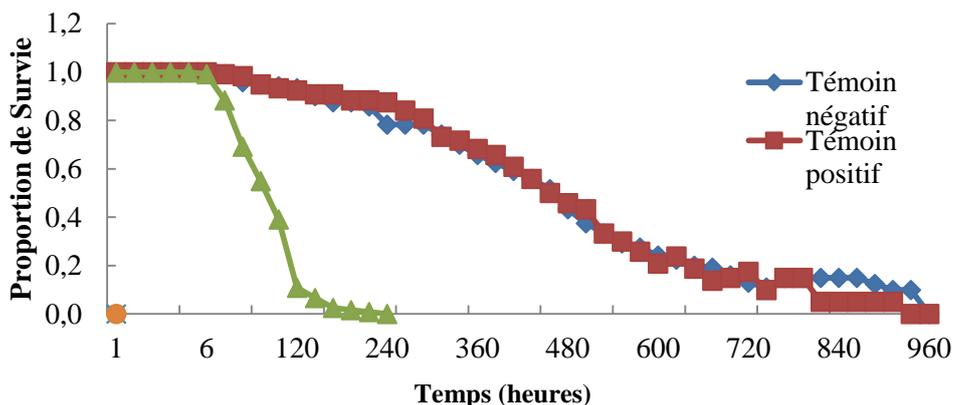
Concentrations et substances	<i>Ritchia reflexa</i> (feuilles fraîches)	<i>Ritchia reflexa</i> (feuilles sèches)
Témoin négatif	796± 104,52a	796± 104,52a
Témoin positif	704±116.26a	704±116,26a
0.1µl/cm <sup>2</sup>	534±30.2b	124±48,9b
0.15µl/cm <sup>2</sup>	4,17±2.04c	1c
0.19µl/cm <sup>2</sup>	1c	1c
0.3µl/cm <sup>2</sup>	1c	1c
	F <sub>(5,33)</sub> =190,559; p<0,001	F <sub>(5,35)</sub> =189,122; p<0,001
	Bonferroni post hoc test	Bonferroni post hoc test



**Figure 3** : Proportion de survie d'*Amitermes evuncifer* au contact de l'huile essentielle des feuilles fraîches de *R. reflexa*

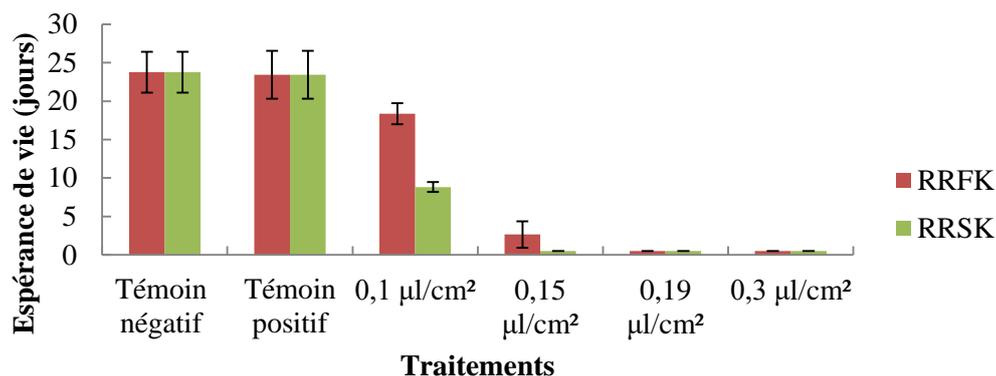
Une tendance similaire a été observée pour l'huile essentielle des feuilles sèches de *R. reflexa* (Figure 4). Pour cette formulation, la proportion de survie était nulle une heure après le début des tests biologiques pour toutes les concentrations testées sauf les plus faibles.

Au sein de chaque formulation, l'effet des huiles essentielles sur l'espérance de vie a varié selon les concentrations. Pour l'huile essentielle des feuilles fraîches de *R. reflexa*, on observe une différence significative entre l'espérance de vie des termites en contact avec les témoins et les concentrations testées a été également observée ( $F(5, 33) = 207,828, p < 0,001$ ).



**Figure 4** : Proportion de survie d'*Amitermes evuncifer* en contact avec l'huile essentielle des feuilles sèches de *R. reflexa*.

En effet, l'huile essentielle des feuilles fraîches de *R. reflexa* ont bien réduit l'espérance de vie des *A. evuncifer* plus rapidement que l'huile essentielle des feuilles sèches (Figure 5). Donc cette réduction d'espérance de vie des *A. evuncifer* pourrait être liée à la forte teneur en phénylacétonitrile (95,5%) dont l'activité anti termite a été démontrée comme substance défensive des insectes contre d'autres prédateurs [6]. Le même résultat a été observé pour l'huile essentielle des feuilles sèches de *R. reflexa* ( $F_{(5, 35)} = 269,679$ ,  $p < 0,001$ ). Sa concentration plus faible (même si elle a significativement réduit l'espérance de vie ( $3,14 \pm 0,72$  heures) par rapport aux témoins) a été significativement moins efficace ( $p < 0,001$ ) que les concentrations les plus élevées.



**Figure 5** : Espérance de vie d'*A. evuncifer* au contact des huiles essentielles des feuilles fraîches et sèches de *R. reflexa*.

#### 4. Conclusion

La lutte contre les termites a nécessité l'utilisation des pesticides chimiques. Mais leurs utilisations entraînent des conséquences négatives sur l'environnement et sur la santé de êtres vivants. Ainsi, les substances biologiques (HE) sont proposées comme alternatives aux pesticides chimiques. Dans notre étude, l'analyse des HE de *R. reflexa* a permis d'identifier des composés anti termites comme le phénylacétonitrile (composé majoritaire > 80%). Parmi les deux formulations d'huile essentielle, celle des feuilles sèches de *R. reflexa* ont été plus efficaces dans la réduction de la durée de survie et de l'espérance de vie. En perspective, d'autres études pour isoler le constituant majoritaire serait envisagées en vue de vérifier d'autres capacités biologique.

#### Bibliographie

- [1]. Zaremski, A. ; Fouquet, D. et Louppe, D. Les termites dans le monde : 2009, Editions Quae.,
- [2]. Levine, M.J. Pesticides : A toxic time bomb in our midst : 2007, Citeseer.,
- [3]. Mossa, A.-T. H. Green Pesticides: Essential Oils as Biopesticides in Insect-pest Management. Environ. Sci. Technol. (2016) 9(5); 354-378.
- [4]. Bourkhiss, M. ; Hnach, M. ; Bourkhiss, B. ; Ouhssine, M. ; Chaouch, A. et Satrani, B. Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. Agrosolutions. (2009) 20(1), 44-48.

- [5]. Simalou O., Etude de la Composition Chimique des Huiles Essentielles De deux plantes de la flore aromatique du Togo : *Ritchiea reflexa* (Thonn.) Gilg et *Benedict, Ctenium elegans* kunth. Mémoire de DEA, Université de Lomé, Lomé. 2007.
- [6]. Wei, J. ; Shao, W. ; Cao, M. ; Ge, J. ; Yang, P. ; Chen, L. ; Wang, X. et Kang, L. Phenylacetonitrile in locusts facilitates an antipredator defense by acting as an olfactory aposematic signal and cyanide precursor. *Sci. Adv.* (2019) 5(1), eaav5495.
- [7]. Adams, R.P. Identification of Essential Oils by Capillary Gas Chromatography/Mass Spectroscopy : 2009, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Il.,
- [8]. Krebs, C. J. Ecological methodology : 2016, Pearson.,
- [9]. Başer, C.K.H. et Buchbauer, G. Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications : 2010, CRC Press/Taylor and Francis, Boca Raton.,
- [10]. Ackermann, P. ; Margot, P. et Müller, F. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry : 2000, Wiley-Vch.
- [11]. Tellez, M.R. ; Khan, I.A. ; Kobaisy, M. ; Schrader, K.K. ; Dayan F.E. et Osbrink, W. Composition of the essential oil of *Lepidium meyenii* (Walp.). *Phytochemistry.* (2002) 61(2): 149-155.
- [12]. Kermanshai, R. ; McCarry, E.B. ; Rosenfeld, J. ; Summers, S.P. ; Weretilnyk, A.E. et Sorger, J. G. Benzyl isothiocyanate is the chief or sole anthelmintic in papaya seed extracts. *Phytochemistry*, (2001) 57(3): 427-435.
- [13]. Carlson, K.R. Toxicity review of diisooctyl phthalate (diop). U.S. Consumer Product Safety Commission : 2010, 4330 East West Highway, Bethesda, MD 20814.,
- [14]. Smigielski, K. ; Prusinowska, R. ; Raj, A. ; Sikora, M. ; Wolińska, K. et Gruska, R. Effect of drying on the composition of essential oil from *Lavandula angustifolia*. *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, (2011) 14(5): 532-542.

## Etude phytochimique et activité antioxydante comparative des trois variétés de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don

Hèzouwè Kagnou<sup>1\*</sup>, Gneiny Whad Tchani<sup>1</sup>, Oudjaninyobi Simalou<sup>1</sup>, Sabrina Sanvee<sup>1</sup>, Kokou Agbékonyi Agbodan<sup>2</sup>, Kafui Kpegba<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Chimie Organique et des Substances Naturelles (Lab COSNat),  
Faculté des Sciences, Université de Lomé, 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé, Togo.

<sup>2</sup>Laboratoire de Génie des Procédés et Ressources Naturelles (LAGEPREN), Département de  
Chimie, Université de Lomé, 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé, Togo.

\* benkahez@gmail.com

### Résumé

*Catharanthus roseus* (L.) G. Don, est une plante médicinale largement utilisée en tradithérapie togolaise dans le traitement des pathologies comme le diabète, l'hypertension, le cancer, et les effets du stress oxydatif. Elle est constituée de trois variétés (rosea, alba et hybride) selon la couleur des fleurs. L'étude actuelle vise à effectuer un criblage phytochimique et à évaluer l'activité antioxydante de l'extrait hydro-éthanolique afin de connaître les principaux constituants de chacune des variétés pour une meilleure prise en charge de ces pathologies. Le criblage phytochimique et les tests antioxydants in vitro (DPPH et FRAP) ont été effectués sur trois organes (feuilles, fleurs et racines) de chaque variété. L'étude phytochimique a montré globalement la présence des alcaloïdes, phénols, flavonoïdes, tanins, saponines, terpènes et quinine. Cependant, on note l'absence des sucres réducteurs, des flavonoïdes et des saponines au niveau des racines ainsi que l'absence des quinine au niveau des feuilles. L'analyse comparative a révélé un piégeage du radical élevé (130,023 ± 3,2 et 131,189 ± 1,8 mg EQ/g d'extrait sec) respectivement dans les fleurs et racines de l'hybride par comparaison à *rosea* suivi d'*alba*. Dans le même ordre, les valeurs du FRAP étaient de 175,166 ± 9,28 et 121,311 ± 78 mg EAA/g d'extrait sec. Une tendance différente a été observée dans les feuilles avec 65,746 ± 2,5 mg EQ/g et 139,935 ± 2,57 mg EAA/g chez *alba* suivit de l'hybride et de *rosea*. Ces résultats ouvrent la voie à l'identification et à la caractérisation des composés bioactifs sélectivement abondants dans chacune des variétés, ce qui permettra le développement de phytomédicaments améliorés à base de la variété appropriée à l'avenir.

**Mots clés :** *Catharanthus roseus*, phénols, flavonoïdes, antioxydant.

## Phytochemical study and comparative antioxidant activity of the three varieties of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don

### Abstract:

*Catharanthus roseus* (L.) G. Don, is a medicinal plant widely used in Togolese traditional medicine in the treatment of pathologies such as diabetes, hypertension, cancer, which are effects of oxidative stress. It consists of three varieties (rosea, alba and hybrid) according to the colour of the flowers. It is a very popular plant in Togo. The current study aims to carry out a phytochemical screening and to evaluate the antioxidant activity of the hydro-ethanolic extract in order to know the main constituents of each of the varieties for a better management of these pathologies. The phytochemical screening and in vitro antioxidant tests (DPPH and FRAP) were carried out on three organs (leaves, flowers and roots) of each variety. The phytochemical study showed overall the presence of alkaloids, phenols, flavonoids, tannins, saponins, terpenes and quinine. However, we note the absence of reducing sugars, flavonoids and saponins at the roots and the absence of quinine at the leaves. Comparative analysis revealed high radical scavenging (130.023 ± 3.2 and 131.189 ± 1.8 mg EQ/g dry matter) respectively in the flowers and roots of the hybrid compared to *rosea* followed by *alba*. In the same order, FRAP values were 175.166 ± 9.28 and 121.311 ± 78 mg EAA/g dry matter. A different trend was observed in the leaves with 65.746 ± 2.5 mg EQ/g and 139.935 ± 2.57 mg EAA/g in *alba* followed by hybrid and *rosea*. These results pave the way for the identification and characterization of selectively abundant bioactive compounds in each of the varieties, which will allow the development of improved phytomedicines based on the appropriate variety in the future.

**Keywords:** *Catharanthus roseus*, phenols, flavonoids, antioxidant.

### 1. Introduction

Bien que la médecine conventionnelle ait connu des avancées spectaculaires, entre 80 et 90%, voire plus, de la population mondiale fait recours à la médecine traditionnelle aujourd'hui selon les données de l'OMS. Ce retour vers les plantes est d'autant plus tentant quand on prend en considération les inquiétudes liées aux effets nocifs des médicaments chimiques, la recherche d'une vie saine, la pénurie et le coût élevé des soins de santé. L'efficacité avérée des plantes dans le traitement de nombre de pathologies a amené les chercheurs à se pencher sur les propriétés pharmacologiques de ces plantes. Au Togo, plusieurs plantes sont utilisées dans la pharmacopée ; c'est le cas de *Catharanthus roseus* communément appelé « Pervenche de Madagascar » constituée de trois variétés "rosea", "alba" et "hybride" selon la couleur des fleurs [1]. La décoction des feuilles, fleurs ou racines broyées en cocktail

est utilisée comme antimittotique, anti-inflammatoire, vermifuge, diurétique, antipaludique, pour soigner l'asthme et le diabète [2]. Elle est également utilisée comme astringent, diurétique et remède pour la toux [1]. La décoction de cette plante est conseillée contre le diabète et l'hypertension artérielle [3],[4] alors que le broyat des feuilles est utilisé pour traiter l'hémorroïde [5].

En outre, plus de 150 alcaloïdes ont été isolés des extraits de *C. roseus* dont vinblastine et la vincristine. En effet, vinblastine et la vincristine sont les premiers agents anticancéreux en usage clinique d'origine végétale utilisés en combinaison avec d'autres médicaments chimio-thérapeutiques pour divers traitements du cancer [1],[6]. Des études plus récentes sur *C. roseus* ont révélés la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des phénols, des carbohydrates, des saponines, des quinones, des tannins et des glycosides cardiaques dans ses divers extraits [7]. De plus, une forte activité antiradicalaire due aux nouvelles combinaisons phénoliques dans la graine, la tige, la feuille et le pétale, et aux acides organiques dans la racine de *C. roseus* a été également révélée [8]. La cause connue des pathologies tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires, l'athérosclérose, l'hypertension, de l'ischémie (blessure de perfusion), le diabète sucré, les maladies neurodégénératives (maladie d'Alzheimer et de Parkinson), l'arthrite rhumatoïde et du vieillissement étant le stress oxydant [9], l'utilisation de produits riches en phénols et flavonoïdes qui se sont révélés pour leurs capacités antioxydantes pourrait jouer un rôle important dans la prévention de ces pathologies [10]. Cette étude visait à identifier les grands groupes chimiques et à évaluer l'activité antioxydante des extraits hydro-éthanoliques des trois variétés de *C. roseus* récoltées au Togo. Ainsi la réalisation de ce travail constituera une base pouvant aboutir à la connaissance des principaux constituants de chacune des variétés pour une valorisation de cette espèce végétale à travers une meilleure prise en charge de ces pathologies.

## 2. Matériel et méthodes

### Matériel végétal

Les trois variétés de *C. roseus* ont été récoltées en août 2019 à Amakpapé (6°46'51,44772" N 1°10'43,21596" E) dans la préfecture de Haho à environ 75 Km de Lomé pendant la période de floraison et de fructification après trois mois de maturité. Les trois variétés, à savoir "rosea", "alba" et "hybride", ont été authentifiées au Laboratoire de Botanique et d'Ecologie Végétale du département de botanique de la Faculté des Sciences de l'Université de Lomé sous les numéros TOGO 15512, 15513 et 15514, respectivement. Les feuilles, fleurs et racines de chaque variété ont été ensuite séchées à l'abri de la lumière finement broyées puis conservées pour des analyses et traitements ultérieures.

### Réactifs chimiques

Les réactifs utilisés sont : le DPPH (1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyle), l'acide ascorbique, la quercétine, le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>), le trichlorure de fer III (FeCl<sub>3</sub>) et la solution de ferricyanure de potassium K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> proviennent du fournisseur Carlo Erba. Le carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), le réactif de Folin-Ciocalteu, l'acide gallique, quant à eux sont achetés chez Sigma Aldrich. L'éthanol, le méthanol et l'eau distillée ont été utilisés comme solvants.

### Méthodes

#### Préparation des extraits

A 100 g de poudre des feuilles, ou des fleurs ou encore des racines de chaque variété, a été ajouté 100 mL d'un mélange éthanol-eau (80:20 v/v); le mélange obtenu a été laissé sous agitation pendant 72 heures à la température ambiante. L'extrait hydro-alcoolique a été récupéré après filtration du mélange à l'aide d'un papier filtre, l'extrait a été concentré par évaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif (BÜCHI). Les extraits ont été récupérés et conservés pour les différents tests réalisés.

#### Screening phytochimique

Les grands groupes chimiques tels que les alcaloïdes, les phénols, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les stérols, les terpènes et les quinines de chaque variété ont été déterminés par une approche basée sur des tests de solubilité, des réactions de coloration et de précipitation selon les méthodes décrites dans la littérature [7],[11].

#### Dosage des phénols totaux

La méthode utilisée est celle de Shetty et al. [12] avec quelques modifications. A 0,05 mL de l'extrait, on ajoute 0,25 mL de Folin-Ciocalteu dilué au 10<sup>ème</sup>. Après 5 minutes de réaction, 0,2 mL de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) à 145 g/L ont été ajoutés au mélange. Le mélange a été bien homogénéisé et l'ensemble a été incubé pendant 30 minutes à température ambiante à l'abri de la lumière et la lecture a

été effectuée à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible 5100B SPECTROPHOTOMETER. La gamme étalon de 10 à 100 µg/mL a été préparée dans les mêmes conditions que l'extrait. La courbe d'étalonnage a été tracée en utilisant les différentes concentrations de l'acide gallique et les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EqAG/g ES).

#### Dosage des flavonoïdes

La méthode utilisée est celle d'Ayoola et al. [13] avec quelques modifications. À 2 mL d'AlCl<sub>3</sub> à 2% (m/v) dans du méthanol pur, est ajouté 2 mL d'extrait (1mg/mL) également dans du méthanol. Le mélange a été incubé pendant 10 minutes à l'abri de la lumière et l'absorbance a été mesurée à 415 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible. La gamme étalon de 10 à 100 µg/mL a été préparée dans les mêmes conditions que l'extrait. La courbe d'étalonnage a été tracée en utilisant les différentes concentrations de la quercétine et les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec (mg EqQ/g ES).

#### Test de réduction du radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle)

L'activité antiradicalaire des différents extraits a été évaluée en utilisant le 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) comme un radical libre relativement stable, selon la méthode décrite par Bakoma et al. [14] avec quelques modifications. Cent microlitres (100 µL) d'extrait ont été ajoutés à 2 mL DPPH (0,004% préparée dans du méthanol). Le mélange a été homogénéisé par un vortex et la lecture de l'absorbance a été faite au spectrophotomètre à 517 nm après 30 minutes d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière. Trois essais ont été effectués pour chaque échantillon. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard (Quercétine 100 à 1000 mg/mL) dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration, le test est répété trois fois. La courbe d'étalonnage a été tracée en utilisant les différentes concentrations de quercétine et les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec (mg EqQ/g ES).

#### Test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Le pouvoir réducteur du fer (Fe<sup>3+</sup>) dans les extraits est déterminé selon la méthode de Vijayalakshmi et Ruckmani [15] avec quelques modifications. Elle est basée sur la réduction de Fe<sup>3+</sup> du complexe ferricyanure à la forme du fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>). Par conséquent, la teneur de Fe<sup>2+</sup> peut être évaluée en mesurant l'augmentation de la densité de la couleur bleue dans le milieu réactionnel à 700 nm. A 0,5 mL d'extrait, on mélange 1,25 mL d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6.6) et 1,25 mL d'une solution de ferricyanure de potassium K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50 °C pendant 20 min, ensuite 1,25 mL d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction et les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min. Un virgule vingt-cinq millilitres (1,25 mL) du surnageant est mélangé avec 1,25 mL d'eau distillée et 0,25 mL d'une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 0,1%. Le mélange a été homogénéisé par un vortex et la lecture de l'absorbance a été faite au spectrophotomètre UV-VIS à 700 nm après 10 minutes d'incubation à température ambiante. Trois essais ont été effectués pour chaque échantillon. Le contrôle positif est représenté par une solution d'acide ascorbique (antioxydant standard) dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. La courbe d'étalonnage a été tracée en utilisant les différentes concentrations d'acide ascorbique et les résultats sont exprimés en mg d'équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait sec (mg EqAA/g ES).

#### Analyses statistiques

Les résultats de dosages (phénols et flavonoïdes totaux) et des tests antioxydants (DPPH et FRAP) ont été traités grâce aux logiciels Excel 2010 et GraphPad® 6.05 puis exprimés en moyenne ± ESM (Erreur Standard de la Moyenne).

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Screening phytochimique

L'utilisation d'un mélange hydro-éthanolique (solvant) nous a permis d'obtenir les extraits d'organes (fleurs, feuilles et racines) des trois variétés de *C. roseus*. Ces tests phytochimiques (Tableau1) réalisés

sur les extraits des différents organes des trois variétés de *C. roseus* ont révélé la présence d'alcaloïdes, de phénols, de flavonoïdes, de tanins, de saponines, de stérols, de terpènes et de quinines. Cependant, on note l'absence de flavonoïdes et de saponines dans les racines ainsi que de quinines dans les feuilles des trois variétés. On a également noté l'absence des sucres réducteurs dans les organes des trois variétés à savoir "rosea", "alba" et "hybride". Les travaux de Kabesh et al. [11], portant sur l'espèce "rosea", ont révélés pratiquement les mêmes métabolites secondaires dans les feuilles. Ces résultats corroborent également ceux de Rani et al. [7] ; Kabesh et al. [11] et de Govindasamy et Srinivasan [16] ; travaux dans lesquels il a été noté l'absence de stérols et de saponosides dans l'extrait des feuilles de *C. roseus*. Cette différence pourrait s'expliquer par les facteurs climatiques et géographiques. La richesse en ces grands groupes de composés actifs devrait justifier l'usage traditionnel de cette plante dans les soins de nombreuses maladies telles que le diabète [17], l'hypertension [18] ; comme antimittotique, anti-inflammatoire, vermifuge, diurétique, antipaludique, antiasthmatique, antipaludique [2].

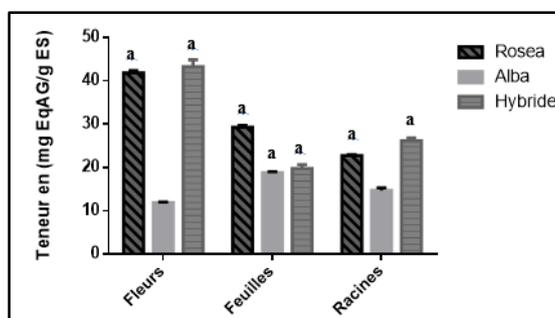
**Tableau 1:** Résultats du screening phytochimique.

Familles	Variétés de <i>Catharanthus roseus</i>								
	Rosea			Alba			Hybride		
	Fl	Fe	Rac	Fl	Fe	Rac	Fl	Fe	Rac
<b>Alcaloïdes</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Flavonoïdes</b>	+	+	-	+	+	-	+	+	-
<b>Phénols</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Tanins</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Saponines</b>	+	+	-	+	+	-	+	+	-
<b>Stérols et terpènes</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Sucres réducteurs</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Quinines</b>	+	-	+	+	-	+	+	-	+

(+) : présence ; (-) : absence ; Fl : fleurs ; Fe : feuilles ; Rac : racines.

### 3.2. Dosage des phénols totaux

Les teneurs en phénols totaux des extraits hydro-éthanoliques des organes (fleurs, feuilles et racines) des trois variétés de *C. roseus* ont été déterminées à partir de la droite de régression linéaire ( $Y = 0,01402X + 0,02472$ ;  $R^2 = 0,9969$ ) de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les résultats du dosage (Figure 1) ont montré que pour les fleurs, les extraits de la variété "hybride" ont donné une teneur en phénols élevée ( $43,315 \pm 1,565$  mg EqAG/g ES) suivit de "rosea" puis "alba" (Figure 1). Pour les extraits des feuilles, la variété "rosea" a présenté une teneur élevée ( $29,312 \pm 0,454$  mg EqAG/g ES) suivie de la variété "hybride" puis ensuite de "alba". Au niveau des racines, la teneur en phénols a suivi une tendance similaire à celle des fleurs, c'est-à-dire "hybride" ( $26,173 \pm 0,671$  mg EqAG/g ES), "rosea" puis "alba" (Figure 1). Cette disparité des teneurs en phénols au sein des différents organes de *C. roseus* pourrait s'expliquer par les facteurs génétiques [19] et par l'influence des pigments qui ont généralement des effets sur la croissance des variétés "rosea" et "alba" de *C. roseus* [20].

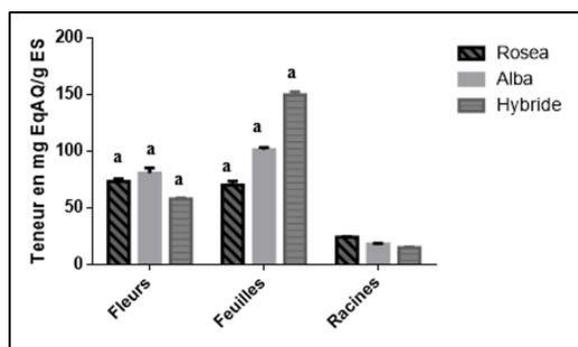


**Figure 27:** Résultats du dosage des phénols totaux ; Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ESM (Erreur Standard de la Moyenne) : a :  $P < 0,05$

### 3.3. Dosage des flavonoïdes totaux

Les résultats du dosage des flavonoïdes totaux (Figure 2) montrent que les extraits des fleurs de la variété "alba" présentent une teneur en flavonoïdes élevée ( $80,891 \pm 4,53$  mg EqQ/g ES) suivie de la variété "rosea" puis "hybride". Pour les extraits des feuilles, la variété "hybride" présente une meilleure teneur

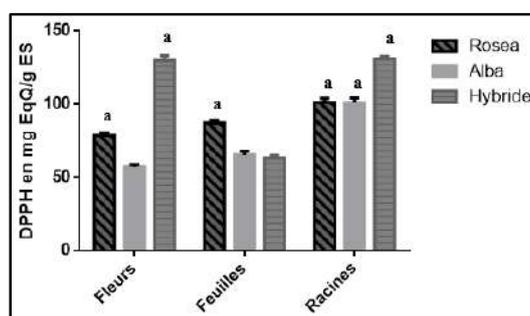
(149,971±2,54 mg EqQ/g ES) suivie de la variété "alba" puis enfin de "rosea". Les extraits des racines accordent une teneur élevée à la variété "rosea" (24,399±0,17 mg EqQ/g ES) suivie de la variété "alba" puis enfin de "hybride". Il faut également relever que la teneur en flavonoïdes est plus faible dans les racines comparativement aux autres organes (fleurs et feuilles). Ces faibles teneurs en flavonoïdes au niveau des racines comparativement aux autres organes pourraient s'accorder avec leur absence dans les échantillons de racines lors du screening phytochimique (Tableau 1). Cette différence de teneurs en flavonoïdes dans les organes de *C. roseus* devrait être due, comme pour les phénols totaux, aux facteurs génétiques [21]. Aussi, les extraits hydro-éthanoliques des feuilles de *C. roseus* ont globalement donné une teneur élevée en flavonoïdes par rapport aux fleurs et racines. Cette teneur élevée en flavonoïdes dans les feuilles pourrait se justifier par le fait que les feuilles sont plus exposées au soleil que les autres organes de la plante. En effet, les flavonoïdes assureraient la protection des tissus de la plante contre les effets nocifs des rayons solaires [22].



**Figure 28:** Résultats du dosage des flavonoïdes totaux ; Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ESM (Erreur Standard de la Moyenne) : a : P<0,05

### 3.4. Test de réduction du radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle)

Le test anti-radicalaire au DPPH des extraits des organes de *C. roseus* (Figure 3) ont montré une intéressante capacité anti-radicalaire des échantillons de fleurs (130.023±3,2 mg EqQ/g ES) et de racines (131,189±1.8 mg EqQ/g ES) de "hybride". L'extrait des feuilles de la variété "rosea" a, quant à lui, offert une meilleure capacité anti-radicalaire (87,308±2,02 mg EqQ/g ES) par rapport aux feuilles de "alba" et de "hybride". Aussi, les extraits hydro-éthanoliques des racines des trois variétés de *C. roseus* ont présenté les plus fortes propriétés de piégeage du DPPH. Cette intéressante capacité anti-radicalaire des extraits des racines pourrait s'expliquer par la présence des acides organiques, réputés pour leurs activité antioxydante dans les racines de *C. roseus* [8].

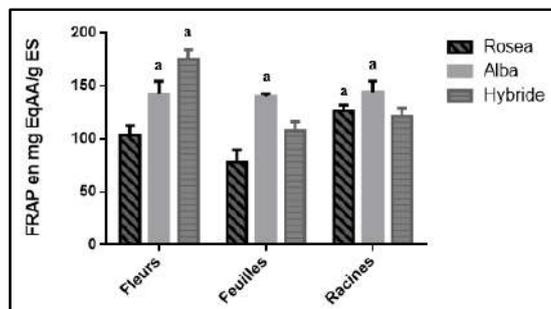


**Figure 29:** Résultats du test de réduction du radical DPPH ; Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ESM (Erreur Standard de la Moyenne) : a : P<0,05

### 3.5. Test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

L'évaluation du pouvoir réducteur du fer (FRAP) des extraits hydro-éthanolique des variétés de *C. roseus* (Figure 4) ont montré que l'extrait des fleurs de "hybride" a une capacité de réduction du fer intéressante (175,166±9,28 mg EqAA/g ES) par rapport à "rosea" et "alba" dans cet ordre. L'extrait des feuilles de la variété "alba" a donné une meilleure capacité de réduction du fer (139,935±2,57 mg EqAA/g ES) par rapport à l'espèce "hybride" suivi de "rosea". Les racines de la variété "hybride" ont

quant à elles donné une importante capacité de réduction du fer ( $144,205 \pm 10,42$  mg EqAA/g ES). En effet, d'après la Figure 4, le pouvoir réducteur de l'ion ferrique des fleurs de la variété "hybride" est meilleur par rapport aux autres organes. Ceci pourrait s'expliquer par une teneur élevée de flavonoïdes dans cet extrait. De plus, les capacités antioxydantes des extraits obtenus par la méthode au DPPH sont nettement inférieures à celles de la méthode FRAP. Le rôle très important des phénols et flavonoïdes dans la chélation des métaux de transitions impliqués dans la réaction de Fenton [9] justifierait cette tendance.



**Figure 30:** Résultats du test de réduction de l'ion ferrique (FRAP) ; Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ESM (Erreur Standard de la Moyenne) : a :  $P < 0,05$

#### 4. Conclusion

Cette étude réalisée sur les extraits hydro-éthanoliques des organes de *C. roseus* montre que les extraits des variétés "alba" et "hybride" sont plus actifs que celle de "rosea" bien que celle de la variété "hybride" est légèrement meilleure. En effet, cette activité des différents extraits serait en partie liée aux phénols et flavonoïdes totaux contenus dans ces extraits. Une étude ultérieure dans le but d'isoler et identifier des molécules bioactives à activités antioxydantes devrait permettre de mieux cerner la nature des principes actifs pour une utilisation rationnelle de cette ressource naturelle en vue d'une valorisation par des médicaments traditionnels améliorés.

#### 5. Bibliographie

- [1] Nejat N, Valdiani A, Cahill D, Tan YH, Maziah M, Abiri R. 2015. Ornamental Exterior versus Therapeutic Interior of Madagascar Periwinkle (*Catharanthus roseus*): The Two Faces of a Versatile Herb. *Sci. World J.*, 1-19. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/982412>.
- [2] Radji R, Kokou K. 2013. Classification et valeurs thérapeutiques des plantes ornementales du Togo. *Vertigo*, 13(3). DOI: <https://doi.org/10.4000/vertigo.14519>.
- [3] Adomou A, Yedomonhan H, Djossa B, Legba S, Oumorou M, Akoegninou A. 2012. Etude Ethnobotanique des plantes médicinales vendues dans le marché d'Abomey-Calavi au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 6(2): 745-772. DOI: <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v6i2.18>.
- [4] Kouadio B, Djeneb C, Yvette FNB, Basile YA, Cynthia Y, Alain AS, Noël ZG. 2016. Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le Département de Transua, District du Zanzan (Côte d'Ivoire). *J. Anim. Plant Sci.*, 27(2): 4230-4250.
- [5] Fundiko MCC, Mandango MA, Mutambala BM. 2017. Etude ethnobotanique des plantes utilisées dans le traitement des maladies de l'appareil digestif à Kinshassa et ses environs, République Démocratique du Congo. *International Journal of Innovation and scientific Research*, 31(1): 194-203.
- [6] Pham HNT, Vuong QV, Bowyer MC, Scarlett CJ. 2017. Effect of extraction solvents and thermal drying methods on bioactive compounds and antioxidant properties of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don (Patricia White cultivar). *J Food Process Preserv.*, 41(5): e13199. DOI: <http://doi.wiley.com/10.1111/jfpp.13199>.
- [7] Rani J, Kapoor M, Kaur R. 2017. In-vitro anti-bacterial activity and phytochemical screening of crude extracts of *Catharanthus roseus* L. (G.) Don. *Agric. Sci. Digest.*, 37(2) 2017: 106-111. DOI: <https://doi.org/10.18805/asd.v37i2.7983>.
- [8] Pereira DM, Faria J, Gaspar L, Ferreres F, Valentão P, Sottomayor M, Andrade PB. 2010. Exploiting *Catharanthus roseus* roots: Source of antioxidants. *Food Chem.*, 121(1): 56-61. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.002>.
- [9] Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 39(1): 44-84. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>.
- [10] Favier A. 2003. Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Journal de La Société Chimique de France*, 108-115.

- [11] Kabesh K, Senthilkumar P, Ragunathan R, Kumar R. 2015. Phytochemical Analysis of *Catharanthus roseus* Plant Extract and its Antimicrobial Activity. *Int. J. Pure App. Biosci.*, **3**(2): 162-172.
- [12] Shetty K, Curtis OF, Levin RE, Witkowsky R, Ang W. 1995. Prevention of Vitrification Associated with in vitro Shoot Culture of Oregano. (*Origanum vulgare*) by *Pseudomonas* spp. *J. Plant Physiol.*, **147**(3-4): 447-451. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)82181-4](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)82181-4).
- [13] Ayoola G, Coker H, Adesegun S, Adepoju-Bello A, Obaweya K, Ezennia E, Atangbayila T. 2008. Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. *Trop J Pharm Res.*, **7**(3) : 1019-1024. DOI : <https://doi.org/10.4314/tjpr.v7i3.14686>.
- [14] Bakoma B, Sanvee S, Metowogo K, Potchoo Y, Eklu-gadegbeku K, Aklikokou K, Gbeassor M. 2019. Phytochemical Study and Biological Activities of Hydro-Alcoholic Extract of the Leaves of *Bridelia ferruginea* Benth and its Fractions. *Pharmacogn. J.*, **11**(1): 141-145. DOI: <https://doi.org/10.5530/pj.2019.1.23>.
- [15] Vijayalakshmi M, Ruckmani K. 2016. Ferric reducing anti-oxidant power assay in plant extract. *Bangladesh J. Pharmacol.*, **11**(3): 570. DOI: <https://doi.org/10.3329/bjp.v11i3.27663>.
- [16] Govindasamy C, Srinivasan R. 2012. In vitro antibacterial activity and phytochemical analysis of *Catharanthus roseus* (Linn.) G. Don. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, **2**(1): 155-158. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60148-8](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60148-8).
- [17] Gbekley EH, Karou DS, Gnoula C, Agbodeka K, Anani K, Tchacondo T, Agbonon A, Batawila K, Simpore J. 2015. Étude ethnobotanique des plantes utilisées dans le traitement du diabète dans la médecine traditionnelle de la région Maritime du Togo. *Pan Afr Med J.*, **20**(437). DOI: <https://doi.org/10.11604/pamj.2015.20.437.5660>.
- [18] Karou SD, Tchacondo T, Djikpo Tchibozo MA, Abdoul-Rahaman S, Anani K, Koudouvo K, Batawila K, Agbonon A, Simpore J, De Souza C. 2011. Ethnobotanical study of medicinal plants used in the management of diabetes mellitus and hypertension in the Central Region of Togo. *Pharm. Biol.*, **49**(12): 1286-97. DOI: <https://doi.org/10.3109/13880209.2011.621959>.
- [19] Dragovicuzelac V, Levaj B, Mrkic 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 Chem.*, **102**(3): 966-975. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.001>.
- [20] Jaleel CA, Gopi R, Manivannan P, Gomathinayagam M, Sridharan R, Panneerselvam R. 2008. Antioxidant potential and indole alkaloid profile variations with water deficits along different parts of two varieties of *Catharanthus roseus*. *Colloid Surface B.*, **62**(2): 312-318. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.10.013>.
- [21] Bouzid W, Yahia M, Abdeddaim M, Aberkane MC. 2011. Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne. *Leban. Sci. J.*, **12**(1): 59-69.
- [22] Tattini M, Remorini D, Pinelli P, Agati G, Saracini E, Traversi ML, Massai R. 2006. Morpho-anatomical, physiological and biochemical adjustments in response to root zone salinity stress and high solar radiation in two Mediterranean evergreen shrubs, *Myrtus communis* and *Pistacia lentiscus*. *New Phytol.*, **170**(4): 779-794. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01723.x>.

## Les plantes antidiabétiques en Côte d'Ivoire et modes d'action des molécules antidiabétiques

Harouna Diète Souleymane<sup>1,2\*</sup>, Kouakou N'goran David Vincent<sup>1</sup>, Soro Yaya<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Production Animale et Zootechnie de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny de Yamoussoukro BP. 1093/ Côte D'Ivoire.

<sup>2</sup>Laboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN) de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny de Yamoussoukro BP. 1093/Côte D'Ivoire.

### Résumé :

Le diabète sucré est considéré comme un des fléaux du troisième millénaire. En Côte d'Ivoire, pour la prise en charge du diabète comme dans toutes les communautés, des plantes médicinales sont utilisées pour appuyer la médecine moderne. Dans le cadre de la valorisation de ces plantes afin de valider expérimentalement leur propriété antidiabétique ainsi que leur toxicité, une étude bibliographique a été faite afin d'identifier celles qui sont valorisées. Il ressort de cette étude que quelques plantes médicinales utilisées dans la prise en charge du diabète ont fait l'objet d'étude chimique, pharmacologique et /ou toxicologique et seraient, des bons ingrédients pour la formulation des phytomédicaments améliorés. Ainsi, les principaux matériaux actifs responsables de l'activité antidiabétique trouvés dans ces plantes sont : les alcaloïdes stimulant la glycogénèse hépatique, les flavonoïdes qui contribuent à la réduction de l'absorption intestinale du glucose, les polyphénols et les terpènes qui captent les radicaux libres afin d'éviter les complications oxydatives. En effet, une synergie d'action de ces principes actifs serait plus déterminante dans le mécanisme antihyperglycémique. Parmi ces plantes, certaines ne sont pas encore valorisées dans la lutte antidiabétique. Il importe de valider expérimentalement les propriétés antidiabétiques traditionnellement attribuées à ces plantes.

**Mots clés :** Plantes médicinales ; Diabète ; Molécules actives et Mécanisme d'action.

### Antidiabetic plants in Ivory Coast and modes of action of antidiabetic molecules

#### Abstract :

Diabetes mellitus is considered one of the plagues of the third millennium. In Côte d'Ivoire, for the management of diabetes as in all communities, medicinal plants are used to strengthen modern medicine. As part of the valuation of these plants in order to experimentally validate their antidiabetic property as well as their bibliographic study was carried out in order to identify those that are valued. It emerges from this study that some medicinal plants used in the management of diabetes have been the subject of chemical, pharmacological and / or toxicological study and could, good ingredients for the formulation of improved phytomedicines. Thus, the main active ingredients responsible for the antidiabetic activity found in these plants are: alkaloids stimulating hepatic glycogenesis, flavonoids which contribute to the reduction of the intestinal absorption of glucose, polyphenols and terpenes which capture free radicals in order to avoid oxidative complications. Indeed, a synergy of action of these active ingredients would be more determining in the antihyperglycemic mechanism. Among these plants, some are not yet valued in the fight against diabetes. It is important to experimentally validate the anti-diabetic properties traditionally attributed to these plants.

**Keywords:** Medicinal plants; Diabetes; Active molecules and Mechanism of action.

#### 1. Introduction

Le diabète est une pathologie grave et chronique qui survient lorsque l'organisme ne peut pas produire d'insuline, qu'il n'en produit pas suffisamment ou qu'il ne peut pas utiliser efficacement l'insuline qu'il produit. Les principaux types de diabète sont le diabète de type 1, le diabète de type 2 et le diabète gestationnel (1). Ainsi, Le diabète sucré est considéré comme un des fléaux du troisième millénaire (2). De 2000 en 2019 dans le monde, la prévalence estimée du diabète (type 1 et type 2 combinés, diagnostiqué et non diagnostiqué) chez les personnes d'âge 20 à 79 ans est passée de 151 millions (4,6 % de la population mondiale à l'époque) à 463 millions (9,3 %). En l'absence de mesures suffisantes pour faire face à la pandémie, la Fédération Internationale de Diabète (FID) prévoit que 578 millions de personnes soit 10,2 % de la population vivront avec le diabète d'ici à 2030. On atteindra 700 millions (10,9 %) d'ici à 2045 (1). En Côte d'Ivoire, depuis 2020, la prévalence du diabète est estimée à 8,42% (3). Ainsi, pour faire à cette maladie, plusieurs médicaments antidiabétiques développés : Ils comprennent les inhibiteurs de la production hépatique du glucose ; les insulino-sensibilisateurs, les stimulateurs de la sécrétion insulinaire, et les médicaments agissant sur le tube digestif. Mais souvent, ces traitements inaccessibles à la population du coût extrêmement onéreux. En plus de cela ces traitements ne sont pas exemptés d'effets secondaires: hypoglycémie simple, insuffisance rénale,

hépatique, cardio respiratoire, trouble visuel, trouble digestif, anémie,... ainsi que la toxicité des médicaments notamment glitazones qui ont été retirés du marché (4). C'est ce qui a conduit la population s'est tournée vers la phytothérapie, en utilisant de manière traditionnelle les plantes médicinales pour se soigner. Bien que cette utilisation se fait de manière non orthodoxe. Parce que ni dose, ni toxicité n'est maîtrisé. C'est ce qui a motivés plusieurs chercheurs à s'intéresser vivement à ces plantes médicinales, pour extraire et identifier les principes actifs, puis les tester sur des modèles animaux, tout en expliquant leurs mécanismes d'action dans le but de développer des médicaments accessibles à tous à moindre coût dont la dose et la toxicité sont contrôlés. C'est ainsi que cette étude vise à faire une recherche bibliographique sur les plantes médicinales utilisées dans la prise en charge du diabète de la Côte d'Ivoire ayant fait l'objet d'étude scientifique. Il s'agit plus spécifiquement de présenter quelques plantes antidiabétiques qui ont fait l'objet d'étude scientifique; puis décrire les substances naturelles responsables de l'activité antidiabétique ainsi que leurs mécanismes d'action.

## 2. Matériel et Méthodes :

Le matériel est constitué d'un ordinateur portable et des blocs notes.

La méthodologie utilisée dans le cadre de cette étude à consister à faire une recherche bibliographique dans des bases de données spécialisées telles que : Pubmed, Sciencedirect et Google Scholar. En utilisant des mots clés tels que : le diabète, les plantes antidiabétiques en Côte d'Ivoire et mécanismes d'action des substances naturelles antidiabétiques.

## 3. Résultats et discussions :

En effet, pour faire face à cette maladie, plusieurs types d'antidiabétiques oraux ont été développés dont chacun possède un mécanisme spécifique à travers lequel il agit dans le traitement du diabète. Ils comprennent les inhibiteurs de la production hépatique du glucose ; les insulino-sensibilisateurs, les stimulateurs de la sécrétion insulinaire, et les médicaments agissant sur le tube digestif (4). Mais face à la difficulté que rencontre la population, dans chaque société, la population a recours aux plantes médicinales pour assurer leurs soins primaires. C'est ainsi qu'en Côte d'Ivoire, des plantes médicinales sont utilisées dans la prise en charge du diabète dont quelques-unes qui ont fait l'objet d'étude chimique, toxicologique et ou pharmacologique seront présentés en 3.1).

### 3.1 Quelques plantes antidiabétiques ayant fait l'objet d'étude scientifique.

#### ➤ *Ziziphus mauritiana* Lam/ Famille : *Rhamnaceae*

*Ziziphus mauritiana* Lam, qui est arbre épineux de la famille des Rhamnacées dont les feuilles sont reconnues comme riche en Sétrols/terpènes; Polyphénols; flavonoïdes; tanins; alcaloïdes; Saponines; Mucilages. Et aussi En Minéraux: Na; Mg; P; Fe; K; Ca; Cu; Zn (5). Ainsi, ces auteurs affirment que la présence simultanée de mucilages, de métabolites secondaires et de sels minéraux exercerait une action synergique pour réduire l'hyperglycémie et permettrait d'entreprendre des actions correctives en raison de la présence de composés polyphénoliques comprenant des flavonoïdes.

#### ➤ *Mitragyna inermis*/ Famille: *Rubiaceae*

*Mitragyna inermis* est un arbuste de la famille des *Rubiaceae* présente en Afrique de l'Ouest et du Centre. L'analyse phytochimique de l'extrait aqueux a révélé la présence de stérol, triterpène, polyphénol, flavonoïde, tanin catéchique, saponoside et alcaloïde, qui lui confèrent plusieurs activités pharmacologiques sur les feuilles de la plante dont notamment l'activité antidiabétique (6). Cet extrait a fait l'objet d'étude toxicologique dont la DL50 est supérieure à 5000 mg/kg. Ce qui montre que l'extrait de *M. inermis* pourrait être utilisé avec un certain degré de sécurité par voie orale, comme l'ont affirmé ces auteurs.

#### ➤ *Saba senegalensis* Pichon/ Famille: *Apocynaceae*

*Saba senegalensis* Pichon un arbuste de la famille des Apocynacées pousse dans la savane, mais souvent cultivé. L'extrait aqueux de cette plante selon Mamadou *et al.*, (2020), protège contre les hypoglycémies prolongées, sauf pour des concentrations élevées. Ainsi, l'administration orale de l'extrait aqueux de cette plante à des doses allant jusqu'à 5000 mg / kg de poids corporel n'a entraîné aucun décès chez les souris pendant deux semaines d'observation. Ces données justifient que cette plante est non toxique et est potentiellement antidiabétique; il pourrait donc contribuer à la lutte contre le diabète en médecine traditionnelle. L'analyse phytochimique de l'extrait aqueux au Burkina a montré la présence des tanins; polyphénols; saponosides; Anthocyanes; Stérols/terpènes et coumarines (8).

➤ ***Fagara zanthoxyloides* / Famille: Rutaceae**

*Fagara zanthoxyloides* est un arbuste tropical de la famille des Rutacées. Les extraits aqueux ont fait l'objet d'étude toxicologique avec comme DL50 à 2000 mg/kg de poids sur des rats pendant 14 jours. L'administration de cette dose n'a entraîné aucun effet sur la plupart des paramètres sanguins. Ce qui montre que les extraits aqueux de la plante n'étaient pas toxiques à la dose expérimentale (9).

Au Nigeria l'analyse phytochimique de l'extrait méthanolique des feuilles a montré la présence des flavonoïdes; terpènes; polyphénols; alcaloïdes; glycosides; Saponines; stérols (10)

➤ ***Opilia celtidifolia* / Famille: Opiliceae**

Il s'agit d'un arbuste ou d'un arbre ligneux grimpant, atteignant 10 m de haut de la famille des Opilicées. L'étude de toxicité in vivo portant sur les extraits aqueux de cette plante a montré que la DL50 était supérieure à 2000 mg/kg de poids corporel. Ce qui montre que la plante ne pas toxique (9). Au Mali, Benoit *et al.*, (2020) dans leur étude aussi, n'ont pas observé de toxicité aigüe à la dose de 2000mg/Kg chez les souris. Ces auteurs rapporte que le décocté des feuilles de la plante Feuilles est riche en flavonoïdes; saponosides; mucilages; coumarines et glycosides.

➤ ***Cassia sieberiana* / Famille: Caesalpiniaceae**

C'est un CS petit arbre de 8-15m de haut de la famille des *Caesalpiniacées*. Ces organes tels que les **feuilles** sont reconnues comme riche en alcaloïdes; flavonoïdes; tanins; stérols/terpènes et saponosides, comme Mshelia *et al.*, (2021) l'ont confirmé au Nigeria dans les extraits méthanoliques. Ainsi, en Côte d'Ivoire, l'étude toxicologique réalisée sur des rats pendant 14 jours à la dose 2000 mg/kg de poids n'a entraîné aucun effet sur la plupart des paramètres sanguins (9).

➤ ***Ficus exasperata vahl* / Famille: Moraceae**

Communément appelé arbre à papier de verre, est un arbre afro-tropical terrestre de taille moyenne, atteignant 20 à 30 mètres (66 à 98 pieds) de la famille des *Moracées*. En Côte d'Ivoire, l'extrait aqueux des feuilles et de l'écorce du tronc testé sur la lignée cellulaire d'adénocarcinome gastrique n'a montré aucune cytotoxicité contre (13). Ces auteurs rapportent que cette plante contenant une trentaine de métabolites dont les majoritaires trouvés dans les feuilles l'acide caféoyl malique, l'acide fumarique, un dérivé de bergaptol et dans l'écorce de tige le principal métabolite est l'acide malique. Ils indiquent que cette absence de toxicité démontre l'intérêt potentiel de l'ajout d'extrait aqueux de feuilles à la fois aux compléments alimentaires et aux formulations pharmaceutiques.

### 3.2 Les groupes chimiques trouvés dans les plantes antidiabétiques

Les études phytochimiques réalisées dans les différentes études ont montré que les plantes étudiées contiennent des flavonoïdes, des saponines, des tannins, des phénols, des terpènes, des alcaloïdes, des stérols, des carbohydrates mais aussi de glucosides cardiotoniques (4).

Ainsi, Il a été démontré que certains extraits de plantes hypoglycémiantes contiennent des molécules antioxydantes telles que les polyphénols et les terpènes (14). Les flavonoïdes contribueraient à la réduction de l'absorption intestinale du glucose chez des rats diabétiques induits par la streptozotocine (15). En outre, l'épicatéchine augmente la synthèse hépatique du glycogène et la quercétine augmente la synthèse de l'insuline (16).

## 4. Conclusion

Toutes ces plantes antidiabétiques contiennent les composés antidiabétiques décrits ci haut et que l'activité antidiabétique de ces plantes serait due à action individuelle ou une synergie d'action de ces principes actifs. Ces plantes ont fait l'objet d'étude chimique, pharmacologique et/ou toxicologique et n'ont montré aucune de toxicité, ce qui montre qu'elles peuvent être utilisées dans le traitement antidiabétique en Côte d'Ivoire. Ainsi, elles pourraient faire l'objet d'un phyto-médicament amélioré. Il serait intéressant d'identifier dans la littérature, les plantes antidiabétiques qui ne sont pas encore valorisées en Côte d'Ivoire ; Déterminer leurs Compositions phytochimiques; puis faire des essais biologiques sur des modèles animaux afin valider expérimentalement leurs propriétés antidiabétiques et vérifier leurs toxicités et formuler un complément alimentaire afin de soulager les patients.

### Référence :

1. FID. L'atlas du diabète de la Fédération Internationale du Diabète. 9e édition. 2019. 176 p.

2. Ouldyeou k, Righi S, Meddah B, Tir touil A, Bouhadi D, Hariri A. Eude phytochimique et activité antioxydante de quelques plantes antidiabétique au niveau de la wilaya de mascara. *Journal of Advanced Research in Science and Technology*. 2018;5(1):670-9.
3. Bakary K. Sécurité alimentaire et santé urbaine en Afrique subsaharienne : influence du mode d'alimentation sur la prévalence du diabète sucré à Abidjan (côte d'ivoire). *Revue Espace, Territoires, Sociétés et Santé*,. 2020;3(5):143-55.
4. Emile ML. Revue de la littérature de l'activité sur la glycémie de plantes utilisées en Côte d'ivoire dans la prise en charge du diabète [Thèse en pharmacie]. [Côte d'Ivoire]: Université Felix Houphouët Boigny; 2018.
5. Fofié NBY, Sanogo R, Koné-Bamba D. Composition en sels minéraux et en métabolites secondaires de *Ziziphus mauritiana* Lam., une plante antihyperglycémiant. 2017;7.
6. Konkon N, Ouatarra D, Kpan W, Kouakou T. Medicinal plants used for treatment of diabetes by traditional practitioners in the markets of Abidjan district in Côte d'Ivoire. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 2017;5(2):39-48.
7. Mamadou D, Adama C, Ousmane C, Doudjo S, David NJ. Potential anti-diabetic property of the aqueous extract of the leaves of *Saba senegalensis* Pichon (apocynaceae) in mice. 2020;8(1):65-9.
8. Yougbaré-Ziébro M, Ouédraogo N, Lompo M, Bationo H, Yaro B, Gnoula C, et al. Activités anti-inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (Apocynaceae). *Phytothérapie*. 2016;14(4):213-9.
9. Anouar BOZM. Ethnobotanic and toxicological study of some medicinal plants used in treatment of diabetes. *The Journal of Phytopharmacology*. 2017;6(1):45-52.
10. Enechi OC, Amah CC, Okagu IU, Ononiwu CP, Azidiegwu VC, Ugwuoke EO, et al. Methanol extracts of *Fagara zanthoxyloides* leaves possess antimalarial effects and normalizes haematological and biochemical status of *Plasmodium berghei*-passaged mice. *Pharmaceutical biology*. 2019;57(1):577-85.
11. Benoit K, Drissa D, Rokia S, Birama D, Sekou D, Modibo D. Titre : Etude de la phytochimie et de l'activité appétissante du décocté de feuilles de *Opilia celtidifolia* Guill. et Perr. (OPILIACEAE) chez les rats. *EasyChair Preprint*. 2020;(3407):17.
12. Mshelia EH, Mathias SN, Umaru MM, Adam AB. Phytochemical and antioxidant evaluation of *Cassia sieberiana* DC stem bark extracts. *Proceedings of the Nigerian Academy of Science*. 2021;13(2).
13. Mouho DG, Oliveira AP, Kodjo CG, Valente P, Gil-Izquierdo A, Andrade PB, et al. Chemical findings and in vitro biological studies to uphold the use of *Ficus exasperata* Vahl leaf and stem bark. *Food and Chemical Toxicology*. 2018;112:134-44.
14. Luo Q, Cai Y, Yan J, Sun M, Corke H. Hypoglycemic and hypolipidemic effects and antioxidant activity of fruit extracts from *Lycium barbarum*. *Life sciences*. 2004;76(2):137-49.
15. Hassan Z, Yam MF, Ahmad M, Yusof APM. Antidiabetic properties and mechanism of action of *Gynura procumbens* water extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Molecules*. 2010;15(12):9008-23.
16. Vessal M, Hemmati M, Vasei M. Antidiabetic effects of quercetin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 2003;135(3):357-64.

## **Pigments et autres métabolites secondaires dans les feuilles de *Xanthosoma mafaffa* : intérêt nutritionnel et pharmacologique**

Kanabiya Essodjolon<sup>1\*</sup>, Mélila Mamatchi<sup>2</sup>, Novidzro Kosi Mawuéna<sup>1</sup>, Dotse Kokouvi<sup>1</sup>, Koumaglo Kossi Honoré<sup>1</sup>

1 : Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université de Lomé (Togo) ;

2 : Département de Biochimie/Nutrition, Faculté des Sciences, Université de Lomé (Togo).

\*Auteur correspondant, E-mail : [ekanabiya@gmail.com](mailto:ekanabiya@gmail.com)

### **Résumé :**

*Xanthosoma mafaffa* est une plante alimentaire communément utilisée en médecine traditionnelle au Togo. Cependant, elle a fait l'objet de très peu d'études phytochimiques. La présente étude a pour but de valoriser cette espèce à travers ses différents groupes chimiques, ses teneurs en pigments chlorophylliens, et en caroténoïdes totaux. Ainsi, deux extractions hydroéthanoliques (50-50) ont été réalisées respectivement sur les jeunes feuilles et les feuilles matures. L'analyse phytochimique de ses deux extraits révèle la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes et des tanins. L'analyse spectrophotométrique a permis de doser la teneur des pigments contenue dans ces extraits avec l'éthanol et le diéthyl éther comme solvants de dilutions pour le dosage. Les résultats montrent des teneurs, en chlorophylles «a» et «b» et en caroténoïdes, exprimées en mg/kg, respectivement dans les jeunes feuilles et les feuilles matures dans l'éthanol : 289,31 ; 215,05 ; 38,31 et 495,49 ; 505,48 ; 24,37, dans le diéthyl éther : 96,12 ; 40,94 ; 14,84 et 101,4 ; 23,02 ; 6,73. La présence de ses différents groupes chimiques serait un atout majeur justifiant l'usage thérapeutique de cette plante alimentaire.

**Mots clés :** *Xanthosoma mafaffa*, pigments chlorophylliens, caroténoïdes.

### **Introduction**

Les substances naturelles, notamment celles d'origine végétale, ont été longtemps une source importante d'agents thérapeutiques [1]. Les plantes synthétisent un grand nombre de composés chimiques utilisés pour remplir d'importantes fonctions biologiques et constituent également une source de nutriments pour l'homme [2-3]. L'utilisation de ces substances naturelles a évolué progressivement avec les besoins de l'homme. Environ 80% de la population mondiale dépend principalement de la médecine traditionnelle où l'efficacité des plantes a été capitale [4]. De nos jours, beaucoup de recherches s'intéressent aux plantes médicinales en raison de leurs diverses activités biologiques des métabolites secondaires. En effet, ces métabolites représentent une source importante de molécules, telles que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les acides phénoliques, les vitamines, les tanins, les caroténoïdes qui possèdent des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, inhibitrices enzymatiques et anticancéreuses [5-6]. Par ailleurs, certains métabolites secondaires sont également très importants pour l'alimentation humaine en raison de leurs excellentes propriétés nutritionnelles pour l'organisme des mammifères qui est incapable d'en produire [7]. Nombre de travaux ont été réalisés sur des propriétés biologiques de certaines plantes et ont permis la découverte de nombreux principes actifs utilisés en médecine moderne pour la synthèse des médicaments [8]. La quinine, la théophylline, la morphine, la doxorubicine et la vitamine A sont, entre autres, des exemples. On estime ainsi, qu'environ plus de la moitié des molécules bioactives en usage clinique provient des plantes. Au Togo, plusieurs plantes sont utilisées dans la pharmacopée ; c'est le cas de *Xanthosoma mafaffa*. Les feuilles, de même que les tubercules de cette plante, entrent en effet, dans l'alimentation de la population togolaise. Les feuilles tendres sont consommées sous forme de légume [9]. Par ailleurs, ces feuilles possèdent des propriétés antioxydantes avérées [10-11]. La cause connue des pathologies telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, l'athérosclérose, l'hypertension, l'ischémie, le diabète sucré, les maladies neurodégénératives (maladie d'Alzheimer et de Parkinson), l'arthrite rhumatoïde et le vieillissement étant le stress oxydant [12], l'utilisation de produits riches en phénols, en flavonoïdes et en caroténoïdes qui se sont révélés pour leurs capacités antioxydantes pourrait jouer un rôle important dans la prévention de ces pathologies [13]. Cette étude vise ainsi, à identifier les différents groupes chimiques, les teneurs en pigments chlorophylliens, et en caroténoïdes totaux des extraits hydroéthanoliques des feuilles de *Xanthosoma mafaffa*. C'est donc une contribution à la connaissance des principaux constituants de ces feuilles pour une valorisation de cette espèce végétale.

## Matériel et Méthodes

### 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 l'espèce, 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

#### Préparation des extraits

Une masse de 300 g de poudres des jeunes feuilles et des feuilles matures de *Xanthosoma mafaffa* ont été macérées pendant 72 heures dans un solvant hydroéthanolique de proportions 50-50 : v/v. Après macération, les solutions ont été filtrées à l'aide d'un papier filtre. Les filtrats obtenus ont été évaporés à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif de type Büchi dont la température du bain-marie a été fixée à 45 °C. Les extraits secs ont été pesés puis introduits chacun dans un petit flacon en verre, étiquetés et conservés à l'abri de la lumière au congélateur pour être utilisés au cours des différents tests prévus.

#### Calcul du rendement d'extraction

Le rendement est la quantité d'extrait obtenue à partir d'une matière végétale. Il est exprimé en pourcentage par rapport à la poudre végétale et a été calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{M_1}{M_0} \times 100 ; \text{ avec :}$$

R : rendement de l'extrait exprimé en pourcentage (%)

M<sub>1</sub> : masse de l'extrait obtenue (g)

M<sub>0</sub> : masse de poudre végétale en (g)

#### Screening phytochimique préliminaire

Les grands groupes chimiques tels que les alcaloïdes, les phénols, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les stérols, les terpènes, les coumarines, les glucides totaux et les quinones de chaque type de feuilles ont été déterminés par une approche basée sur des tests de solubilité, des réactions de coloration et/ou de précipitation selon les méthodes décrites dans la littérature [14,15-16].

#### Dosage des chlorophylles a & b et des caroténoïdes totaux

Les constituants pigmentés contenus dans les extraits de *Xanthosoma mafaffa* ont été quantifiés par la méthode spectrophotométrique UV-Visible [16]. La solution a été préparée en introduisant environ 30 mg de chaque extrait dans 10 mL de diéthyl éther et d'éthanol 95%. Le mélange obtenu a été bien agité au vortex et la lecture de la densité optique des solutions ainsi préparées a été faite aux trois différentes longueurs d'ondes suivantes :  $\lambda_1 = 470 \text{ nm}$  ;  $\lambda_2 = 649 \text{ nm}$  et  $\lambda_3 = 665 \text{ nm}$  pour l'éthanol et  $\lambda_1 = 470 \text{ nm}$  ;  $\lambda_2 = 662 \text{ nm}$  et  $\lambda_3 = 644 \text{ nm}$  pour le diéthyl éther. Le spectrophotomètre utilisé est de marque SHANGHAI METASH UV-5200PC. Les teneurs en chlorophylle a (C<sub>[a]</sub>), en chlorophylle b (C<sub>[b]</sub>) et en caroténoïdes totaux (C<sub>[x+c]</sub>) ont été déterminées à l'aide de trois formules trichromatiques suivantes de Wellburn [16] :

Ethanol (95%, v/v) :

$$C[a] = 13,95A_{665} - 6,88A_{649} ;$$

$$C[b] = 24,96A_{649} - 7,32A_{669} ;$$

$$C[x + c] = \frac{(1000A_{470} - 2,05C[a] - 114,8C[b])}{227}.$$

Diéthyl éther (100%, v/v) :

$$C[a] = 10,05A_{662} - 0,766A_{644} ;$$

$$C[b] = 16,37A_{649} - 3,14A_{662} ;$$

$$C[x + c] = \frac{(1000A_{470} - 1,28C[a] - 56,7C[b])}{230}$$

### Analyses statistiques

Les résultats de dosages des chlorophylles a & b et des caroténoïdes ont été traités grâce aux logiciels Excel 2016.

### Résultats et discussion

#### Résultats des rendements d'extraction

Le tableau 1 indique les résultats des rendements d'extraction des deux différents extraits hydroéthanoliques des feuilles de *X. mafaffa*.

**Tableau 1 :** Rendement d'extraction des deux différents extraits hydroéthanoliques des feuilles de *X. mafaffa*.

Extraits	Rendements	Solvant
<b>EHJF</b>	17,66	Eau-éthanol
<b>EHFM</b>	19,29	Eau-éthanol

EHJF : Extrait hydroéthanolique (50-50 : v/v) des jeunes feuilles

EHFM : Extrait hydroéthanolique (50-50 : v/v) des feuilles matures

D'après le tableau 1, il a été observé que les rendements obtenus dépendent de la maturité des feuilles. En effet, le rendement le plus élevé a été celui de l'extrait hydroéthanolique (50-50 : v/v) des feuilles matures (19,29%), et de l'extrait hydroéthanolique (50-50 : v/v) des jeunes feuilles (17,66%). Ceci pourrait s'expliquer par l'adaptation de l'espèce aux stress abiotiques qui sont les causes connues de la modulation permanente du système métabolique des plantes. Ces rendements sont supérieurs à ceux rapportés par Dzutam et al. [11] et Opong et al. [17] pour les extraits méthanolique et aqueux des feuilles matures de *X. mafaffa*, dont les rendements ont été respectivement de 4,8% et 14,8%. Ces différences peuvent s'expliquer, d'une part, par le type de solvant utilisé et par la composition chimique des feuilles utilisées. Qui elle-même dépend des conditions écologiques et climatiques et d'autre part de la différence de méthode d'extraction utilisée dans cette étude.

#### Résultats du screening phytochimique préliminaire

Les tests qualitatifs phytochimiques effectués sur les différents extraits hydroéthanoliques ont permis de déceler l'existence d'une variété de métabolites secondaires (Tableau 2).

**Tableau 2 :** Résultats du criblage phytochimique qualitatif des feuilles de *Xanthosoma mafaffa*

Composés phytochimiques	Résultats	
	EHJF	EHFM
Alcaloïdes	+	+
Composés réducteurs	+	+
Tanins	+	+
Glucides totaux	+	+
Flavonoïdes	+	+
Coumarines	+	+
Triterpènes	+	+
Quinones libre	+	+
Glucosides cardiaques	-	-

Légende : + = Présence des composés analysés

- = Absence des composés analysés

Les données issues des tests phytochimiques qualitatifs, présentées dans le tableau 2 montrent que les jeunes feuilles et les feuilles matures de *X. mafaffa* contiennent les mêmes groupes phytochimiques tels que les alcaloïdes, les composés réducteurs, les flavonoïdes, les tanins, les quinones libres, les triterpènes, les saponines, les glucides totaux et les coumarines. L'utilisation d'un solvant hydroéthanolique a permis d'obtenir des extraits qui renferment des composés polaires et semi-polaires tels que les tanins, les saponines, les coumarines, les triterpènes et les polyphénols. Ces composés sont tous connus comme étant les principaux constituants des plantes réputées pour leur

activités antioxydantes [1]. Les résultats des tests phytochimiques (Tableau 2) sont en accord avec ceux obtenus par Dzotam et al. [11] qui, dans leur étude phytochimique préliminaire réalisée sur l'extrait méthanolique des feuilles matures de *X. mafaffa*, ont trouvé également les polyphénols, les tanins, les triterpènes, les saponines, les coumarines, les stérols à l'exception du test positif pour les alcaloïdes dans cette étude. Les études antérieures ont montré que les plantes riches en composés phénoliques tels que les tanins, les flavonoïdes et les saponosides ont des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, antivirales, hypocholestérolémiantes et hépato-protectrices [18]. Les alcaloïdes sont reconnus pour leurs propriétés antitumorales et anticancérogènes. La présence de ces différents groupes chimiques dans les feuilles de *X. mafaffa* est alors un atout majeur et justifie l'usage thérapeutique de cette plante alimentaire au Togo.

### Teneurs en chlorophylles a & b et en caroténoïdes totaux

Le tableau 3 indique les résultats des teneurs en pigments (chlorophylles a & b et caroténoïdes totaux) des deux différents extraits hydroéthanoliques des feuilles de *X. mafaffa*. Les pigments quantifiés dans l'extrait éthanolique ont été supérieurs à ce qui est observé dans l'extrait d'éther diéthylique (Tableau 3). Par ailleurs, les extraits issus des feuilles matures ont présenté les plus fortes teneurs en ces phytoconstituants à l'exception des caroténoïdes.

Les chlorophylles a et b constituent des puissants antioxydants qui aident à protéger les cellules du corps contre les dommages cellulaires causés par les radicaux libres [19]. On reconnaît globalement à ces pigments, le rôle de détoxifiant sanguin et d'assainissant de la flore intestinale. Ils régulent la tension et font baisser le taux de cholestérol sanguins. Les caroténoïdes, quant à eux, sont des provitamines A. Le bêta-carotène alimentaire et d'autres caroténoïdes de provitamines A tels que l' $\alpha$ -carotène et la cryptoxanthine peuvent être obtenus à partir d'un certain nombre d'aliments tels que les fruits et les légumes [20]. C'est le cas des feuilles de *X. mafaffa*. La présence des caroténoïdes en quantités non négligeables dans les extraits de *Xanthosoma mafaffa* est un atout nutritionnel. Dès lors, l'utilisation alimentaire des feuilles de *Xanthosoma mafaffa* pourrait avoir des effets bénéfiques sur l'ostéoporose, la prévention du vieillissement et le renforcement du système immunitaire [22]. La composition phytochimique des feuilles de *X. mafaffa* montre qu'elles renferment les composés à activités biologiques intéressantes. Ces résultats justifient ainsi, leurs usages thérapeutiques. Par ailleurs, leur potentiel nutritionnel se trouve renforcé grâce à la présence de ces phytoconstituants.

**Tableau 3 :** Teneurs en pigments chlorophylles a & b et caroténoïdes totaux

	Ethanol		Diéthyl éther	
	<b>EHJF</b>	<b>EHFM</b>	<b>EHJF</b>	<b>EHFM</b>
<b>Teneur en chlorophylle a (mg/kg)</b>	289,31	495,49	96,12	101,4
<b>Teneur en chlorophylle b (mg/kg)</b>	215,05	505,48	40,94	23,02
<b>Teneur en caroténoïdes (mg/kg)</b>	38,31	24,37	14,84	6,73

EHJF : Extrait hydroéthanolique (50-50 : v/v) des jeunes feuilles  
EHFM : Extrait hydroéthanolique (50-50 : v/v) des feuilles matures

### Conclusion

Cette étude réalisée sur les extraits hydroéthanoliques des feuilles de *Xanthosoma mafaffa* a montré qu'elles possèdent des différents groupes chimiques et des teneurs intéressantes en phytopigments. Une étude ultérieure dans le but d'isoler et identifier des molécules bioactives à activités antioxydantes devrait permettre de mieux cerner la nature des principes actifs pour une utilisation rationnelle de cette ressource naturelle en vue d'une valorisation par des médicaments traditionnels améliorés.

### Références bibliographiques

[1] Muanda N. Identification de polyphenols, evaluation de leur activite antioxydante et etude de leurs proprietes biologiques ; thesis : paul verlaine-metz 2010.

- [2] Singh MK, Singh SK, Singh AV, Verma H, Singh PP, Kumar AJ. Phytochemicals: Intellectual property rights, Editor(s): Prakash B. Functional and Preservative Properties of Phytochemicals, Academic Press, 2020, Pages 363-375.
- [3] Tapsell LC, Hemphill I, Cobiac L, Patch CS, Sullivan DR, Fenech M. et al. Health benefits of herbs and spices: the past, the present, the future. The Medical journal of Australia. 2006; 185(S4): S1–S24. <https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.2006.tb00548.x>
- [4] OMS. Vieillesse et santé [En ligne]; 2016. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>
- [5] Millogo-Koné H, Kini BF, Yougbaré Z, Yaro MB, Sawadogo M. Etudes de la phytochimie et de l'activité antimicrobienne *in vitro* de feuilles de *Moringa oleifera* (Moringaceae). Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine [En ligne]; 2012. Disponible sur: <http://publication.lecames.org/index.php/pharm/article/view/17>
- [6] Mangambu M, Mushagalusa K, Kadima N. Contribution à l'étude photochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, R.D.Congo). J App Biosci. 2014;75(1):6211.
- [7] Mensah JK, Okoli RI, Ohaju-Obodo JO, Eifediyi K. Phytochemical, nutritional and medical properties of some leafy vegetables consumed by Edo people of Nigeria. [En ligne]; 2021. Disponible sur: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/58988>
- [8] Gbenou J, Loko F, M M, A S. Antibacterial activity and phytochemical study of six medicinal plants used in Benin. J Biol Sci. 2011;14(7):449-55.
- [9] Bammitte D, Matthews P J, Dagnon D Y, Akouethe A, Komi O, Alexandre D, et al. Agro morphological characterization of taro (*Colocasia esculenta*) and yautia (*Xanthosoma mafaffa*) in Togo, West Africa. Afr J Food Sci Technol. 2018;13(18):934-45.
- [10] Wallace PA, Marfo EK, Plahar WA. Nutritional quality and antinutritional composition of four non-conventional leafy vegetables. Food Chem. 1998;61(3):287-91.
- [11] Dzotam JK, Touani FK, Kuete V. 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. J Altern Med. 2015;16(1):9.
- [12] Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem 2007;39(1):44-84.
- [13] Favier A. Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique.[En ligne]; 2003. Disponible sur: [https://www.lactualitechimique.org/Le-stress-oxydant-interet-conceptuel-et-experimental-dans-la-comprehension-des-mecanismes-des-wines-in-comparison-with-\(+\)-catechin](https://www.lactualitechimique.org/Le-stress-oxydant-interet-conceptuel-et-experimental-dans-la-comprehension-des-mecanismes-des-wines-in-comparison-with-(+)-catechin). Food Chem. 2004; 86(4):593-600.
- [14] Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteu reagent. [En ligne]; 1999 Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0076687999990171>
- [15] Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry [En ligne]; 1999 Disponible sur: <https://www.scienceopen.com/documentvid770ddd2f-69a4-4101-a22e-79a70a86e349>
- [16] Wellburn AR. The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. J P Physiol. 1994;144(3): 307-13.
- [17] Opong A, Nyarko NA, Ofori-Attah AK. Inhibition of aflatoxin B1-8, 9-epoxide formation by selected Ghanaian vegetables. J Sci Associ. 2015;16(1):44-52.
- [18] Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. J Clin Nutr. 2004;79(5):727-47.
- [19] Novidzro KM, Wokpor K, Fagla BA, Koudouvo K, Dotse K, Osseyi E, et al. Etude de quelques paramètres physicochimiques et analyse des éléments minéraux, des pigments chlorophylliens et caroténoïdes de l'huile de graines de *Griffonia simplicifolia*. Int J Biol Chem Sci. 2019;13(4):2360. <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v13i4.38>
- [20] Ouedraogo R, Koala M, Dabire C, Hema A, Bazie V, Lamoussa P, 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 of Biol Chem Sci. 2015; 9:281-91.
- [21] Sarr O, Fall A, Gueye R, Diop A, Diatta K, Diop N, et al. Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). Int J of Biol Chem Sci. 2015;9:1263.



## Caractéristiques physico-chimiques et composition en acides gras de la matière grasse extraite des graines fermentées de *Parkia biglobosa*

Koffi N'dri Emmanuel<sup>1,2\*</sup>, Cissé Ibrahima<sup>2</sup>, Kouadio Konan Boniface<sup>3</sup>, Anin Atchibri Anin Louise<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ecole Normale Supérieure (ENS), Département des Sciences et Technologie, 08 BP 10 Abidjan 08, Côte d'Ivoire.

<sup>2</sup>INPHB, Laboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles BP 1093 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

<sup>3</sup>Laboratoire de nutrition et sécurité alimentaire, UFR STA, Université NANGUI ABROGOUA, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire.

### Resume :

Les graines fermentées de *Parkia biglobosa* appelées communément 'soumbara' sont reconnues pour leurs effets bénéfiques sur la santé. Ces graines contiennent en moyenne 18 à 37% de matière grasse. La présente étude a pour objectif de déterminer les caractéristiques physico-chimiques et la composition en acides gras de cette matière grasse. Pour ce faire, la matière grasse contenue dans ces graines, provenant de la ville de Korhogo, a été extraite pendant 4 heures au soxhlet. Les caractéristiques physico-chimiques et la composition en acides gras ont été déterminées par les analyses classiques. Les caractéristiques physico-chimiques déterminées sont les suivantes: Ia (8,7 mg de KOH/g d'huile), Ii (101,03 g de I<sub>2</sub>/100 g d'huile), Ip (2,66 méq de O<sub>2</sub>/kg) et Is (162 mg de KOH/g d'huile). Par ailleurs, les différents acides gras identifiés dans cette matière grasse sont : l'acide linoléique (34,59%), l'acide palmitique (19,28%), l'acide élaïdique (17,19%), l'acide stéarique (16,840%), l'acide béhénique (8,73%), l'acide arachidique (2,40%) et l'acide lignocérique (0,96%). Donc, la matière grasse du *soumbara* contient en majorité des acides gras insaturés (51,79%). Au regard de sa composition en acides gras, le *soumbara* serait bénéfique pour le consommateur s'il fait partie intégrante de ses habitudes alimentaires.

**Mots clés :** *Parkia biglobosa*, caractéristiques physico-chimiques, composition en acide gras.

### ABSTRACT:

The fermented seeds of *Parkia biglobosa* commonly called 'soumbara' are known for their beneficial effects on health. These seeds contain an average of 18 to 37% fat. The aim of this study is to determine the physicochemical characteristics and the fatty acid composition of this fat. To do this, the fat contained in these seeds, from the town of Korhogo, was extracted for 4 hours at soxhlet. The physicochemical characteristics and the fatty acid composition were determined by conventional analyzes. The physicochemical characteristics determined are as follows: Ia (8.7 mg of KOH/g of oil), Ii (101.03 g of I<sub>2</sub>/ 100 g of oil), Ip (2.66 meq of O<sub>2</sub>/kg) and Is (162 mg KOH/g oil). In addition, the different fatty acids identified in this fat are: linoleic acid (34.59%), palmitic acid (19.28%), elaidic acid (17.19%), stearic acid (16.840%), behenic acid (8.73%), arachidic acid (2.40%) and lignoceric acid (0.96%). Therefore, soumbara fat contains mainly unsaturated fatty acids (51.79%). In view of its fatty acid composition, soumbara would be beneficial for the consumer if it is an integral part of their eating habits.

**Keywords:** *Parkia biglobosa*, physicochemical characteristics, fatty acid composition.

### 1. Introduction

*Parkia biglobosa* communément appelé néré est une espèce d'arbre de la famille des *Mimosaceae*. Ses graines sont transformées, en Afrique de l'Ouest, après fermentation en un ingrédient alimentaire connu sous différentes appellations: *soumbala* au Burkina Faso, *nététu* au Sénégal, *soumbara* en Guinée Conakry et Côte d'Ivoire, *dawadawa* et *iru* au Nigéria, *afitin*, *iru* et *sonru* au Bénin [1]. Ces graines fermentées sont utilisées dans de nombreux mets, comme épice pour relever le goût de certains repas. Elles servent souvent de source de protéines pour les familles à faible revenu. C'est un condiment au goût de fromage dû à la présence d'acide glutamique, très populaire et jouant un rôle important comme exhausteur de goût dans de nombreux mets [2]. Cet ingrédient alimentaire devient de plus en plus populaire en raison de sa forte valeur nutritionnelle [3]. En effet, il est riche en vitamines, notamment en vitamines du groupe B (thiamine, riboflavine et niacine) [4], ainsi qu'en minéraux tels que le calcium, le fer et le phosphore. Il possède également certaines propriétés médicinales telles que la baisse de la pression artérielle et la réduction de la glycémie [5]. Par ailleurs, les travaux de Fatoumata et al. [3], ont révélé que ces graines fermentées de *P. biglobosa* provenant de la Côte d'Ivoire renferment une quantité relativement importante de matière grasse variant entre 18 à 37%. La connaissance en acides gras de ces graines fermentées pourrait renseigner le consommateur sur l'effet de la consommation de la matière grasse contenue dans le *soumbara* sur sa santé. C'est ainsi que la présente étude a été menée afin de déterminer les caractéristiques physico-chimiques et la composition en acides gras de la matière grasse des graines fermentées de *P. biglobosa*.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1 Matériel végétal

Le matériel végétal représente les graines fermentées de *Parkia biglobosa* couramment appelé le *soumbara* de néré. Ces graines sont issues de la ville de Korhogo (ville situé au nord de la Cote d'Ivoire) (Figure 1). La poudre et l'huile de *soumbara* ont été obtenues à partir de ce matériel végétal.



Figure 31: Graines de *Parkia biglobosa*

### 2.2 Méthodes

#### 2.2.1 Production des graines fermentées de *Parkia biglobosa*

Les graines ont été d'abord trempées puis décortiquées avant de subir une première cuisson d'environ 13 heures. Cette étape favorise le ramollissement de l'enveloppe des graines. Ensuite, les graines ont été décortiquées puis lavées avant de subir une seconde cuisson de 1 à 2 heures de temps. Les graines obtenues après cette cuisson ont été égouttées, triées avant d'être mise en fermentation pendant 72 heures à une température autour de 40°C. Les graines fermentées ont été séchées au soleil afin d'obtenir le *soumbara*. Le *soumbara* a par la suite été broyé dans un mortier en porcelaine jusqu'à l'obtention d'une poudre. L'huile de *soumbara* a été extraite à partir de cette poudre.

#### 2.2.2 Extraction de l'huile des graines fermentées de *Parkia biglobosa*.

L'extraction de l'huile issue des graines de néré a été faite par la méthode d'extraction de type soxhlet selon AOAC 960.39 [6]. L'extraction a été faite à chaud (65-70°C) par l'utilisation de l'hexane comme solvant d'extraction.

##### 2.2.2.1 Détermination des paramètres physico-chimiques de l'huile

Les paramètres physico-chimiques de l'huile qui ont été déterminées sont les suivants :

- Indice d'acide et d'acidité de l'huile sont déterminés selon la norme AFNOR [7].
- Indice de peroxyde et de saponification sont déterminés selon la norme AFNOR [7].
- Indice d'iode de l'huile déterminé par la méthode de Wijs décrite par AOAC [8].

##### 2.2.2.1 Détermination de la composition en acides gras de l'huile

###### ✓ Préparation des esters méthyliques

Les esters méthyliques d'acides gras ont été préparés par le réactif au trifluorure de bore à la concentration de 8 % dans du méthanol ( $\text{BF}_3$  / MetOH). 3 gouttes d'huile ont été reprises dans un tube à essai à vis de 10 mL. 1,5 mL d'hexane et 1,5 mL  $\text{BF}_3$  / MetOH y ont été ajoutés. Le tube a été fermé hermétiquement sous azote, agité énergiquement, puis placé au bain marie à 50° C pendant 20 secondes. Après refroidissement à température ambiante, 1 mL d'hexane et 2 mL d'eau distillée ont été ajoutés au mélange, puis agité sous azote. Deux phases se séparent après repos. La phase supérieure a été récupérée dans un autre tube mis sous azote. Quant à la phase inférieure, elle a été extraite deux fois avec 1 mL d'hexane.

L'ensemble des phases (esters méthyliques) collectées est lavé avec 2 mL d'eau distillée, puis séché sur du sulfate de sodium anhydre. Le solvant est évaporé sous azote. 5 mL d'hexane y ont été ajoutés pour concentrer les esters méthyliques adaptés à l'analyse par chromatographie en phase gazeuse.

###### ✓ Analyse chromatographique en phase gazeuse (CPG)

✓ L'analyse des esters méthyliques a été réalisée sur un chromatographe en phase gazeuse de type Hewlett-Packard HP 5890 Séries II. L'appareil CPG était équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). La colonne capillaire utilisée est une CP-Select CB, type WCOT Fused Silica de longueur 50 m, de diamètre interne 0,25 mm et d'épaisseur 0,25 mm. Le gaz vecteur utilisé est l'Hélium avec un débit de 1,2 mL/min. La température de l'injecteur était de 250 °C. L'identification des pics représentatifs des esters méthyliques a été réalisée en utilisant des substances esters méthyliques de références PUFA 1 et PUFA 2 et ceci par comparaison des temps de rétention de

chaque pic du chromatogramme avec ceux obtenus pour les étalons. Le volume de l'échantillon estérifié injecté était d'un microlitre (1  $\mu$ L).

### 3. Resultats et discussion

#### 3.1 Résultats

##### 3.1.1 Caractéristiques physico-chimiques de l'huile des graines fermentées de *Parkia biglobosa*

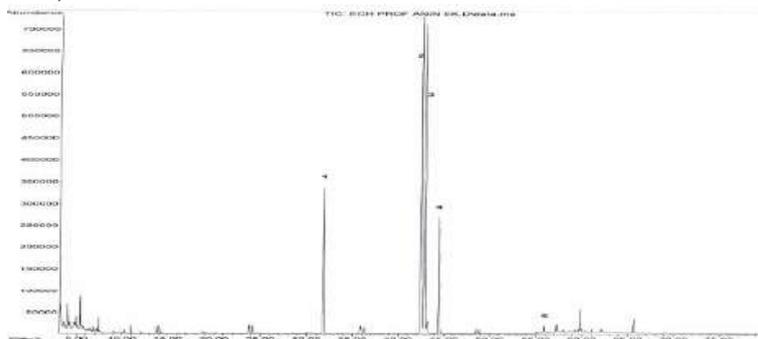
Les graines fermentées de *Parkia biglobosa* renferment  $35,03 \pm 0,22$  % de matière grasse. Les caractéristiques physico-chimiques de cette matière grasse sont consignées dans le tableau I. L'indice d'acide est de 8,7 mg de KOH/g d'huile avec une acidité de l'ordre de 4,79%. L'indice de peroxyde et l'indice de saponification sont respectivement de 2,66 méq de O<sub>2</sub>/kg et de  $162,69 \pm 1,40$  mg de KOH/g d'huile, 101,03 g d'iode/100g d'huile pour l'indice d'iode.

**Tableau I :** Caractéristiques physico-chimique de l'huile extraite des graines de *P. biglobosa*

Paramètres	Valeur moyenne
Rendement (%)	$35,03 \pm 0,22$
Indice d'acide (mg de KOH/g d'huile)	$8,7 \pm 0,00$
Acidité (%)	$4,79 \pm 0,12$
Indice de peroxyde (méq d'O <sub>2</sub> /Kg d'huile)	$2,66 \pm 0,57$
Indice de saponification (mg de KOH/g d'huile)	$162,69 \pm 1,40$
Indice d'Iode (g d'iode/100g d'huile)	$101,03 \pm 0,40$

##### 3.1.2. Composition en acides gras de l'huile des graines fermentées de *Parkia biglobosa*

Le profil chromatographique des acides gras de l'huile extraite des graines de *Parkia biglobosa* présente 7 pics majoritaires (**Figure 2**). Le composé majoritaire est représenté par le pic ayant pour temps de rétention 42,491 min.



**Figure 2 :** Chromatogramme de l'huile de *Parkia biglobosa*

Le nom des acides gras représentés par les pics 1 à 7 (Figure 2) sont indiqués dans le tableau II. L'acide gras le plus abondant est l'acide linoléique (34,59%). Les autres acides gras sont d'acide palmitique (19,28%), l'acide élaïdique (17,19%), l'acide stéarique (16,840%), l'acide Béhénique (8,73%), l'acide arachidique (2,40%), l'acide lignocérique (0,96%).

**Tableau II :** Composition en acides gras de l'huile extraite des graines fermentées de *Parkia biglobosa*.

N° Pic	T <sub>R</sub> (min)	Acides gras identifiés	Proportion (%)
<b>Acide gras saturés</b>			
1	31,839	Acide palmitique (C16 :0)	19,282
4	44,487	Acide stéarique (C18 :0)	16,840
6	55,894	Acide arachidique (C20 :0)	2,402
5	60,429	Acide Béhénique (C22 :0)	8,730
7	66,594	Acide Lignocérique (C24 :0)	0,960

		<b>Total</b>	<b>48,21</b>
		<b>Acide gras insaturés</b>	
2	42,491	Acide linoléique (C18 :2n6)	34,590
3	42,853	Acide Elaïdique (C18 :1n9)	17,196
		<b>Total</b>	<b>51,79</b>

### 3.2 Discussion

Les résultats indiquent que la teneur en matière grasse des graines fermentées de *Parkia biglobosa* est de  $35,03 \pm 0,22\%$ . Ce résultat est proche de celui de Fatoumata et al. [3] qui ont trouvé une teneur en matière grasse de l'ordre de 37% lors de leur étude menée sur les graines fermentées de *Parkia biglobosa* provenant de Korhogo. L'indice d'acide de cette huile est supérieur à celui recommandé pour une huile alimentaire qui est de 6 mg de KOH/g [9]. Cette valeur élevée d'indice d'acide pourrait être due à la présence d'un taux élevé d'acides gras libres dans cette huile. Par contre, l'indice de peroxyde de cette huile est inférieur à la valeur recommandée ( $\leq 10$  méq de  $O_2$ /kg d'huile). Cela montre que l'huile extraite des graines fermentées de *Parkia biglobosa* est à un niveau d'oxydation acceptable [10]. En outre, l'indice d'iode de cette huile est de  $101,03 \pm 0,4$  g d'iode/100g d'huile. Cet indice d'iode est supérieur à ceux de l'huile de coco (6,3-10,6) et de palme (50-55) [9]. Cette huile pourrait être classée parmi les huiles non siccatives, car ayant un indice d'iode compris entre 0 à 110 g I<sub>2</sub>/100 g d'huile. De plus, l'huile des graines fermentées de *P. biglobosa* présente un indice de saponification de  $162,69 \pm 1,40$  mg de KOH/g d'huile. Cet indice de saponification est inférieur à ceux des huiles utilisées en savonnerie telles que l'huile de coco (246-268 mg/g), l'huile de palme (195-205 mg/g) et l'huile de palmiste (240- 257 mg/g) [9]. Donc elle ne serait pas un bon candidat pour la savonnerie.

Par ailleurs, le profil d'acide gras nous a permis d'identifier 07 acides gras présents dans l'huile des graines fermentées *P. biglobosa*, avec l'acide linoléique comme acide gras majoritaire. Cette composition en acides gras est similaire à celle du *netutu* (*soumbara* du Sénégal) [9]. La présence de l'acide linoléique, un acide gras essentiel appartenant à la famille des  $\omega$ -6, peut être bénéfique pour le consommateur. Les autres acides gras présents dans l'huile des graines fermentées de *P. biglobosa* pourraient servir de source d'énergie pour les consommateurs.

### 3. Conclusion

Cette étude a permis de déterminer les caractéristiques physico-chimiques et la composition en acides gras de cette matière grasse. Les résultats indiquent que les graines fermentées de *Parkia biglobosa* ont une teneur en matière grasse de 35%. L'huile extraite de ces graines fermentées contient en majorité des acides gras insaturés (51,79%). Au regard de sa composition en acides gras, le *soumbara* serait bénéfique pour le consommateur s'il fait partie intégrante de ses habitudes alimentaires.

### 5. Références bibliographiques

- [1] Coulibaly-Diakité M. ; Parkouda C. ; Compaoré S., Savadogo A. (2020).Revue des principaux produits dérivés et contraintes de production. *Journal of Applied Biosciences*. 152, 15698-15708
- [2] Ouoba L.I (2003). Genotypic and Biochemical Characterization and Antimicrobial Activity of Bacillus sp. for the development of Starters for the Controlled Production of Soumbala. . *Ph.D. Dissertation, University of Ouagadougou*.
- [3] Fatoumata C. ; Soronikpoho S. ; Souleymane T., et al. (2016). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 10(2), 506-518.
- [4] Ndir B., Lognay G. ; Wathelet B., et al. (2000) *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. 4(2), 101-105.
- [5] Pelig-Ba K. B. (2009). *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(10) : 1548-1554.
- [6] AOAC (2005). Official method of analysis of the Association of official Analytical Chemist, 5th ad. AOAC Press, Arlington, Virginia, USA.
- [7] AFNOR. (1984). Recueil française : corps gras, graines oléagineuses et produits dérivés. AFNOR : Paris, 459p.

- [8] AOAC (2000). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists 17th Ed, Washington, 684 p.
- [9] *Codex Alimentarius* (2017). Normes alimentaires Internationales pour les huiles végétales portant un nom spécifique CODEX STAN 210-1999. Adoptée en 1999. Révisée en 2001, 2003, 2009, 2017. Amendée en 2005, 2011, 2013, 2015.
- [10] Adebisi G. A. Olagunju E. O. (2011) *Journal of New Trends Sciences Technology Application*. &, 7-18.

## Composition phytochimique et activité antibactérienne des extraits aqueux et éthanoliques de *Desmodium triflorum* (L.) DC. (Fabaceae) de Côte d'Ivoire.

N'Guessan Alain Hugues Olivier<sup>1</sup>, Douzo Arsène Demisère<sup>2</sup>, Atsain Marie Rosine<sup>3</sup>, Bekro Yves Alain<sup>4</sup>.

<sup>1,2,3,4</sup> Université Nangui Abrogoua, Laboratoire de Chimie Biorganique et des Substances Naturelles, 02 BP 801 Abidjan 02.

### Resumé

La médecine traditionnelle basée sur les plantes est intégrée dans le système de santé ivoirien. Cependant, parmi les plantes dont les fondements scientifiques de leurs usages traditionnels sont à prouver, figure *Desmodium triflorum*. Cette plante est peu connue en Côte d'Ivoire, mais très appréciée dans certains pays asiatiques pour ces usages traditionnels médicaux. Ce travail vise à évaluer la teneur en composés phénoliques et l'activité antibactérienne des extraits aqueux et éthanoliques de *Desmodium triflorum*. Pour ce faire, un criblage phytochimique par réactions colorées, une quantification des composés phénoliques par spectrophotométrie et une évaluation de l'activité antibactérienne ont été réalisés. Les résultats obtenus ont montré que lesdits extraits contiennent tous des polyphénols. De plus, les extraits éthanoliques sont plus riches en composés phénoliques totaux, flavonoïdes totaux et tanins hydrolysables que les extraits aqueux, avec une distribution accrue au niveau des feuilles et de la plante entière. Aussi, lesdits extraits sont tous bactéricides vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. Mais, ils sont inefficaces contre la croissance des souches de *Escherichia coli* et de *Pseudomonas aeruginosa*. Pour une macération de *Desmodium triflorum*, il serait préférable d'utiliser l'éthanol plutôt que l'eau. Dans la continuité de ce travail, il est envisagé d'évaluer la toxicité de cette plante.

**Mots clés :** *Desmodium triflorum*, Extraits aqueux et éthanoliques, composés phénoliques, activité antibactérienne.

### Abstract

Traditional herbal medicine is integrated into the ivoirian health system. However, *Desmodium triflorum* is one of medicinal plants whose efficiency has not been proven. This plant is not known in Ivory Coast, but it very popular in some astatic countries for these traditional medical uses. This work aims is to evaluate the content of phenolic compounds and the antibacterial activity of aqueous and ethanolic extracts of *Desmodium triflorum*. To achieve the goal, phytochemical screening by colored reactions, and quantification of phenolic compounds by spectrophotometry and evaluation of antibacterial activity were realised. The obtained results have shown that both extracts contain polyphenols. In addition, ethanolic extracts are richer in total phenolic compounds, total flavonoids and hydrolyzable tannins than aqueous extracts, with increased distribution in the leaves and the whole plant. Also, the aqueous and ethanolic extracts are all bactericidal against *Staphylococcus aureus*. But, they are ineffective against the growth of strains of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. For using *Desmodium triflorum* by maceration, it would be better to use ethanol rather than water. As a continuation of this work, it is planned to evaluate the toxicity of this plant.

**Key words:** *Desmodium triflorum*, aqueous and ethanolic extracts, phenolic compounds, antibacterial activity

### 1. Introduction

L'usage des médicaments à base de plantes pour des besoins de santé primaire, est très répandue en Afrique et dans certains pays en développement [1]. Cependant, sur les 20 000 plantes médicinales utilisées dans le monde, environ 2 000 à 3 000 plantes ayant fait l'objet d'études scientifiques pouvant garantir l'innocuité des médicaments à base de plantes ont été dénombrées [2]. Ce qui suppose que les 17 000 plantes non encore exploitées sur le plan scientifique représentent une menace pour la santé des populations qui les utilisent. Face à cette situation, l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a fait de la qualité, la sécurité et l'efficacité des médicaments à base de plante son leitmotiv dans sa stratégie d'accès aux soins universels [1]. Laquelle stratégie passe par plusieurs actions prioritaires au niveau régional et international incluant la recherche sur les plantes médicinales [1]. Ainsi, pour apporter notre contribution à l'atteinte des objectifs fixés par l'OMS, nous nous sommes intéressés à *Desmodium triflorum*. L'espèce ivoirienne n'a jamais fait l'objet d'études au regard des informations tirées de la littérature. La plante est très peu connue en Côte d'Ivoire pour ces usages traditionnels médicaux. Mais, elle est beaucoup utilisée dans les pays asiatiques, les îles du Pacifique pour traiter diverses affections pathologiques (dont diarrhée, dysenterie, cataracte, abcès, plaies, les dermatoses, etc. [3-5]. Le présent travail vise à déterminer la composition phytochimique et évaluer l'activité antibactérienne des extraits aqueux et éthanoliques de *Desmodium triflorum* afin de garantir son innocuité dans les usages traditionnels tous azimuts.

### 2. Matériel et méthodes

#### 2.1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est composé des feuilles (F), du binôme (tige+racines) (R+T) et de la plante entière (P<sub>ent</sub>) de *D. triflorum*. Cette plante a été récoltée au sein de l'Université Nangui Abrogoua en mai 2019, puis identifiée au Centre National de Floristique (CNF) de l'Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody (Abidjan). Les différents organes de cette plante ont été nettoyés, et séchés dans une salle climatisée (18°C) pendant sept jours, puis pulvérisés

à l'aide d'un broyeur électrique. Les différentes poudres obtenues ont été conservées dans des bocaux hermétiquement fermés.

## 2.2 Méthodes

### 2.2.1 Screening phytochimique des extraits aqueux et éthanoliques

#### ✓ Détection des polyphénols

À 2 mL d'extrait aqueux ou éthanolique de chaque échantillon végétal, sont additionnées quelques gouttes d'une solution aqueuse de chlorure de fer (III) ( $\text{FeCl}_3$ ) à 2%(m/v). L'apparition d'une coloration bleu-noir ou vert-noir indique la présence de polyphénols [6].

#### ✓ Détection des flavonoïdes

- **Test à l'ammoniaque** : À 1 mL d'extrait aqueux ou éthanolique, sont ajoutées 3 à 5 gouttes d'une solution ammoniacale. L'apparition d'une coloration jaune à froid ou orange ou rouge à chaud indique la présence de flavones, flavanones, flavonols, flavononols. Une coloration à froid montre la présence de chalcones et d'aurones tandis qu'une coloration bleue ou violette indique la présence d'anthocyanes [6].

- **Test à la vanilline** : À 1 mL de d'extrait aqueux ou éthanolique, sont ajoutées 3 à 5 gouttes d'une solution d'acide de vanilline (1 g de vanilline dans 50 mL de HCl concentré). L'apparition d'une coloration rouge-fraise indique la présence de catéchines (dérivés de fluoglucine et / ou résorcine) [6].

#### ✓ Détection des coumarines (Test sur le cycle lactonique)

Dans 2 tubes à essai sont introduits 2 mL d'extrait aqueux ou éthanolique, auxquelles sont ajoutés 0,5 mL de NaOH (10%, m/v) dans chaque tube. Les mélanges obtenus sont chauffés au bain-marie jusqu'à ébullition. Après refroidissement, sont rajoutés dans chaque tube 4 mL d'eau distillée. Si le liquide du tube dans lequel est ajoutée la solution alcaline est jaune transparent par rapport au liquide du tube ne contenant pas d'alcali, la réaction est positive. En acidifiant la solution transparente avec quelques gouttes de HCl concentré, elle perd sa coloration jaune, se trouble ou il se forme un précipité [7].

#### ✓ Détection des tanins par le test de Stiasny

Dans un tube à essai, 5 mL de réactif de Stiasny (30% de  $\text{CH}_2\text{O}$  dans HCl concentré 2/1 (v/v)) ont été additionnés à une aliquote d'extrait reprise dans 5 mL de méthanol, ensuite chauffée. La formation de flocons après refroidissement, indique une réaction positive. La solution est ensuite filtrée et saturée avec du nitrate de sodium ( $\text{NaNO}_3$ ). À ce mélange sont ajoutées quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  (2%, m/v). La réaction est positive pour les tanins galliques si une coloration bleu-noirâtre apparaît [6].

#### ✓ Détection des quinones par le test de Borntraëger

Une quantité aliquote d'extrait aqueux ou éthanolique de chaque échantillon végétal est dissoute dans 5 mL de HCl dilué au 1/5 et chauffée au bain-marie bouillant pendant 30 min. Elle est ensuite extraite avec 20 mL de  $\text{CHCl}_3$  après refroidissement. À la phase chloroformique est additionné 0,5 mL de  $\text{NH}_4\text{OH}$  dilué à 50%(v/v). L'apparition d'une teinte allant du rouge au violet indique une réaction positive [7].

#### ✓ Détection des alcaloïdes

Dans 6 tubes à essai sont repartis les extraits aqueux et éthanoliques. Dans chaque tube sont ajoutées respectivement quelques gouttes de solution aqueuse, de réactif de Dragendorff. L'apparition de précipités intenses colorés indique une réaction positive [6 ;8].

#### ✓ Détection des stérols et polyterpènes

Une quantité aliquote d'extrait brut éthanolique ou aqueux est dissout à chaud dans 1 mL d'anhydride acétique ( $\text{CH}_3\text{CO}_3\text{CH}_3$ ) dans un tube à essai. Ensuite, 0,5 mL d'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) concentré est coulé lentement sur les parois du tube à essai. L'apparition d'une coloration violette virant au bleu puis au vert indique une réaction positive [9].

#### ✓ Détection des saponines par le test de mousse

1 g de matière végétale sèche et broyée est utilisée pour préparer une décoction avec 100 mL d'eau distillée pendant 30 min. Après refroidissement et filtration, le volume est réajusté à 100 mL avec de l'eau distillée. À partir de la solution mère, 10 tubes à essai ayant tous un même diamètre interne contenant respectivement 1, 2, 3, ..., 10 mL sont préparés ; le volume final est réajusté à 10 mL avec de l'eau distillée. Chacun des tubes est vigoureusement agité en position horizontale pendant 15 s. Après 15 min de repos en position verticale, la hauteur de la mousse persistante est relevée. Si elle est inférieure à 1 cm dans tous les tubes, l'indice de mousse recherché est inférieur à 100. Si elle est de 1 cm dans l'un des tubes, la dilution de la drogue dans ce tube est l'indice de mousse recherché. Si par exemple, il s'agit du 4<sup>e</sup> tube renfermant 4 mL de décocté à 1%, soit 0,4 g de drogue, l'indice de mousse ( $I_m$ ) est  $10/0,04 = 250$  [10].

✓ **Détection des saponines triterpènes et stéroïdes**

Dans un tube à essai sont introduits 5 mL de HCl (0,1 N) et dans un autre 5 mL de lessive de soude (NaOH (0,1N)). Dans chaque tube, 2 à 3 gouttes d'extrait végétal sont ajoutées (alcoolique ou aqueux) puis l'ensemble est vigoureusement agité. Si dans les tubes, il se forme une mousse stable égale en volume et en hauteur, alors on est en présence de saponines triterpènes. Si dans le tube contenant la solution alcaline, il se forme une mousse très importante en volume et plus stable comparativement au tube contenant la solution acide, on est en présence de saponines stéroïdes [6].

✓ **Détection des glycosides cardiotoniques par le test de Liebermann-Bürchard**

Une quantité aliquote d'extrait brut éthanolique est reprise dans l'acide acétique glacial à laquelle un mélange de  $\text{CH}_3\text{CO}_3\text{CH}_3$  et  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré dans les proportions 50 : 1 (v/v) est additionné. Après quelques minutes, il se développe une coloration allant du rose au vert et bleu si le test est positif [8].

✓ **Détection des protéines par la réaction du Biuret**

Dans un tube à essai, une quantité aliquote d'extrait brut éthanolique est reprise dans 2 mL de NaOH aqueux à 20% (m/v) à laquelle sont additionnées 2 à 3 gouttes d'une solution aqueuse à 2% (m/v) de sulfate de cuivre ( $\text{CuSO}_4$ ). L'apparition d'une coloration violette tantôt avec une teinte rougeâtre, indique une réaction positive [8].

✓ **Test d'identification des sucres**

**Test de MOLISCH**

L'essai de MOLISCH est utilisé comme test général d'identification d'une substance glucosidique. Tous les glucides libres ou liés ayant une structure supérieure aux tétroses, peuvent être transformés, en présence d'un acide fort, en furfural (pentoses) ou en hydroxyméthylfurfural (hexoses). Ce dernier se condense à son tour avec le 1-naphtol pour produire des composés colorés sulfoniques.

À 2 mL de l'extrait aqueux ou éthanolique sont ajoutées 2 à 3 gouttes du réactif de Molisch, puis 2 à 3 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Il se forme un anneau violet au contact des 2 liquides, une teinte verdâtre se forme sous l'anneau et colore lentement la solution de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  [8].

**Réactif de MOLISCH :** 1-naphtol (solution à 1% ; 0,25g) ; Ethanol (50 mL) ;  $\text{H}_2\text{SO}_4$  à 20% (50 mL) .

**Test de SELIWANOFF**

Le test de Seliwanoff sert à identifier les cétooses par la vitesse de déshydratation des glucides en hydroxyméthylfurfural. Les cétooses, moins stables dans ces conditions que les aldoses, sont rapidement dégradés et l'hydroxyméthylfurfural produit se condense le résorcinol produisant ainsi une coloration rouge dans les premières minutes.

**Réactif de SELIWANOFF :** Solution de résorcinol à 0,05% dans HCl 25%. Les cristaux de résorcinol se dissolvent dans l'eau en quantité égale avec HCl.

3 mL du réactif sont ajoutés à 0,5 mL d'échantillon. L'ensemble est chauffé au bain-marie bouillant pendant 15 min. L'apparition d'une coloration rouge indique une réaction positive.

## 2.2.2 Évaluation de l'activité antibactérienne

### 2.2.1 Test d'efficacité

Une concentration d'extraits de 200 mg/mL a été préparée et mise dans des puits réalisés sur les géloses préalablement ensemencées. Des solutions à volume égal d'éthanol + d'eau physiologique stérile et d'eau distillée stérile ont servi de témoin négatif et les antibiotiques Ampicilline + Acide clavulanique (AMC), Céfotaxime (CTX), Ceftazidime (CAZ), Imipénème (IPM) et Céfoxitine (FOX) ont été employés comme témoins positifs .

### 2.2.2. Détermination de la CMI (Concentration minimale inhibitrice) par dilution en milieu liquide

100  $\mu\text{L}$  des différentes concentrations d'extrait végétal à tester ont été répartis dans les puits de microplaque de la plus grande concentration à la plus faible [11-12] ainsi que de l'eau distillée stérile (Tc). À ces quantités sont ajoutés 100  $\mu\text{L}$  de l'inoculum bactérien. Pour le témoin de stérilité (Ts), 200  $\mu\text{L}$  d'eau distillée sont mis dans un puit de la microplaque.

La microplaque a été incubée à 37°C pendant 24 h. La CMI correspond donc à la concentration du premier puit expérimental à partir de laquelle aucun trouble n'est observé à l'œil nu. Cette opération a été répétée 3 fois de suite.

## 3. Résultats et discussion

### 3.1 Résultats

#### 3.1.1. Composition phytochimique des extraits aqueux et éthanoliques

Les tests de détection de phytoconstitués réalisés sur les extraits bruts aqueux et éthanoliques ont permis de mettre en évidence, divers groupes de métabolites secondaires dans les différentes parties de *D. triflorum* étudiées. (**Tab. I**)

**Tableau V:** Différents phytoconstitués contenus dans les extraits éthanoliques et aqueux mis en évidence par les tests d'identification

Phytoconstitués	Tige-racine		Feuille		Plante entière	
	E <sub>éth</sub>	E <sub>aq</sub>	E <sub>éth</sub>	E <sub>aq</sub>	E <sub>éth</sub>	E <sub>aq</sub>
polyphénols	+	+	+	+	+	+
Flavonoïdes	+	+	+	+	+	+
Coumarines	-	+	-	+	-	+
Tanins	+	-	+	-	+	-
Quinones	-	-	-	-	-	-
Alcaloïdes	+	-	+	-	+	-
Stéroïdes et polyterpènes	-	-	-	-	-	-
Saponines	-	-	-	-	-	-
Saponines triterpènes et stéroïdes	-	-	-	-	-	-
Protéines	-	-	-	-	-	-
Glucides	+	+	+	+	+	+
cétoles	+	-	+	-	+	-

(+) = présence ; (-)=absence

### 3.1.2 Sensibilité des souches aux différents extraits

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et éthanoliques sont consignés dans le tableau V.

*Tableau II : Diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et éthanoliques*  
Diamètre d'inhibition (mm)

Souches	F <sub>aq</sub>	F <sub>éth</sub>	P <sub>aq</sub>	P <sub>éth</sub>	R+T <sub>aq</sub>	R+T <sub>éth</sub>
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0	0	0	0	0	0
<i>E. coli</i> 353UB/19 CNRa	0	0	0	0	0	0
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	19,33 ± 0,94	15,33 ± 0,47	15,67 ± 0,47	14 ± 0,01	9,66 ± 0,47	10,66 ± 0,47
<i>S. aureus</i> 348C/19 CNRa	10 ± 0,82	14 ± 0,82	13 ± 0,82	13,67 ± 0,47	13,33 ± 0,47	10,67 ± 0,47

<i>P. aeruginosa</i> ATCC	0	0	0	0	0	0
27853						
<i>P. aeruginosa</i> 692 Ma/19	0	0	0	0	0	0

### 3.1.3 Mode d'action des extraits efficaces par diffusion en milieu liquide

Les paramètres antibactériens CMI et CMB des extraits ayant présenté une activité inhibitrice ont été déterminés (tab. III). Les résultats indiquent que le rapport d'activité CMB/CMI est égal à 1 pour tous les extraits testés. Cela signifie que tous les extraits testés sont bactéricides. En effet selon Fauchere [14], lorsque le rapport CMB/CMI d'une substance est inférieur ou égal à 1, cette substance est dite bactéricide tandis qu'elle est jugée bactériostatique, si ce rapport est supérieur à 1. Cette activité bactéricide des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles, du binôme (tige+racines) et de la plante entière pourrait justifier son usage traditionnel contre la toux, l'asthme, les plaies, la dysenterie, la diarrhée...

Tableau VI: Paramètres antibactériens des extraits efficaces contre les souches de staphylocoques

Souche		CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)	CMB/CMI	Interprétation
	F <sub>aq</sub>	25	25	1	Bactéricide
	F <sub>eth</sub>	25	25	1	Bactéricide
<i>aureus</i> ATCC 25923	P <sub>aq</sub>	25	25	1	Bactéricide
	P <sub>eth</sub>	25	25	1	Bactéricide
	R+T <sub>aq</sub>	25	25	1	Bactéricide
	R+T <sub>eth</sub>	25	25	1	Bactéricide
	S.	F <sub>aq</sub>	25	25	1
<i>aureus</i> 348C/19 CNRa	F <sub>eth</sub>	25	25	1	Bactéricide
	P <sub>aq</sub>	25	25	1	Bactéricide
	P <sub>eth</sub>	25	25	1	Bactéricide
	R+T <sub>aq</sub>	25	25	1	Bactéricide
	R+T <sub>eth</sub>	25	25	1	Bactéricide

### 3.2 Discussion

Les résultats indiquent que les polyphénols, les flavonoïdes et les glucides ont été révélés dans tous les extraits bruts aqueux et éthanoliques des feuilles, du binôme (tige+racines) et la plante entière. Les tanins, les alcaloïdes et les cétooses ne sont présents que dans les extraits bruts éthanoliques. En revanche, les saponines triterpènes et stéroïdes et les coumarines ne sont présentes que dans les extraits aqueux. Par ailleurs, les protéines absentes dans les extraits ont été détectées par Thankachan et al. [14] dans les extraits aqueux et méthanoliques de la plante entière de *D. triflorum* de l'Inde. Ces résultats contradictoires pourraient s'expliquer par les conditions expérimentales, la méthode et le solvant d'extraction des phytoconstitués. À l'analyse de l'ensemble des métabolites soupçonnés dans tous les extraits, nous notons que le nombre de phytoconstitués extrait par l'éthanol est supérieur à celui extrait par l'eau. Ce qui est en accord avec les résultats des travaux réalisés par Thankachan et al. [15] sur la plante entière de *D. triflorum*. En effet, dans une étude réalisée sur les extraits aqueux et organiques (méthanol et éther de pétrole) de *D. triflorum*, ils ont montré que le méthanol extrait plus de phytoconstitués que l'eau et l'éther de pétrole. Par ailleurs, les phytoconstitués détectés dans les feuilles, l'ensemble (tige+racines) et la plante entière de *D. triflorum* pourraient

justifier leur usage traditionnel dans le traitement de plusieurs affections pathologiques à savoir la toux, les abcès, la fièvre, les infections hépatiques, la jaunisse, l'asthme, les dermatoses, etc).

L'analyse des diamètres indique que les extraits testés n'ont pas tous inhibé la croissance des souches bactériennes. Les souches de *Escherichia coli* (353UB/19 CNRA(663C/19) et ATCC 25922) et de *Pseudomonas aeruginosa* (692 Ma/19 et ATCC 27853), avec des diamètres de zones d'inhibition égales à 0 mm sont résistantes à tous les extraits. Par contre, la souche de *S. aureus* ATCC 29213 est sensible (diamètre de zones d'inhibition de  $10 \pm 0,82$  et  $14 \pm 0,82$  mm) aux extraits du binôme (tige+racines) et très sensible (diamètre de zones d'inhibition compris entre  $14 \pm 0,01$  et  $19,33 \pm 0,01$  mm) aux extraits des feuilles et de la plante entière. Quant à la souche de *S. aureus* 348C/19 CNRA, avec des diamètres de zones d'inhibition compris entre  $10 \pm 0,82$  et  $14 \pm 0,82$  mm, est sensible à tous les extraits. En effet, selon Ponce et al. [16], une bactérie est dite résistante à un extrait lorsque le diamètre de zone d'inhibition autour de cet extrait est  $\leq 8$  mm et sensible si ce diamètre est compris entre 9 et 14 mm, très sensible lorsqu'il est compris entre 15 et 19 mm et extrêmement sensible pour un diamètre supérieur à 20 mm. En comparant les diamètres des zones d'inhibition des souches de staphylocoques par extrait testé, nous déduisons que les extraits aqueux des feuilles et de la plante entière inhibent plus la croissance des souches sensibles par rapport aux extraits éthanoliques. En revanche, les extraits éthanoliques inhibent mieux la croissance des souches résistantes à l'oxacilline que les extraits aqueux des feuilles et de la plante entière. Nos résultats confirment ceux de Ritika et al. [17] qui ont montré que les extraits méthanoliques manifestent une activité antibactérienne plus forte que les extraits aqueux de la plante entière de *D. triflorum*. Par ailleurs, cette diminution ou augmentation des diamètres des zones d'inhibition des extraits sur les souches de staphylocoques suggère que l'eau et l'éthanol n'extraient pas les mêmes principes actifs. Cela est en accord avec les résultats du screening phytochimique qui a montré que l'éthanol extrait plus de phytocomposés que l'eau. De plus, la forte activité inhibitrice des extraits éthanoliques vis-à-vis de la souche résistante de *S. aureus* (348C/19 CNRA) serait due à la présence de tanins dans l'extrait alcoolique. En effet, les tanins par leur activité thérapeutique due à l'astringence, possèdent des propriétés antiseptique, antidiarrhéique, antibactérienne et antifongique [19].

L'analyse des rapports CMB/CMI est égal à 1 pour tous les extraits testés. Cela signifie que tous les extraits testés sont bactéricides. En effet selon Fauchere [53], lorsque le rapport CMB/CMI d'une substance est inférieur ou égal à 1, cette substance est dite bactéricide tandis qu'elle est jugée bactériostatique, si ce rapport est supérieur à 1. Cette activité bactéricide des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles, du binôme (tige+racines) et de la plante entière pourrait justifier son usage traditionnel contre la toux, l'asthme, les plaies, la dysenterie, la diarrhée...

#### 4. Conclusion

L'objectif de cette étude a porté sur la composition phytochimique et l'évaluation des propriétés antioxydantes et antibactériennes des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles, du binôme (tige+racines) et de la plante entière de *D. triflorum* de Côte d'Ivoire.

Au terme de cette étude, après criblage phytochimique par des tests en tube des extraits bruts aqueux et éthanoliques obtenus, nous avons pu révéler la présence de polyphénols, de flavonoïdes, de glucides et de saponines dans tous les extraits bruts aqueux et éthanoliques. Les tanins, les alcaloïdes et les cétones n'ont été signalés que dans les extraits bruts éthanoliques. Les saponines triterpènes et les coumarines ne sont présentes que dans les extraits aqueux.

L'évaluation in vitro de l'activité anti bactérienne a prouvé que les extraits aqueux et éthanoliques sont tous bactéricides vis-à-vis de *S. aureus* (CMB/CMI = 1). Par contre, les souches de *Escherichia coli* (353UB/19 CNRA (663C/19) et ATCC 25922) et de *Pseudomonas aeruginosa* (692 Ma/19 et ATCC 27853) résistent aux extraits aqueux et éthanoliques.

Alors pour un usage médicinal de *Desmodium triflorum* par une macération, il serait préférable d'utiliser l'éthanol plutôt que l'eau

#### 5. Références bibliographiques

- [1] OMS. (2013). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. Hong Kong. Hong Kong .75 p.
- [2] Gruffat, X. (2017, 12 27). PHARMANETIS SARL. Consulté le 15 Juillet 2019, sur CREAPHARMA: <https://www.creapharma.ch/phytotherapie.htm>
- [3] Ilandara R., Chandrapala R., Jayasuriya W. J. et Suresh , T. S. (2015). Phytochemical and ethno-pharmacological properties of *Desmodium triflorum*: A Review. *The Pharmaceutical Journal of Sri Lanka* , 5(1): 34-38.
- [4] Singh N., Tailang M. et Mehta S. (2016). Pharmacognostic and phytochemical screening of *Desmodium triflorum* Linn. *International Journal of Pharmacognosy*, 3(1): 43-49.
- [5] Singh S., Parmar N. et Bhupesh P. (2015). A review on Shalparni (*Desmodium gangeticum* DC.) and *Desmodium* species (*Desmodium triflorum* DC. & *Desmodium laxiflorum* DC.) – Ethnomedicinal perspectives. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 3(4): 38-43.

- [6]. N'Gaman K. C. C. (2013). Etude phytochimique et effet d'extraits de *Gmelina arborea* Roxb. (Verbenaceae) de Côte d'Ivoire sur la stabilité osmotique d'érythrocytes. Thèse de doctorat. Université Nangui Abrogoua, Abidjan (Côte d'Ivoire), 112 p.
- [7]. Békro Y. A., Mamyrbekova-Békro J. A., Boua B. B., Tra Bi F. H. et Éhilé E. (2007). Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *caesalpinia benthamiana* (baill.) herend et zarucchi (caesalpiniaceae). *Sciences & nature*, 4(2) : 217-225.
- [8]. Bruneton J. (2016). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 5<sup>ème</sup> édition, Lavoisier Tec. & Doc. Paris (France), 1487 p.
- [9]. Ladiguina E. Y., Safronitch L. N., Otriachenkova V. E., Balandina I. A. and Grinkevitch N. I. (1983). Analyse chimique des plantes médicinales. Edition Moskva, Vischaya Chkola. Moscou (Russie), 347 p.
- [10] Dohou N., Yamni K., Tahrouch S. et Idrissi Hassani L. (2003). Screening Phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine *Thymelaea lithroides*. *Bull Soc Pharm Bordeaux* , 142 : 61-78.
- [11] Singleton V. et Rossi J. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal for Enology and Viticulture*, 16(1) :144-158.
- [12] Dosso , M., & Faye-Kette , H. (2000). Contrôle de qualité de l'antibiogramme en pratique courante: Expérience du laboratoire de bactériologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. *Le bactériologiste internationale*, n° spécial: 53.
- [13] Koné W.M., K. A. (2004). Traditional medicine in North of Côte d'Ivoire: Screening of 50 medicinal plants for antibacteria activity. *Journal of ethnopharmacology*, 93 : 43-49.
- [14] Fauchere J. L. (2002). Bactériologie Générale et Médicale. *Editions Ellipses*: Paris, 365 p.
- [15] Thankachan, K. A., Chandran, M., & Krishnakum, K. (2017). Pharmacological activity of *Desmodium triflorum*- a review. *Asian Journal of Phytomedicine and Clinical Research*, 5 (1) : 33-41.
- [16] Enneb H., Belkadhi A., Cheour F. et Ferc A. (2015). Comparaison des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (*Lawsonia inermis* L.). *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 20(2) : 788-793.
- [17] Ponce A., Fritz R., Del Valle C. et Roura S. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on native microbial population of organic Swiss Chard. *Food Science and Technology*, 36(7): 679-684.
- [18] Ritika S., Bharat P. et Atul K. (2015). Efficacy of aqueous and methanolic extracts of plant *Desmodium triflorum* for potential antibacterial activity. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(1) : 25-30.
- [19] Bruneton J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4<sup>ème</sup> Edition, Lavoisier Tec. Doc. Paris, France.1243 p.

## ***Carissa edulis*, une plante de la pharmacopée béninoise riche en polyphénols, induit une relaxation dépendante de l'endothélium sur des artères coronaires de porcs, médiée par le monoxyde d'azote**

U. Houngue<sup>a,B</sup>, A.B. Chaker<sup>b</sup>, J.M. Tokoudagba<sup>a</sup>, L. Remila<sup>b</sup>, C. Bruckert<sup>b</sup>, S.H. Park<sup>b</sup>, E. Belcastro<sup>b</sup>, I. Bouchakour<sup>b</sup>, C. Auger<sup>b</sup>, V.B. Schini-Kerth<sup>b</sup>, F. Gbaguidi

<sup>a</sup> Laboratoire de Chimie Pharmaceutique et Organique, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin  
<sup>b</sup> INSERM UMR 1260, Faculté de Pharmacie, Université de Strasbourg, Strasbourg, France

L'hypertension est une pathologie cardiovasculaire qui affecte plusieurs pays y compris ceux de l'Afrique [1,2]. *Carissa edulis* est l'une des plantes traditionnellement utilisées au Bénin pour le traitement de cette affection [3]. Dans le présent travail, nous avons étudié l'activité vasodilatatrice de préparations de *Carissa edulis* et déterminé les différents mécanismes impliqués.

L'extrait hydroalcoolique des feuilles de *Carissa edulis*, a été préparé par macération et fractionné avec différents solvants. Les effets des extraits et fractions ont été étudiés sur des anneaux d'artères coronaires de porcs avec et sans endothélium, suspendus dans des cuves à organe isolé. Différents outils pharmacologiques ont été utilisés pour caractériser les mécanismes impliqués.

L'extrait brut de *Carissa edulis* (CECE) a induit des relaxations exclusivement dépendantes de l'endothélium. La fraction butanolique (CEBF) a été la plus active. Les relaxations induites par CECE et CEBF ont fortement été inhibées par la N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine, un inhibiteur de NO synthase endothéliale. CEBF a inhibé les réponses contractiles au KCl, CaCl<sub>2</sub>, U46619 et à la sérotonine (5-HT).

*Carissa edulis* est un vasodilatateur et un inhibiteur des réponses contractiles sur les artères coronaires. Il agit en stimulant la production endothéliale du NO. Les composés les plus actifs de l'extrait sont présents dans la fraction butanolique.

Mots clés : Hypertension, *Carissa edulis*, activité vasodilatatrice

### **Polyphenols-rich *Carissa edulis* extracts, a medicinal plant of Benin pharmacopoeia, induce potent endothelium-dependent relaxation of porcine coronary artery rings involving predominantly nitric oxide.**

Hypertension is a major cardiovascular disease that affects most countries including those of Africa [1,2], which are known to rely often on traditional medicine. *Carissa edulis* Vahl is one of the plants traditionally used for the treatment of hypertension in Benin [3]. This study investigated the vasoactive activity of *Carissa edulis* and its underlying mechanisms using porcine coronary artery rings.

Aqueous-ethanolic extract of aerial parts of *Carissa edulis*, was prepared by maceration process and successively fractionated using different solvents. The effect of the extract and fractions were assessed on porcine coronary artery rings with and without endothelium using organ chambers, and different pharmacological reagents were used to characterize the underlying mechanisms.

Crude extract of *Carissa edulis* (CECE) induced potent relaxations that were exclusively endothelium dependent. The n-butanol fraction (CEBF) was the most active. Relaxations induced by CECE and CEBF were strongly inhibited by N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine, indicating a major role of nitric oxide (NO). CEBF inhibited in a concentration-dependent manner contractions to KCl, CaCl<sub>2</sub>, U46619 and to 5-HT.

*Carissa edulis* is a potent vasodilator and inhibitor of contractile responses of coronary artery rings mostly by stimulating the endothelial formation of NO. Vasoactive natural products are predominantly present in the nbutanol fraction.

Key words: Hypertension, *Carissa edulis*, vasoactive activity

#### **1. Introduction**

Cardiovascular diseases are the most prevalent diseases worldwide [1], and hypertension is a major risk factor identified in western industrialized countries first [2]. However, the prevalence of hypertension and cardiovascular diseases, is strongly increasing in developing countries and in particular in sub-Saharan Africa [3]. Modern therapeutics are not very accessible to African and Beninese populations, due to the difficult economic environment characterized by high drug prices. Pharmacopoeia and traditional medicine become a significant alternative in terms of health coverage, especially when medication becomes permanent for the patient with a chronic condition [4]. Natural products and traditional medicines are of great importance in the world [5], [6]. *Carissa edulis*, *Diodia scandens* and *Cleome gynandra* are three plants traditionally used in Benin for the treatment of hypertension. *C. edulis*

is a perennial thorny shrub of the family of Apocynaceae widespread in Africa, Australia, Vietnam, Yemen and India [7]. *D. scandens* (Rubiaceae) is an evergreen perennial herb, which has an alternate leaf arrangement, and the petiole is present [8]. *C. gynandra* is a plant of the family of Cappariaceae which grows in most tropical countries. The leaves and seeds of the plant have long been in use as indigenous medicine for treatment of headaches and stomach aches [9]. The aim of the present study is to investigate the potential of the plants extracts to affect vascular tone, clarify the role of the endothelium and the underlying mechanisms.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Plant material and extraction

The leaves of *C. edulis*, *D. scandens* and *C. gynandra* were collected from Togbin, Godomey, Benin in September 2017 and were identified by Pr Hounnankpon YEDOMONHAN, Professor of Botany at University of Abomey- Calavi, Benin. The voucher specimens have been deposited in the National Herbarium of University of Abomey-Calavi, Benin. The samples were dried and ground into powder (100 g) and macerate at room temperature with ethanol–water (6:4, v/v) (3× 300 ml, 72 h each). The filtered extracts were combined and evaporated under reduced pressure to obtain a dry extract (yield 25%). The aqueous ethanolic extract that showed the best vascular relaxation was successively fractionated with three solvents: cyclohexane, dichloromethane, ethyl acetate and butanol.

*C. edulis* extract (10 g) was mixed with water (100 ml) and partitioned with the same volume of Cyclohexane (100 ml) for three successive times. The decantation and evaporation provided 66 mg of the *C. edulis* cyclohexane fraction (CECF). The remaining aqueous layer was further extracted with dichloromethane, ethyl acetate and butanol (100 ml each) for three successive times. The decantation and evaporation provided 16mg of the *C. edulis* dichloromethane fraction (CEDF), 0.43 g of the *C. edulis* ethyl acetate fraction (CEEF) and 1.04 g of the *C. edulis* butanolic fraction (CEBF). All extracts were stored at 4°C before being used.

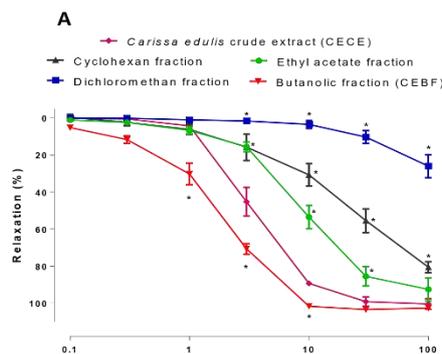
### 2.2. Chemicals and drugs

All pharmacological reagents were from Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich Chemie SARL, St Quentin Fallavier, France). Deionised water was filtered through a Direct-Q UV (Millipore) station, isopropanol and methanol were purchased from Fisher Chemicals (Optima ® LC/MS grade). Cyclohexane, dichloromethane, ethyl acetate and butanol were obtained from Sigma Aldrich. All chemicals were of analytical grade.

### 2.3. Vascular reactivity studies

Vascular reactivity studies were performed on Left circumflex coronary arteries of pig hearts. Pig hearts were collected from the local slaughterhouse (Copvial, Holtzheim) and vascular reactivity was assessed. Briefly, left circumflex coronary arteries were excised, cleaned of loose connective tissue and flushed with PBS without calcium to remove remaining blood. Rings (3–4 mm in length) were then suspended in organ baths containing oxygenated (95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>) Krebs bicarbonate solution (composition in mM: NaCl 119, KCl 4.7, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.18, MgSO<sub>4</sub> 1.18, CaCl<sub>2</sub> 1.25, NaHCO<sub>3</sub> 25 and Dglucose 11, pH 7.4, 37°C) for the determination of changes in isometric tension (basal tension 5 g). The integrity of the endothelium was checked with bradykinin (0.3µM). For the assessment of the vasorelaxant properties of the extracts, rings were contracted (about 80% of the maximal contraction) with U46619 (a thromboxane A<sub>2</sub> receptor agonist) before construction of a concentration-relaxation curve to an extract. For assessment of the inhibition of contractile responses, rings with endothelium were exposed to CEBF for 30 min before construction of a concentration-contraction curve either to KCl, U46619 or CaCl<sub>2</sub> in the presence of 40 mM KCl. In some experiments, rings were exposed to a low concentration of CEBF (10µg/ml) for 30 min before contraction to U46619 and the subsequent construction of a concentration-dependent relaxation curve to an agonist. To characterize the different pathways mediated relaxation, rings were incubated for 30 min with pharmacological agents before the construction of concentration-response curves. The role of NO-mediated relaxation was studied in rings incubated with N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine (L-NA, 300 µM, an eNOS inhibitor). To study the role of cyclooxygenase-derived prostanoids, rings were incubated with indomethacin (10 µM). To study EDHmediated relaxation, rings were incubated with TRAM-34 plus UCL 1684 (1 µM each, inhibitors of IKCa and SKCa, respectively).

## 3. Statistical analysis



**Figure 1:** Results are shown as means  $\pm$  S.E.M. of 4-6 experiments. \*  $P < 0.01$  vs control (with endothelium)

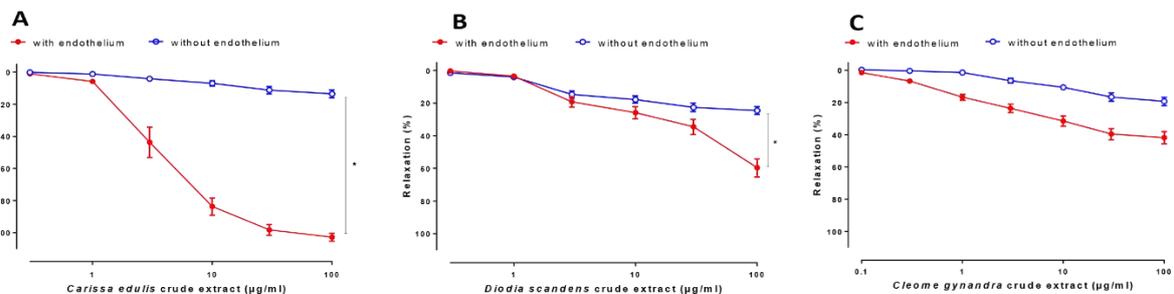
Data are expressed as mean  $\pm$  standard error mean (S.E.M.) of n different experiments using GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA). Statistical variance between different groups was determined by applying Two-way Anova test for vascular reactivity results. The  $IC_{50}$  value corresponds to the concentration of the product inhibiting 50% of the response. Mean values are compared using analysis of variance followed by the Bonferroni post-hoc test (comparison of selected pairs). The difference was significant for a P value  $P < 0.05$ .

#### 4. Results

##### 4.1. Vasorelaxant effect on porcine coronary arteries

Aqueous ethanolic extract of *C. edulis*, *D. scandens* and *C. gynandra* caused more concentration dependent relaxation in endothelium intact compared to endothelium denuded porcine coronary rings. *C. edulis* induced greater endothelium dependent relaxation than *D. scandens* and *C. gynandra*. Maximum relaxation was produced with  $10\mu\text{g/ml}$  dose. Due to this reason, this *C. edulis* was selected for further detailed study (Fig. 1 A, B & C)

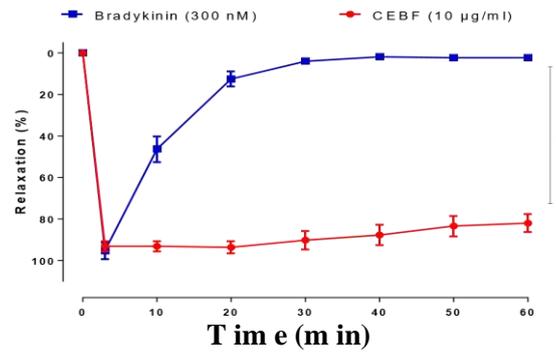
The total extract of *C. edulis* was successively fractionated with cyclohexane, dichloromethane, ethyl acetate and butanol and several fractions were evaluated for their vasorelaxant activity. The butanolic fraction have a greater activity than the total extract while the ethyl acetate, dichloromethane and cyclohexane extracts were significantly less active (Fig. 2A).



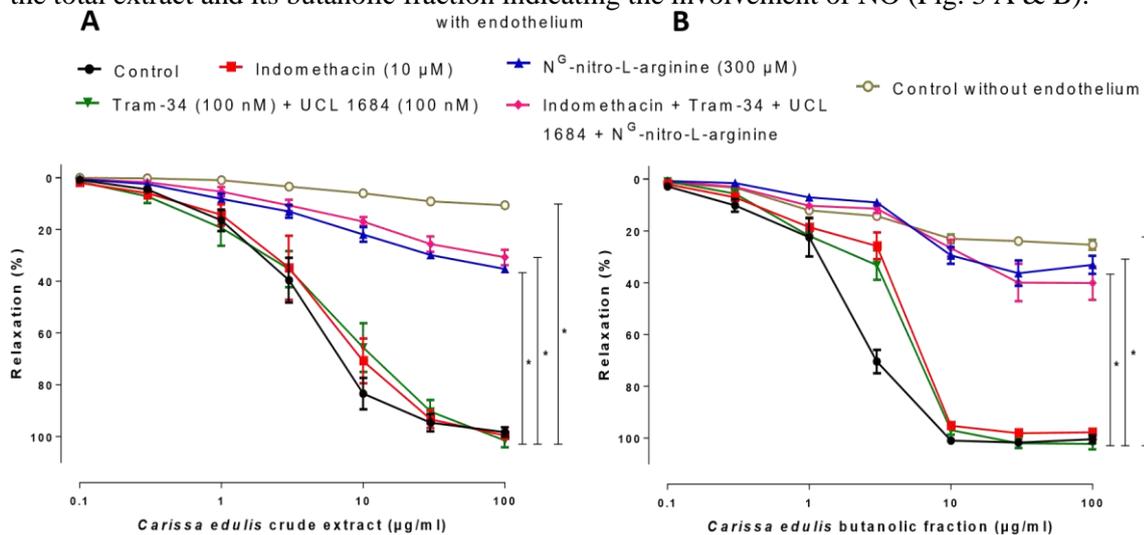
**Figure 2A:** *Carissa edulis* butanolic fraction (CEBF) is more active than crude extract (CECE) and other fractions. Results are shown as means  $\pm$  S.E.M. of 4-6 experiments. \*  $P < 0.01$  vs control (crude extract).

Compared to Bradykinin, *C. edulis* total extract induced endothelium-dependent relaxation for at least 60 min whereas Bradykinin (BK) returned to the pre-contractile level within 5 min (Fig. 2B)

#### B



**Figure 2B:** induced endothelium-dependent relaxation for at least 60 min whereas Bradykinin (BK) returned to the pre-contractile level within 5 min in porcine coronary arteries with endothelium. Results are shown as means  $\pm$  S.E.M. of 4-6 experiments. \* P < 0.01 vs control (Bradykinin). *C. edulis* total extract and its butanolic fraction were minimally modified by the presence of indomethacin, an inhibitor of vasoactive prostanoids formation as well as the presence of TRAM 34 and UCL 1684, two specific inhibitors of EDHF-mediated relaxation (Fig. 3 A & B). In contrast, N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine, a competitive endothelial NO synthase inhibitor markedly reduced relaxations to the total extract and its butanolic fraction indicating the involvement of NO (Fig. 3 A & B).



**Figure 3:** *Carissa edulis* crude extract (CECE) **A** and its butanolic fraction (CEBF) **B** induced relaxation involving predominantly NO production in porcine coronary arteries. Results are shown as means  $\pm$  S.E.M. of 4-6 experiments. \* P < 0.01 vs control

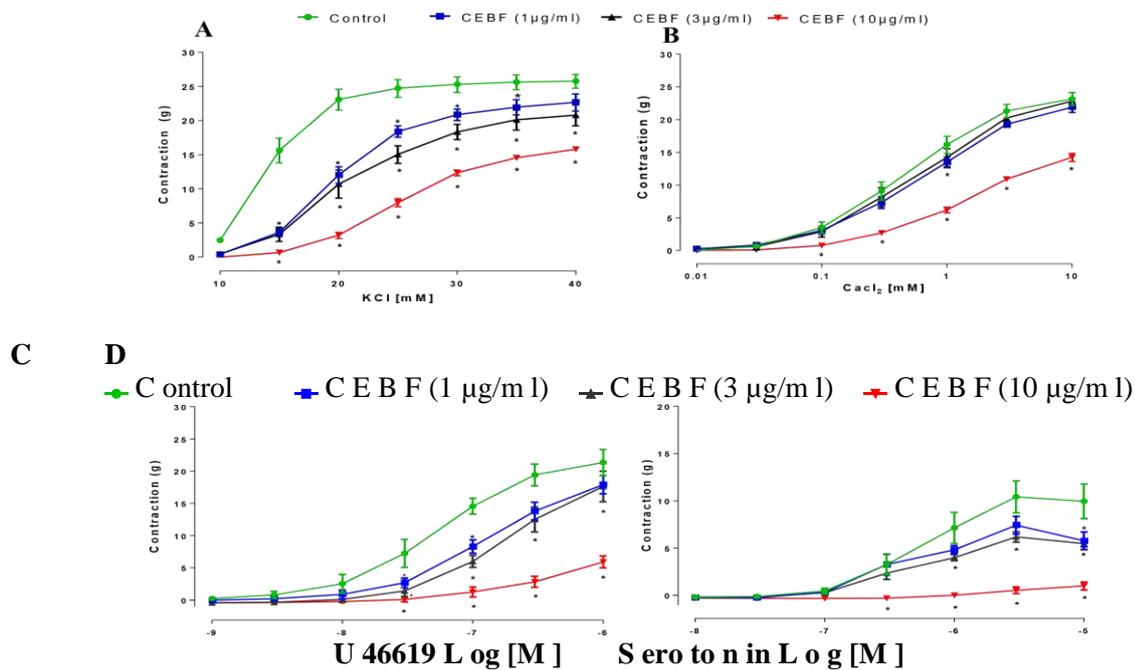
#### 4.2. Inhibitory effects of CEBF on KCl, CaCl<sub>2</sub>, U46619 and Serotonin-induced contractions of endothelium-denuded porcine coronary arteries, mediated by endothelial NO

CEBF significantly inhibited contractile responses. For KCl, the inhibition was maximum from the first concentrations. At the dose of 15 mM the contraction was  $15.63 \pm 1.82$ g;  $3.64 \pm 0.54$  g;  $2.93 \pm 0.95$  g and  $0.64 \pm 0.20$  g in absence (control) and presence (1, 3 and 10 µg/ml) (Fig. 4A).

CaCl<sub>2</sub> (0.01–10 mM) caused a stepwise increase in the tone of endothelium-denuded coronary artery rings. CEBF inhibited CaCl<sub>2</sub>-induced contraction in the presence of 40 mM of KCl. The maximum contraction was  $23.16 \pm 0.99$  g and it was attenuate to  $22.83 \pm 0.48$ ;  $21.89 \pm 0.81$ ; and  $14.25 \pm 0.65$  g respectively at the dose of 1, 3 and 10 µg/ml (Fig. 4B).

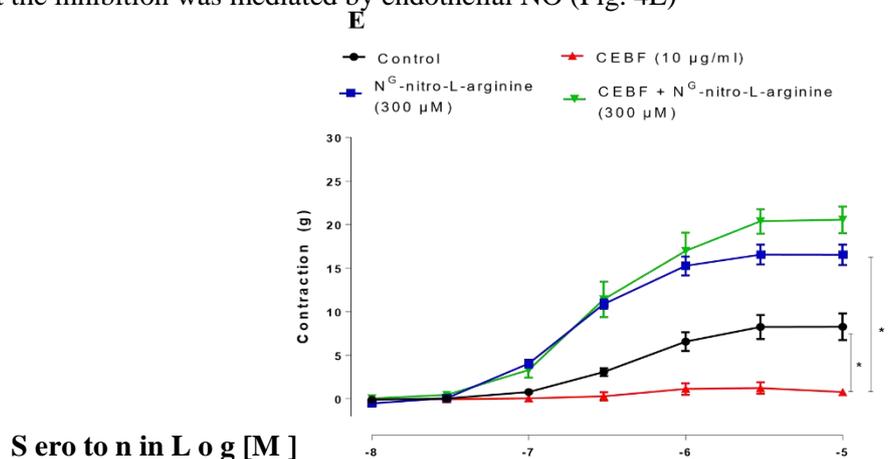
CEBF also inhibited contraction to U46619. The concentration response curve was significantly shifted towards right compared to the control at the dose of 10µg/ml. The maximum contraction was  $21.34 \pm 2.03$  g (control), and it was shifted to  $5.91 \pm 0.93$  g (10µg/ml) while at 1 and 3 µg/ml, CEBF did not prevent the contractions induced by U46619 (Fig. 4C).

Contractile responses to Serotonin were significantly reduced by CEBF at 10µg/ml while at 1 and 3µg/ml the contraction was not prevented. The maximum contraction was  $10.42 \pm 1.69$  g (control), and it was significantly reduced to  $0.54 \pm 0.36$  g (10µg/ml) (Fig. 4D).



**Figure 4:** *Carissa edulis* butanolic fraction (CEBF) inhibited contraction to KCl, CaCl<sub>2</sub> with 40mM KCl, U46619 and Serotonin. Results are shown as means  $\pm$  S.E.M. of 4-6 experiments. \* P < 0.01 vs control

In the presence of N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine, CEBF at 10µg/ml did not reduce the contraction to serotonin, showing that the inhibition was mediated by endothelial NO (Fig. 4E)



**Figure 4E:** Results are shown as means  $\pm$  S.E.M. of 4-6 experiments. \* P < 0.01 vs control

## 5. Discussion

The results of the present study have shown that the aqueous ethanolic extract of *C. edulis* induced greater vasorelaxation than *D. scandens* and *C. gynandra*. In dose dependent fashion, the extract has strongly affected ring with endothelium while no effect has been observed on endothelium denuded ring: showing that the vasorelaxant effect of the extract is endothelium dependent. Further, n-butanolic fraction (CEBF) was found to be more potent than cyclohexane, dichloromethane and ethyl acetate fractions. *C. edulis* caused potent endothelium-dependent relaxations in coronary artery rings which were strongly reduced by L-NA an inhibitor of NO synthase and minimally affected by the combination

of TRAM-34 plus UCL 1684. These findings indicate a major role NO. NO had an important role in normal vascular biology and pathophysiology. Important vascular functions such as vessel relaxation and inhibition of platelet aggregation are regulated by NO [10]. These results are in line with a previous study on red wine polyphenolic compounds [11], and at least in part, in agreement with a previous study showing the major role of NO and some extent for an EDHF-mediated component in *Dicksonia sellowiana* induced relaxation [12]. CEBF inhibited in a concentration dependent manner contractile response in rings with endothelium induced either by KCl, CaCl<sub>2</sub>, U46619 or Serotonin. A similar effect was also observed by *Berberis orthobotrys* root extract [13].

## 6. Conclusion

The present findings indicate that *Carissa edulis* is a potent endothelium dependent vasodilator and inhibitor of contractile responses of coronary artery rings mostly by stimulating the endothelial formation of NO. NO has an important role in normal vascular biology and pathophysiology. Important vascular functions such as vessel relaxation and inhibition of platelet aggregation are regulated by NO. The vasoactive natural products are predominantly present in the n-butanolic fraction. Thus, the *Carissa edulis* extract has potent endothelium dependent relaxing activity involving NO that can contribute to reduce blood pressure and help to protect vascular system.

## 7. Reference

- [1] S. Mendis *et al.*, 'World Health Organization (WHO) and International Society of Hypertension (ISH) risk prediction charts: assessment of cardiovascular risk for prevention and control of cardiovascular disease in low and middle-income countries', *Journal of Hypertension*, vol. 25, no. 8, pp. 1578–1582, Aug. 2007, doi: 10.1097/HJH.0b013e3282861fd3.
- [2] F. Maione *et al.*, 'Phenols, Alkaloids and Terpenes from Medicinal Plants with Antihypertensive and Vasorelaxant Activities. A Review of Natural Products as Leads to Potential Therapeutic Agents', *Natural Product Communications*, vol. 8, no. 4, p. 1934578X1300800434, Apr. 2013, doi: 10.1177/1934578X1300800434.
- [3] J.-M. Tokoudagba *et al.*, 'Procyanidin-rich fractions from *Parkia biglobosa* (Mimosaceae) leaves cause redox-sensitive endothelium-dependent relaxation involving NO and EDHF in porcine coronary artery', *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 132, no. 1, pp. 246–250, Oct. 2010, doi: 10.1016/j.jep.2010.08.031.
- [4] A. G. Houngbeme *et al.*, 'Phytochemical analysis, toxicity and antibacterial activity of Benin medicinal plants extracts used in the treatment of sexually transmitted infections associated with HIV/AIDS', *IJPSR*, vol. 5, no. 5, pp. 1739-1745., May 2014.
- [5] S. Sen and R. Chakraborty, 'Revival, modernization and integration of Indian traditional herbal medicine in clinical practice: Importance, challenges and future', *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, vol. 7, no. 2, pp. 234–244, Apr. 2016, doi: 10.1016/j.jtcme.2016.05.006.
- [6] H. Yuan, Q. Ma, L. Ye, and G. Piao, 'The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products', *Molecules*, vol. 21, no. 5, Art. no. 5, May 2016, doi: 10.3390/molecules21050559.
- [7] H. M. Al-Youssef and W. H. B. Hassan, 'Phytochemical and Pharmacological aspects of *Carissa edulis* VAHL: A review', *Int. J. Curr. Res. Chem. Pharm. Sci.*, vol. 1, no. 9, pp. 12–24, 2014.
- [8] M. U. Akpuaka, J. C. Chime, and J. O. Igoli, 'Phytochemical Analysis of n- Hexane and Ethylacetate Extracts of *Diodia scandens* Sw and Spectroscopic Identification of an Omega- 6 Fatty Acid and a Glyceryl Trilinoleate', *Physical Science International Journal*, pp. 1–9, Oct. 2018, doi: 10.9734/PSIJ/2018/42782.
- [9] R. T. Narendhirakannan, S. Subramanian, and M. Kandaswamy, 'Anti-inflammatory and lysosomal stability actions of *Cleome gynandra* L. studied in adjuvant induced arthritic rats', *Food and Chemical Toxicology*, vol. 45, no. 6, pp. 1001–1012, Jun. 2007, doi: 10.1016/j.fct.2006.12.009.
- [10] Y. C. Boo and H. Jo, 'Flow-dependent regulation of endothelial nitric oxide synthase: role of protein kinases', *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, vol. 285, no. 3, pp. C499–C508, Sep. 2003, doi: 10.1152/ajpcell.00122.2003.
- [11] M. Ndiaye, M. Chataigneau, I. Lobysheva, T. Chataigneau, and V. B. Schini-Kerth, 'Red wine polyphenols-induced, endothelium-dependent NO-mediated relaxation is due to the redoxsensitive PI3-kinase/Akt-dependent phosphorylation of endothelial NO-synthase in the isolated porcine coronary artery', *The FASEB Journal*, vol. 19, no. 3, pp. 1–20, 2005, doi: <https://doi.org/10.1096/fj.04-2146fje>.
- [12] Y. D. Rattmann *et al.*, 'Natural Product Extract of *Dicksonia sellowiana* Induces EndotheliumDependent Relaxations by a Redox-Sensitive Src- and Akt-Dependent Activation of eNOS in Porcine Coronary Arteries', *J Vasc Res*, vol. 49, no. 4, pp. 284–298, 2012, doi: 10.1159/000336647.
- [13] Alamegeer *et al.*, 'Endothelium-independent vasorelaxant effect of a *Berberis orthobotrys* root extract via inhibition of phosphodiesterases in the porcine coronary artery', *Phytomedicine*, vol. 23, no. 8, pp. 793–799, Jul. 2016, doi: 10.1016/j.phymed.2016.04.005.

## Composition chimique et activité larvicide de l'huile essentielle de *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle sur *Anopheles gambiae*

Ahouansou C. Ayidé<sup>1,2\*</sup>, Médégar Fagla Sèdami<sup>1</sup>, Badou K. Yvette Yvette<sup>1</sup>, Toukourou K. Habib<sup>1,3</sup>, Gbaguidi A. Fernand<sup>1,2</sup>

1- Laboratoire de Chimie Organique et Pharmaceutique / Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 188 Cotonou / Bénin

2- Laboratoire de Pharmacognosie / Centre Béninois de Recherche Scientifique et Technique (CBRST/UAC), 01 BP 06 Porto-Novo / Bénin

3- Louvain Drug Research Institute (LDRI) / UC Louvain, Avenue E. Mounier, 72(B1.72.03) 1200 Bruxelles-Belgique

### Résumé

Le paludisme est l'une des maladies infectieuses les plus meurtrières dans de nombreux pays d'endémie surtout en Afrique. La résistance de plus en plus remarquable à certains insecticides chimiques de synthèse qu'a développée *Anopheles gambiae* (principal vecteur au Bénin) suscite la recherche de nouvelles formulations de pesticides contre cette affection.

Nous avons expérimenté au cours de cette étude le potentiel insecticide de l'huile essentielle de *Cymbopogon nardus* obtenue par entraînement à la vapeur d'eau et après analyse par chromatographie CPG / MS sur des larves de 3<sup>ème</sup> stade d'*Anopheles gambiae* de la souche sensible Kisumu d'origine kényane et la souche sauvage des eaux stagnantes à Cotonou.

Avec un rendement de  $1,3 \pm 0,11$  %, les principaux composés de l'huile étaient le citronellal (37,87%), le nérol (19,88%), le citronellol (9,11%) et l'elemol (7,40%). Les tests bioguidés ont révélé les propriétés larvicides de l'huile testée. Les LC<sub>50</sub> obtenues sont respectivement de 38,83 ppm et 97,33 ppm pour la souche Kisumu et la population sauvage locale. Les LC<sub>90</sub> ont adopté la même tendance avec 55,72 ppm et 147,9 ppm respectivement. L'huile essentielle de *Cymbopogon nardus* constitue donc une substance bioactive pour lutter contre les vecteurs du paludisme.

**Mots clés:** Paludisme, *Cymbopogon nardus*, Huile essentielle, Larvicide.

### Abstract

Malaria infection is one of the deadliest infectious diseases in many endemic countries mostly in Africa. The increasing resistance toward a number of insecticides of synthetic origin developed by *Anopheles gambiae* (the main vector in Benin) has prompted us to seek for a new pesticide in the fight against the disease.

In this study, we investigated the insecticidal potential of the essential oil (EO) of *Cymbopogon nardus* obtained by steam distillation. The EO were analyzed by chromatographic method (CPG / MS) and tested on *Anopheles gambiae* larvae 3rd instar of the sensitive strain Kisumu (Kenyan origin) and the wild strain from stagnant water in Cotonou.

With a yield of  $1.3 \pm 0.11\%$ , the main oil compounds were citronellal (37.87%), nerol (19.88%), citronellol (9.11%) and elemol (7.40%). Sensitivity tests revealed the larvicidal properties of the oil tested. The lethal concentrations (LC<sub>50</sub>) obtained were respectively 36.83 ppm and 97.33 ppm for the Kisumu strain and the local wild population respectively. The LC<sub>90</sub> adopted the same trend with 55.72 ppm and 147.9 ppm respectively.

Essential oil of *Cymbopogon nardus* may be considered as a new bioactive substance to the prevention of malaria vectors.

**Keywords:** Malaria; *Cymbopogon nardus*; Essential oil; Larvicide.

### 1-Introduction

La lutte contre le paludisme s'intéresse aussi bien aux parasites qui consiste en l'utilisation des médicaments antiplasmodiaux et aux vecteurs de cette maladie. Pour combattre ces derniers, une lutte antivectorielle incluant plusieurs méthodes peut être envisagée. Parmi celles-ci, nous pouvons citer l'utilisation d'insecticides chimiques de synthèse pour pulvériser l'enceinte des domiciles ainsi que l'imprégnation des moustiquaires.

Cependant, le développement de la résistance des vecteurs aux insecticides [1; 2; 3], et l'impact de leur utilisation sur l'homme et sur l'environnement [4] réduisent à néant tous les efforts déployés par la communauté scientifique pour réduire de façon drastique la prévalence liée au paludisme. Il se pose alors un besoin croissant de développement et de mise en œuvre de nouveaux programmes de gestion de la prolifération des moustiques. Dans cette optique, de nombreux acteurs scientifiques tentent alors de trouver des alternatives efficaces et accessibles, bénéfiques pour l'environnement à partir de produits naturels qui connaissent de nos jours un regain d'intérêt et jouissent d'une popularité grandissante [5]. *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle montre une certaine propension à cette dernière option. En effet, de la famille des Poaceae, *Cymbopogon nardus* est une espèce de plante monocotylédone dont l'huile essentielle est dotée d'activité anti-fongique sur les souches de champignons du genre *Aspergillus* et

Penicillium [6]. De plus, cette huile essentielle qui contient essentiellement du citronellal, du géraniol et de l'élémol [7] présente des effets insecticides sur *Aedes aegypti* qui est une espèce de moustique vecteur de la dengue[8]. Cependant, aucune étude n'a été publiée sur un probable effet inhibiteur de l'huile essentielle de cette plante sur les larves d'*Anopheles gambiae*, vecteur majeur du paludisme en Afrique [9].

Dans ce travail, nous évaluerons l'activité larvicide de l'huile essentielle de *Cymbopogon nardus* sur deux génotypes d'*Anopheles gambiae* d'origines diverses. Par ailleurs, la composition chimique de l'huile essentielle est caractérisée au moyen de la chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse (CPG/MS).

## 2- Matériel et méthodes

### 2.1. Collectes des plantes et extraction de l'huile essentielle

Les parties aériennes de la plante, notamment des feuilles de *Cymbopogon nardus* (Figure1) ont été récoltées vers le début du mois de Mars 2018 entre 7h et 10h à Natitingou. Elles ont ensuite été identifiées et authentifiées à l'herbier national du Bénin sous le numéro AA6637/HNB.

Après la récolte, les feuilles ont été séchées au laboratoire à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant environ une semaine. Ensuite, elles ont été pesées puis réduites (découpées en petites parties) pour augmenter la surface de contact avec l'eau et récupérées dans des sacs en papier afin de les conserver jusqu'au moment de l'expérience. L'extraction a été réalisée par la technique d'entraînement à la vapeur d'eau à l'aide d'un dispositif expérimental de type Clevenger (Figure 2).

On introduit 100 g des feuilles de *C. nardus* dans le réacteur. Ensuite, on verse 500 mL d'eau distillée dans le ballon qu'on porte à ébullition. On maintient le chauffage à une température douce de 100°C pendant 2h. La vapeur d'eau traverse le réacteur contenant le matériel végétal et emporte avec elle les composants volatils de la plante. Une fois sortie du réacteur, elle est condensée dans le réfrigérant puis l'huile essentielle et l'eau se séparent par différence de densité. L'huile essentielle obtenue est recueillie dans un bécher, et ensuite séchée par le  $MgSO_4$ . Le solvant est évaporé sous pression réduite, l'huile est récupérée, conservée au réfrigérateur à 4°C.



Figure1 : *Cymbopogon nardus*



Figure2 : Dispositif expérimental

### 2.2. Collecte des larves d'*Anopheles gambiae*

Les bio-essais ont été réalisés sur deux souches de larves : les larves sauvages collectées dans des gîtes larvaires à Cotonou suivant les critères morphologiques et comportementaux des larves à l'aide de clés de détermination taxonomiques [10] et les larves sensibles Kisumu d'origine kényane obtenues au Centre de Recherches Entomologiques de Cotonou (CREC). Les larves Kisumu sont maintenues en élevage au laboratoire du CREC depuis plusieurs années et leur sensibilité est régulièrement vérifiée.

### 2.3. Analyse chimique de l'huile essentielle

Les différents composés chimiques ont été mis en évidence dans *C. nardus* par la méthode de chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse (CPG/MS). L'analyse a été réalisée sur un TRACE GC 2000 séries (Thermo Quest, Rodano, Italy), équipé d'un autosampler AS2000 (Thermo Quest). Le système GC est couplé à un spectromètre de masse de type Trace MS (Thermo Quest) opérant en mode d'impact électronique. Le CPG/MS est équipé d'une colonne capillaire

DB-WAX 122-7032 (Agilent) de dimensions 30 m x 0,25 mm avec 0,25 µm de diamètre interne. Les échantillons sont injectés en mode splitless (volume injecté : 1µL, température à l'entrée: 230 °C). La température de couplage du CPG est de 260 °C. L'énergie des électrons est de 70 eV et la source des électrons est à 250 °C. Les données sont enregistrées et analysées avec le logiciel Xcalibur 1.1 (Thermo Quest). Les spectres de masse des pics obtenus sont analysés et comparés aux composés de référence à la librairie NIST/EPA/NIH 98.

## 2.4. Tests larvaires

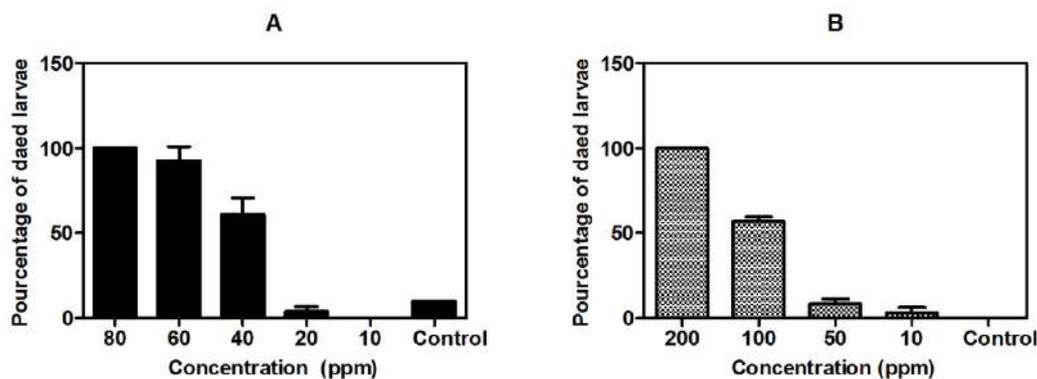
Les tests larvaires ont été effectués selon le protocole recommandé par l'OMS [11]. Différentes solutions mères ont été préparées dans l'éthanol à partir de l'huile essentielle brute de chaque plante pour obtenir après dilution dans l'eau distillée les concentrations finales de 300, 200, 100, 50 et 10 ppm pour la souche sauvage et 80, 60, 40, 20, 10 ppm pour la souche sensible. Les essais ont été effectués dans des gobelets transparents de 5 cm de diamètre contenant chacun 99 mL d'eau distillée, 20 larves de stade 3 additionnés d'un (01) mL de la solution diluée d'huile essentielle. Pour chaque concentration d'huile essentielle, le test a été répété 3 fois pour minimiser les erreurs. Le témoin est constitué d'éthanol à 1%. Cette solution a été préparée dans des conditions identiques aux autres solutions testées. Le dénombrement des larves mortes a été effectué après 24h d'exposition aux différentes concentrations d'huiles essentielles. Sont considérées comme mortes, les larves qui restent insensibles à la piqûre d'une aiguille ou celles qui sont moribondes. Les résultats des tests de sensibilité larvaires ont été exprimés en pourcentage de mortalité en fonction des concentrations d'huile essentielle utilisées. Si le pourcentage de mortalité chez les témoins est supérieur à 5%, celui des larves exposées à l'huile essentielle doit être corrigé en utilisant la formule d'Abbott : % décès = [(Test-Témoin)/Témoin]×100 [12]. Si la mortalité chez les témoins excède 20%, le test est invalide et doit être recommencé. L'analyse statistique de nos données a été réalisée grâce au logiciel GRAPH PAD PRISM 7.0, dans but de faire ressortir le taux de mortalité des larves d'anophèles suivant les concentrations utilisées et l'estimation des concentrations létales 50 et 90 (LC<sub>50</sub> et LC<sub>90</sub>) a été faite par le même logiciel.

## 3- Résultats

### 3-1 Teneur et composition chimique de l'huile essentielle de *Cymbopogon nardus*

D'un rendement moyen d'extraction de 1,3± 0,11%, l'huile essentielle de *C. nardus* est majoritairement composée de citronellal (37,87%), de nérol (19,88%), de citronellol (9,11%), de l'elemol (7,40%) et du Gamma cadiene (4,65%) tels qu'indiqués dans le tableau 1.

La figure 3 présente les taux de mortalité des larves sensibles Kisumu et sauvages d'*An. gambiae* avec l'huile essentielle de *C. nardus*. Nous remarquons que le témoin conduit à l'éthanol 1% n'a aucun effet inhibiteur sur les larves sauvages d'anophèles (B) qui continuent de vivre durant les 24h d'expérience. Par ailleurs, une concentration de l'huile essentielle à 80 ppm suffisent pour anéantir toute la population de larves sensibles alors qu'il faut atteindre 200 ppm pour obtenir les mêmes effets avec les larves sauvages. Les concentrations létales responsables de 50% et 90% de la mortalité des larves de souches sensible et sauvage en 24h sont résumées dans le **tableau 2**.



**Figure 3 :** Mortalité des larves *vis-à-vis* de l'huile essentielle de *C. nardus* en 24h

A : Larves sensible Kisumu

B : Larves sauvages

**Tableau 1:** Composition chimique de l'huile essentielle de *Cymbopogon nardus*

Composés	SI	Aire %	Masses moléculaires
1,1-diméthoxyethane	892	0,16	90
Tert-butylalcohol	969	0,46	74
Limonene	942	1,21	136
Citronellal	<b>921</b>	<b>37,87</b>	<b>154</b>
Linalool	946	0,31	154
Menthol	948	0,41	154
Beta-elemen	928	1,86	204
Cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadiene	<b>918</b>	<b>2,71</b>	<b>138</b>
Néral	917	0,23	152
Gamma-cadiene	<b>896</b>	<b>4,65</b>	<b>204</b>
Gérmacrene D	<b>909</b>	<b>2,86</b>	<b>204</b>
Alpha-Cadinene	934	0,49	204
Géranial	925	0,36	152
Acétate de géranyle	<b>932</b>	<b>4,41</b>	<b>196</b>
Citronellol	<b>943</b>	<b>9,11</b>	<b>156</b>
Nérol	<b>878</b>	<b>19,88</b>	<b>154</b>
Gérmacrene D-4-ol	850	0,75	222
Elemol	<b>948</b>	<b>7,40</b>	<b>222</b>
Géranium cyclohexane	819	0,36	172
Eugenol	922	0,57	164
Acétate de gouaiol	875	1,03	222
Tau-Muurolol	909	0,43	222
Alpha-Eudesmol	916	0,64	222
Beta-Eudesmol	938	0,68	222
à-cadinol	935	0,89	222
Farnesol	931	0,15	222
Cis-Z-à-Bisaboleneepoxide	875	0,12	220

**Tableau 2:** Concentrations létales (LC<sub>50</sub> et LC<sub>90</sub>) de l'huile essentielle de *C. nardus*

	Larves sensibles		Larves sauvages	
	LC	95% Incertitude	LC	95% Incertitude
LC <sub>90</sub>	<b>55,72</b>	49,54 – 63,49	<b>147,9</b>	135,6 – 161,4
LC <sub>50</sub>	<b>36,83</b>	33,98 – 39,92	<b>97,33</b>	93,45 – 101,4

#### 4- Discussion

Le rendement en huile essentielle obtenu pour *C. nardus* est nettement supérieur à celui obtenu au Brésil (0,4 %) par Rios et collaborateurs en 2017 [13]. Ces résultats peuvent s'expliquer par l'influence de certains facteurs particuliers tels que la période de récolte, l'origine et les conditions climatiques et édaphiques de chaque région sur la plante. Les résultats obtenus après analyse de cette huile essentielle révèlent qu'elle est majoritairement composée de citronellal (37,07%), de géranial (19,88%), de citronellol (9,11%) et d'elemol (7,40%). Ces résultats s'opposent à ceux précédemment obtenus par Koumaglo et collaborateurs qui rapportaient en 2004 [14] que le citronellal et le géranial sont les composés majoritaires avec des taux respectifs de 47,80 et 25,00% sur des échantillons de *C. nardus* au Bénin. De même, Silou et collaborateurs ont analysé l'huile essentielle de *C. nardus* de Congo-Brazzaville en 2017 [15] et ont trouvé comme composés majoritaires le citronellal (44,87%) et le géranial (22,99%). Par ailleurs, en 2003 au Japon, Nakahara et collaborateurs ont obtenu comme composés majoritaires le géranial (35,7%), le trans-citral (22,7%) et le cis-citral (14,2%) [16]. Cette grande différence de composition pourrait être due aux variations saisonnières de la répartition entre les différents composés de l'huile essentielle d'une plante, liées aux changements tout au long du cycle végétatif de la plante ainsi que les conditions environnementales qui prévalent dans les régions. D'autres facteurs, tels que les conditions culturales (dates de semis et de récolte), les traitements phytosanitaires, l'emploi d'engrais, ainsi que les techniques de récolte, influencent aussi la composition chimique des plantes aromatiques et ainsi des huiles essentielles qui en dérivent [17; 18].

Les taux de mortalité enregistrés suite à l'action de l'huile essentielle de *C. nardus* confirment l'activité larvicide de cette plante contre les moustiques comme cela avait été rapporté par Ranaweera et Dayananda en 1996 [19]. Les résultats obtenus avec les larves sauvages présentent des valeurs beaucoup plus élevées envoisinant le triple de celles des larves sensibles Kisumu au même temps d'exposition. Ceci se justifierait par le fait que les larves sauvages collectées en plein environnement auraient déjà été en contact avec certaines molécules actives *vis-à-vis* desquelles ces dernières ont développé une certaine résistance. D'ailleurs, les larves de cette catégorie sont résistantes face aux insecticides chimiques de synthèse du groupe des pyréthrinoides [20]. Par ailleurs, ces mêmes larves sauvages avaient déjà développé une résistance *vis-à-vis* d'*Elaeis oleifera* [21]. Ces résultats obtenus avec *C. nardus* sont en accord avec ceux rapportés par Ríos et collaborateurs en 2017 [13] dans leur étude sur des larves d'autres espèces culicidiennes notamment *Aedes aegypti*. Les essais ont montré une activité larvicide de cette huile avec une LC<sub>50</sub> de 75,85 ppm. Par contre, nos résultats sont meilleurs à ceux obtenus récemment en 2017 par Ilahi et Yousafzai qui ont mis en évidence l'activité larvicide de l'extrait hexanique de *C. nardus* sur des larves de 2<sup>ème</sup> et de 4<sup>èmes</sup> stades de *Culex quinquefasciatus* [22]. Les LC<sub>50</sub> associées sont respectivement de 451,8 ppm et 599 ppm. Dans de nombreuses études, *C. nardus* a été considéré comme prometteur du point de vue insecticide. Nous citons à cet effet, les travaux de Clemente et collaborateurs en 2010 testant l'activité larvicide de *C. nardus* sur *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) et *Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae) [23] et les travaux de Warikoo et collaborateurs en 2011 dans lesquels la toxicité de l'huile essentielle de *C. nardus* a été confirmée sur les œufs et les larves d'*Aedes aegypti* [8]. De plus, cette essence témoigne d'une activité très intéressante comparée à celle obtenue sur des larves d'*Anopheles stephensi* à travers les études effectuées sur les feuilles d'*Ajuga remota* : 330 ppm en 24 heures et 290 ppm en 48 heures [24], ainsi que celle réalisée par M. J. Muema au Kenya sur des larves d'*Anopheles gambiae* et d'*Anopheles arabiensis* avec l'extrait méthanolique d'*Agerantum conyzoides* et qui ont donné respectivement des LC<sub>50</sub> de 232,70 ppm et 406,35 ppm en 24 heures de traitement [25]. Par ailleurs, la protection des denrées alimentaires contre les ravageurs par l'huile essentielle de *C. nardus* a été étudiée sur *Sitophilus zeamais* Motsch et *Rhyzopertha dominica* F. La LC<sub>50</sub> obtenue à cet effet est de 1729 ppm [26]. Cette différence d'action serait liée à la variabilité des constituants chimiques des huiles essentielles de divers horizons. En effet, les molécules actives des plantes insecticides peuvent varier d'une famille à une autre, à l'intérieur d'une famille et la sensibilité peut différer d'une espèce à une autre et à l'intérieur d'une espèce [27]. Toutefois, les valeurs des LC<sub>50</sub> obtenues traduisent une toxicité inférieure à celle de l'huile essentielle de *C. citratus* contre des larves de la même espèce de moustique (LC<sub>50</sub> = 18 ppm) en 24h d'exposition [28].

## 5- Conclusion

Notre étude a montré que l'huile essentielle de *C. nardus* possède une activité larvicide remarquable contre *An. gambiae* et peut servir de prototype pour l'élaboration de bio larvicides dans la lutte contre les vecteurs responsables du paludisme.

## Références bibliographiques

- [1]M.C. Akogbeto, R. Djouaka, H. Noukpo, [Use of agricultural insecticides in Benin]. Bull Soc Pathol Exot 98 (2005) 400-405.
- [2]L. Djogbenou, N. Pasteur, M. Akogbeto, M. Weill, F. Chandre, Insecticide resistance in the *Anopheles gambiae* complex in Benin: a nationwide survey. Med Vet Entomol 25 (2011) 256-267.
- [3]A. Rubert, L. Guillon-Grammatico, J. Chandenier, I. Dimier-Poisson, G. Desoubeaux, Résistance aux insecticides chez le moustique anophèle : des obstacles en plus dans la lutte antipaludique. Med Sante Trop 26 (2016) 423-431.
- [4]D. Fontenille, Écosystèmes, entomologie et lutte anti vectorielle. Annales des Mines Responsabilité et environnement. 51 (2008) 55-60.
- [5]A. El Ouali Lalami, F. El-akhal, W. Oudrhiri, C.F. Ouazzani, R. Guemmouh, H. Grech, Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain: *Thymus vulgaris* et *Thymus satureioidis*. Les technologies de laboratoire. 8 (2013) 27-33.
- [6]B. Kpatinvoh, E.S. Adjou, E. Dahouenon-Ahoussi, T.R.C. Konfo, B. Atrevi, M.M. Soumanou, D.C.K. Sohounhloue, 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. J. Appl. Biosci. 109 (2017) 10680-10687.
- [7]I. Ouedraogo, A. Sawadogo, R.C. NEBIE, D. Dakouo, 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. Biol. Chem. Sci. 10 (2016) 695-705.

- [8]R. Warikoo, N. Wahab, S. Kumar, Oviposition-altering and ovicidal potentials of five essential oils against female adults of the dengue vector, *Aedes aegypti* L. Parasitol Res 109 (2011) 1125-1131.
- [9]E. Tia, N.G.C. Gbalégba, K.R. M'Bra, A. Kaba, O.A.M. Boby, M. Koné, M. Chouaibou, B. Koné, G.B. Koudou, Étude du niveau de production larvaire d'*Anopheles gambiaes* L. (Diptera: Culicidae) dans différents types de gîtes à Oussou-yaokro au Centre-Ouest et à Korhogo, au Nord (Côte d'Ivoire). J Appl Biosci. 105 (2016) 10170 –10182.
- [10]M.T. Gillies, M. Coetzee, A supplement to the Anophelinae of Africa South of the Sahara. Pub.of the sth.Afr.Inst.Med.Res (1987) 55-143.
- [11]WHO, Informal consultation ont the development of *Bacillus sphaericus* as a microbial larvicide. Mimeogr. Doc., WHO/VBC/85.3 (1985) 23 pp.
- [12]J.L. Carballo, Z.L. Hernandez-Inda, P. Perez, M.D. Garcia-Gravalos, A comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products. BMC Biotechnol 2 (2002) 17.
- [13]N. Ríos, E.E. Stashenko, J.E. Duque, Evaluation of the insecticidal activity of essential oils and their mixtures against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). A Journal on Insect Diversity and Evolution Medical and Veterinary Entomology. 61 (2017) 307-311.
- [14]H.K. Koumaglo, Production de l'essence de citronnelle par les coopératives villageoises en Afrique occidentale. Québec, Canada : Université de Chicoutimi. (2004) 81-97.
- [15]T. Silou, R. Bikanga, S. Nsikabaka, J. Nombault, C. Mavoungou, G. Figuéredo, J.C. Chalchat, Plantes aromatiques du Plateau des Cataractes (Bassin du Congo). Caractérisation du chémotype de l'huile essentielle de *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle. Biotechnol Agron Soc Environ. 21 (2017) 105-116.
- [16]K. Nakahara, N.S. Alzoreky, T. Yoshihashi, H.T.T. Nguyen, G. Trakoontivakorn, Chemical Composition and Antifungal Activity of Essential Oil from *Cymbopogon nardus* (Citronella Grass). Japan Agricultural Research. 37 (2003) 249-252.
- [17]R. Anton, A. Lobstein, Plantes aromatiques. Épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc. Paris, (2005) p522.
- [18]R.B.R. Rajeswara, Biomass yield, essential oil yield and essential oil composition of rose-scented geranium (Pelargonium species) as influenced by row spacings and intercropping with corrmint (*Mentha arvensis*, *Mentha piperascens* Malinv. Ex Holmes). Ind Crops Prod. 16 (2002) 133–144.
- [19]S.S. Ranaweera, K.R. Dayananda, Mosquito-larvicidal, activity of ceylon citronella (*cymbopogon nardus* (L.) rendle) oil fractions. Jnatn Sci Sri Lanka. 24 (1996) 247-252.
- [20]M. Akogbeto, S. Yakoubou, [Resistance of malaria vectors to pyrethrins used for impregnating mosquito nets in Benin, West Africa]. Bull Soc Pathol Exot 92 (1999) 123-130.
- [21]C.A. Ahouansou, L. Fagbohoun, S. Mèdégan Fagla, G.A. Houngbèmè, S. Kotchoni, A.F. Gbaguidi, Inhibition Effects of *Elaeis oleifera* (Arecaceae) and *Launaea taraxacifolia* (Asteraceae) on Two Genotypes of *Anopheles gambiae* Larvae. Int. J. Curr. Res. Biosci. Plant Biol. 4 (2017) 39-46.
- [22]I. Ilahi, A.M. Yousafzai, Larvicidal, pupicidal and adulticidal activities of non-polar solvent extract of *Cymbopogon nardus* (Linn.) whole plant against a mosquito, *Culex quinquefasciatus* (Say.). Pak J Pharm Sci 30 (2017) 2337-2340.
- [23]M.A. Clemente, C.M. de Oliveira Monteiro, M.G. Scoralik, F.T. Gomes, M.C. de Azevedo Prata, E. Daemon, Acaricidal activity of the essential oils from *Eucalyptus citriodora* and *Cymbopogon nardus* on larvae of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) and *Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae). Parasitol Res 107 (2010) 987-992.
- [24]S. Preeti, M. Lalit, S. CN, Larval susceptibility of *Ajuga remota* against anopheline and culicine mosquitos. Southeast Asian j Trop Med Public Health 35 (2004) 608 - 610.
- [25]J.M. Muema, S.N. Njeru, C. Colombier, R.M. Marubu, Methanolic extract of *Agerantum conyzoides* exhibited toxicity and growth disruption activities against *Anopheles gambiae* sensu stricto and *Anopheles arabiensis* larvae. BMC Complement Altern Med 16 (2016) 475.
- [26]I. Ouedraogo, A. Sawadogo, R.C.H. Nebie, D. Dakouo, 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 enstockage au Burkina Faso. Int J Biol Chem Sci. 10 (2016) 695-705.
- [27]M. Guèye, Biologie des vecteurs et transmission du paludisme dans des sites sentinelles du Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP) après introduction de mesures de contrôle anti-vectoriel au Sénégal. Mémoire de Master 2 en biologie animale (spécialité entomologie). Université Cheikh AntaDiop de Dakar. 233 (2015) p37.
- [28]F. Tchoumboungang, P.M.J. Dongmo, M.L. Sameza, E.G.N. Mbanjo, G.B.T. Fotso, P.H.A. Zollo, C. Menut, Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 13 (2009) 77- 84.

## Etude phytochimique et capacité antiradicalaire comparatives des extraits des parties aériennes de *Chenopodium ambrosioides* Linn. (Chenopodiaceae)

Gneiny Whad Tchani\*, Kossi Sitsopé Agbeme, Oudjaniyobi Simalou, Gnon Baba, Kafui Kpegba

Laboratoire de Chimie Organique et des Substances Naturelles (Lab COSNat),  
Faculté des Sciences, Université de Lomé.

\*[gneinytchani@gmail.com](mailto:gneinytchani@gmail.com)

### Résumé

L'utilisation de *Chenopodium ambrosioides* dans certaines communautés du Togo, révèle son importance et ses propriétés médicinales. La plante est souvent infusée pour obtenir des boissons médicamenteuses avant son emploi. Ainsi, par une étude comparative, le présent travail a porté sur l'identification des différents groupes phytochimiques puis sur les capacités antiradicalaires des extraits éthanolique et aqueux des parties aériennes (les feuilles plus les graines) de *Chenopodium ambrosioides* obtenus par macération et infusion. Le screening chimique de chaque extrait a révélé la présence des flavonoïdes, des tanins, terpénoïdes et des terpènes puis des alcaloïdes seulement dans les extraits aqueux. La détermination de la teneur en polyphénols des extraits a révélé que l'infusion aqueuse en contient 25,699 mg EAG/g ES, suivi de la macération aqueuse : 24,873 mg EAG/g ES après l'infusion éthanolique : 21,009 mg EAG/g ES et de la macération éthanolique : 20,625 mg EAG/g ES. Les résultats de détermination de la capacité antiradicalaire par la méthode de DPPH<sup>•</sup>, après calcul des IC<sub>50</sub> ont révélé que l'infusion donne respectivement en milieu aqueux et éthanolique : 25,541 µg/mL et 48,269 µg/mL tandis que la macération conduit respectivement à 29,187 µg/mL 50,999 µg/mL. Cette étude a montré que chaque extrait a réagi avec la DPPH<sup>•</sup> et que l'infusion aqueuse est la plus réactive.

**Mots clés :** *Chenopodium ambrosioides*, antiradicalaire, polyphénol, DPPH<sup>•</sup>.

## Phytochemical study and comparative antioxidant activity of extracts from aerial parts of *Chenopodium ambrosioides* Linn. (Chenopodiaceae)

### Abstract

The use of *Chenopodium ambrosioides* in some communities in Togo reveals its importance and its medicinal properties. The plant is often infused for medicinal drinks before use. Thus, through a comparative study, this work focused on the identification of the different phytochemical groups and then on the antiradical capacities of the ethanolic and aqueous extracts of the aerial parts (leaves and seeds) of *Chenopodium ambrosioides* obtained by maceration and infusion. The chemical screening of each extract revealed the presence of flavonoids, tannins, terpenoids and terpenes and then alkaloids only in the aqueous extracts. The determination of the polyphenol content of the extracts revealed that the aqueous infusion contains 25.699 mg GAE/g DW, followed by aqueous maceration : 24.873 mg GAE/g DW dry after the ethanolic infusion : 21.009 mg GAE/g DW and of ethanolic maceration : 20.625 mg GAE/g DW. The results of the determination of the anti-free radical capacity by the DPPH<sup>•</sup> method, after calculation of the IC<sub>50</sub>, revealed that the infusion gives respectively in aqueous and ethanolic solution : 25.541 µg/mL and 48.269 µg/mL while the maceration leads respectively to 29.187 µg/mL 50.999 µg/mL. This study showed that each extract reacted with DPPH<sup>•</sup> and that the aqueous infusion was the most reactive.

**Key words :** *Chenopodium ambrosioides*, antiradical, polyphenol, DPPH<sup>•</sup>.

### 1-introduction

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner, et parfois dans ses rites religieux. Jouant des rôles très importants dans la vie de tous les jours, certaines plantes traditionnellement utilisées ont des propriétés médicinales avec un grand potentiel pour les applications thérapeutiques dans le traitement de certaines maladies. Elles sont une source naturelle de composés bioactifs, y compris des antioxydants tels que les polyphénols, les vitamines, les caroténoïdes, les acides gras insaturés et les sucres, qui peuvent être utiles pour diverses applications, en particulier comme additifs alimentaires [1]. Selon l'OMS, les trois quarts de la population mondiale ont recours à la médecine et à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de santé [2]. En Afrique le pouvoir thérapeutique des plantes était connu par nos ancêtres et nos parents de façon empirique [3]. Plus précisément au Togo, les parties aériennes de *Chenopodium ambrosioides* sont utilisées pour la préparation de tisanes pour soigner plusieurs pathologies telles que l'inflammation, le paludisme, douleurs abdominales et les parasitoses digestives. La plante est communément utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement des abcès et des plaies infectées

Des boissons médicamenteuses sont souvent préparées par infusion aqueuse. Malheureusement, la composition chimique et les conditions dans lesquelles sont préparées ces tisanes ne sont pas connues. Toutefois, certains constituants actifs peuvent être dénaturés sous l'effet de la chaleur. De ce qui précède, notre travail portera sur les extraits aqueux et éthanolique des parties aériennes (les feuilles et les graines) de *Chenopodium ambrosioides* en croissance au Togo afin d'en connaître plus sur leurs constituants chimiques par détection des différents groupes de métabolites secondaires en se basant sur deux méthodes d'extraction (la macération et l'infusion) puis déterminer leurs capacités anti radicalaires.

## 2. Matériel et méthodes

Les instruments que nous avons utilisés pour ces travaux sont : une balance de précision, un spectrophotomètre UV-visible 5100B SPECTRO PHOTOMETER, un vortex, une centrifugeuse (SPN-400), un évaporateur rotatif (Rotavapor), des micropipettes, et toutes sortes de verreries. Le matériel végétal pour ce travail est constitué des parties aériennes (feuilles et graines) de *Chénopodium ambrosioides* récoltées à Tsévié-Dalavé (environ 50Km au Nord de Lomé) le 31 Octobre 2019 aux coordonnées suivantes : latitude Nord 6°23'0,042'' et longitude Est 1°14'7,692'' pendant la période de fructification. Les plantes récoltées ont été authentifiées au Laboratoire de Botanique et d'Ecologie Végétale de l'Université de Lomé. Les feuilles et graines récoltées ont été lavées à l'eau puis séchées à l'abri de la lumière pendant un mois dans le but d'abaisser la teneur en eau, d'éviter la contamination et de conserver les principes actifs à basse température. Elles sont ensuite réduites en poudre à l'aide d'un broyeur puis conservées à l'abri de l'air et de l'humidité.

### -Réactifs chimiques

Les réactifs utilisés sont : le DPPH (1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyle), la quercétine, le trichlorure de fer III ( $\text{FeCl}_3$ ) proviennent du fournisseur Carlo Erba. Le carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) et l'acide gallique quant à eux sont achetés chez Sigma Aldrich. D'autres produits chimiques tels que le chloroforme, la soude, l'acide chlorhydrique, l'acide sulfurique ont été utilisés. L'éthanol, le méthanol et l'eau distillée ont servi comme solvants.

### Méthodes d'étude

#### -Préparation des extraits

Les extraits aqueux et éthanolique sont préparés en se basant sur deux méthodes d'extractions.

#### Macération

La macération consiste à maintenir en contact la drogue avec un solvant à température ambiante pendant une durée de 30 minutes à 48 heures. Dans le cas des tisanes le solvant est l'eau. Cette méthode permet une extraction douce des principes actifs, surtout lorsqu'ils sont thermolabiles.

- L'extraction aqueuse s'est faite en introduisant 8 g de poudre végétale dans 80 mL d'eau distillée, le mélange est agité et laisser macérer pendant 24h puis filtré.
- Les mêmes étapes ont été suivies pour l'extrait éthanolique (éthanol 95%).

#### Infusion

Elle se prépare en versant le solvant bouillant sur les parties de plantes fraîches ou séchées et bien les tremper afin d'extraire leurs principes actifs en laissant reposer le mélange pendant 5 à 15 minutes à température ambiante.

- Pour l'extrait aqueux, 8 g de poudre végétale est introduit dans 80 mL d'eau distillée bouillante et laissé infuser pendant 15 minutes.
- Les mêmes étapes ont été suivies dans l'éthanol bouillant (éthanol 95%)

Les filtrats obtenus sont utilisés pour les études phytochimique et antiradicalaire.

### Test phytochimique

Le screening phytochimique permet de mettre en évidence la présence ou l'absence des groupes de familles chimiques dans une matière végétale. Il est basé sur des réactions de précipitation et de coloration. La méthode appliquée est celle adoptée par Haddouchi et al., [5]; EL-Haoud et al.,[6] modifiée et adaptée aux conditions du Laboratoire de Chimie Organique et des Substances Naturelles de l'Université de Lomé.

Une masse de 20 g de poudre a été macérée pendant 24 heures et infusée dans 200 mL d'eau distillée et d'éthanol 95°. Le mélange ainsi obtenu est filtré avec du coton et ensuite sur du papier filtre. Les extraits sont évaporés à 45°C à l'aide d'un évaporateur rotatif.

Les rendements en extraits secs sont déterminés d'après la formule suivante:

$$\text{Rendement (\%)} = \left[ \frac{P1 - P2}{P3} \right] \times 100$$

P1 : poids du ballon après évaporation ; P2 : poids du ballon vide avant évaporation ; P3 : poids de la matière végétale sèche de départ.

la méthode à adopter est celle utilisée par Ali-Rachedi et al.[7] où un volume de 200 µL de chaque extrait a été ajouté, avec un mélange de 1 mL de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois, et 800 µL d'une solution conservés pendant 30 minutes. L'absorbance est lue à 765 nm.

Le DPPH<sup>\*</sup> (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre qui possède un électron impair sur l'un de ces atomes d'azotes et qui est la base de la plupart des tests antioxydants. Le test consiste à mettre le radical DPPH<sup>\*</sup> (de couleur violette) en présence des molécules dites « antioxydantes » afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical. La forme réduite (de couleur jaune) n'absorbe plus, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance.

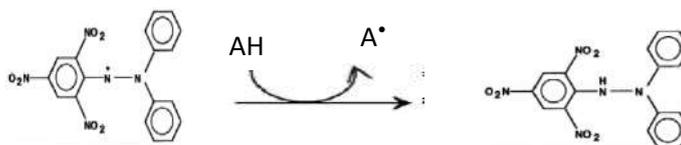


Figure 1: Réduction du radical DPPH<sup>\*</sup> par une molécule AH (antioxydant) (Haddouchi et al.[5])

L'activité anti radicalaire des différents extraits a été déterminée par le test de réduction du radical libre DPPH<sup>\*</sup> en utilisant la méthode décrite par Dieng et al. [8] et modifiée.

Une solution éthanolique de DPPH<sup>\*</sup> a été préparée en dissolvant quelques mg de ce produit dans 100 mL d'éthanol. Chaque extrait est dilué suivant des concentrations de (1,8-2-2,2-2,5-2,8-3,3-4-5-6,7-10 mg/mL) et la référence (Quercétine) selon les concentrations suivantes : 1,29-1, 38-1,5-1,8-2-3 µg/mL. Ensuite, à 150 µL d'extrait et de la référence sont ajoutés 3 mL de la solution de DPPH<sup>\*</sup> ; puis les absorbances ont été mesurées à 517 nm après incubation de 30 minutes à l'obscurité. Trois essais ont été effectués pour chaque concentration de produit testé.

#### -Traitement des données

Afin de déterminer les moyennes et les coefficients de corrélation, une analyse des résultats est réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2010. Les graphes et les histogrammes ont été réalisés à l'aide de ce même logiciel. Les IC<sub>50</sub> ont été calculés à partir des équations linéaires ou logarithmiques des courbes tracées.

### 3-resultats et discussion

#### 3-1 composition phytochimique des différents extraits

Les résultats du test phytochimique de chaque extrait ont révélé la présence des flavonoïdes, des tanins, des terpénoïdes et des terpènes puis des alcaloïdes dans les extraits aqueux à l'exception des saponosides, des composés réducteurs, des glycosides cardiaques et des anthracéniques libres qui se sont révélés négatifs. Le tableau ci-dessous indique la présence des différents groupes recherchés.

Tableau 1 : Résultat du screening phytochimique de *Chenopodium ambrosioides*

Groupes chimiques	Macération		Infusion	
	Eau distillée	Ethanol	Eau distillée	Ethanol
Flavonoïdes	+	+	+	+
Tanins	+	+	+	+
alcaloïdes	+	-	+	-
saponosides	-	-	-	-
Terpénoïdes	+	+	+	+
Terpènes	+	+	+	+
Composés réducteurs	-	-	-	-
Glycosides cardiaques	-	-	-	-
Anthracéniques libres	-	-	-	-
Quinines	-	-	-	-

(+) = réaction positive, (-) = réaction négative

### 3-2 Rendements d'extractions

Pour les quatre types d'extraits étudiés, la valeur de leurs rendements en extrait sec basée sur leurs poids secs est consignée dans le tableau suivant :

D'après le **tableau II**, les rendements obtenus par la macération sont plus élevés que ceux de l'infusion quel que soit le solvant employé. De plus, les extraits aqueux ont un rendement supérieur aux extraits éthanoliques.

**Tableau II : Résultat des rendements d'extraction**

Types d'extraits		Rendements
Macération	Aqueux	17,48%
	Ethanol	5,85%
Infusion	Aqueux	15,63%
	Ethanol	5,27%

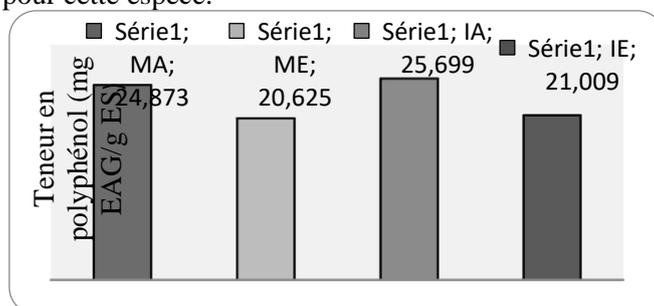
### 3.3. Dosage des polyphénols

Il a permis de déterminer la quantité de l'ensemble des composés phénoliques contenus dans chaque type d'extrait. Une courbe d'étalonnage est donc tracée à partir de l'acide gallique pris comme référence. Ainsi, la teneur en polyphénol est calculée à partir de cette courbe et exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/ g ES).

Les résultats du dosage montrent qu'il y a un faible écart entre les teneurs en polyphénols. En effet, les extraits aqueux présentent une importante teneur avec 25,699 mg EAG/g ES et 24,873 mg EAG/g ES respectivement pour l'infusé aqueux et le macérât aqueux, contre 21,009 mg EAG/g ES pour l'infusé éthanolique et 20,625 mg EAG/g ES pour le macérât éthanolique. Il ressort de ces valeurs que la quantité de polyphénols varie d'un solvant à un autre et d'une technique à l'autre.

Une étude réalisée par Amine et al.[9] sur trois extraits aqueux a montré que le décocté présente une forte teneur en polyphénols suivi de l'infusé et après le macérât ; ce qui confirme nos résultats. Aussi, Villalobos-Delgado et al.[10] ont montré dans leur étude que l'infusion de *Chenopodium ambrosioides* contenait une forte concentration en composé phénolique comparée à l'extrait éthanolique obtenu par macération.

En considérant un solvant, ces résultats démontrent que l'infusion permet une bonne extraction des composés phénoliques pour cette espèce.



**Figure 4 : Comparaison des teneurs en polyphénols des extraits de *Chenopodium ambrosioides***

### 3.4. Activité du piégeage du radical DPPH

L'étude de l'activité anti-radicalaire des extraits a permis de déterminer l'extrait qui présente le plus d'activité. L'absorbance de la solution éthanolique de DPPH' lu à 517 nm est égale à 0,908.

### 3-5 Détermination d'IC<sub>50</sub>

Il est utilisé pour estimer l'activité réductrice. Une valeur de IC<sub>50</sub> exprime la concentration capable de piéger 50% du radical DPPH' et donc une IC<sub>50</sub> faible représente l'activité antiradicalaire la plus élevée. Les valeurs des concentrations des IC<sub>50</sub> sont rapportées dans le tableau suivant.

**Tableau VII : Valeur des IC<sub>50</sub> pour le test de DPPH'**

Type d'extrait	Equation de la courbe	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
Quercétine	Y= -0,0276 X + 0,7681	11,380
Infusion aqueuse	Y= -16,256 X + 0,8692	25,541
Infusion éthanolique	Y= -8,6536 X + 0,8717	48,269
Macération aqueuse	Y= -13,451 X + 0,8466	29,187
Macération éthanolique	Y= -8,0276 X + 0,8634	50,999

#### 4-CONCLUSION

Le test phytochimique de chaque extrait quel que soit la méthode d'extraction utilisée a révélé la présence de flavonoïdes, de tanins, de terpénoïdes et de terpènes puis des alcaloïdes seulement dans les extraits aqueux à l'exception des saponosides, composés réducteurs, glycosides cardiaques et des anthracéniques libres qui se sont révélés négatifs dans tous les extraits.

Pour la détermination de la capacité antiradicalaire, les extraits aqueux ont montré plus d'activités que les extraits éthanoliques. En revanche pour un solvant donné, ce sont les extraits par infusion qui conduisent à de meilleure activité antiradicalaire. Ces résultats ont montré que tous les extraits sont dotés d'une activité qui varie d'un solvant à un autre puis d'une technique à l'autre. Une étude plus poussée permettrait donc d'améliorer le rendement par d'autres techniques, de cibler le ou les composé (s) responsable (s) de l'activité de chaque extrait puis d'identifier d'éventuels métaux lourds présents dans les différentes parties aériennes de *Chenopodium ambrosioides*.

#### 5-REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Barros, L., Pereira, E., Calhelha, R. C., Duenas, M., Carvalho, A. M., Santos-Buelga, C., Ferreira, I. C. F. R. *J. Funct. Foods*, **2013** 5(4) 1732-1740.
- [2] Djassinra, T., Kribii, A., and Ounine, K. *International Journal of Innovation and Scientific Research (IJISR)* **2015** 15(1), 30-38
- [3] N'guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D., and Aké-Assi, L. *Sciences & Nature* **2009**, 6(1), 1-15
- [4] Tettegah, M., Eklu-Kadegbeku, K., Aklikokou, A. K., Agbonon, A., Souza, C. De., and Gbeassor, M. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* **2009** 3(3), 623-627.
- [5] Haddouchi, F., Chaouche, T. M., and Halla N. *Phytothérapie*, **2016**, 1-9.
- [6] EL-Haoud, H., Boufellous, M., Berran, A., Tazougart H. and Bengueddour R. *Am. J. innov. res. appl. sc.*, **2018** 7(4), 226-233.
- [7] Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Halla, N., and Mesbah, S. *Bull. Soc. R. Sci. Liège*, **2018** 87, 13-21
- [8] Dieng, S. I. M., Fall, A. D., Diatta-Badji, K., Sarr, A., Sene, M., Sene, M., Mbaye, A., Diatta, W., and Bassene, E. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* **2017** 11(2), 768 – 776
- [9] Amine, D., Mohamed, B., Zoubida, H., Jamal, I., and Laila, N. *European Scientific Journal*, **2020** 13(24), 483-497.
- [10] Villalobos-Delgado, L. H., González-Mondragón, E. G., Salazar Govea, A. Y., Andrade, J. R., and Santiago-Castro, J. T. *Food Sci. Technol.* **2017**, 84, 306-313.

## Identification par GC-MS de molécules bioactives de deux plantes présumées anti hypertensives de la pharmacopée nigérienne : *Ximenia americana* L. et *Acanthospermum hispidum* DC.

Djamilatou Zakari Seybou<sup>1,2\*</sup>, Djibo Alfa Keita<sup>1</sup>, David Virieux<sup>2</sup>, Jean Luc Pirat<sup>2</sup>, Haoua Seini Sabo<sup>1</sup>

1. Laboratoire des substances naturelles et de synthèse Organique (LASNASO), Université Abdou Moumouni de Niamey, BP: 10662, Niamey, Niger

2. Laboratoire AM2N, Institut Charles Gerhardt, UMR 5253, Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier (ENSCM), 8, rue de l'Ecole Normale, 34296 Montpellier, France

### Resume

Au Niger, la pharmacopée traditionnelle retrouve un regain d'intérêt auprès des communautés et des chercheurs. Ainsi plusieurs études conduites ont permis de dresser un répertoire de plantes médicinales. Parmi celles-ci, on retrouve des plantes utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle, maladie émergente non transmissible. Nous avons porté notre choix sur deux espèces végétales fréquemment citées, *Acanthospermum hispidum* Dc. (*A. hispidum*) et *Ximenia americana* L. (*X. americana*). L'objectif principal du présent travail est d'identifier les composés contenus dans les extraits bruts des deux plantes en vue d'établir ceux qui pourraient justifier leurs activités anti hypertensives présumées. L'analyse GC-MS des extraits hexanique et acétate d'éthyle d'une part et d'autre part celle des extraits éthanolique et méthanolique dérivatisés, a permis d'identifier 23 et 30 molécules respectivement dans *A. hispidum* et *X. americana*: ce sont des alcools, des acides, des terpènes, des stéroïdes et des composés phénoliques. Parmi les composés rencontrés dans *A. hispidum*, acide  $\alpha$ -linoléique,  $\alpha$ -Bisabolol, spathulenol, Naringenine et acide (+)-ascorbique 2,6-dihexadecanoate ont été rapportées comme ayant des activités anti hypertensives alors que dans *X. americana* acide gallique, caryophyllène, trans-squalène, catéchol, acide (+)-ascorbique 2,6-dihexadecanoate, acide Octadec-9-énoïque et catéchine ont une telle propriété. La présence de telles molécules bioactives dans les extraits de ces plantes pourrait justifier leur propriété antihypertensive.

**Mots clés** : *A. hispidum* et *X. americana*, molécules bioactives, GC-MS, hypertension au Niger.

### ABSTRACT

In Niger, the traditional pharmacopoeia is regaining renewed interest in lending from communities and researchers. Thus, several studies have been carried out that have made it possible to draw up a repertory of medicinal plants. Among these are plants used in the treatment of hypertension, an emerging non-communicable disease. We have chosen two frequently cited plant species, *Acanthospermum hispidum* Dc. (*A. hispidum*) and *Ximenia americana* L. (*X. americana*). The main objective of the present work is to determine the different compounds contained in sonicator hexanic, ethyle acetate, ethanol and methanol extracts of the two plants in order to establish which ones can justify their presumed antihypertensive activities. The GC-MS analysis of the hexanic and ethyl acetate extracts on the one hand and on the other hand of those of the ethanolic and methanolic derivated extracts. A total of 22 and 29 molecules were identified in *A. hispidum* and *X. Americana* respectively, mainly alcohols, fatty acids, sesquiterpens, steroids and phenolic compounds. These compounds found in *A. hispidum*, five were reported to have antihypertensive activities while in *X. americana*, 6 had such property. The presence of such bioactive molecules in the extracts of these two plants may provide scientific evidence of the antihypertensive properties of these plants.

Keywords: *A. hispidum* and *X. americana*, molecules bioactives, GC-MS, hypertension in Niger.

### 1.Introduction

L'hypertension artérielle (HTA) est une pathologie très fréquente dans le monde, aussi bien dans les pays développés que ceux en voie de développement. Elle constitue un facteur de risque cardiovasculaire de haute prévalence et est estimée responsable actuellement de 4,5% de la charge mondiale de morbidité selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) [1]. Plus de 10 millions de décès annuels sont attribuables à l'HTA. La prévalence globale de l'HTA est estimée aux alentours de 30-45% de la population mondiale. Pour 2025, les chercheurs ont estimé que 29,2% de la population adulte sera hypertendue, soit 1,56 milliards d'individus [2]. En effet, la mortalité cardiovasculaire double pour chaque augmentation de 20/10 mmHg de la pression artérielle systolique/diastolique [3], [4]. L'HTA est aussi la cause de nombreuses autres pathologies, tout aussi invalidantes : insuffisance rénale, insuffisance cardiaque, anévrisme artériel, dissection aortique, arythmie, démence [4;5]. Cependant, malgré de très nombreux efforts, le contrôle de cette élévation de pression artérielle reste insuffisant [6] et sa prise charge est un traitement à vie et demeure toujours coûteuse. En Afrique, 80 % de la population continue à se soigner par les plantes pour les soins de santé primaires [7]; et particulièrement au Niger [8]. Dans les pays développés, on observe un regain d'intérêt pour cette médecine traditionnelle [9]. Cette dernière est la plus ancienne forme de soins de santé connue de l'humanité. Les plantes médicinales ont été utilisées par toutes les cultures au cours de l'histoire. Les propriétés médicinales des plantes pourraient être attribuées à la présence d'un ou de plusieurs des composants actifs de la plante. De nombreuses plantes médicinales sont devenues attrayantes pour les scientifiques en tant que sources naturelles d'agents naturels qui pourraient être plus sûrs que les sources synthétiques. Il a été rapporté que la présence des molécules à propriétés antihypertensives et/ou antioxydantes serait une base scientifique solide pour l'usage d'une plante dans la prise en charge de l'HTA. Nous avons porté notre choix sur *A. hispidum* DC et *Ximenia americana* L. *A. hispidum*: plante de la famille des Asteraceae, utilisée dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle [9]; [10]. Quant à *X. americana*, c'est une plante de la famille des Olacaceae, bien connue à travers la savane de l'Afrique tropicale pour ses vertus médicinales. Aissa et al. l'ont recensé parmi les plantes utilisées contre l'hypertension artérielle

[11], les maladies affectant l'appareil circulatoire [12]. L'objectif visé par la présente étude est de contribuer à la valorisation de la médecine traditionnelle au Niger en identifiant des molécules bioactives par GC-MS de *A. hispidum* et *X. americana* en vue de justifier leur utilisation dans la prise en charge traditionnelle de l'hypertension artérielle au Niger.

## 2. Matériel et méthodes

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne de *A. hispidum* récoltée à Niamey (commune 5) et de l'écorce de tronc de *X. americana* récoltée à Gaya. Ces échantillons ont été identifiés par Pr SADOU Mahamane du département de Biologie de l'Université Abdou Moumouni de Niamey. Ces drogues ont été séchées sous ventilation permanente pendant deux semaines puis pulvérisées à l'aide d'un broyeur électrique (Marque RETSCH, Type SK 100).

### 1.1 METHODES

#### 1.1.1 Extraction aux ultrasons

20 g de l'échantillon a été extraits avec l'hexane, l'acétate d'éthyle, l'éthanol et le méthanol dans un bain-marie à ultrasons pendant 2 heures. Après filtration, le solvant a été éliminé sous pression réduite [13]. Le rendement a été calculé à l'aide de l'équation suivante: rendement = (masse de l'échantillon / masse de l'extrait sec obtenu) x 100

#### 1.1.2 Dérivatisation

La dérivatisation a été effectuée selon la méthode adoptée par Marthe et al. [14]. 5 mg d'extrait (extrait éthanolique et méthanolique) a été solubilisé dans 1ml de tétrahydrofurane. Ensuite, 150 µL de N, O-bis(triméthylsilyl) trifluoroacétamide (MSTFA), 1,5µL de chlorotriméthylsilane ont été ajoutés. Le mélange a été agité, mis en bulle sous azote pendant 20 s, puis incubé à 40°C pendant 15 min. Enfin, 20 µL du mélange sont pris pour analyse GC-MS. Ainsi, 1µl de l'échantillon est injecté dans le chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (SHIMADZU, modèle QP2010SE), muni d'une colonne Phenomenex Zebron ZB-5ms de 20 m de longueur, d'un diamètre intérieur de 0,18 mm et d'une épaisseur de film de la phase stationnaire de 0,18 µm. L'injection réalisée en mode splitless, la température du four est programmée de 50 °C avec un palier de 2 min, à 280 °C avec un gradient de 22 °C.min<sup>-1</sup> et un palier final de 2 min à 280°C. Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 0,7 ml.min<sup>-1</sup>. Les paramètres du spectromètre sont : régulateur 970kPa, Vitesse de scan: 50 scans/s, Vitesse d'acquisition : 10000 uma/s. L'identification des composés a été faite en comparant les données spectrales obtenues à partir des bibliothèques Wiley et NIST.

## 3. Resultats et discussion.

### 2.1. Rendement des extrait

Les rendements des extraits obtenus sont consignés dans le Tableau 1

Les rendements en extraits hexanique, acétate d'éthyle, éthanolique et méthanolique obtenus par extractions aux ultrasons sont résumés dans le Tableau 1. Les meilleurs rendements ont été obtenus avec les extraits éthanol et méthanol de *X. americana* avec 28% et 17,75% respectivement. Quant à *A. hispidum*, les meilleurs rendements ont été obtenus avec le méthanol et l'hexane avec 13,8 et 7,3 respectivement. Le plus faible rendement a été obtenu avec l'extrait hexanique de *X. americana* avec 0,65%.

Tableau 1: Rendement des extraits

Echantillons	Solvants			
	Hexane	Acétate d'éthyle	Ethanol	Méthanol
<i>A. hispidum</i>	7,3	3,5	5,55	13,8
<i>X. americana</i>	0,65	8,3	17,7	28

### Résultats de l'analyse GC-MS

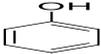
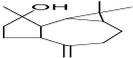
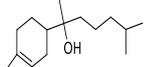
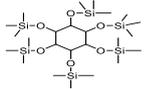
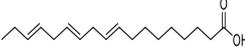
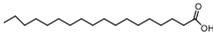
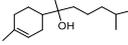
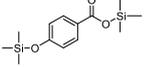
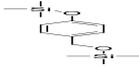
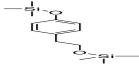
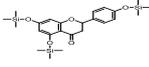
La structure des molécules identifiées, leur noms, le temps de rétention (TR), le pourcentage de la surface des pics et la masse molaire (M) sont consignés dans les tableau 2 et 4 respectivement pour *A. hispidum* et *X. americana*.

### Les composés identifiés dans les extraits bruts de *A. hispidum* par GC-MS

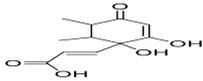
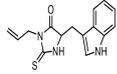
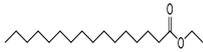
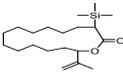
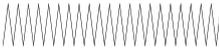
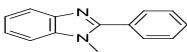
L'analyse GC-MS des extraits a révélé la présence 6 alcools: spathulenol, 3, 7, 11, 15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol, α-Bisabolol identifiés dans l'extrait hexanique; le phénol, le 4-Hydroxyphenylethanol et l'inositol dans l'extrait méthanolique. Trois acides gras ont été identifiés dans l'extrait éthanolique: l'acide palmitique, l'acide α-linoléique et l'acide stéarique. Deux sesquiterpènes ont été identifiés dans l'extrait hexanique d'*A. hispidum*: α-Bisabolol et

Spathulenol. Quatre composés phénoliques ont été identifiés dans l'extrait méthanolique de *A. hispidum* après dérivatisation. Il s'agit de l'acide benzoïque, du 4-méthoxyphénol, du 4-Hydroxyphényléthanol et la naringénine. Au total, 22 composés ont été identifiés par GC-MS dont les majoritaires sont: l'inositol avec 54%, (2E)-3, 7, 11, 15-Tetraméthyl-2-hexadécen-1-ol avec 30,35%, phénol 16,55%, l'acide 1-(+)-Ascorbic 2,6 dihexadécanoate 4,93%; l'acide  $\alpha$ -linoléique 4,3%.

**Tableau 2:** Les composés identifiés dans les extraits bruts de *A. hispidum* par GC-MS

Nom	RT (mn)	Aire(%)	M(g/mol)	Structure
<b>Les alcools identifiés dans les extraits bruts de <i>A. hispidum</i> par GC-MS</b>				
Phénol	4,55 <sup>d</sup>	16,55	94	
4-Hydroxyphényléthanol	8,60 <sup>d</sup>	0,10	136	
Spathulenol	8,80 <sup>a</sup>	4,03	220	
$\alpha$ -Bisabolol	9,33 <sup>a</sup>	4,03	222	
3, 7, 11, 15-Tetraméthyl-2-hexadécen-1-ol	10,24 <sup>ab</sup>	3,26	296	
Inositol	10,47 <sup>d</sup>	45	180	
<b>Les acides gras identifiés dans les extraits bruts de <i>A. hispidum</i> par G C-MS</b>				
Acide palmitique	10,94 <sup>b</sup>	0,43	328	
Acide $\alpha$ -linoléique	11,39 <sup>b</sup>	4,37	278	
Acide stéarique	11,77 <sup>b</sup>	0,18	356	
<b>Les sesquiterpènes identifiés dans les extraits bruts de <i>A. hispidum</i></b>				
$\alpha$ -Bisabolol	9,33 <sup>a</sup>	4,03	222	
Spathulenol	8,80 <sup>a</sup>	4,03	220	
<b>composés phénoliques identifiés dans les extraits bruts d'<i>A. hispidum</i></b>				
Acide benzoïque	8,92 <sup>d</sup>	0,96	138	
4-méthoxyphénol	8,22 <sup>d</sup>	0,58	124	
4-Hydroxyphényléthanol	8,60 <sup>d</sup>	0,10	136	
naringénine	18,68 <sup>d</sup>	0,34	448	

**Autres composés identifiés**

2-Cyclohexen-1-one, 4-hydroxy-3,5,6-trimethyl-4-(3-oxo-1-butenyl)-	9,84 <sup>d</sup>	0,29	222	
3-Allyl-5-(1H-indol-3-ylmethyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one	10,02 <sup>d</sup>	0,11	285	
2-amino-3-(5-hydroxy-1H-indol-3-yl)propanoic acid	10,58 <sup>d</sup>	0,36	220	
1-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	10,60 <sup>c</sup>	4,93	652	
Palmitic acid, ethyl ester	10,74 <sup>c</sup>	3,53	284	
Linolenic acid, ethyl ester	11,51 <sup>c,d</sup>	3,60	306	
15-Isopropenyl-3-(trimethylsilyl)oxacyclopentadecan-2-one	11,58 <sup>d</sup>	0,19	338	
Tetratetracontane	12,44 <sup>a</sup>	4,03	618	
Eicosane	13,29 <sup>a</sup>	5,47	282	
1-Methyl-2-phenylbenzimidazol	16 <sup>d</sup>	9,08	208	

RT : Temps de rétention, M , a, b, c, d : Composé identifié dans les extraits hexane, acétate d'éthyle, Ethanol et méthanol respectivement.

### Les composés à propriétés anti hypertensives identifiées dans les extraits de *A. hispidum*

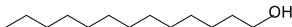
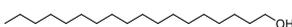
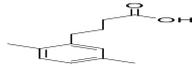
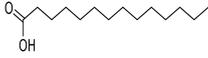
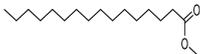
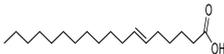
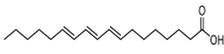
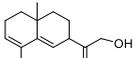
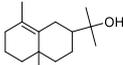
Nom	Propriétés pharmacologiques	Références
	Améliore le dysfonctionnement endothélial et diminue l'hypertension.	[15]
Acide $\alpha$ -linolénique	Diminue les niveaux de triglycérides, cholestérol à lipoprotéines de haute densité, et lipoprotéine de très basse densité. Ce qui pourrait prévenir le risque de maladies cardiovasculaires	[16]
$\alpha$ -Bisabolol	Antioxydantes, antiradicalaires et anti-inflammatoires	[17]
spathulenol	Spathulenol pourrait servir de pistes naturelles prometteuses pour le développement de la fibrose cardiaque	[18]
Naringenine	La naringenine a offert un effet antihypertenseur et neuroprotecteur grâce à la régulation de la baisse des lésions rénales, du récepteur des minéralocorticoïdes et de l'enzyme de conversion de l'angiotensine.	[19] [20]

La *naringénine* a atténué les dommages rénaux dans un modèle d'hypertension rénovasculaire en normalisant le déséquilibre de l'activation du système rénine-angiotensine

	Antioxydant,	[21 ; 22]
(+)-Ascorbic acid	cardio-protecteur,	[23]
2,6-dihexadecanoate	anti-inflammatoire,	[24]

### Les composés identifiés dans les extraits bruts de *X. americana* par GC-MS

**Tableau 3** : Les alcools identifiés dans les extraits bruts de *X. americana* par GC-MS

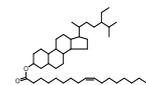
Nom	RT (mn)	Aire(%)	M (g/mol)	Structure
<b>Les alcools identifiés dans les extraits bruts de <i>X. americana</i></b>				
n-Tetradecan-1-ol	7,60 <sup>a</sup>	2,54 <sup>d</sup>	214	
1-Nonadecanol	9,78 <sup>a</sup>	0,82 <sup>d</sup>	284	
<b>Les acides identifiés dans les extraits bruts de <i>X. americana</i> par GC-MS</b>				
acide $\gamma$ -(2,5-Dimethylphenyl)-n-butyrique	8,95 <sup>a</sup>	1,98	192	
acide Myristique	9,58 <sup>a</sup>	0,52	228	
Palmitic acid, methyl ester	10,37 <sup>a</sup>	0,44	270	
Acide (6Z)-6-Octadecenoïque	11,32 <sup>a,b</sup>	26,82	282	
acide Octadec-9-énoïque	11,43 <sup>a</sup>	28,90	282	
acide Stéarique	11,48 <sup>a</sup>	2,39	284	
Acide linoléique	11,38 <sup>d</sup>	3,68	278	
acide $\gamma$ -linoléique	11,88 <sup>a</sup>	4,43	278	
<b>Les terpènes identifiés dans les extraits bruts de <i>X. americana</i></b>				
Caryophyllène	7,88 <sup>a</sup>	1,66	204	
2-(4a,8-Diméthyl-2,3,4,4a,5,6-hexahydro-naphthalen-2-yl)-prop-2-en-1-ol	10,047 <sup>a</sup>	1,54	218	
$\gamma$ -Eudesmol	9,02 <sup>a</sup>	1,93	222	

Trans-squalene	14,56 <sup>a</sup>	3,05	410
----------------	--------------------	------	-----

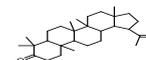


**Les stéroïdes identifiés dans les extraits bruts de *X. americana***

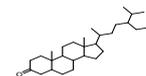
Stigmast-5-en-3-ol, oleate	17,27 <sup>a,b</sup>	9,48	678
----------------------------	----------------------	------	-----



Lupenone	21,740 <sup>a</sup>	45,64	424
----------	---------------------	-------	-----

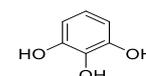


Sitostenone	23.287 <sup>a</sup>	16,92	412
-------------	---------------------	-------	-----

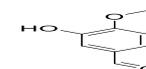


**Les composés de phénoliques identifiés dans les extraits bruts de *X. americana***

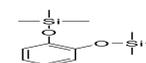
Pyrogallol	7,34 <sup>b</sup>	33	126
------------	-------------------	----	-----



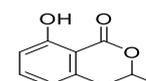
Isovanilline	7,61 <sup>b</sup>	1,03	152
--------------	-------------------	------	-----



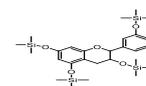
Catéchol	7,78 <sup>d</sup>	11	254
----------	-------------------	----	-----



8-Hydroxy-3-methyl-3,4-dihydro-1H-isochromen-1on	8,55 <sup>ab</sup>	2,07	178
--	--------------------	------	-----

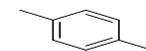


Catéchine	10,17 <sup>d</sup>	4,41	650
-----------	--------------------	------	-----

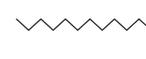


**Autres composés identifiés des extraits de *X. americana***

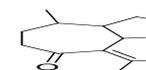
p-Xylene	3,45 <sup>a</sup>	2,64	106
----------	-------------------	------	-----



Palmitic acid, methyl ester	10,37 <sup>a</sup>	0,44	270
-----------------------------	--------------------	------	-----



5(1H)-Azulenone, 2, 4, 6, 7, 8,8a-hexahydro-3,8-dimethyl-4-(1-methylethylidene)-, (8S-cis)-	10,58 <sup>a</sup>	0,79	218
---	--------------------	------	-----



(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	10,62	14,99	652
---------------------------------------	-------	-------	-----



Methyl (7E)-7-octadecenoate	11,16 <sup>a</sup>	0,68	296
-----------------------------	--------------------	------	-----



2-cis,cis-9,12-Octadecadienyloxyethanol	11,54 <sup>a</sup>	3,36	310
---	--------------------	------	-----



Oleamide	12,343 <sup>a</sup>	7,01	281
----------	---------------------	------	-----



RT : Temps de rétention, M : masse molaire, a, b, c, d : Composé identifié dans les extraits hexane, acétate d'éthyle, Ethanol et méthanol respectivement.

L'analyse GC-MS des extraits *X. americana* a permis d'identifier deux alcools dans l'extrait méthanolique: n-Tétradécan-1-ol et 1-Nonadécanol. 7 acide carboxylique, dont 6 acide gras: acide myristique, acide (6Z)-6-Octadécénoïque, acide Octadéc-9-énoïque, acide Octadéc-9-énoïque, acide stéarique, acide-γ-linoléique identifiés dans l'extrait hexanique et l'acide linoléique dans l'extrait méthanolique. Trois sesquiterpènes: caryophyllène, 2-(4a,8-

Dimethyl-2,3,4,4a,5,6-hexahydro-naphthalen-2-yl)-prop-2-en-1-ol,  $\gamma$ -Eudesmol et un triterpènes : Trans-squalene ont été identifiés dans l'extrait hexanique de *X. americana*. Lupenone, Sitostenone et Stigmast-5-en-3-ol, oléate: ce sont des stéroïdes identifiés par GC-MS dans l'extrait hexanique de *X. americana*. Ce sont les composants abondants de cet extraits avec des aires de présence 45,64; 16,92 et 9,48 respectivement. Cinq composés phénoliques ont été identifiés dans les extraits de *X. americana* : le catéchol et la catéchine après silyllation de l'extrait méthanolique; le pyrogallol et l'isovanilline dans l'extrait acetate d'éthyle et le 8-Hydroxy-3-methyl-3,4-dihydro-1H-isochromen-1-on dans les extraits hexanique et acétate d'éthyle.

#### Les composés à propriétés anti hypertensives identifiées dans *X. americana*

L'acide gallique, l'acide Octadec-9-enoïque, le catéchol, Caryophyllène, l'acide (+)-Ascorbique 2,6-dihexadecanoate et la catéchine ont été les composés identifiés par GC-MS dans les extraits de l'écorce de tronc de *X. americana* ayant des propriétés antioxydante ou antihypertensive.

**Tableau 4:** Les composés à propriétés anti hypertensives identifiées dans *X. americana*

Nom	Propriétés biologiques	Références
Acide gallique(AG)	AG améliorerait les lésions myocardiques grâce à ses effets hypolipidémiques, anti-inflammatoires et antioxydants et à la régulation positive du Cx43 dans le cœur.	[25]
acide Octadec-9-enoïque	cardio-protection, réduction du taux de cholestérol dans le sang, hypotension,	[26]
Catéchol	Induire les activités des enzymes Antioxydantes	[27]
Trans-squalène	Antioxydant, maladies cardiovasculaires	[28]
Caryophyllène	Antioxydant	[29]
(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	Effet de cardioprotection	[17; 30]
	Antioxydant,	[21]
	Antioxydant, immunomodulateur	[22]
	cardioprotecteur,	[23]
	antiinflammatoire,	[24]
Catéchine	Antihypertensive	[27; 31]

## DISCUSSIONS

L'hypertension artérielle pose un véritable problème de santé publique. Malgré l'existence de divers médicaments antihypertenseurs sur le marché, elle n'est toujours pas maîtrisée. Cela a été attribué en partie à sa nature asymptomatique ainsi qu'aux interactions complexes de composants environnementaux et génétiques [32].

Dans cette étude, nous avons identifiés par analyse GC-MS des composés bioactifs dans les extraits hexanique, acétate d'éthyle, éthanol et méthanol de la partie aérienne de *A. hispidum* et de l'écorce de tronc *X. americana*. 22 composés dont les majoritaires sont: l'inositol (54%); (2E)-3,7,11,15Tetraméthyl-2-hexadécen-1-ol(30,35%); phénol (16,55%), 1-(+)-Ascorbic acid 2,6 dihexadécanoate (4,93%); acide  $\alpha$ -linoléique (4,37%).

30 composés ont été identifiés dans les extraits de *X. americana*. Ses composés majoritaires sont: Lupénone avec 45,64%; 2-Naphthaleneméthanol,2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-.alpha.,alpha.,4a,8-tetraméthyl-,[2R-(2.alpha.,4a.beta.,8.beta.)]- avec 29,14% ; l'acide Octadéc-9-énoïque (29,90%), le Sitostenone 16,92%; l'acide (6Z)-6-Octadécénoïque 26,82% ; acide (+)-Ascorbique 2,6-dihexadécanoate 14,99% ; Stigmast-5-en-3-ol, oléate 9,48%, acide gallique 5,48. Parmi les composés détectés dans la partie aérienne de *A. hispidum*, 6 ont été impliqués dans la prise en charge de l'hypertension par des études antérieures (Tableau 6). Il s'agit de  $\alpha$ -bisabolol, le spathulenol, l'acide ascorbique dihexadécanoate, le squalène, l'acide linoléique et la naringénine ont été rapportés. Dans l'écorce de tronc *X. americana*, l'acide gallique, l'acide Octadéc-9-énoïque; le catéchol; le squalène, le Caryophyllène; (+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadécanoate. Ces composés ont été signalés comme réduisant la pression artérielle, le taux de cholestérol et de triglycérides, ou possédant des propriétés cardioprotectrices.

## 4. Conclusion

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) des extraits hexanique, acétate d'éthyle, éthanol et méthanol a permis d'identifier 23 composés dans les extraits de *A. hispidum* et 30 dans les extraits de *X. americana*. Les propriétés antioxydantes, antihypertensives ou cardioprotectrices de 5 des composés identifiés dans *A. hispidum* et 7 de ceux identifiés dans *X. americana* ont été rapportées par des études antérieures. Les observations ci-dessus suggèrent que la partie aérienne de *A. hispidum* et l'écorce de tronc de *X. americana* contiennent des molécules qui justifieraient leur utilisation dans la prise en charge de l'hypertension artérielle. Ces plantes pourraient servir de thérapie alternative pour la gestion de l'hypertension et contribuer à réduire les effets indésirables qui seraient associés aux antihypertenseurs.

## References

- [1]. Guo F, He D, Zhang W, Walton RG . 2012. Trends in prevalence, awareness, management, and control of hypertension among United States adults, 1999 to 2010. *Journal of the American College of Cardiology*, 60: 599-606
- [2]. Organisation Mondiale de la Santé. 2013. Panorama mondial de l'hypertension. Un « tueur silencieux » responsable d'une crise de santé publique mondiale. Genève: 40 [http://www.who.int/cardiovascular\\_diseases/publications/global\\_brief\\_hypertension](http://www.who.int/cardiovascular_diseases/publications/global_brief_hypertension)
- [3]. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R. 2002. Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: A meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*; 360(9349): 1903-13. Erratum in: *Lancet*; 361(9362): 1060.
- [4]. Rapsomaniki E, Timmis A, George J, Pujades-Rodriguez M, Shah AD, Denaxas S, et al. 2014. Blood pressure and incidence of twelve cardiovascular diseases: Lifetime risks, healthy life-years lost, and age-specific associations in 1.25 million people. *Lancet*; 383(9932): 1899-911.
- [5]. Esserli FH, Williams B, Ritz E. 2007. Essential hypertension. *Lancet*; 370(9587): 591-603.
- [6]. Krzesinski JM, et saint-remy A. 2020. Nouveautés dans la prise en charge de l'hypertension artérielle dans la dernière décennie. *Rev Med Liège*; 75 : 5-6 : 329-335
- [7]. Priya Shetty. 2010. Place de la médecine traditionnelle dans le système de santé: Faits et chiffres. <https://www.scidev.net/afrique-sub-saharienne/paludisme/article-de-fond/place-de-la-m-decine-traditionnelle-dans-le-systeme-de-sant-faits-et-chiffres.html>
- [8]. Aissa MJ, Karim S, Boubé M, Rokia S, et Saadou M .2017. « Enquête Ethnobotanique Auprès Des Tradipraticiens De Santé Des Régions De Niamey Et Tillabéry Au Niger: Données 2012-2017 », *European Scientific Journal ESJ*, vol. 13, no 33, p. 276, Doi: 10.19044/esj.v13n33p276.
- [9]. Victor David et Édouard Hnawia. 2020. Reconnaître pleinement la médecine traditionnelle et valoriser la pharmacopée kanak par une évolution du droit. *Diasporiques* n° 48
- [10]. Kerharo J et Adams G .1974. La pharmacopée sénégalaise traditionnelle plantes médicinales et toxiques. Edition Vigot et Frères, Paris, 1011p.
- [11]. Tokoudagba JM, Chabert P, Auger C, N'Gom S, Gbenou J, Moudachirou M, Schini-Kerth V, Lobstein A. 2009. Recherche de

- plantes à potentialités antihypertensives dans la biodiversité béninoise, *Ethnopharmacologia*, n°44.32-42p.
- [12]. Soumaila M, Barmo S, Boube M, Saley K, Hassane BI, Ali M, Kalid I, Mahamane S. 2017. « Inventaire Et Gestion Des Plantes Médicinales Dans Quatre Localités Du Niger » *European Scientific Journal*, vol. 13, no 24, août doi: 10.19044/esj.2017.v13n24p498
- [13]. Dirar AI, Alsaadi DHM, Wada M, Mohamed MA, Watanabe T, Devkota HP. 2019. Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants South African. *Journal of Botany* 120, 261-267
- [14]. Marthe DCZ, Fidèle MA, Fernand G and Mansourou M. 2018. Chemical composition and IN Vitro investigation of biological activities of *Hemizygia bracteosa* (Benth.) Briq leaves. *Journal of pharmacognosy and phytotherapy*, vol 10(1) pp.11-20.
- [15]. Li G, Wang X, Yang H, Zhang P, Wu F, Li Y, Zhou Y, Zhang X, Ma H, Zhang W and Li J. 2020.  $\alpha$ -Linolenic acid but not linolenic acid protects against hypertension: critical role of SIRT3 and autophagic flux. *Cell Death and Disease* 11:83, 1-13
- [16]. Yue H, Qiu B, Jia M, Liu W, Guo X, Li N, Xu Z, Du F, Xu T & Li D. 2020: Effects of  $\alpha$ -linolenic acid intake on Na blood lipid profiles : a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* DOI: 10.1080/10408398.2020.1790496.
- [17]. Meeran MFN, Azimullah S, Laham F, Tariq S, Goyal SN, Adeghate E and Ojha S. 2020.,  $\alpha$ -Bisabolol protects against  $\beta$ -adrenergic agonist-induced myocardial infarction in rats by attenuating inflammation, lysosomal dysfunction, NLRP3 inflammasome activation and modulating autophagic flux. *Food & Function.*, 11, 965-976
- [18]. Lou LL, Li W, Zhou BH, Chen L, Weng HZ, Gui YHZ, Tang H, Bu XZ, Yin S. 2018. (+) Isobicyclogermacrenol and spathulenol from *Aristolochia yunnanensis* alleviate cardiac fibrosis by inhibiting transforming growth factor $\beta$ /small mother against decapentaplegic signaling pathway. *Phytotherapy*
- [19]. Oyagbemia AA, Omobowale TO, Adejumbi OA, Owolabia AM, Ogunpolu BS, Falayi OO, Hassan FO, Ogunmiluyi IO, Asenuga ER, Ola-Davies OE, Soetan KO, Saba AB, Adedapo AA, Nkadimeng SM, McGaw LJ, Oguntibeju OO, Yakubu M A. 2020. Antihypertensive power of Naringenin is mediated via attenuation of mineralocorticoid receptor (MCR)/ angiotensin converting enzyme (ACE)/ kidney injury molecule (Kim-1) signaling pathway. *European Journal of Pharmacology* 880, 173142.
- [20]. Wang Z, Wang S, Zhao J, Yu C, Hu Y, Tu Y, Yang Z, Zheng J, Wang Y, Gao Y. 2019. Naringenin Ameliorates Renovascular Hypertensive Renal Damage by Normalizing the Balance of Renin-Angiotensin System Components in Rats. *International Journal of Medical Sciences*. 16(5): 644-653. doi: 10.7150/ijms.31075.
- [21]. Sosa AA, Bagi SH and Hameed IH. 2016. Analysis of bioactive chemical compounds of *Euphorbia lathyris* using gas chromatography-mass spectrometry and fourier-transform infrared spectroscopy. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 8: 109-126.
- [22]. Kadam, D and Lele SS .2017. Extraction, characterization and bioactive properties of *Nigella sativa* seed cake. *Journal of Food Science and Technology*, 54: 3936-3947.
- [23]. Anburaj G, Marimuthu M, Rajasudha V and Manikandan R. 2016. Phytochemical screening and GC-MS analysis of ethanolic extract of *Tecoma stans* (family: Bignoniaceae) yellow bell flowers. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5: 172-175.
- [24]. Rajashyamala G and Elango V. 2015. Identification of bioactive components and its biological activities of *Evolvulus alsinoides* linn. A GC-MS study. *International Journal of Chemical Studies*, 3:41-44.
- [25]. Akinrinde AS, Omobowale O, Oyagbemi A, Asenuga E and Ajibade T .2016. Protective effects of kolaviron and gallic acid against cobalt-chloride-induced cardiorenal dysfunction via suppression of oxidative stress and activation of the ERK signaling pathway. *an. J. Physiol. Pharmacol.* 00: 1-9 (0000) dx.doi.org/10.1139/cjpp-2016-0197.
- [26]. Dubal KN, Ghorpade PN and Kale MV. 2013. Studies on bioactive compounds of *Tectaria coadunata* Wall. Ex Hook. & Grev. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6:186-187.
- [27]. Jiang S, Wang C, Shu C, Huang Y, Yang M & Zhou E .2018. Effects of catechol on growth, antioxidant enzyme activities and melanin biosynthesis gene expression of *Rhizoctonia solani* AG-1 IA, *Canadian Journal of Plant Pathology*, 40:2, 220-228, DOI: 10.1080/07060661.2018.1437775
- [28]. Priyanka K and Priyanka C (2020). Squalene: Miraculous Triterpen. *International medico-legal reporter journal*, vol 3, 19 - 28.
- [29]. Umaru IJ., Ahmed FB., Abdulrashid M. and Ahmed MU. (2020). Extraction, Isolation, Characterization of Caryophyllene from *Barringtonia asiatica* Stem-Bark Extracts and Biological Activity; *Int. J. Phar. & Biomed. Res.* 7(1), 1-15
- [30]. Nancy SY and Maged E. 2019. Mohamed  $\beta$ -Caryophyllene as a Potential Protective Agent Against Myocardial Injury: The Role of Toll-Like Receptors. *Molecules*, 24, 1929, 1-16; doi: 10.3390/24101929.
- [31]. Negishi H, Xu JW, Ikeda K, Njelekela M & Nara Y. 2018. Black and green tea polyphenols attenuate blood pressure increases in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Nutr*, 134, 38
- [32]. Oboh G, Adeoyo OO, Ademosun AO, Ogunsuyi OB, Agunloye OM. 2018. Effect of combinations of caffeine and caffeic acid on key enzymes linked to hypertension (in vitro). *Orient Pharm Exp Med* 18(3):247-255.

## Étude de la composition chimique et de l'activité antidiabétique et antioxydante de l'extrait des feuilles de *Bridelia ferruginea* (Benth)

Oudjaniyobi Simalou<sup>1\*</sup>, Sabrina Sanvee<sup>1</sup>, Gneiny Whad Tchani<sup>1</sup>, Hèzouwè Kagnou<sup>1</sup>, Kokou Agbékonyi Agbodan<sup>2</sup>, Kafui Kpegba<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Chimie Organique et des Substances Naturelles (Lab COSNat),  
Faculté des Sciences, Université de Lomé, 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé, Togo.

<sup>2</sup>Laboratoire de Génie des Procédés et Ressources Naturelles (LAGEPREN), Département de  
Chimie, Université de Lomé, 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé, Togo.

\* jacobsimalou@yahoo.fr

### Résumé

*Bridelia ferruginea* est une plante connue pour ses propriétés antidiabétiques<sup>1</sup>. Les parties les plus utilisées sont les racines car les feuilles auraient un pouvoir antidiabétique faible<sup>2</sup>. Des études ont montré une activité antihyperglycémiant d'une fraction de l'extrait des feuilles sur des souris normales soumises à une surcharge glucidique<sup>3</sup>. Cette étude a pour but de monter une activité antidiabétique de la fraction de l'extrait sur des souris rendues diabétiques. L'extrait a subi une analyse qualitative et quantitative de sa composition chimique, il a été aussi réalisé des tests antioxydants, ainsi qu'une évaluation de l'effet antidiabétique des souris rendues diabétiques par le fructose. La fraction a montré la présence de composés phénoliques, de flavonoïdes, de tannins, de glucides et de composés réducteurs. L'extrait a aussi montré une activité antioxydante. L'évaluation de l'effet sur la glycémie a révélé que la fraction entraîne une diminution significative de la glycémie dès le 7<sup>ème</sup> jour, des triglycérides et du cholestérol total sur les souris traitées par la plante à la dose de 200 mg/kg. La fraction étudiée aurait une activité antidiabétique et antioxydante et pourrait être utilisée dans le traitement du diabète.

**Mots-clés** : diabète, *Bridelia ferruginea*, fraction, antioxydant

## Study of the chemical composition and the antidiabetic and antioxidant activity of the extract of the leaves of *Bridelia ferruginea* (Benth)

### Abstract

*Bridelia ferruginea* is a plant known for its anti-diabetic properties<sup>1</sup>. The most used parts are roots. The leaves have been said exhibiting weak anti-diabetic power<sup>2</sup>. Some studies have shown antihyperglycemic activity of one fraction of the leaf extract on normal mice under OGTT (Oral Glucose tolerance test)<sup>3</sup>. The aim of this current study is to develop an anti-diabetic activity of the leaves' extract fraction on diabetic mice. The extract underwent a qualitative and quantitative analysis of its chemical composition, it was also carried out antioxidant tests, as well as an evaluation of the anti-diabetic effect of fructose-induced diabetic mice. The fraction showed the presence of phenolic compounds, flavonoids, tannins, carbohydrates, and reducing compounds. The extract has also shown an antioxidant activity. The evaluation of the effect on glycaemia revealed that the fraction caused a significant decrease of glycaemia from the 7<sup>th</sup> day, as well as the drop of triglycerides and total cholesterol in mice treated with the plant at a dose of 200 mg / kg. The fraction studied with an anti-diabetic and antioxidant activity could be used to treat diabetes.

**Keywords**: diabetes, *Bridelia ferruginea*, fraction, antioxidant

### 1.Introduction

Le diabète est aujourd'hui considéré comme l'un des problèmes majeurs de santé publique dans le monde [1]. C'est un trouble métabolique, caractérisé par une hyperglycémie chronique, résultant d'une carence relative en insuline, d'une résistance à l'insuline ou des deux [2]. Il est associé à une hyperglycémie, une dyslipidémie et des niveaux anormaux d'acides aminés en raison d'un métabolisme défectueux des glucides, des lipides et des protéines. On pense que la glycémie mal contrôlée est le facteur le plus important dans le développement du diabète. Des études antérieures ont prouvé qu'un régime riche en fructose induisait une insulino-résistance [3]. Un certain nombre d'autres facteurs sont également associés à la pathogenèse du diabète et ses complications dont le stress oxydatif et une altération des niveaux d'antioxydants [4] et le fructose serait aussi impliqué dans le stress oxydant [5]. Les pharmacothérapies actuellement disponibles pour le traitement du diabète sucré sont les antidiabétiques oraux et l'insuline. Cependant, ces médicaments ne peuvent restaurer l'homéostasie du glucose et ne sont pas exempts d'effets secondaires [6]. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80% de la population des pays en développement dépend presque entièrement des pratiques de médecine traditionnelle et à base de plantes comme médicaments pour leurs besoins de soins de santé primaires. L'utilisation des plantes médicinales dans la gestion du diabète est bien documentée et offre une meilleure alternative car elles sont moins toxiques, facilement disponibles et abordables [7]. *Bridelia ferruginea* est une plante utilisée dans la tradithérapie pour le traitement du diabète [8]. Les racines se sont révélées être efficaces sur les souris rendues intolérantes au glucose par le fructose [9] ; cependant, il n'y a pas d'études de fractions de l'extrait des feuilles sur ce modèle expérimental. La fraction d'extrait brut des feuilles a déjà montré dans des travaux antérieurs un effet antioxydant et antihyperglycémiant sur des souris normales en surcharge

glucidique. Ces effets seraient dus à des composés polyphénoliques [10] contenus dans la fraction. Notre hypothèse est que l'extrait de feuilles aurait une activité antioxydante et antidiabétique sur des souris intolérantes au glucose. Le but de notre étude est d'évaluer l'activité antioxydante de l'extrait des feuilles mais aussi l'activité antidiabétique sur des souris ayant été rendues intolérantes au glucose par un régime au fructose. Pour cela, nous avons procédé à une analyse phytochimique (qualitative et quantitative) de l'extrait pour identifier et doser des grands groupes chimiques responsables de l'activité ; nous avons procédé ensuite à une évaluation de l'activité antioxydante *in vitro*, ainsi qu'à des tests biologiques sur des souris rendues diabétiques par insulino-résistance.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel

#### Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé était les feuilles de *Bridelia ferruginea*. Elles ont été récoltées à Danyi-Koudzravi (7°9'13.5198" N; 0°37'43.55076" E), dans la préfecture de Danyi entre 9 heures et midi, le 09 Juin 2019. Les feuilles de *Bridelia ferruginea* ont été identifiées par le Laboratoire de Botanique et d'Ecologie Végétale (LBEV) de la FDS (UL) et un échantillon a été gardé dans l'herbier dudit laboratoire sous le numéro TOGO15511. Les feuilles de *Bridelia ferruginea* c au département de chimie de la FDS-UL. Ce séchage a été effectué à l'abri de la lumière, dans un environnement contrôlé à l'air conditionné (18°C) pour éviter la dégradation des substances actives, ainsi qu'une éventuelle contamination. Les feuilles ont été étalées en couche mince pour éviter les moisissures. Elles ont ensuite été broyées dans un broyeur à scission. La poudre obtenue (2800g) a été stockée dans un sac en plastique, étiquetée puis conservée dans un endroit aéré à l'abri des rayons solaires.

#### Matériel animal

Les essais bioguidés (évaluation de l'effet antihyperglycémiant) ont été réalisés sur des souris ICR élevées à l'animalerie du Département de Physiologie Animale de la Faculté des Sciences de l'Université de Lomé dans des cages métalliques ; ces animaux avaient un poids compris entre 20g et 30g.

### 2.2. Méthodes

#### Type et cadre d'étude

Notre étude était de type expérimental. Elle s'est déroulée de juin 2019 à juin 2020 en deux temps, avec une phase de terrain et l'autre en laboratoire. Concernant la phase de terrain, elle a consisté en la récolte des feuilles de l'espèce étudiée : *Bridelia ferruginea*. Les travaux de laboratoire ont été conduits dans le Laboratoire de Chimie Organique et des Substances Naturelles (LabCOSNat), à la Faculté Des Sciences (FDS) et le laboratoire de chimie de la Faculté des Sciences de la Santé (FSS), pour les tests chimiques ; les essais bioguidés quant à eux ont été réalisés au Laboratoire de Physiologie-Pharmacologie du département de Physiologie Animale de la Faculté Des Sciences (FDS) de l'Université de Lomé (UL).

#### Préparation de l'extrait total

Pour la préparation de l'extrait, la méthode utilisée a été celle de Bakoma et *al.* (2019) [10]. Ainsi, la poudre de feuilles (450 g) a été macérée à température ambiante avec un mélange éthanol-eau (80:20 v/v) sous agitation manuelle par intermittence pendant 72 heures. Au cours de cette opération le solvant (L) a été renouvelé trois fois (toutes les 24 heures). Le macérât obtenu a été filtré sur papier filtre. Le filtrât a été concentré sous pression réduite à 45°C à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le rendement de l'extrait des feuilles était de 8,24% (m/m) par rapport au poids de poudre initiale. L'extrait a été conservé à 4°C au réfrigérateur dans un flacon en plastique étiqueté.

#### Obtention du surnageant

La technique de séparation utilisée a été celle de Kadébé et *al.*, avec quelques modifications [11]. Après évaporation, l'extrait hydro-alcoolique a été dissout dans un mélange éthanol-eau (75:25 v/v) à raison de 3g d'extrait pour 40 mL de solvant. La solution a été répartie dans des tubes puis centrifugée à 4000 tours /min pendant 15 min pour obtenir deux phases : le culot et le surnageant. Le surnageant a été récupéré, évaporé, puis conservé dans un bocal en plastique. Le rendement du surnageant a été de 59,1% (m/m) par rapport à l'extrait total.

#### Screening phytochimique

Il s'est agi de rechercher les grands groupes chimiques tels que : les alcaloïdes, les phénols et tanins totaux, les tanins condensés, les saponosides, les flavonoïdes, les stérols et les terpénoïdes, les dérivés anthracéniques, les composés réducteurs, les glucides [12].

#### Dosage des phénols totaux

La teneur des phénols totaux a été déterminée par la méthode de Bakoma et *al.*, avec quelques modifications [13]. Dans un tube à essai, ont été introduits : 0,5 mL de la solution aqueuse à doser (1mg/ml), 2,5 mL de Folin-Ciocalteu dilué au 10<sup>ème</sup>, puis 5 min après, 2 mL de carbonate de sodium (CO<sub>3</sub>Na<sub>2</sub>) à 145 g/L. Le mélange a été bien

homogénéisé et la lecture de l'absorbance a été faite au spectrophotomètre à 765 nm après 30 min d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière. Trois essais ont été effectués pour l'échantillon. La gamme étalon (acide gallique 0 à 100 mg/L) a été réalisée dans les mêmes conditions. La courbe d'étalonnage a été tracée en utilisant les différentes concentrations d'acide gallique et les résultats sont exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par g d'échantillon sec (mg EqAG/g).

#### **Dosage des flavonoïdes totaux**

La méthode utilisée est celle d'Ayoola et al. avec quelques modifications [14].

Un volume de 2 mL d' $\text{AlCl}_3$  à 2% (m/v) dans le méthanol pur a été mélangé à un volume égal d'échantillon à 1mg/mL dans le méthanol. L'absorbance est lue après 10 min à l'obscurité à 415 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La quercétine a été utilisée comme substance de référence. Trois essais par échantillon ont été effectués et les résultats sont exprimés en mg d'équivalent de quercétine par g d'échantillon (mg EqQ/g). La gamme étalon (quercétine 0 à 100 mg/L) a été réalisée dans les mêmes conditions.

#### **Dosage des tanins condensés**

La méthode adoptée est la méthode à la vanilline avec l'HCl. Elle dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des tanins condensés et la formation de complexes rouges, cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge par réaction avec la vanilline. La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode de la vanilline décrite par Julkunen-Titto en 1985 [15].

Un volume de 50  $\mu\text{L}$  de chaque extrait a été ajouté à 1500  $\mu\text{L}$  de la solution vanilline/méthanol à 4 %, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 750  $\mu\text{L}$  de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc. Différentes concentrations comprises entre 0 et 1000  $\mu\text{g/ml}$  préparées à partir d'une solution mère de la catéchine, ont permis de tracer la courbe d'étalonnage et les résultats sont exprimés en mg d'équivalent de catéchine par g d'échantillon (mg EqC/g).

#### **Evaluation de l'activité anti-radicalaire par le test au DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle)**

Le DPPH est un radical libre stable. Il forme une solution de couleur violette avec le méthanol. En présence de réducteur ou d'antioxydant, il est réduit en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune pâle. L'activité réductrice des extraits de plantes se manifeste donc par la diminution voire la disparition de la couleur violette de la solution de DPPH avec virage au jaune [16].

Une courbe d'étalonnage a d'abord été établie en utilisant la quercétine comme substance de référence. Un volume de 2 mL de DPPH (19,716 mg pour 500 mL de méthanol) a été mélangé à 100  $\mu\text{L}$  de quercétine (5 à 50 mg/L). L'absorbance est lue après 30 min à l'abri de la lumière à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Pour évaluer l'activité antioxydante, 100  $\mu\text{L}$  de différentes concentrations du surnageant (5 à 50mg/L), sont ajoutés à 2 mL de la solution de DPPH. L'absorbance a été lue après 30 min à l'obscurité à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Trois essais ont été effectués.

La concentration inhibitrice 50 ( $\text{CI}_{50}$ ) détermine le pouvoir antioxydant. C'est la concentration d'extrait de plante ou de quercétine responsable de 50% d'inhibition des radicaux DPPH. [17] <sup>17</sup>

Le pourcentage d'inhibition a été calculé d'après la formule :

% d'inhibition =  $[(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Ech}}) / A_{\text{DPPH}}] \times 100$ , avec:

- $A_{\text{DPPH}}$  : Absorbance du témoin
- $A_{\text{Ech}}$ : Absorbance de l'échantillon (surnageant ou quercétine).

#### **Evaluation du pouvoir réducteur (FRAP)**

L'activité antioxydante totale peut être mesurée par le dosage du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP). Cette méthode est basée sur le principe de l'augmentation de l'absorbance des mélanges réactionnels lorsque l'activité antioxydante augmente. Le composé antioxydant présent dans les échantillons forme un complexe coloré avec le ferricyanure de potassium, l'acide trichloroacétique et le chlorure ferrique, mesuré à 700 nm par un spectrophotomètre UV.

Différentes concentrations d'une solution méthanolique du surnageant de *Bridelia ferruginea* (100 à 1000 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ) a été ajouté à 2,5 mL de tampon phosphate de sodium 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 mL de potassium à 1% solution de ferricyanure  $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ . Le mélange réactionnel a été bien agité au vortex puis incubé à 50°C pendant 20 min en utilisant un agitateur à vortex. À la fin de l'incubation, 2,5 ml d'acide trichloroacétique à 10% ont été ajoutés au mélange et centrifugé à 3000 tr / min pendant 10 min. Le surnageant (2,5 ml) a été mélangé avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure ferrique à 0,1%. La solution colorée a été lue à 700 nm contre le blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV. Ici, l'acide ascorbique a été utilisé comme étalon de référence, le pouvoir réducteur des échantillons étaient comparés à la référence <sup>18</sup>. Trois essais ont été effectués.

#### **Étude de l'activité antidiabétique**

La méthode utilisée a été celle de Kadébé et al (2016) avec quelques modifications [11]. Pour induire le syndrome métabolique, les souris ICR ont reçu *per os* un mélange de fructose et de lard fondu.

#### **Préparation du mélange lard-fructose (L-F)**

Pour obtenir le mélange L-F, 6 g de fructose et 1,25 mL de tween 80 % sont dissouts dans 50 mL d'eau distillée et l'ensemble est mélangé à 50 mL de lard fondu. Soit un mélange volume à volume lard-fructose.

#### **Protocole expérimental**

Trente souris ICR, réparties en 4 lots de six (06) souris chacune ont été utilisées. Les animaux ont été traités pendant 28 jours suivant le protocole ci-après :

- Le lot 1 (Contrôle) : a reçu 5 mL/Kg/j d'eau distillée pendant 28 jours. Du 15<sup>ème</sup> au 28<sup>ème</sup> jour, ce lot reçoit 30 minutes à l'avance, de l'eau distillée à raison de 5 mL/Kg/j;
- Le lot 2 (Témoins positifs), a reçu le mélange L-F à 5 mL/Kg/j pendant 28 jours. Du 15<sup>ème</sup> au 28<sup>ème</sup> jour, les souris ont reçu 30 min avant l'administration du mélange lard-fructose, de l'eau distillée à 5 mL/Kg/j ;
- Les lots 3 et 4 (*B. ferruginea* 100 et *B. ferruginea* 200) : ont reçu le mélange L-F à 5 mL/Kg de poids corporel pendant 28 jours. Du 15<sup>ème</sup> au 28<sup>ème</sup> jour, ces lots ont reçu 30 min avant l'administration du mélange lipidique, respectivement le surnageant à raison de 100 mg/Kg/j et à la dose de 200 mg/Kg/j.

La glycémie a été mesurée le premier jour puis tous les 7 jours à l'aide d'un glucomètre, le poids a été pris tous les 2 jours.

Au 26<sup>ème</sup> jour, après un jeûne de 12 heures, les animaux ont été soumis à une Hyperglycémie Provoquée par Voie Orale (HPVO) par l'administration orale de 4 g de glucose par Kg de poids corporel. La glycémie a été mesurée à 0, 30, 60 et 120 minutes après l'administration du glucose.

A la fin de l'expérience (28<sup>ème</sup> jour) ; les animaux ont été mis à jeun pendant 12 heures. Au 29<sup>ème</sup> jour, la glycémie est prise. Les animaux sont ensuite sacrifiés. Le sang a été prélevé au niveau du sinus retro orbital après anesthésie puis centrifugé à 3000 trs/min pendant 10 minutes. Le sérum a été recueilli dans des tubes pour le dosage des triglycérides, du cholestérol, de l'aspartate aminotransférase (ASAT) et de l'alanine aminotransférase (ALAT). La cavité abdominale a été ouverte et la graisse intra-abdominale a été prélevée puis pesée.

#### **Analyse statistique**

Les résultats obtenus ont été traités par les logiciels GraphPad Prism 6.00 (USA) et Microsoft Office Excel 2013 (USA). Ils sont exprimés en valeur moyenne assortie de l'erreur standard de la moyenne ( $M \pm E.S.M.$ , n=6). Les résultats de l'effet sur la graisse abdominale et les paramètres biochimiques ont été analysés à l'aide de l'analyse à une variance (one way-ANOVA) et ceux sur l'effet antihyperglycémiant à l'aide de l'analyse à deux variances (2way-ANOVA) suivi du test de Tukey pour comparer les lots. Le seuil de signification est fixé à  $P < 0,05$ .

### **3.Resultats**

#### **Screening phytochimique**

L'analyse qualitative du surnageant de l'extrait a montré la présence de phénols et tanins totaux, de flavonoïdes, de tanins condensés, de glucides et de composés réducteurs. On note l'absence de saponosides, alcaloïdes, anthracènes, stérols et triterpènes (Tableau I) :

**Tableau 1 : Résultats du screening phytochimique du surnageant**

Groupes de composés	Surnageant
Phénols et tanins totaux	+
Tanins condensés	+
Saponosides	-
Flavonoïdes totaux	+
Alcaloïdes	-
Anthracènes	-
Stérols	-
Triterpènes	-
Glucides	+

**Composés réducteurs**

+

(-) : absence ; (+) : présence

**3.2. Quantification : dosage des flavonoïdes, tanins catéchiques et des phénols totaux**

L'analyse quantitative du surnageant a porté sur les phénols totaux, les flavonoïdes et les tanins catéchiques. Les teneurs étaient respectivement de  $86,4 \pm 4,6$  mgEqAG/g,  $103,7 \pm 3,7$  mgEqQ/g et  $79,6 \pm 3,4$  mgEqC/g. Ces valeurs ont été calculées à partir des courbes de régression linéaires respectives. (Tableau II).

**Tableau 2** : Résultats du dosage en phénols totaux, flavonoïdes et tanins catéchiques du surnageant

	Teneurs	Equations de la courbe de régression linéaire	Coefficient de corrélation (R <sup>2</sup> )
Phénols totaux (mgEqAG/g)	$86,4 \pm 4,6$	DO = 0,01184*C - 0,0469	0,9804
Flavonoïdes (mgEqQ/g)	$103,7 \pm 3,7$	DO = 0,01224*C - 0,03997	0,9837
Tanins catéchiques (mgEqC/g)	$79,6 \pm 3,4$	DO = 0,0006087*C + 0,02788	0,9822

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  ESM (n=3) par g d'échantillon ; ESM : erreur standard sur la moyenne ; AG : acide gallique ; Q : quercétine ; C : catéchine ; DO : densité optique ; C : concentrations en mg/L.

**3.3. Pouvoir antiradicalaire (DPPH)**

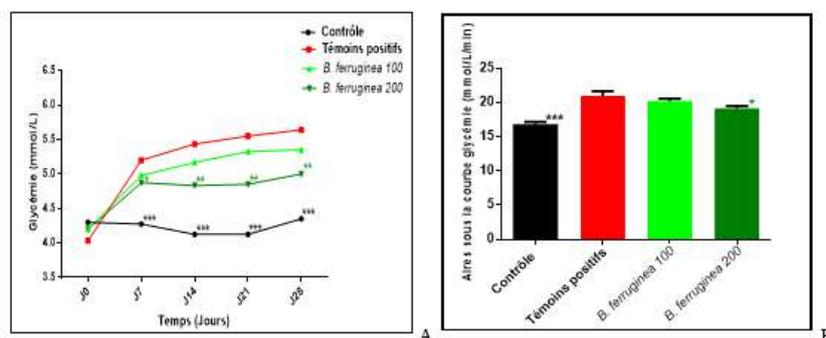
Lorsque le radical DPPH prend un électron en présence d'un piègeur de radicaux libres, l'absorption diminue et la décoloration qui en résulte est liée stœchiométriquement au nombre d'électrons gagnés<sup>19</sup>. L'évaluation de l'activité antioxydante a montré une diminution de l'absorbance du radical libre DPPH. Celle-ci est de 7,791% à 24,419% pour des concentrations allant de 5 à 40  $\mu$ g/mL de la référence (la quercétine) (Figure 17) et de 8,333% à 11,395% en présence de la plante étudiée *Bridelia ferruginea* (Figure 18). Il y a donc bien eu une inhibition de l'activité radicalaire exprimée en pourcentage d'inhibition et traduit par des CI<sub>50</sub> respectives de 90,926 mg/L et 360,647 mg/L.

**3.4. Pouvoir réducteur (FRAP)**

Le pouvoir réducteur a été mesuré par don direct d'électrons dans la réduction de Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup>. Dans cette expérience, la couleur jaune change en couleur vert pâle et bleu en fonction de la concentration d'antioxydants dans les échantillons. Le produit formé par la réaction est un complexe de couleur bleu de Prusse intense, mesuré à 700 nm ; une valeur d'absorbance plus élevée indique un pouvoir réducteur fort des échantillons. L'extrait de *Bridelia ferruginea* a montré une capacité concentration-dépendante à réduire le Fe<sup>3+</sup>. Cependant, son pouvoir réducteur était plus faible que celui de l'acide ascorbique, qui présentait le pouvoir réducteur le plus fort. La réduction de *B. ferruginea* est comparable à 800  $\mu$ g/mL à celle de l'acide ascorbique à 200  $\mu$ g/mL (Figure 19).

**3.6. Activité antidiabétique****Effet sur la glycémie basale**

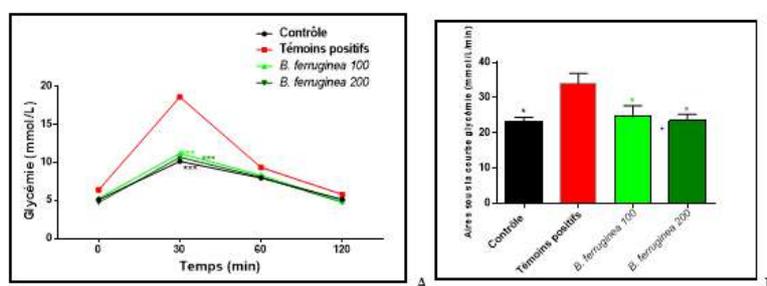
L'évaluation de l'effet sur la glycémie basale à jeun a montré une différence significative de la glycémie entre les animaux Contrôle et les Témoins positifs. Cette augmentation chez les Témoins positifs est de 17,78% à J7 (P<0.001) ; 24,08% à J14 (P<0.001) ; 25,68% à J21 (P<0.001) et 22,87% à J28 (P<0.001). Les animaux soumis au même régime mais traités par l'extrait de *Bridelia ferruginea* à la dose de 200 mg/kg montrent une diminution de la glycémie à J7 de 6,25% (P<0.05), à J14 de 11,04% (P<0.01), J21 de 12,61% (P<0.01) et J28 de 11,35% (P<0.01) par rapport aux Témoins positifs. Les animaux ayant été traités par l'extrait à la dose de 100 mg/kg n'ont pas montré de différence significative (figure 1A). La détermination des aires sous la courbe de la glycémie a montré une différence significative de 19,84% (P<0,001) et 8,85% (P<0,05%) des aires du groupe contrôle et des animaux traités à l'extrait à la dose de 200mg/kg par rapport à celle des témoins positifs ; les animaux ayant été traités par l'extrait à la dose de 100 mg/kg n'ont pas montré de différence significative (Figure 1B).



**Figure 32:** Résultat de l'effet de l'administration de l'extrait des feuilles de *B. ferruginea* sur la glycémie basale chez les souris rendues diabétiques par le fructose ; A- Evolution de la glycémie basale au cours du temps (28jours) ; B- aires sous la courbe. Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ESM (Erreur Standard de la Moyenne) : \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$  ; \*\*\* $P < 0,001$  vs Témoins positifs

### Effet sur la surcharge glucidique (Hyperglycémie Provoquée par Voie Orale : HPVO)

L'administration de glucose à la dose 4g/kg de poids corporel a provoqué une augmentation de la glycémie chez les animaux du lot Contrôle au début de  $5,13 \pm 0,59$  mmol/L, à  $10,17 \pm 1,03$  à la 30<sup>ème</sup> min, puis une diminution à  $7,98 \pm 0,76$  mmol/L à la 60<sup>ème</sup> min et  $5,15 \pm 0,45$  mmol/L à la 120<sup>ème</sup> min. Les animaux qui ont été soumis uniquement à un régime L-F ont montré une différence significative à la 30<sup>ème</sup> min: la glycémie est passée respectivement de  $6,4 \pm 0,4$  mmol/L, à  $18,63 \pm 4,03$  mmol/L ( $P < 0,001$ ), puis à  $9,35 \pm 0,54$  mmol/L et  $5,8 \pm 0,55$  mmol/L. Les résultats ont aussi montré une diminution significative de la glycémie à la 30<sup>ème</sup> min chez les lots traités à l'extrait à la dose de 100 mg/Kg et 200 mg/Kg. La diminution observée est de 39,96% ( $P < 0,001$ ) et 42,54% ( $P < 0,001$ ) respectivement par rapport au lot Témoins positifs (Figure 2A). La détermination des aires sous la courbe a montré une différence de 27,82% ( $P < 0,05$ ) pour les animaux traités par l'extrait à la dose de 100 mg/Kg et 30,84% pour la dose de 200 mg/Kg ( $P < 0,05$ ) (Figure 2B).



**Figure 33:** Résultat de l'effet de l'extrait de *B. ferruginea* sur des souris en surcharge glycémique ; A- Evolution de la glycémie basale en fonction du temps (120 minutes) ; B- aires sous la courbe. Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ESM (Erreur Standard de la Moyenne) : \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$  ; \*\*\* $P < 0,001$  vs Témoins positifs

### Effet sur la graisse abdominale

Le régime Lard-Fructose a montré une influence sur la graisse abdominale des animaux qui y ont été soumis. La différence significative entre le lot Témoins positifs et le lot Contrôle montre l'augmentation de graisse abdominale de 54,51% ( $P < 0,001$ ) induit par le régime et les résultats montrent un effet de l'extrait à la dose de 200 mg/Kg chez les animaux du lot *B. ferruginea* 200, avec une diminution significative de 24,44% ( $P < 0,05$ ) par rapport au lot Témoins positifs. Le lot traité avec l'extrait à la dose de 100 mg/Kg n'a montré aucune différence significative par rapport au lot Témoins positifs (Tableau III).

**Tableau VIII:** Résultat de l'effet de l'extrait de *B. ferruginea* sur la graisse abdominale de souris soumises au régime Lard-Fructose

	Contrôle	Témoins positifs	<i>B. ferruginea</i> 100	<i>B. ferruginea</i> 200
Graisse abdominale (g)	$0,143 \pm 0,029$ ***	$0,315 \pm 0,112$	$0,25 \pm 0,022$	$0,238 \pm 0,041$ *

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ESM (Erreur Standard de la Moyenne) : \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$  ; \*\*\* $P < 0,001$  vs Témoins positifs

### Effet sur les paramètres biochimiques

Le dosage des paramètres biochimiques a révélé une différence significative des triglycérides, du cholestérol total et de l'ALAT chez les animaux du lot Contrôle par rapport aux Témoins positifs. Cette différence respective de 37,5% (P<0,01) ; 36,96% (P<0,01) ; 28,09% (P<0,01) montre une incidence du régime sur les paramètres précités. Les résultats montrent aussi un effet de l'extrait à la dose de 200 mg/Kg sur les triglycérides et le cholestérol chez les animaux traités, cet effet se traduit par diminution de 37,11% (P<0,01) et 40,16% (P<0,01) respectivement par rapport aux Témoins positifs. Les résultats ne montrent pas de différence significative au niveau des transaminases (Tableau IV).

**Tableau 4 :** Résultat de l'effet de l'extrait de *B. ferruginea* sur les paramètres biochimiques (triglycérides, cholestérol total, ALAT, ASAT) chez des souris soumises au régime Lard-Fructose

	Contrôle	Témoins positifs	<i>B. ferruginea</i> 100	<i>B. ferruginea</i> 200
Triglycérides (g/L)	0,4 ± 0,046**	0,64 ± 0,061	0,62 ± 0,049	0,403 ± 0,021**
Cholestérol total (g/L)	0,828 ± 0,109**	1,313 ± 0,085	0,993 ± 0,072	0,786 ± 0,094**
ALAT (UI/L)	62,8 ± 6,874**	87,333 ± 1,756	97,667 ± 5,05	85,5 ± 1,723
ASAT (UI/L)	65,2 ± 13,437	128,5 ± 35,89	119,5 ± 10,972	104,4 ± 8,738

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ESM (Erreur Standard de la Moyenne) : \*P<0,05; \*\*P<0,01 ; \*\*\*P<0,001 vs Témoins positifs

### 4. Discussion

Notre étude s'est fixée pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante *in vitro* ainsi que l'activité antidiabétique du surnageant de l'extrait brut de *Bridelia ferruginea* sur des souris rendues diabétiques. Pour cela les animaux ont été soumis à un régime Lard-Fructose. Les résultats montrent une augmentation significative de la glycémie basale, de la surcharge glucidique, du cholestérol total, de la graisse abdominale et de l'ALAT des animaux du lot Contrôle par rapport aux Témoins positifs. Cette augmentation montre l'effet diabétogène du régime Lard-Fructose auquel ont été soumis les animaux du lot Témoins positifs. En effet des travaux similaires ont montré que le fructose provoquait une hyperglycémie par le biais d'une insulino-résistance [3]. Cette hyperglycémie est confirmée dans notre étude par la détermination de l'aire sous la courbe de la glycémie qui mesure la quantité totale de glucose disponible dans le sang pendant cette période de temps. Le fructose provoquerait aussi une hypercholestérolémie [20], une hypertriglycéridémie [3], [21], ainsi qu'une augmentation de la graisse abdominale [22].

L'évaluation de l'activité antidiabétique s'est faite en réalisant une évaluation de l'effet de la plante sur la glycémie basale, la surcharge glucidique, la graisse abdominale et certains paramètres biochimiques comme les transaminases, le cholestérol total et les triglycérides. L'analyse statistique chez les animaux soumis au régime Lard-Fructose mais traités par *Bridelia ferruginea* montre que la plante a une activité antihyperglycémique de la plante chez les animaux traités avec l'extrait à la dose de 200 mg/kg avec une diminution significative de la glycémie à J7, J14, J21 et J28 par rapport aux témoins positifs, confirmés par l'aire sous la courbe. L'effet sur la surcharge glucidique a été observée à la 30<sup>ème</sup> min, chez les animaux traités par l'extrait à la dose de 100 mg/kg et 200 mg/kg, avec une diminution de la glycémie de 39,96% (P<0,001) et 42,54% (P<0,001) respectivement. L'extrait a aussi entraîné une diminution de la graisse abdominale et des triglycérides, du cholestérol total. Plusieurs études ont montré une relation entre une hyperglycémie dans le diabète et le stress oxydant, caractérisé par un déséquilibre entre la production de radicaux libres, de peroxydes et leur élimination par voie enzymatique, les défenses antioxydantes et cellulaires non enzymatiques. Il est rapporté que la production des espèces réactives de l'oxygène et de lipides, la peroxydation est augmentée chez les patients diabétiques et que le stress oxydatif est responsable de la physiopathologie du diabète en particulier et un traitement antioxydant associé a montré une amélioration significative et une prévention contre les complications cardio-vasculaires [11], [5]. L'activité antioxydante de la plante a donc été aussi évaluée *in vitro*. Le test de DPPH a montré que *Bridelia ferruginea*, pour une gamme de concentrations de 5 à 40 µg/mL, inhibe l'activité radicalaire de la DPPH de 8,333% à 11,395% avec une CI<sub>50</sub> de 360,647 mg/L. Des résultats similaires ont été retrouvés dans les travaux d'Adetutu et al. (2011) qui a déterminé pour l'extrait éthanolique de feuilles une activité antioxydante avec une CI<sub>50</sub> de 12,5 ± 0,3 µg / mL comparable à l'acide L-ascorbique (7,3 ± 0,1 µg / mL) [23]. Le test DPPH de Fabiyi et al. (2012) a révélé une activité antioxydante avec une CI<sub>50</sub> de 158,2 µg/mL de la fraction acétate de bêta-amyrine de l'extrait des feuilles [24]. Les composés antioxydants sont capables de donner des électrons aux radicaux réactifs, les réduisant en plus espèces stables et non réactives ; la capacité réductrice du surnageant a été réalisée à l'aide de Fe<sup>3+</sup> dans le test de FRAP. Les résultats ont montré une activité comparable de l'extrait de *B. ferruginea* à 800 µg/mL à la référence (l'acide ascorbique) à 200 µg/mL.

Ces résultats sur l'activité antidiabétique et antioxydante de *B. ferruginea* pourraient s'expliquer par la présence de plusieurs composés que sont les phénols totaux, les flavonoïdes et les tanins recherchés lors de l'analyse phytochimique. En effet, l'effet antioxydant d'une plante est principalement dû aux composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, tanins et diterpènes phénoliques [14], [7]. Des travaux ont montré une corrélation entre la concentration de ces composés et l'activité antioxydante, plus la concentration en composés est élevée, plus l'activité antioxydante est élevée [25]. En outre, ces antioxydants peuvent empêcher l'aggravation du diabète en améliorant le mécanisme de défense antioxydant des cellules bêta dans le pancréas pour la gestion du diabète. Ces composés possèderaient aussi plus globalement un effet antidiabétique [26],[27] ainsi que d'autres propriétés incluant antimutagène, anti-cancérigène et effets anti-inflammatoires [19], [7]. Le dosage de ces composés a révélé une teneur en phénols et tanins totaux de  $86,4\text{mgEqAG} \pm 4,6$  ; en flavonoïdes de  $103,7 \text{ mgEqQ} \pm 3,7$  et tanins catéchiques de  $79,6 \text{ mgEqC} \pm 3,4$  ; des résultats similaires ont retrouvés dans des travaux ayant montré une activité antioxydante et antihyperglycémiant de l'extrait [10].

Au total, notre étude a montré qu'il est possible d'obtenir un effet antihyperglycémiant, et de corriger certains désordres métaboliques observés lors d'une insulino-résistance induite par le fructose avec notre extrait de *Bridelia ferruginea* surtout à la dose de 200 mg/kg.

## Conclusion

Le diabète fait partie des problèmes majeurs de santé publique de ce siècle. Les traitements actuels en raison de leur coût et de leurs effets secondaires. Beaucoup de plantes ont été étudiées afin d'offrir une alternative au traitement classique. Parmi elles, *Bridelia ferruginea* qui possèderait dans la littérature comme dans les pratiques traditionnelles des propriétés antidiabétiques. Les racines seraient les plus intéressantes et les plus étudiées. Des travaux antérieurs ont montré l'efficacité des racines sur des souris rendues diabétiques par insulino-résistance, ce qui n'est pas le cas des feuilles. Notre étude s'est donc fixée pour but d'évaluer l'activité antioxydante et antidiabétique de l'extrait des feuilles de *Bridelia ferruginea*. Le screening phytochimique a révélé la présence de phénols, de tanins, de flavonoïdes, des composés impliqués dans l'activité antidiabétique et antioxydante des plantes. L'évaluation de l'activité antioxydante a révélé que l'extrait possédait un pouvoir anti-radicalaire sur le DPPH de 8,333% à 11,395% pour des concentrations de 5 à 40  $\mu\text{g/mL}$  ainsi qu'une  $\text{CI}_{50}$  de 360,647 mg/L, le pouvoir réducteur ferrique à 800  $\mu\text{g/mL}$  était comparable à celui de l'acide ascorbique à 200  $\mu\text{g/mL}$ . L'activité antidiabétique s'est révélée chez les souris traitées par l'extrait de *Bridelia ferruginea* à la dose de 200 mg/kg par un effet antihyperglycémiant avec une diminution de la glycémie basale à J7 de 6,25% ( $P < 0.05$ ), à J14 de 11,04% ( $P < 0.01$ ), J21 de 12,61% ( $P < 0.01$ ) et J28 de 11,35% ( $P < 0.01$ ); une diminution significative de la glycémie de 39,96% ( $P < 0,001$ ) et 42,54% ( $P < 0,001$ ) à la 30ème min lors d'une HPVO ; une diminution significative de 24,44% ( $P < 0,05$ ) de la graisse abdominale, par rapport au lot Témoins positifs traités à l'extrait à la dose de 100 mg/Kg et 200 mg/Kg. L'extrait a entraîné aussi chez les souris traitées une diminution significative de la graisse abdominale de 24,44% ( $P < 0,05$ ) par rapport au lot Témoins positifs ; des triglycérides et du cholestérol total de 37,11% ( $P < 0,01$ ) et 40,16% ( $P < 0,01$ ) respectivement. Ces effets observés seraient dus à des composés antidiabétiques et antioxydants, les phénols, les flavonoïdes et les tanins dont la teneur dans la plante serait de  $86,4 \text{ mgEqAG/g} \pm 4,6$  ;  $103,7 \text{ mgEqQ/g} \pm 3,7$  et  $79,6 \text{ mgEqC/g} \pm 3,4$  respectivement. Notre extrait pourrait donc être envisagé dans le traitement du diabète, de type 2 afin de réguler la glycémie mais aussi de diminuer le stress oxydant mais aussi les complications du diabète comme l'hypercholestérolémie. Notre étude s'est portée uniquement sur séparation par centrifugation, des études plus approfondies de fractionnements plus poussées pourraient être utiles afin d'isoler la partie la plus active de l'extrait.

## References

- [1]. Rohilla, A.; Ali, S. Alloxan Induced Diabetes: Mechanisms and Effects. Int. J. Res. Pharm. Biomed. Sci. 2012, 3 (2), 819–823.
- [2]. Thomford, K. P.; Yeboah, R.; Thomford, A. K.; Edoh, A.; Mensah, M. L. K.; Appiah, A. A. A Retrospective Clinical Study on the Effectiveness of the Aqueous Leaf Extract of *Bredelia Ferrugenia* (Benth) in the Management of Diabetes Mellitus. Int. J. Herb. Med. 2015, 2 (5), 43–45.
- [3]. Jalal, R.; Bagheri, S. M.; Moghimi, A.; Rasuli, M. B. Hypoglycemic Effect of Aqueous Shallot and Garlic Extracts in Rats with Fructose-Induced Insulin Resistance. J. Clin. Biochem. Nutr. 2007, 41 (3), 218–223. <https://doi.org/10.3164/jcbrn.2007031>.
- [4]. Roy, S.; Sehgal, R.; Padhy, B. M.; Kumar, V. L. Antioxidant and Protective Effect of Latex of *Calotropis Procera* against Alloxan-Induced Diabetes in Rats. J. Ethnopharmacol. 2005, 102 (3), 470–473.
- [5]. Tran, L. T.; Yuen, V. G.; McNeill, J. H. The Fructose-Fed Rat: A Review on the Mechanisms of Fructose-Induced Insulin Resistance and Hypertension. Mol. Cell. Biochem. 2009, 332 (1–2), 145–159. <https://doi.org/10.1007/s11010-009-0184-4>.

- [6]. Kumar, S.; Kumar, V.; Prakash, O. Antidiabetic and Hypolipidemic Activities of *Kigelia Pinnata* Flowers Extract in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2012, 2 (7), 543–546. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60093-8](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60093-8).
- [7]. Jangir, R. N.; Jain, G. C. Antidiabetic and Antioxidant Potential of Hydroalcoholic Extract of *Moringa Oleifera* Leaves in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Eur. J. Pharm. Med. Res.* 2016, 3 (9), 438–450.
- [8]. Aka, L. O.; Obidike, R. I. Time Profile Antidiabetic Activity of the Aqueous Leaf Extracts of *Bridelia Ferruginea* in Albino Rats. *Nig J Exp Appl Biol* 2010, 11 (1), 7–11.
- [9]. Bakoma, B.; Eklü-Gadegbeku, K.; Agbonon, A.; Aklikokou, K.; Bassene, E.; M. G. Preventive Effect of *Bridelia Ferruginea* Against High-Fructose Diet Induced Glucose Intolerance, Oxidative Stress and Hyperlipidemia in Male Wistar Rats. *J. Pharmacol. Toxicol.* 2011, 6 (3), 249–257. <https://doi.org/10.3923/jpt.2011.249.257>.
- [10]. Bakoma, B.; Sanvee, S.; Metowogo, K.; Potchoo, Y.; Gadegbeku, K. E.; Aklikokou, K.; Gbeassor, M. Phytochemical Study and Biological Activities of Hydro-Alcoholic Extract of the Leaves of *Bridelia Ferruginea* Benth and Its Fractions. *Pharmacogn. J.* 2019, 11 (1), 141–145. <https://doi.org/10.5530/pj.2019.1.23>.
- [11]. Kadébé, Z.; Metowogo, K.; Bakoma, B.; Poevi Lawson-Evi, S.; Eklü-Gadegbeku, K.; Aklikokou, K.; Gbeassor, M. Antidiabetic Activity of *Plumeria Alba* Linn (Apocynaceae) Root Extract and Fractions in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Trop. J. Pharm. Res.* 2016, 15 (1), 87–94. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v15i1.12>.
- [12]. EL-Haoud, H.; Boufellous, M.; Berrani, A. Screening phytochimique d'une plante medicinale: mentha spicata l. *Am. J. Innov. Res. Appl. Sci.* 2018, 7 (4), 226–233.
- [13]. Bakoma, B.; Berke, B.; Eklü-Gadegbeku, K.; Diallo, A.; Agbonon, A.; Aklikokou, K.; Gbeassor, M.; Moore, N. Total Phenolic Content, Antioxidant Activity and in Vitro Inhibitory Potential against Key Enzymes Relevant for Hyperglycemia of *Bridelia Ferruginea* Extracts. *Res. J. Phytochem.* 2012, 6 (4), 120–126. <https://doi.org/10.3923/rjphyto.2012.120.126>.
- [14]. Ayoola, G.; Ipav, S.; Sofidiya, M.; Adepoju-Bello, A.; Coker, H.; Odugbemi, T. Phytochemical Screening and Free Radical Scavenging Activities of the Fruits and Leaves of *Allanblackia Floribunda* Oliv (Guttiferae). *Int. J. Health Res.* 2009, 1 (2), 87–93. <https://doi.org/10.4314/ijhr.v1i2.47920>.
- [15]. Ali-Rachedi, F.; Meraghni, S.; Touaibia, N. Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. *Bull. Société R. Sci. Liège* 2018, 87, 13–21.
- [16]. Dabire, C.; Nebie, R.; Belanger, A.; Nacro, M.; Sib, F. Effet du séchage de la matière végétale sur la composition chimique de l'huile essentielle et l'activité antioxydante d'extraits de *Ocimum basilicum* L. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 2011, 5 (3), 1082–1095. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v5i3.72218>.
- [17]. Raut, N. A.; Gaikwad, N. J. Antidiabetic Activity of Hydro-Ethanollic Extract of *Cyperus Rotundus* in Alloxan Induced Diabetes in Rats. *Fitoterapia* 2006, 77 (7–8), 585–588.
- [18]. Vijayalakshmi, M.; Ruckmani, K. Ferric Reducing Anti-Oxidant Power Assay in Plant Extract. *Bangladesh J. Pharmacol.* 2016, 11 (3), 570–572. <https://doi.org/10.3329/bjp.v11i3.27663>.
- [19]. Nishaa, S.; Vischnupriya, M.; Sasikumar, J. M.; Hephzibah, P. C.; Gopalakrishnan, V. K. Antioxidant Activity of Ethanolic Extract of *Maranta Arundinacea* L Tuberos Rhizomes. *Asian J Pharm Clin Res* 2012, 5 (4), 85–88.
- [20]. Wusu, D.; Kazeem, M.; Lawal, O.; Opoku, A. Antidiabetic Effects of Some Tropical Fruit Extracts in Fructose Induced Insulin Resistant Wistar Rats. *Br. J. Pharm. Res.* 2015, 7 (3), 230–235. <https://doi.org/10.9734/BJPR/2015/18718>.
- [21]. Elliott, S. S.; Keim, N. L.; Stern, J. S.; Teff, K.; Havel, P. J. Fructose, Weight Gain, and the Insulin Resistance Syndrome. *Am. J. Clin. Nutr.* 2002, 76 (5), 911–922. <https://doi.org/10.1093/ajcn/76.5.911>.
- [22]. Crescenzo, R.; Bianco, F.; Coppola, P.; Mazzoli, A.; Valiante, S.; Liverini, G.; Iossa, S. Adipose Tissue Remodeling in Rats Exhibiting Fructose-Induced Obesity. *Eur. J. Nutr.* 2014, 53 (2), 413–419. <https://doi.org/10.1007/s00394-013-0538-2>.
- [23]. Adetutu, A.; Morgan, W. A.; Corcoran, O. Antibacterial, Antioxidant and Fibroblast Growth Stimulation Activity of Crude Extracts of *Bridelia Ferruginea* Leaf, a Wound-Healing Plant of Nigeria. *J. Ethnopharmacol.* 2011, 133 (1), 116–119. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.09.011>.
- [24]. Fabiyi, O. A.; Atolani, O.; Adeyemi, O. S.; Olatunji, G. A. Antioxidant and Cytotoxicity of  $\beta$ -Amyrin Acetate Fraction from *Bridelia Ferruginea* Leaves. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2012, 2 (2), S982–S984. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60347-5](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60347-5).
- [25]. Pontis, J. A.; Costa, L. A. M. A. da; Silva, S. J. R. da; Flach, A. Color, Phenolic and Flavonoid Content, and Antioxidant Activity of Honey from Roraima, Brazil. *Food Sci. Technol.* 2014, 34 (1), 69–73. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612014005000015>.
- [26]. Ezuruike, U. F.; Prieto, J. M. The Use of Plants in the Traditional Management of Diabetes in Nigeria: Pharmacological and Toxicological Considerations. *J. Ethnopharmacol.* 2014, 155 (2), 857–924. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.05.055>.
- [27]. Patel, M. S. Therapeutic Update on Anti-Diabetic Biomolecules from Traditional Indian Medicinal Plants: A Review. *Pharma Sci. Monit.* 2015, 6 (3), 119–132. <https://doi.org/10.15388/psm.v6i3.119-132>. Impact factor: 0.3397/ICV: 4.10.

## Identification par HPLC-MS de deux flavonoïdes majeurs dans l'extrait colorant textile des feuilles fraîches de *Mangifera indica*

Benjamin Bazié<sup>1</sup>, Adama Hema<sup>1(\*)</sup>, Bazoin Sylvain Raoul Bazié<sup>2</sup>, Elie Kabré<sup>2</sup>, Eloi Palé<sup>1</sup>, Pierre Duez<sup>3</sup>, Mouhoussine Nacro<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Chimie Organique et Physique Appliquées, Département de Chimie, UFR-SEA, Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

<sup>2</sup> Laboratoire national de santé publique (LNSP), 09 BP 24, Ouagadougou 09, Burkina Faso

<sup>3</sup> Service de Chimie Thérapeutique et de Pharmacognosie, Université de Mons, 25 Chemin du Champ de Mars, 7000 Mons, Belgique

### Résumé

De nos jours, les recherches scientifiques dans le domaine de la teinture textile s'intensifient dans le but de contribuer à l'orientation des pratiques tinctoriales artisanales et industrielles, et assurer la protection de l'environnement et la santé des consommateurs.

Des travaux analytiques, chromatographiques et spectrales sur l'extrait aqueux des feuilles de *M. indica* ont été réalisés et ont permis une application éclairée de ce colorant sur les fils de coton.

Le profil chromatographique HPTLC du colorant extrait des feuilles de *M. indica* a indiqué la présence de flavonols et de xanthonoïdes.

La chromatographie liquide haute performance couplée à la spectroscopie de masse a révélé la présence de molécules majeures de flavonoïdes tels que la quercétine 3-O-hexose et le kaempférol 3-O-hexose qui par le biais d'association inter et/ou intramoléculaire justifieraient les nuances de couleurs obtenues en pratique tinctoriale. Des techniques de pratique tinctoriale appliquées sur fils de coton ont permis d'avoir diverses nuances de couleurs (*jaune de champagne, jaune maïs, queue de vache, vanille...*). Le colorant à usage textile extrait des feuilles de *M. indica* peut être classé dans les colorants métallifères vu la qualité des nuances obtenues avec l'utilisation des mordants comme l'alun, les sulfates de fer et de cuivre hydratés.

**Mots clés :** Flavonoïdes, HPTLC, CLHP MS-MS, pratique tinctoriale

## HPLC-MS identification of two major flavonoids in the textile dye extract from fresh leaves of *Mangifera indica*

### Abstract

Today, scientific research in the field of naturel textile dyeing is intensifying with the aim of contributing to the orientation of artisanal and industrial tinctorial practices, and ensure the protection of the environment and the health of consumers.

Analytical, chromatographic and spectral work on the aqueous extract of *M. indica* leaves has been carried out and has allowed an informed application of this dye on cotton yarn.

HPTLC chromatographic profile of the dye extracted from *M. indica* leaves indicated the presence of flavonols and xanthonoids. High performance liquid chromatography coupled with mass spectroscopy revealed the presence of major flavonoid molecules such as quercetin 3-O-hexose and kaempferol 3-O-hexose which through inter and/or intramolecular association would justify the color shades obtained in dyeing practice. Dyeing techniques applied on cotton yarns have allowed to obtain various shades of colors (champagne yellow, corn yellow, cow tail, vanilla...). The dye for textile use extracted from the leaves of *M. indica* can be classified in the metalliferous dyes considering the quality of the shades obtained with the use of mordants like alum, iron and copper sulphates hydrates.

En effet, la chromatographie liquide haute performance couplée à la spectroscopie de masse qui est l'une des techniques avancées d'identification des structures moléculaires des substances naturelles a été utilisée dans l'étude de l'extrait de feuilles de *M. indica*. Par les phénomènes d'auto-association et/ou d'association [9] avec de nombreuses autres molécules (tanins [10], acides phénoliques, xanthonoïdes...) et l'utilisation de mordants chimiques non toxiques (alun, sulfates de fer et cuivre hydraté), ces flavonoïdes ont contribué à la détermination de différentes nuances de couleurs dans les teintures réalisées sur des écheveaux de fils de coton

## . Introduction

Le lien profond entre l'homme et le monde des couleurs a toujours été au cœur de la créativité dans la mode, faisant d'énormes transformations sur ses costumes, vêtements et linge de maison. Mais depuis l'avènement des colorants synthétiques au début du 19<sup>e</sup> siècle, l'utilisation des colorants naturels a considérablement diminué. Les vrais facteurs limitants liés à l'utilisation de colorants naturels résident dans les procédés de teinture assez longs, l'absence de cartes de nuances standards et la reproductibilité des nuances de couleurs [1].

La prise de conscience croissante des consommateurs pour les textiles respectueux de l'environnement et la nécessité de préserver l'environnement a conduit à la reprise de l'ancienne pratique de la teinture avec des colorants naturels. En effet, la demande mondiale de fibres et de colorants naturels augmente en raison de la sensibilisation accrue des consommateurs en général aux États-Unis, en Europe et au Japon (où certains colorants synthétiques cancérigènes tels que les colorants azoïques sont interdits) aux procédures hautement polluantes qui affectent non seulement la culture des fibres, mais aussi leur transformation en textiles colorés, ainsi que les effets néfastes de certains colorants synthétiques sur la santé humaine comme sources de cancer de la peau, de troubles et de dermatites allergiques de contact [2]. Ces dernières années, il y a eu une augmentation progressive de l'effet des rayons UV sur la peau humaine en raison de la destruction de la couche d'ozone [3]. À long terme, cette exposition aux UV peut entraîner des effets néfastes sur la santé et accélérer le vieillissement cutané. Aujourd'hui, plusieurs approches sont envisagées pour améliorer la protection de la peau contre les effets nocifs des rayons UV. Colorants naturels absorbant dans les UV, leur application sur du coton serait une alternative aux colorants synthétiques de plus en plus décriés. Il devient alors impératif de développer de nouvelles techniques de teinture et aussi de standardiser ces procédés utilisant des colorants naturels afin que ces colorants puissent être proposés comme une alternative écologique efficace par rapport aux colorants synthétiques toxiques.

La flore du Burkina Faso, comme celle de l'Afrique et du monde, offre des parures immenses et plus belles pour notre plaisir et pour le bonheur particulier des artisans teinturiers [4]. Cette multitude de couleurs offerte par la flore a toujours été au cœur des choix de teinture textile, notamment artisanale, tout en proposant des gammes de nuances de couleurs selon le goût des consommateurs.

Le manguier (*Mangifera indica L.*) est un arbre de la famille des Anacardiacees, originaire de l'est de l'Inde et de la Birmanie. Cependant, il a été introduit en Afrique et au Brésil au 16<sup>ème</sup> siècle par les Arabes et les Portugais respectivement. Les feuilles des manguiers, objet d'investigation pour les molécules colorantes, ont une couleur rose orangé au début de leur croissance puis passent par une teinte rouge foncé brillant avant de virer au vert foncé à maturité. Cette couleur vert foncé due à la chlorophylle, masque un colorant jaunâtre situé dans les vacuoles des cellules.

Les colorants naturels à usage textile aujourd'hui, à travers la teinture et ces techniques [5], continuent de dévoiler leurs secrets et font l'objet de recherches scientifiques poussées capables d'offrir une garantie de préservation de la santé des utilisateurs et des consommateurs. Les différentes nuances de couleurs obtenues en pratique tinctoriale naturelle sont dues à la présence de molécules organiques naturelles qui sont responsables des pigments des plantes dans leur intégralité.

Les fibres naturelles comme le coton ayant une très faible affinité [6] pour la plupart des colorants naturels, les tanins jouent un rôle important dans la fixation du colorant sur le textile. En effet, la production de fibres de coton de qualité et les techniques de transformation de ces fibres au Burkina Faso fonctionneraient de pair avec la maîtrise des techniques de pratiques tinctoriales notamment artisanales.

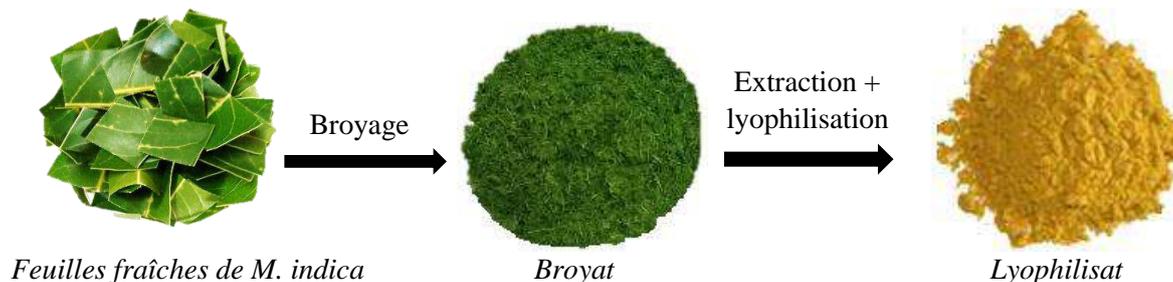
La fixation de la teinture sur la fibre de coton est l'une des étapes les plus importantes de la teinture textile. De ce point de vue, la connaissance des structures des molécules responsables de la pigmentation et de la co-pigmentation au niveau de la plante reste un enjeu favorable voire incontournable pour la compréhension et l'amélioration des protocoles de pratique tinctoriale [7, 8].

C'est pourquoi cette étude vise à identifier des molécules polyphénoliques majeures (par des méthodes chromatographiques et spectrales) dont les structures pourraient expliquer les nuances de couleurs observées dans des tests de teinture sur fibres de coton dans des bains de teinture préparés à partir de colorants extraits de feuilles fraîches de *Mangifera indica*.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Extraction

Des feuilles fraîches de *M. indica* (250 g) ont été broyées et le broyat a été extrait dans l'eau à l'aide d'un soxhlet. L'extraction a été réalisée par la préservation par les modes de fabrication des artisans teinturiers au 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 obtenu par chromatographie sur couche mince haute performance (CCMHP ou HPTLC) [11, 12, 13]. Le principe était de déposer 3  $\mu$ L d'extrait et de standards sous forme de bandes minces de 8 mm de long, sur une plaque de gel de silice 20x10 cm F254 HP 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 obtenu 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.

### 2.5. CLHP-MS des flavonoïdes d'extrait colorant de *M. indica*

L'extrait colorant des feuilles de *M. indica* contenant des flavonoïdes, préalablement filtré à l'aide d'une seringue (type membrane en acétate de cellulose 25 mm et 0,45  $\mu$ m) est caractérisé par chromatographie liquide haute performance (CLHP) couplée à la spectrométrie de masse (MS) au Laboratoire National de 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  $\mu$ m) [14, 15, 16].

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  $\mu$ L. 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 Quadripole (version B.06.00 Build 6.0.6025.0). La température du gaz (N<sub>2</sub>) était de 200°C, le débit de gaz de 10 L/min et la pression du nébuliseur de 15 psi. L'azote a été utilisé comme nébuliseur et gaz de collision. Le spectromètre de masse balaye 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 de molécules flavonoïdes. En effet, le principe était d'injecter l'échantillon en solution à un débit constant d'environ 0,6  $\mu$ L/min dans un capillaire conducteur. Un gaz de désolvatation (N<sub>2</sub> 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 vice versa. 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 de spectrométrie de masse en tandem [17, 18].

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 donné lieu à différents ions fragmentés spécifiques à chaque type d'aglycone.

## 2.6. Pratique tinctoriale

### 2.6.1. Débouillissage

Son action se résume à débarrasser la matière textile (Echeveaux de fils de coton) de la cire, de la pectine et d'autres saletés qui influencent la fixation de la teinture sur le textile [19, 20].

Environ 70 g d'écheveau de fil de coton ont été immergés dans 700 mL d'eau portée presque à ébullition (environ 90°C), auxquels sont ajoutés 700 mg de savon neutre (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 en salle.

### 2.6.2. Mordantage

Plusieurs types de mordants chimiques et végétaux (tanins) sont utilisés dans les pratiques tinctoriales naturelles. Par

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

L'observation du profil chromatographique de l'extrait de feuilles de *M. indica* (**Figure 1**) en même temps que les standards et d'autres travaux effectués sur cet extrait ont révélé la présence d'un xanthonoïde tel que la mangiférine [26] et des dérivés de flavonols

La CLHP d'extrait aqueux de feuilles de *M. indica* a présenté deux (02) pics essentiels (**Figure 2**) dans l'étude des flavonoïdes [1 :  $t_R = 44,31$  min ; 2:  $t_R = 45,11$  min].

Le contrôle des ions moléculaires en MS/MS des composés **1** et **2**, respectivement, donne des ions moléculaires  $m/z$  à  $[M+H]^+$  465 u et 449 u (**Tableau I**), ce qui correspondrait aux masses calculées à partir de la formules  $C_{21}H_{19}O_{12}$  et  $C_{21}H_{20}O_{11}$ . Les ions secondaires à  $m/z$  303 u et 287 u observés pour les composés **1** et **2** montrent la perte d'un hexose par l'ion moléculaire de chaque composé, qui peut être soit du glucose soit du galactose  $[M+H-162]^+$ . Le pic à  $m/z$  465 u du composé **1** correspondrait à celui de la quercétine 3-O-hexose. Celui à  $m/z$  449 du composé **2** correspondrait au kaempférol 3-O-hexose.

Ces composés flavoniques en association avec de nombreux autres composés phénoliques (bronzage, xanthonoïdes...) présents dans les feuilles de *M. indica* tels que le pentagalloyl glucose, l'épicatéchine, la mangiférine, l'isomangiférine, l'homomangiférine, la mangiférine 6'-O-gallate [27, 28, 29, 30, 31], pourraient contribuer à l'explication des différentes nuances de couleurs obtenues dans la pratique tinctoriale. Ces composés hydroxylés, au-delà de l'association intermoléculaire, transitent souvent par des métaux chélateurs ( $Al^{3+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ) pour la création de complexes favorables à la fixation sur l'unité monomère de la cellulose (D-glucopyranose) des fibres de coton. Ces complexes se fixent préférentiellement sur les sites hydroxylés 6, 2 et 3 du D-glucopyranose [32, 33]. Ainsi, l'affinité des complexes avec la fibre cellulosique (fibre de coton), dépendrait du caractère acide ou basique du bain de teinture, justifiant en partie, la diversité des nuances de couleur obtenues en pratique tinctoriale et aussi leur fixation ou non-fixation.

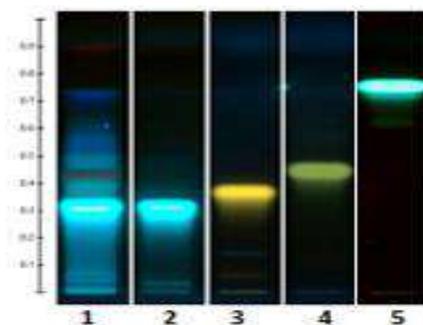
Des nuances de couleur très différentes avec une assez bonne fixation et une assez bonne homogénéité ont été observées à la fin de la pratique tinctoriale avec l'extrait tinctorial des feuilles de *M. indica*.

Les résultats de la pratique tinctoriale (**Tableau II**) avec l'extrait des feuilles de *M. indica* ont montré une gamme de nuances de couleur caractéristiques (jaune champagne, jaune maïs, queue de vache, vanille, jaune mars...). De plus, le facteur de qualité (FQ) basé sur le produit du degré de fixation par le degré d'homogénéité a permis l'obtention de nuances de couleur très appréciables avec l'utilisation d'alun en milieu acide, de sulfate de fer hydraté en milieu acide et basique, sulfate de cuivre en milieu basique. La fixation des molécules du colorant issues des feuilles de *M. indica* nécessite l'intervention de mordants ce qui en fait un colorant à mordant ou métallifère.

### 4. Conclusion

Les feuilles de *M. indica* contiennent des flavonoïdes qui, par des associations intra ou intermoléculaires, contribuent aux nuances de couleur dans la pratique tinctoriale.

Le colorant naturel des feuilles fraîches de *M. indica*, dans un procédé de teinture avec de l'alun, des sulfates de fer et de cuivre comme mordants offrent une variété de nuances de couleurs. Ces nuances justifiant l'homogénéité et la fixation du colorant sur la fibre de coton, expliqueraient l'affinité des flavonols tels que la quercétine 3-O-hexose et le kaempférol 3-O-hexose avec les mordants utilisés (alun, sulfates de fer et cuivre). L'affinité observée justifie donc la chélation de ces composés par les sels métalliques ( $Al^{3+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ) déjà fixés par mordantage sur la fibre de coton (cellulose) dont l'unité monomère est le D-glucopyranose où se trouvent des groupements hydroxyles en positions 2, 3 et 6 (sites actifs). Le colorant des feuilles de *M. indica*, peut être classé dans les groupes de colorants naturels à mordant ou métallifères

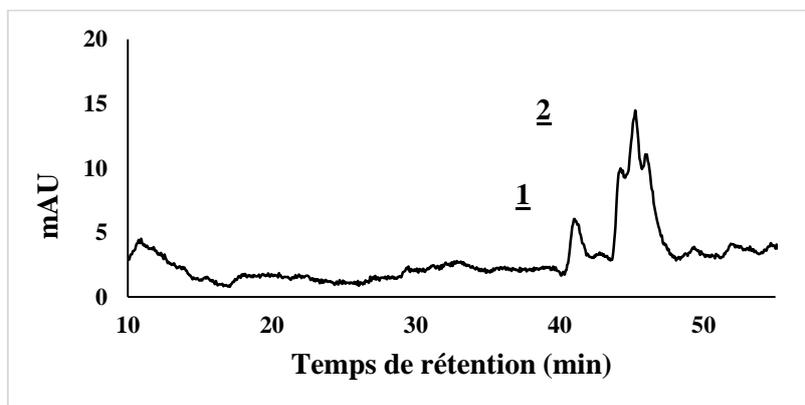


1 : *M. indica* ; 2 : Mangiférine ; 3 : hypéroside (Quercétine 3-O-galactoside) ; 4 : isorhamnétine 3-O-glucoside ;  
5 : Kaempférol.

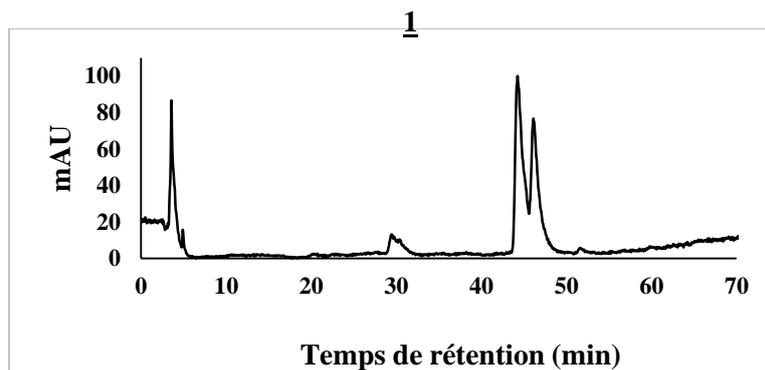
**Figure 1 :** Profil HPTLC des flavonoïdes d'extrait de *M. indica* à 366 nm

**Tableau I :** CLHP-MS/MS des flavonoïdes majeures

Pics	Temps de rétention (min)	Formule	Molécule proposées	Ion moléculaire [M+H] <sup>+</sup> (m/z)	Ions secondaires (m/z)
<u>1</u>	44.25	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>12</sub>	Quercetin 3-O-hexose	465	303
<u>2</u>	45.12	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	Kaempferol 3-O-hexose	449	287



**Figure 2 :** Chromatogramme des flavonoïdes d'extrait de *M. indica*



**Figure 3 :** Chromatogramme de l'ion moléculaire à m/z = 465 (composé 1)

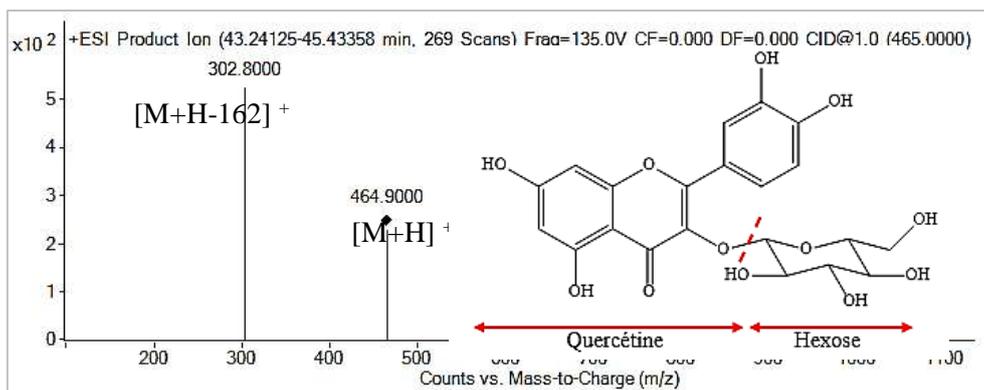


Figure 4 : Spectre ESI<sup>+</sup> MS/MS du composé 1

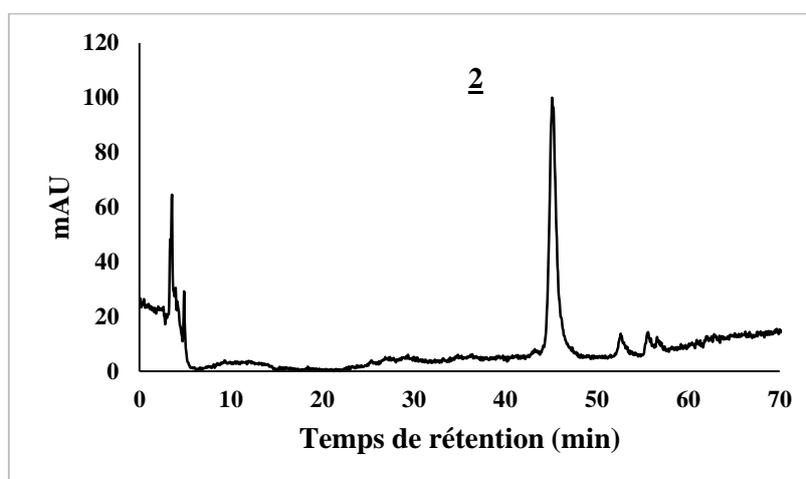


Figure 5 : Chromatogramme de l'ion moléculaire à m/z = 449 (composé 2)

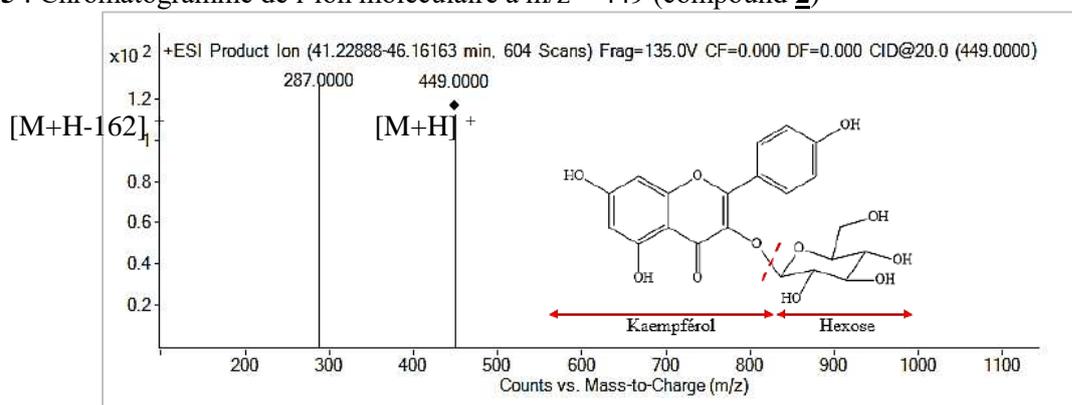


Figure 6 : Spectre ESI<sup>+</sup> MS/MS du composé 2

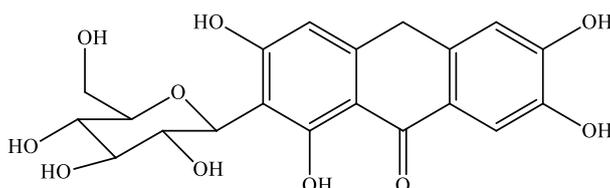


Figure 7 : Structure de la mangiférine

**Tableau II** : Résultat pratique tinctoriale : *Mangifera indica*

	Sans mordant		Alun (KAl(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> , 12H <sub>2</sub> O)		Sulfate de fer hydraté (FeSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O)		Sulfate de cuivre hydraté (CuSO <sub>4</sub> , 5H <sub>2</sub> O)	
	Acide	Basique	Acide	Basique	Acide	Basique	Acide	Basique
<b>Bain de teinture</b>								
<b>Fixation</b>	2	2	3	3	3	3	2	3
<b>Homogénéité</b>	3	3	3	3	3	2	2	4
<b>FQ = CFxCH</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>12</b>
<b>Qualité</b>	<i>Bonne</i>	<i>Bonne</i>	<i>Très bonne</i>	<i>Très bonne</i>	<i>Très bonne</i>	<i>Bonne</i>	<i>Très moyenne</i>	<i>Excellente</i>
<b>Nuance de couleurs</b>	<i>Jaune champagne</i>	<i>Jaune de Naples</i>	<i>Jaune maïs</i>	<i>Jaune champagne clair</i>	<i>Queue de vache</i>	<i>Vanille</i>	<i>Jaune mars</i>	<i>Jaune nankin</i>
<b>Témoin</b>								
<b>Echeveaux teints</b>								

**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

## References

- [1]. Yadav Saroj, Rose Neelam, Singh Jeet Saroj and Khambra Krishna. Natural Dye Powder : An Easy Technique for Eco-Dyeing Vol. 2 (ISC-2012), 308-311 (2013)
- [2]. D. De Santis, M. Moresi. Production of alizarin extracts from *Rubia tinctorum* and assessment of their dyeing properties. *Industrial Crops and Products* 26 (2007) 151–162
- [3]. M.M. Kamel and Hamada M. Mashaly. Coloration of Fibrin Fabric with Berberine Natural Dye with Ultrasonic Technique Using ZnO Nano Powder as Light Fastness Improving. *World Appl. Sci. J.*, 26 (8): 994-1001, 2013
- [4]. Dominique Cardon (2014). Le monde des teintures naturelles. BELIN, Paris, p19-25.
- [5]. Franziska Ebner, Romana Hasenöhr (2018). Naturel dyeing with plants, glorious colors from roots, leaves and flowers. P. 6-148.
- [6]. K.H. Prabhu, M.D. Teli. Eco-dyeing using *Tamarindus indica* L. seed coat tannin as a natural mordant for textiles with antibacterial activity. *Journal of Saudi Chemical Society* (2014) 18, 864–872
- [7]. Eiichiro Ono, Miho Ruike, Takashi Iwashita, Kyosuke Nomoto, Yuko Fukui (2010). Co-pigmentation and flavonoid glycosyltransferases in blue *Veronica persica* flowers. *Phytochemistry* 71, p726-735.
- [8]. 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.
- [9]. Eiichiro Ono, Miho Ruike, Takashi Iwashita, Kyosuke Nomoto, Yuko Fukui (2010). Co-pigmentation and flavonoid glycosyltransferases in blue veronica persica flowers. *Phytochemistry* 71, p726-735.
- [10]. 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 p41-49, 2008.
- [11]. Ildiko Bros, Maria-Loredana Soran, Rodica Domnica Briciu, and Simona Codruta Cobzac (2009). HPTLC Quantification of Some Flavonoids in Extracts of *Satureja hortensis* L. Obtained by Use of Different Techniques. *Journal of Planar Chromatography* 22, 1 p 25–28.
- [12]. Pamita Bhandari, Neeraj Kumar, Ajai P. Gupta, BikramSingh, Vijay K. Kaul (2007). A rapid RP-HPTLC densitometry method for simultaneous determination of major flavonoids in important medicinal plants. *Natural Plant Products Division, Institute of Himalayan Bioresource Technology, Palampur, H. P., India. J. Sep. Sci* 30, p. 2092 – 2096.
- [13]. Urška Jug, Vesna Glavnik, Eva Kranjc & Irena Vovk (2018). HPTLC densitometric and HPTLC-MS methods for analysis of flavonoids. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 41 : 6, p. 329-341.
- [14]. 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.
- [15]. D. Tsimogiannis, M. Samiotaki, G. Panayotou, V. Oreopoulou. Caractérisation des sous-groupes de flavonoids et substitution d'hydroxy par HPLC-MS/MS (2007). *Molécules* 12 (3), p. 593-606.
- [16]. Rong Tsao, Raymond Yang, J Christopher Young, Honghui Zhu (2003). Profils polyphénoliques de huit cultivars de pommes par chromatographie liquide haute performance (HPLC). *Journal de chimie agricole et alimentaire*, 51 (21), p. 6347-6353.

- [17]. Artur Figueirinha, Antonio Paranhos, Jose J. Perez-Alonso, Celestino Santos-Buelga, Maria T. Batista (2008). *Cymbopogon citratus* leaves : Characterisation of flavonoids by HPLC–PDA–ESI/MS/MS and an approach to their potential as a source of bioactive polyphenols. Food Chemistry 110, p. 718–728.
- [18]. Corrado Caristi, Ersilia Bellocco, Vincenza Panzera, Giovanni Toscano, Rosa Vadala, and Ugo Leuzzi (2003). Flavonoids Detection by HPLC-DAD-MS-MS in Lemon Juices from Sicilian Cultivars. J. Agric. Food Chem. 51, p. 3528-3534.
- [19]. 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, pl.
- [20]. Hyun-Joo Song, Su-Mi Kim and Wha-Soon Song (2005). The Physical Properties and Dyeability of KOH Treated Cotton Fabrics. J. Kor. Soc. Cloth. Ind. Vol. 7, No. 1, p91-95.
- [21]. 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, p277-291.
- [22]. Ibrahim Abdullahi Umar (2013). Fastness Properties of Colorant Extracted from Tamarind Fruits Pods to Dye cotton and Silk Fabrics. Journal of Natural Sciences Research. p61.
- [23]. Marie Marquet (2019). Guide des teintures naturelles. « L'autonomie par les livres » p1-4.
- [24]. Aurélie Wolff (2018). Teintures végétales, carnet de recettes et cahier d'inspirations. p12-44.
- [25]. Virendra Kumar Gupta (2019). Fundamentals of Natural Dyes and Its Application on Textile Substrates. Chemistry and Technology of Natural and Synthetic Dyes and pigments, p1-33.
- [26]. Bains, S, Singh, OP, Goraya, G, & Kang, M. (2003). Dyeing of cotton with mango (*Mangifera indica*) dye. Journal of the Textile Association, 64(1), 23–26.
- [27]. Juliana Aparecida Severi, Zeila Pinheiro Lima, Hélio Kushima Alba Regina Monteiro Souza Brito, Loudres Campaner dos Santos, wagner Vilegas, Clélia Akiko Hiruma-Lima (2009). Polyphénols à action antiulcérogène issus de la decoction aqueuse de feuilles de manguier (*Mangifera indica* L.). Molécules 14 (3), p.1098-1110.
- [28]. Mohammad Gias Uddin (2015). Extraction of eco-friendly natural dyes from mango leaves and their application on silk fabric. Textiles and Clothing Sustainability 1, p. 7.
- [29]. Melle Christina GOULHOT (1996). Le Manguier : Intérêt pour la phytothérapie. Université Joseph FOURIER -GRENOBLE 1. p.31-45.
- [30]. Anjaneyulu V., Suresh Babu J. et Connolly J.D. (1994) 29-Hydroxymangiferonic acid from *Mangifera indica* Phytochemistry, 35(5), 1301-1303.
- [31]. J.C Barreto, M.T.S Trevisan, W.E. Hull, G. Erben, ES De Brito, B. Pfundstein, G. Würtele, B. Spiegelhalder, R.W. Owen (2008). Characterization and Quantitation of Polyphenolic Compounds in Bark, Kernel, Leaves, and Peel of Mango (*Mangifera indica* L.). Journal of agricultural and food chemistry 56 (14), p. 5599-5610.
- [32]. U. Baumgarte, Melliland Textilber (2007). Industrial Dyes: Chemistry, Properties, Applications. vol. 44., p 163-267.
- [33]. Youssef Mir (2002). La fixation simultanée d'un mélange de deux colorants réactifs et disperses sur un tissu de coton / polyester par rayonnement infrarouge et air chaud. Génie chimique-Université de Sherbrooke. p. 1-

## Fractionnement bio-guidé et activités anthelminthiques des feuilles de *Mitragyna inermis* (Willd.) Kuntze (Rubiaceae) sur la migration des larves L<sub>3</sub> de *Haemonchus contortus*

### Bio-assay guided and anthelmintic activities of leaves of *Mitragyna inermis* (Willd.) Kuntze (Rubiaceae) on the migration larvae of *Haemonchus contortus*

Toklo Placide Mahoungan<sup>1,2,3</sup> ; Ladekan Yayi Eléonore<sup>1\*</sup> ; Kouam F. Siméon<sup>3</sup> ; Sakirigui Amoussatou<sup>1</sup> ; Hounzangbe Adote Sylvie<sup>2</sup> ; Gbenou Joachim Djimon<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Laboratoire de Pharmacognosie et des Huiles Essentielles, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey Calavi, 01 BP : 918 ISBA Cotonou

<sup>2</sup> Laboratoire d'Ethnopharmacologie et de Santé Animale, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey Calavi, Bénin

<sup>3</sup> Laboratoire de chimie des substances Naturelles d'origine végétale et fongique, département de chimie, Université de Yaoundé I, Cameroun

#### Résumé :

Les végétaux ont la capacité de synthétiser, par des voies métaboliques complexes, de nombreux composés qu'ils utilisent pour se défendre contre tous stress biotiques et abiotiques qu'ils peuvent subir. Les plantes renferment donc une large variété de composés chimiques de propriétés physico-chimiques très différentes et présentant diverses activités biologiques, leurs conférant des propriétés thérapeutiques. En Afrique, plus de 80 % de la population fond recours à la médecine traditionnelle pour répondre à leur besoin de santé et celui de leur animaux. La connaissance de la dose efficace, de la toxicité et parfois du principe actif de ces produits, reste le plus souvent limitée et nécessite des études approfondies pour la valorisation de la tradithérapie africaine. L'objectif de la présente étude est de contribuer à une meilleure connaissance des propriétés anthelminthiques des feuilles de *M. inermis*. Ainsi, après évaluation de la migration larvaire de l'extrait EtOH/H<sub>2</sub>O (7 : 3) avec un résultat significatif sur les larves de *H. contortus* (p < 0,001), cet extrait a été séparé sur colonne de chromatographie pour l'isolement de trois composés ne présentant pas une bonne activité sur les mêmes larves. L'effet synergique des composés dans l'extrait pourrait expliquer l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle vétérinaire.

**Mots clés :** *M. inermis*, *H. contortus*, médecine traditionnelle

#### Introduction

Les pathologies liées aux strongles gastro-intestinaux des petits ruminants constituent une des contraintes majeures pour le développement de cet élevage (Hoste *et al.*, 2018). Assurer une autonomisation des éleveurs et agro-éleveurs, revient à mettre en place des stratégies de contrôle de ces pathologies. Ces stratégies ont toujours reposé sur les molécules classiques de synthèse qui ont fini par montrer leurs limites. Parmi ces limites, on peut citer : l'inaccessibilité pour les éleveurs qui sont dans les milieux ruraux, le coût élevé pour les éleveurs à faibles moyens de revenus, et surtout la contrefaçon et la résistance des parasites gastro-intestinaux à ces produits de synthèse (Brunet, 2008 ; Olounladé *et al.*, 2011). Face à ce problème de santé animale auquel les éleveurs sont confrontés, la recherche de solutions alternatives ou complémentaires de lutte antiparasitaire s'avère indispensable. L'utilisation des plantes potentiellement dotées des propriétés anthelminthiques constitue de nos jours l'une des solutions les plus prometteuses respectant l'environnement. Pour s'assurer de l'efficacité de ces plantes et de la qualité des médicaments traditionnels parfois fabriqués, des études scientifiques sont nécessaire en vue de préserver la santé des hommes et des animaux. Le présent travail vient donc mettre en exergue les propriétés anthelminthiques *in vitro* des feuilles de *Mitragyna inermis* largement utilisées en médecine traditionnelle par les petits éleveurs dans le contrôle des parasites gastro-intestinaux des ruminants en général.

#### Méthodologie

##### Isolement des composés

500 g de poudre de feuilles de *M. inermis* est laissé en macération pendant 72 heures dans 10 L de mélange éthanol-eau (70:30 v/v) à température ambiante. Après filtration et évaporation sous vide, on obtient l'extrait brut (90.03 g). Après les tests biologiques sur les larves et les vers de *H. contortus*, cet extrait a été soumis à un partitionnement liquide-solide avec des solvants de polarité croissante, ce qui a permis d'obtenir trois fractions dont : la fraction hexanique, la fraction dichlorométhanique et la fraction méthanolique. La fraction au hexanique a été éluée de façon répéter sur colonne de chromatographie ouverte contenant du gel de silice (70–230 mesh) avec le système d'hexane-acétate d'éthyle à polarité croissante. Ce qui a permis d'isoler principalement 3 composés dont beta-sitostérol (CMI2, 235 mg), l'acide ursolique (CMI4, 2g), et un mélange de l'acide ursolique et de l'acide

oléanolique (CMI6, 12 mg). La structure des composés a été déterminée par CCM comparative et/ou par analyse des données de la spectroscopie de masse puis de la RMN 1D et 2D.

### Test d'inhibition de la migration larvaire

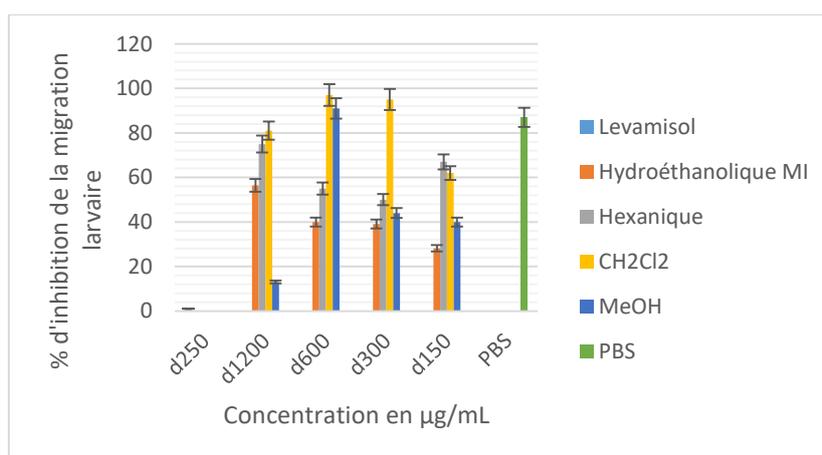
(L3) : Le test appliqué repose sur la mesure du taux de migration des larves du parasite à travers une membrane après contact avec les extraits à tester. Le pourcentage de larves ayant traversé la membrane permet de calculer l'inhibition de la migration larvaire (LMI) associée aux extraits de plantes (Rabel *et al.*, 1994 ; Toklo *et al.*, 2009). Une quantité connue de larves L3 (1000 L3/mL) est mise en contact pendant 3 heures à 23 °C avec chaque extrait à tester à différentes concentrations (1200, 600, 300, 150 et 75 µg/mL) à raison de 3 répétitions par concentration. Les composés isolés ont été testés à 150 µg/mL. Un témoin négatif (tampon PBS, pH 7 et 0,15 M) a permis d'évaluer la migration des larves en absence de la plante. Un témoin positif (lévamisole 250 µg/mL) a été également constitué. Les larves L3 sont ensuite rincées 3 fois et centrifugées, puis laissées en migration à travers des mailles de 20 µm de diamètre pendant 3 heures à une température de 23 °C. Les larves ayant migré sont reprises dans un volume de 1,5 mL. Le nombre de larves est alors compté dans 200 µL. Le pourcentage d'inhibition de la migration larvaire a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$LMI = \frac{T - M}{T} \times 100$$

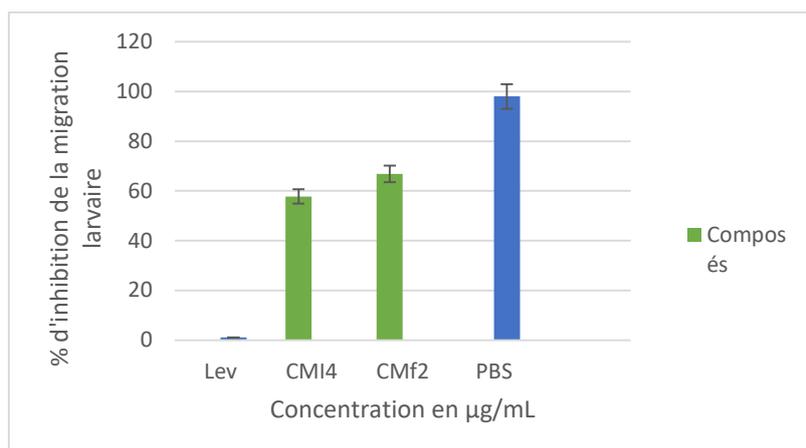
Où T le nombre total de L3 ayant été en contact du PBS ou du lévamisole et M le nombre de L3 en contact avec les extraits.

### Résultats et discussion

L'extrait hydroéthanolique de feuilles de *M. inermis*, les fractions de cet extrait ainsi que les composés isolés, ont été testés *in vitro* sur la migration des larves *H. contortus*, un parasite hématophage qui se localise dans l'abomasum des petits ruminants. Les tests d'inhibition de la migration larvaire ont révélé que l'extrait hydroéthanolique a significativement inhibé la migration des larves de *H. contortus*  $p < 0,001$  plus que les trois sous fraction obtenues à partir de cet extrait ( $p < 0,01$ ) (figure 1). Seule la fraction au dichlorométhane est presque dépourvue de toute activité. Quant aux composés, ils ont présenté une activité modérée sur les larves du parasite bien qu'ils soient moins actifs que le lévamisole (figure 2). L'acide ursolique semble présenter une forte activité que le bêta-sitostérol. Ces résultats pourraient expliquer en partie que les triterpénoïdes contribuerait à l'activité anthelminthique connue de la plante. Toutes fois, étant une plante alcaloïdiques, des études complémentaires sont nécessaires pour l'isolement des alcaloïdes en vue de tester leurs activités.



**Figure 1:** Variation de la migration larvaire d'extrait hydroéthanolique et de ses fractions sur *H. contortus*



**Figure 2:** Variation de la migration larvaire des composés isolés

### Conclusion

Le fractionnement bio-guidé de l'extrait hydroéthanolique de la partie aérienne de *M. inermis*, une plante médicinale utilisée en médecine traditionnelle vétérinaire, a permis de mettre en évidence le pouvoir anthelminthique de cette plante sur *H. contortus*.

Les résultats de cette étude ont permis de s'assurer de l'efficacité thérapeutique *in vitro* de *M. inermis*. L'activité anthelminthique peut être liée à l'effet synergique des composés contenu dans la plante. Cette bio-activité observée peut expliquer l'utilisation d'extraits de cette plante en médecine traditionnelle vétérinaire. Il serait intéressant de noter que l'effet de l'acide ursolique sur les larves de *H. contortus* a été rapporté pour la première fois dans le présent travail et offre donc de nouvelles perspectives pour le docking moléculaire en vue d'augmenter son activité.

### Références:

- Alowanou, G. G., Olounlade, A. P., Azando, E. V. B., Dedehou, V. F. G. N., Daga F. D., Hounzangbé-Adote S. M. 2015. A review of *Bridelia ferruginea*, *Combretum glutinosum* and *Mitragyna inermis* plants used in zoonotic remedies in West Africa: historical origins, current uses and implications for conservation. *Journal of Applied Biosciences*, 87: 8003–8014.
- Rabel, B., McGregor, P., Dough, G. 1994. Improved bioassay for estimation of effects of ovine gastrointestinal inhibitory mucus and on nematode larval migration anthelminthic. *International Journal of Parasitology*, 24: 671-676.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé). 2002. Stratégie de l'OMS pour la Médecine Traditionnelle pour 2002–2005. Edition Genève. P.78.
- Hoste, H., Torres-Acosta, F., Sotiraki, S., Houzangbe-Adote, S., Kabore, A., Costa, J. L., Louvandini, H., Gaudin, E. & Mueller-Harvey, I. (2018). Un modèle d'alimentation pour gérer les vers parasites en élevages des petits ruminants. *Innovations Agronomiques*, 66, 19-29
- Brunet S. 2008. Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestif des ruminants. Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse. p. 246
- Olounladé P. A., Hounzangbé-Adote M. S., Azando E. V. B., Tam Ha T. B., Brunet S., Moulis C., Fabre N., Fouraste I., Hoste H., Valentin A. 2011. Etude *in vitro* de l'effet des tanins de *Newbouldia laevis* et de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* sur la migration des larves infestantes de *Haemonchus contortus*. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 5(4), 1414-1422.
- Toklo P. M., Yayi E., Sakirigui A., Alowanou G. G., Assogba M. F., Kakpo B., Hounzangbé-Adoté S. and Gbenou J. D. 2019. Phytochemical screening and *in vitro* effect of watery triturated extract of *Mitragyna inermis* (Willd.) Kuntz (Rubiaceae) on *Haemonchus contortus*. *Int. J. Adv. Res.* 7(12): 762-767

## **Etat de connaissance et analyse phytochimique du piment (*Capsicum annuum*), type « Ahalimancou » consommé dans la région indénié-juablin (Centre-est de la Côte d'Ivoire)**

Antoinette Régina Ohouo DON<sup>1\*</sup>, Chépo Ghislaine DAN<sup>1</sup> et Pascal Amédée AHI<sup>1</sup>

*1 Laboratoire de biocatalyse et de bioprocédé des aliments, UFR STA, Université Nangui Abrogoua, 02 BP 801 Abidjan 02, République de Côte-d'Ivoire ;*

*\*Correspondance, courriel : ohouoregina@gmail.com*

### **Résumé**

Le piment est une épice, un fruit ou un légume dont l'importance dans l'alimentation humaine est capitale [1, 2]. Il permet de prévenir entre autres les maladies cardiovasculaires et certains cancers [3]. L'objectif de ce travail est d'évaluer les niveaux de connaissances, le mode d'utilisation et l'analyse phytochimique du piment type « Ahalimancou ». Des groupes de discussions et des entretiens individuelles ont été réalisés dans 4 localités (Anassué, Affalikro, Sankadiokro et Abengourou) pour recueillir les informations auprès de 650 habitants. Les résultats ont montré que les femmes connaissent mieux (80,6%) ce type de piment, l'utilisent plus dans l'alimentation (86,3 %) et dans le traitement des maladies (76,4%). Les personnes dont l'âge est compris entre 36 ans et 60 ans ont un niveau d'utilisation en pathologie plus élevé (77,6 %). L'ethnie Agni a un niveau de connaissance (90,17%) et une utilisation en pathologie plus important. Les personnes non scolarisées connaissent mieux (56,30%) et utilisent plus ce type de piment dans le traitement des pathologies (57,4 %). L'analyse phytochimique a révélé que ce type de piment contient plusieurs composants pharmacologiques. Les données de notre étude pourraient renforcer la recherche clinique sur les propriétés nutritionnelles et pharmacologiques du piment « Ahalimancou ».

**Mots clés :** Etat de connaissance, phytochimique, *Capsicum annuum*, Est de la Côte d'Ivoire

## **State of knowledge and phytochemical analysis of *Capsicum annuum* L. (Solanaceae) type "Ahalimancou" pepper consumed in the indénié-juablin region (East of the Côte d'Ivoire)**

### **Abstract**

Chili pepper is a spice, a fruit or a vegetable whose importance in the human diet is capital. It helps prevent, among other things, cardiovascular disease and certain cancers. The objective of this work is to assess the levels of knowledge, the mode of use and the phytochemical analysis of the "Ahalimancou" type pepper. Focus groups and individual interviews were carried out in 4 localities (Anassué, Affalikro, Sankadiokro and Abengourou) to collect information from 650 inhabitants. The results showed that women are more familiar (80.6%) with this type of pepper, use it more in food (86.3%) and in the treatment of illnesses (76.4%). People between 36 and 60 years old have a higher level of pathology use (77.6%). The Agni ethnic group has a higher level of knowledge (90.17%) and use in pathology. People without schooling know better (56.30%) and use this type of pepper more in the treatment of pathologies (57.4%). Phytochemical analysis revealed that this type of pepper contains several pharmacological components. The data from our study could strengthen clinical research on the nutritional and pharmacological properties of "Ahalimancou" pepper.

**Keywords:** State of knowledge, phytochemicals, *Capsicum annuum*, East of Côte d'Ivoire

### **Introduction**

Le piment est une plante légumière appartenant au genre *Capsicum*, de la famille des solanacées [1]. Il est originaire des régions tropicales et tempérées de l'Amérique (Sud et Centrale), puis distribué en Europe, en Afrique et en Asie [2,3]. Des études ont montré que le genre *Capsicum* comprend 35 espèces [4]. Parmi celles-ci, les espèces les plus importantes du point de vue économique sont *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum*, *C. pubescens* et *C. annuum* [5]. Cette dernière demeure l'espèce la plus répandue et la plus cultivée dans les pays tempérés et subtropicaux [6]. Du point de vue de la production, la Chine reste le grand producteur mondial de piment avec 18 millions de tonnes de fruit par an. Selon [7], l'Asie produit 67,3% de fruit de piment dans le monde, suivie de l'Amérique (13,3%), de l'Afrique (10%), de l'Europe (9,2%) et de l'Océanie (0,2%).

Par ailleurs, Le piment est non seulement une épice, mais aussi un fruit et un légume dont l'importance dans l'alimentation humaine est capitale [8]. Au cours des dernières décennies, il y a eu une augmentation de l'intérêt des consommateurs pour un régime alimentaire varié composé de fruits et légumes de haute qualité nutritionnelle. La consommation quotidienne et suffisante en fruits et légumes notamment le piment permet de prévenir entre autres les maladies cardiovasculaires et certains cancers

[7]. En effet, le piment est incontournable dans les plats de nombreux pays africains voire la Côte d'Ivoire, car il épice les mets de manière subtile ou forte selon les variétés [9]. Les fruits de piment sont consommés sous différentes formes à savoir à l'état frais, séché ou transformé pour l'assaisonnement et la stimulation de l'appétit.

Ainsi, à l'état frais, les piments sont utilisés de façon directe ou comme condiments souvent associés en mélange avec divers autres légumes. Ils sont utilisés sous forme de produits transformés tels que la poudre de piment pour l'assaisonnement des mets. Aussi, comme jus ou confiture de piment, dans la fabrication de liqueurs, l'accompagnement des fromages et plats [10]. En outre, les piments sont utilisés comme des colorants naturels dans l'alimentation et en cosmétique [11]. En plus de son utilisation alimentaire, la consommation des fruits de *Capsicum* a des effets bénéfiques sur la santé. En effet, les piments ont diverses propriétés médicinales : stomachiques, diurétiques, stimulants, digestifs et antiseptiques, antioxydants, anticancéreux et anti-inflammatoires [12]. Les piments ont une teneur élevée en eau (83%) et constitue une source importante de métabolites secondaires tels que : les flavonoïdes, les capsaïcinoïdes, les caroténoïdes, les tocophérols, l'acide ascorbique et de composés volatils [13].

Malgré tous les atouts dont disposent les fruits de *Capsicum annum*, il existe très peu de données scientifiques relatives à l'état de connaissance, aux modes d'utilisation et de consommation et à la composition phytochimique consommée à l'Est de la Côte d'Ivoire. Par conséquent, nous nous sommes proposé d'évaluer l'état de connaissance ethnobotanique des populations rurales et la composition phytochimique des fruits de type « Ahalimancou » de *Capsicum annum*.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel

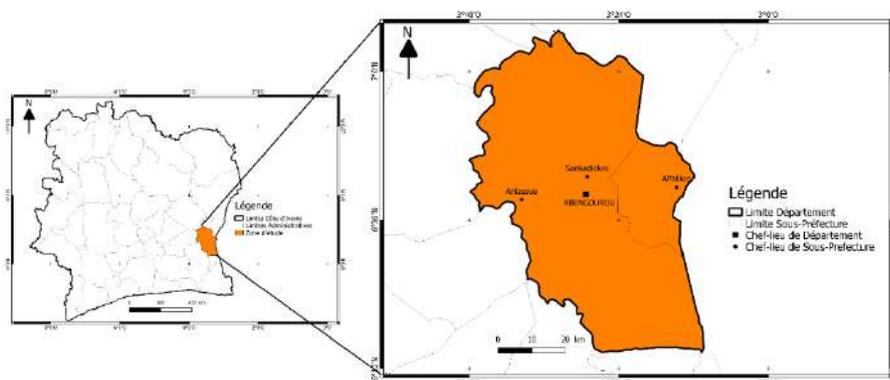
Le matériel végétal est constitué des fruits de type « Ahalimancou » de *Capsicum annum* (Figure 1).



**Figure 1 :** Fruits frais de type « Ahalimancou » de *Capsicum annum* à différents stades de mûrissement : vert (a), jaune (b), orange (c) et rouge (d)

### 2.2 Site d'étude

L'étude a été réalisée dans quatre localités (Aniassué, Affalikro, Sankadiokro et ville d'Abengourou) de la région de l'Indénié-Djuablin (Figure 2). Cette région de l'Indénié-Djuablin se situe entre la latitude de 5°53' et 7°21' nord et la longitude 3°48' et 3°4' 3°29' ouest, à l'Est de la Côte d'Ivoire. Cette région jouit d'un climat tropical subtropical avec deux saisons, une saison écologiquement sèche et une saison pluvieuse. La pluviométrie moyenne est de 1300mm par an et le sol de type ferrallitique. Les différentes localités ont été choisies sur la base d'une enquête préliminaire relative à la provenance du piment, effectuée dans des marchés d'Abidjan.



**Figure 2 :** Situation géographique du site d'étude (Abengourou, Aniassué, Sankadiokro et Affalikro).

### **2.3 Procédure d'enquête**

L'enquête ethnobotanique a été réalisée pendant trois (3) mois, allant de Septembre à Novembre 2018, au moyen d'une fiche d'enquête. Les questions posées étaient du type fermé (réponse par oui ou non) et ouvert (donnant la latitude à l'individu enquêté d'exprimer son point de vue). Elles ont concerné la demande d'informations sur le profil du consommateur, le niveau de connaissance, le mode d'utilisation et l'état d'utilisation des fruits du piment type « Ahalimancou ». Les enquêtés ont été tirés de façon aléatoire parmi des hommes et des femmes âgées de 15 ans et plus. Les données de l'enquête ont été collectées dans les grands lieux de rassemblements, à savoir les marchés, les gares et aussi dans les ménages.

### **2.4 Taille de l'échantillon**

La taille de l'échantillon a été déterminée selon la formule de Dagnelie (1998) :

$$n = t^2 \times p \times (1-p) / m^2$$

Avec :

n : Taille d'échantillon minimale

t : 1,96 à un niveau de confiance de 95%,

p : proportion estimée de la population (p étant inconnue, on utilise p = 0,5)

m : marge d'erreur fixée à 4%,

La taille de l'échantillon obtenue sur laquelle a porté l'enquête est de 650 individus.

L'enquête a porté sur un total de 650 individus qui correspond à la taille d'échantillon obtenue. Cet effectif a été réparti comme suit 200 individus pour la ville d'Abengourou et 150 individus pour les trois autres localités.

### **2.5 Analyses des données**

#### **2.5.1 Niveau de connaissance**

Le niveau de connaissance des fruits du piment type « Ahalimancou » a été obtenu selon l'expression mathématique suivante :

$$NC (\%) = N/Nt \times 100$$

Avec :

NC : Niveau de confiance

N : Nombre d'individus connaissant les fruits

Nt : Nombre total d'individus interrogés

#### **2.5.2 Taux du mode d'utilisation**

Le taux du mode d'utilisation (Mu) des fruits du piment type « Ahalimancou » a été obtenu selon la relation mathématique suivante :

$$Mu (\%) = M/Nt \times 100$$

Avec :

Mu : Taux du mode d'utilisation

M : Nombre d'individus selon leur mode d'utilisation

Nt : Nombre total d'individus interrogés

#### **2.5.3 Taux de l'état d'usage**

Le taux de l'état d'usage des fruits du piment type « Ahalimancou » a été obtenu selon la formule mathématique suivante :

$$Eu (\%) = E/Nt \times 100$$

Avec :

Eu : taux de l'état d'usage

E : Nombre d'individus selon l'état d'usage

Nt : Nombre total d'individus interrogés

### **2.6 Etude de la composition phytochimique du piment à différents stades de mûrissement**

Le tri phytochimique des substances pharmacologiques a été réalisé selon la méthode décrite par [14]. L'extraction des substances a été effectuée avec le méthanol comme solvant. Les stérols et les polyterpènes ont été mis en évidence par la réaction de Libermann. Les polyphénols ont été identifiés par la réaction au chlorure de fer (FeCl<sub>3</sub>). La mise en évidence des flavonoïdes a été faite par la réaction à la cyanidine. Les tanins ont été détectés avec la réaction utilisant le réactif de Stiasny. La recherche de tanins galliques a été réalisée par la réaction à l'acétate de sodium. Les substances quinoniques ont été

recherchées avec le réactif de Bornsträeger. Les alcaloïdes ont été mis en évidence à l'aide des réactifs de Bourchardat, Dragendorff et Mayer-Valser. Les saponines ont été identifiées par l'observation de la mousse. La détection des coumarines a été effectuée par la réaction à l'hydroxyde de sodium.

### **2.7 Analyses statistiques**

Les logiciels Sphinx Plus <sup>2</sup> (V5) et SPSS 22.0 ont été utilisés respectivement pour la saisie et le traitement des données. Le test d'indépendance de Khi-deux ( $\chi^2$ ) a permis d'étudier la liaison entre les variables catégorielles (Genre, Classe d'âge, ethnie et niveau d'instruction) et les variables dichotomiques (Niveaux de connaissance et d'utilisation). Le niveau de signification a été considéré à  $p \leq 0,05$ .

## **3. Résultats**

### **3.1.1 Caractéristiques sociodémographiques des enquêtés**

Les caractéristiques sociodémographiques des enquêtés ont porté sur le genre, l'ethnie, la classe d'âge et le niveau d'instruction (Tableau 1). Les femmes étaient les plus nombreuses avec un total de 511 individus soit 78,6% des enquêtés quel que soit la localité enquêtée. Concernant la tranche d'âge, une prédominance a été observée pour la classe allant de 36 ans à 60 ans avec un taux de 63,5%. La localité d'Abengourou enregistrait le plus grand nombre, de personnes enquêtées avec plus de femmes (136). S'agissant de l'ethnie, il ressort que les agni présentent la proportion la plus importante dans toutes les localités. Alors les personnes non scolarisées disposaient de l'effectif le plus élevé avec 356 personnes, soit un taux de 54,80 % des enquêtés quel que soit la localité.

### **3.1.2 Niveau de connaissance des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou »**

#### **3.1.2.1 Répartition du niveau de connaissance des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » selon le genre**

Le niveau de connaissance des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » varie selon le genre (Figure 3a). En effet, le genre féminin a le niveau de connaissance le plus élevé avec un taux de 80,82% Le test d'homogénéité de Khi-deux a révélé le niveau de connaissance du genre féminin diffère significativement ( $p < 0,05$ ) de celui du genre masculin. Par ailleurs, le test d'indépendance de Khi-deux a montré que la valeur de Khi-deux calculée (67,36) est supérieure à celle de Khi-deux théorique (3,84). Par conséquent, il existe une liaison entre le niveau de connaissance et le genre.

#### **3.1.2.2 Répartition du niveau de connaissance des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » selon la tranche d'âge**

Le niveau de connaissance des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » diffère d'une classe d'âge à l'autre (Figure 3b). En effet, les personnes dont l'âge est compris entre 60 ans et plus ont le niveau de connaissance le plus élevé (92,52%) des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » suivi des personnes dont l'âge oscillent entre 36ans et 60 ans qui disposent du niveau de connaissance de (77,75%). Alors que la classe d'âge compris entre 15 ans et 25 ans est très faible (12,50%) Toutefois, le test d'indépendance de Khi-deux a révélé que la valeur Khi-deux calculée (76,91) est supérieure à celle de Khi-deux théorique (7,81). Donc, il apparaît une liaison entre le niveau de connaissance et la tranche d'âge. Aussi, le test d'homogénéité a montré qu'au moins deux niveaux de connaissance des tranches d'âge varient significativement ( $p \leq 0,05$ ). En effet, la procédure de Marascuilo a indiqué que tous les niveaux de connaissance des tranches d'âge diffèrent significativement ( $p \leq 0,05$ ).

#### **3.1.2.2 Répartition du niveau de connaissance des fruits du piment (*C. annuum*) type « Ahalimancou » selon l'ethnie**

Le niveau de connaissance des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » diffère d'une ethnie à l'autre (Figure 3c). En effet, les agni se distinguent des autres ethnies par leur niveau de connaissance plus importante (90,17%). Le niveau de connaissance le plus faible (35,71%) est obtenu avec les malinké. Par ailleurs, le test d'indépendance de Khi-deux a indiqué que la valeur Khi-deux calculée (44,89) est supérieure à celle de Khi-deux théorique (7,81). Par conséquent, il y a une liaison entre les variables niveau de connaissance des fruits et les ethnies. En outre, le test d'homogénéité de Khi-deux a montré qu'il apparaît au moins une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les niveaux de connaissance des différentes ethnies. En effet, la procédure de Marascuilo a révélé des différences

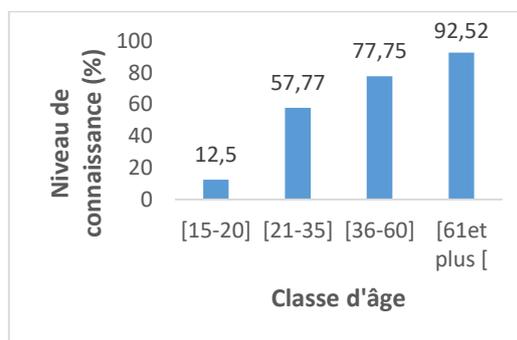
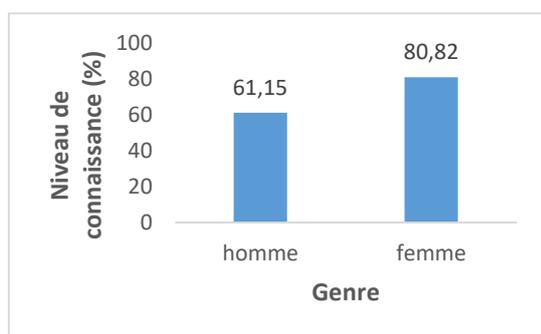
significatives ( $p \leq 0,05$ ) entre les niveaux de connaissance des ethnies Agni, Baoulé et ceux des ethnies Malinké et Attié.

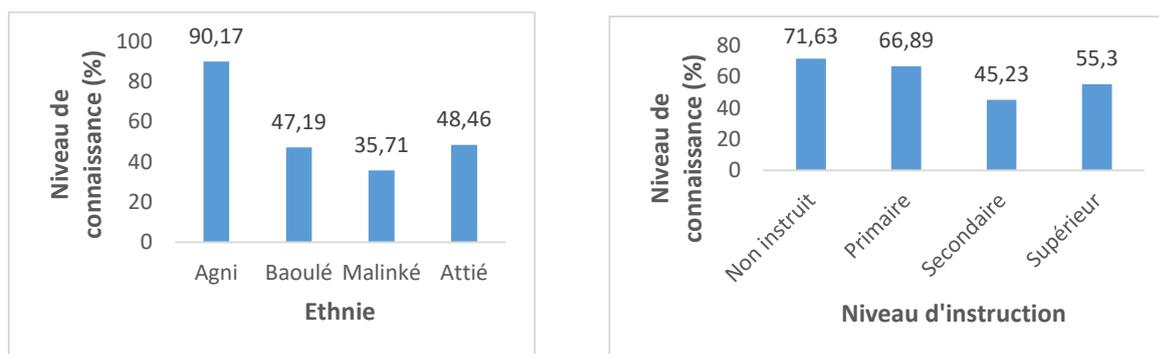
### 3.1.2.3 Répartition du niveau de connaissance des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » selon le niveau d'instruction

Le niveau de connaissance des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » varie selon le niveau d'instruction (Figure3d). En effet, le niveau de connaissance des fruits est plus important chez les personnes non instruites avec un taux de 71,63%, alors que le niveau de connaissance des personnes ayant suivi des études secondaires est faible (45,23%). En outre, le test d'indépendance de Khi-deux a montré que la valeur Khi-deux calculée (88,77) est supérieure à celle de Khi-deux théorique (7,81). Ainsi, il existe une liaison entre les variables niveau de connaissance et niveau d'instruction. Par ailleurs, le test de Marascuilo a montré des différences significatives ( $p \leq 0,05$ ) entre les niveaux de connaissances des différents niveaux d'instruction.

**Tableau 1 : Caractéristiques sociodémographiques des enquêtés**

Paramètres	Localités				Total	Pourcentage (%)
	Abengourou	Affalikro	Aniassue	Sankadiokro		
<b>Genre</b>						
Masculin	64	20	26	29	139	21,39
Féminin	136	130	124	121	511	78,62
<b>Tranche d'âge</b>						
[15-20]	20	6	5	9	40	6,2
[21-35]	35	18	15	22	90	13,8
[36-60]	125	93	102	93	413	63,5
[61et plus [	20	33	28	26	107	16,5
<b>Ethnie</b>						
Agni	145	100	129	135	509	78,3
Baoulé	29	30	15	12	86	13,2
Malinké	17	20	3	2	42	6,5
Attié	11	0	2	0	13	2,0
<b>Niveau d'instruction</b>						
Non instruit	114	86	87	73	356	54,8
Primaire	15	50	39	47	151	23,2
Secondaire	50	10	16	20	96	14,8
Supérieur	21	4	8	10	47	7,2





**Figure 3 :** Répartition du niveau de connaissance du piment (*C. annuum*) type « Ahalimancou » selon le genre (a) ; la tranche d'âge (b) ; l'ethnie (c) et le niveau d'instruction (d)

### 3.1.3 Mode d'utilisation des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou »

#### 3.1.3.1 Répartition du mode d'utilisation des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type " Ahalimancou " selon le genre

Le mode d'utilisation des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » diffère d'un genre à un autre (Figure 4a). En effet, les femmes disposent de mode d'utilisation plus élevé avec des taux de 99,41% et de 95,69% par rapport aux hommes qui ont des modes d'utilisation moins élevés avec des taux de 25,9% et de 68,67% respectivement dans l'alimentation et dans le traitement de pathologies. Par ailleurs, le test d'indépendance de Khi-deux a montré que les valeurs Khi-deux calculées (75,76 et 24,21) respectivement pour le mode alimentaire et traitement des pathologies sont supérieures à celle de Khi-deux théorique (3,84). Donc, il y a un lien entre les variables catégorielles mode d'utilisation des fruits du piment et genre. De plus, le test de Khi-deux a révélé que les niveaux du mode d'utilisation des fruits de piment de la femme et de l'homme diffèrent significativement ( $p \leq 0,05$ ).

#### 3.1.3.2 Répartition du mode d'utilisation des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » selon la classe d'âge

Le mode d'utilisation des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » diffère selon la classe d'âge (Figure 4b). En effet, le taux le plus élevé (81,30%) est observé chez les personnes dont l'âge varie entre 60 ans et plus. Ces personnes utilisent les fruits du piment plus dans le traitement des pathologies. En revanche, les personnes dont l'âge varie entre 15 ans et 20 ans n'utilisent pas les fruits du piment dans le traitement de pathologies (0%). Concernant, l'utilisation alimentaire ces fruits de piment sont beaucoup plus utilisés par les personnes dont l'âge varie entre 36 ans et 60 ans (61,74%) tandis que celles dont l'âge varie entre 61 ans et plus disposent d'un faible taux (22,43%). Le test d'indépendance de Khi-deux a indiqué que les valeurs de Khi-deux calculées (88,59 et 12,65) respectivement pour le mode alimentaire et traitement des pathologies sont supérieures à celle de Khi-deux théorique (7,81). Il existe donc un lien entre les variables mode d'utilisation des fruits et tranche d'âge. Par ailleurs, le test d'homogénéité de Khi-deux a montré qu'il existe au moins une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) entre les modes d'utilisation des fruits enregistrés dans les différentes tranches d'âge. En effet, la procédure de Marascuilo a indiqué que tous les modes d'utilisation des fruits de piment des tranches d'âge diffèrent significativement ( $p \leq 0,05$ ) entre eux de part et d'autre.

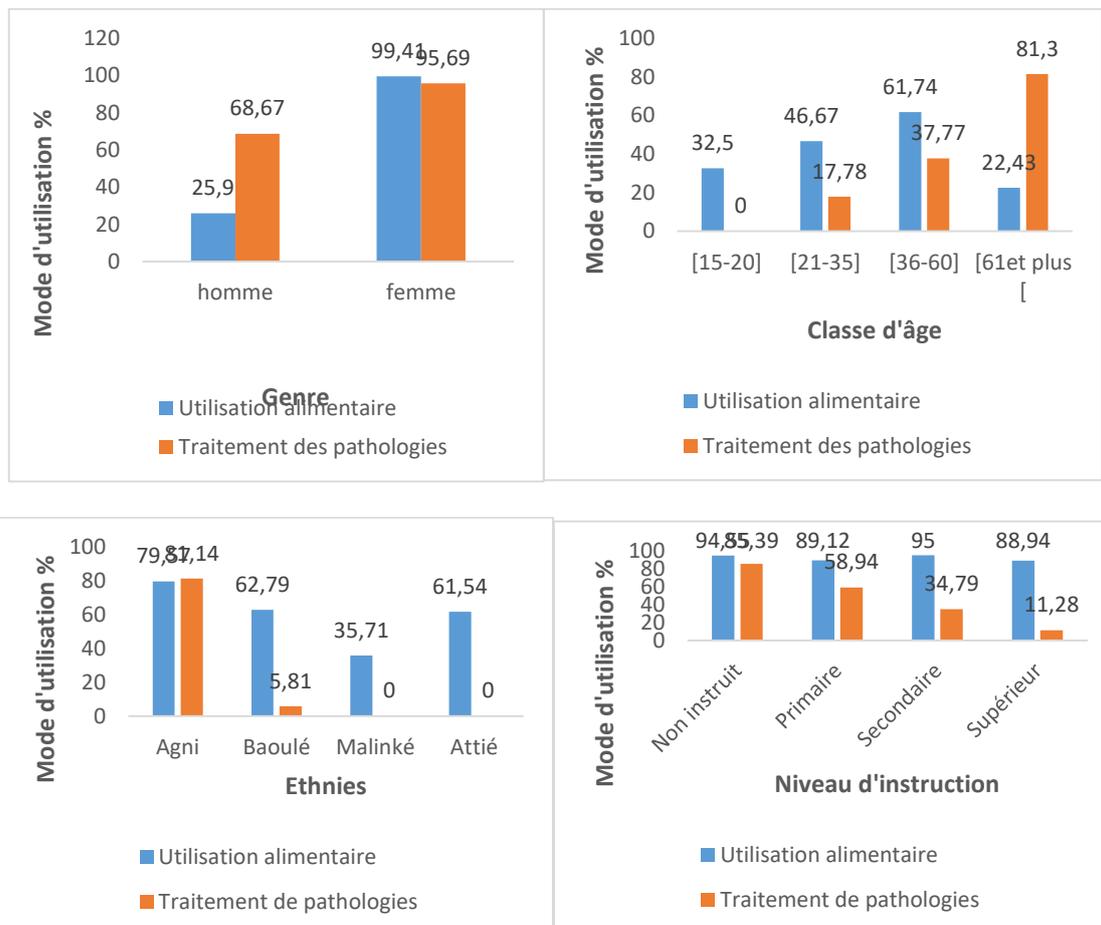
#### 3.1.3.3 Répartition du mode d'utilisation des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » selon l'ethnie

Le mode d'utilisation des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » diffère d'un mode d'utilisation à un autre quelle que soit l'ethnie (Figure 4c). En effet, les agni utilisent plus les fruits de piment aussi bien dans l'alimentation et dans le traitement des pathologies avec des taux d'utilisation respectifs de 79,57% et 81,14%. Par conséquent, le plus faible taux des personnes qui utilisent ces fruits dans l'alimentation est obtenu chez les malinké (35,71%). En revanche, les malinkés et les attiés n'utilisent pas cette variété de piment type « Ahalimancou » dans le traitement des pathologies. En outre, le test d'indépendance de Khi-deux a montré que les valeurs de Khi-deux calculées (56,70 et 15,05) respectivement pour le mode alimentaire et traitement des pathologies sont supérieures à celle de Khi-

deux théorique (7,81). Par conséquent, il y a une indépendance entre les variables modes d'utilisation et ethnies. De plus, le test d'homogénéité de Khi-deux a indiqué qu'il y a une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) entre le mode d'utilisation des fruits de piment type « Ahalimancou » dans l'alimentation des différentes ethnies agni, baoulé, malinké et attié, mais aussi entre le mode d'utilisation des fruits de piment type « Ahalimancou » dans le traitement des pathologies des différentes ethnies agni et baoulé.

### 3.1.3.3 Répartition du mode d'utilisation des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » selon le niveau d'instruction

Le mode d'utilisation des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » varie quel que soit le niveau d'instruction (Figure 4d). En effet, les personnes non instruites présentent une prédominance pour l'utilisation du piment, aussi bien dans l'alimentation (94,55%) et dans le traitement des pathologies (85,39%). Cependant, le faible taux du mode d'utilisation sont obtenus chez les personnes ayant un niveau supérieur d'instruction avec un taux de 11,28 % dans le traitement de pathologies. Par ailleurs, le test d'indépendance de Khi-deux a révélé que la valeur de Khi-deux calculée (55,78) pour la variable traitement des pathologies est supérieure à celle de Khi-deux théorique (7,81). Il y a donc une dépendance entre les caractères mode d'utilisation et niveau d'instruction. En outre, le test d'homogénéité de Khi-deux a montré qu'il apparaît au moins une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) entre les modes d'utilisation dans le traitement des pathologies des différents niveaux d'instruction. En effet, la procédure de Marascuilo a révélé des différences significatives ( $p \leq 0,05$ ) entre les modes d'utilisation des niveaux d'instruction. S'agissant, de la variable du niveau du mode d'utilisation dans l'alimentation le test d'indépendance de Khi-deux a montré que la valeur de Khi-deux calculée (2,53) est inférieure à celle de Khi-deux théorique (7,81). Par conséquent, il y a une indépendance entre la variable niveau d'utilisation dans l'alimentation et le niveau d'instruction. De plus, le test d'homogénéité de Khi-deux a indiqué qu'il n'y pas de différence significative ( $p > 0,05$ ).



**Figure 4** : Répartition du mode d'utilisation des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » selon le genre (a) ; la classe d'âge (b) ; l'ethnie (c) et le niveau d'instruction (d)

## 2. Etude qualitative des composés phytochimiques des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » à différents stades de mûrissement

L'étude phytochimique des extraits a permis de mettre en évidence des composés tels que les alcaloïdes, les polyphénols, les flavonoïdes, les stérols et polyterpènes, les tanins galliques et les coumarines. En revanche, une absence totale des quinones a été observée dans tous les extraits des fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » à différents stades de mûrissement. S'agissant des tanins catéchiques et des saponosides, ils ont été détectés uniquement dans les extraits de piment vert. Par ailleurs, il y a une forte présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes et de polyphénols dans les extraits de piment orange et rouge. Par contre, les stérols et polyterpènes sont fortement présents dans les extraits de piment vert et jaune.

**Tableau 2 :** Tri phytochimique du piment (*Capsicum annuum*) à différents stades de maturation

Paramètres	Extraits			
	PV	PJ	PO	PR
Alcaloïdes	++	++	+++	+++
Polyphénols	++	++	+++	+++
Flavonoïdes	++	++	+++	++
Stérols et polyterpènes	+++	+++	++	++
Tanins catéchiques	+	-	-	-
Tanins galliques	++	++	++	+
Saponosides	+	-	-	-
Quinones	-	-	-	-
Coumarines	++	+	+	+

### Discussion

L'étude sociodémographique des enquêtés a montré qu'il existe une relation entre les variables catégorielles (genre, tranche d'âge, ethnie, niveau d'instruction et localité) et la variable niveau de connaissance. Ce résultat s'explique par le fait que ces variables catégorielles ont un effet significatif ( $p \leq 0,05$ ) sur le niveau de connaissance. Concernant le genre, sur les 650 fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou ». Le niveau de connaissance est plus élevé chez les femmes que chez les hommes. Cette observation se traduit par le fait que les femmes sont très impliquées dans la culture des produits maraichers particulièrement pour leur famille mais aussi dans le commerce par rapport aux hommes. Les résultats sont accord avec ceux obtenus par [15] dans l'étude sur le rôle des femmes dans les maraichers qui stipulent que le maraîchage en Afrique est plus une activité typiquement féminine pour la consommation des familles. Les études de [16], soutiennent cette information sous laquelle, le piment est plus consommé par les femmes que par les hommes. Cette observation est confirmée par l'étude qui a révélé une dépendance entre le niveau de connaissance et le genre. Par ailleurs, les résultats de l'étude ethnobotanique ont montré que les personnes dont l'âge varient entre 60 ans et plus connaissent plus les fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou ». Ceci dénote que les personnes âgées sont susceptibles de fournir des informations plus fiables car elles détiennent une bonne partie du savoir endogène qui fait partir de la tradition orale. Des études antérieures sur d'autres espèces végétales sont parvenues à la même conclusion et ont montré que les personnes âgées ont des connaissances endogènes pour usages traditionnels des plantes et des recettes pour leur mise en œuvre [17]. Inversement, les personnes dont l'âge est compris entre 15 ans et 25 ans ont une fréquence de connaissance moins élevée avec un taux de 6,2%. La population majoritairement, composée des adultes pourrait expliquer ce résultat. Les jeunes sont pour la plupart scolarisés et se désintéressent aux connaissances des plantes légumières, au profit de divers loisirs. Par conséquent, ils baissent le flux de connaissances entre les adultes et leur génération. Ce résultat soutient l'hypothèse de connaissances dépendantes de l'âge [18]. De plus, les résultats ont montré que les agni connaissent mieux les fruits du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou ». Un résultat attendu car cette région est fortement représentée par cette ethnie qui constitue la population autochtone de la zone d'étude, de plus cette variété de piment est très prisée de ce groupe ethnique. En ce qui concerne le niveau d'instruction, l'enquête a montré que les personnes non instruites connaissent mieux le piment type « Ahalimancou ». Ce résultat s'expliquerait par le fait que les ménages à niveau de vie bas consomment plus cette variété de piment compte tenu des connaissances qu'ils ont de cette variété que ceux à niveau élevé. Ceci tient au fait que

selon [19], les personnes sans instruction restent plus attachées à leurs valeurs culturelles. Tandis que celles à niveau de vie élevé ont tendance à adopter des modes de vie occidentaux [20].

Les caractères genre, tranche d'âge, ethnie, niveau d'instruction et localité influent significativement ( $p \leq 0,05$ ) quel que soit le mode d'utilisation de la variété de piment type « Ahalimancou ». En ce qui concerne le genre, les femmes détiennent des taux importants aussi bien dans l'alimentation que dans le traitement des pathologies. En effet, ces femmes utilisent cette variété de piment dans l'alimentation pour son côté épice en vue de donner un bon parfum à leur préparation culinaire. Mais aussi, elles l'utilisent dans le traitement des pathologies car le bénéfice santé est le critère clé de préférence de cette variété de piment. Ainsi, ces résultats sont similaires aux auteurs qui rapportent que le piment est utilisé en alimentation [21] et en médecine traditionnelle [22] par les populations pour sa forte teneur en capsaïcine. S'agissant de la classe d'âge, la prédominance observée pour les personnes adultes dont l'âge est compris entre 36 ans et 60ans utilisent plus cette variété de piment dans l'alimentation alors que les personnes âgées dont l'âge est compris entre 60et plus l'utilisent dans le traitement des pathologies. Ce résultat s'expliquerait par le fait ces personnes reconnaissent les vertus thérapeutiques car selon eux les fruits de piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » interviennent dans la composition des recettes pour le traitement de certaines affections. S'agissant de l'ethnie, la majorité des personnes agni utilisent la variété de piment type « Ahalimancou » dans l'alimentation et pour le traitement de certaines pathologies contrairement aux autres ethnies qui l'utilisent uniquement dans l'alimentation. Ce résultat s'expliquerait par le fait que les agni ont une connaissance profonde sur les bienfaits du fruit de ce piment. Les fruits de cette variété de piment pourraient être une source importante d'antioxydants ou de fibres alimentaires connus pour leur effet positif sur certaines affections. Le niveau d'instruction des utilisateurs du fruit du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou », varie selon leur niveau d'instruction. La plupart des utilisateurs du fruit de ce piment sont ceux qui ne sont pas instruits. Ce constat serait dû au fait que les personnes non scolarisées n'ont pas délaissé leurs habitudes alimentaires de leurs grands-parents qui utilisaient beaucoup plus ce fruit. Les mêmes observations ont été faites sur d'autres espèces végétales aromatiques au Bénin, où les technologies traditionnelles d'utilisation se transmettaient de génération en génération [23]. Selon les personnes interrogées, lorsque ces fruits de piment sont au marché, ils sont rapidement vendus à cause du faible taux de production de cette variété. La culture de cette variété n'est pas très encouragée car les cultivatrices se donnent plus aux cultures de rentes. Mais aussi à cause de l'absence de semence. Par ailleurs, nos résultats se rapportent de ceux de [24] qui stipule que pendant longtemps, l'essentiel des exploitations agricoles du monde agricole ivoirien était orienté vers une agriculture de rente.

Outre son usage à des fins alimentaires (sauces, grillades, marinades), le piment type « Ahalimancou » est utilisé dans le domaine médical. Les résultats ont montré la présence des substances pharmacologiques telles que les alcaloïdes, les stérols et polyterpènes, des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins, des coumarines et des saponines. Cela pourrait expliquer l'effet bénéfique de la consommation de cette variété de piment dans le traitement de plusieurs maladies. Aussi L'apport de ces composés dans les aliments est un facteur important de protection de la santé par la prévention des maladies humaines. De ce fait, plusieurs études ont montré les propriétés antioxydantes, anti-mutagenèse, hypocholestérolémiante et immunosuppressive du piment [25] également le piment inhibe la croissance bactérienne et l'agglomération des plaquettes [13]. En outre, La forte présence les flavonoïdes, des polyphénols dans les piments rouges indiquent le pouvoir antioxydant de cette variété car selon [26], les groupes les plus importants d'antioxydants naturels sont les tocophérols, les flavonoïdes et les acides phénoliques. La présence des substances phytochimiques confirment les propriétés médicinales du piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou ». Ces résultats confirment ceux de [27] qui rapportent que l'espèce *Capsicum annuum* a un large éventail de composés phytochimiques aux propriétés antioxydantes.

## Conclusion

Cette étude a permis de connaître que le niveau de connaissance, le mode d'utilisation ainsi que le niveau de l'état d'usage sont fortement influencé par les caractères tels que le genre, la classe d'âge, l'ethnie, le niveau d'instruction et la localité. En sus, cette étude indique que le type Ahalimancou est beaucoup connue par les femmes. En plus de son utilisation alimentaire, elle est beaucoup utilisée dans le traitement des pathologies. Et, cette variété est beaucoup plus utilisée chez les personnes âgées dont l'âge oscille entre 60 ans et plus dans le traitement de pathologies. Par conséquent, compte tenu de sa

faible productivité, elle est beaucoup utilisée sous sa forme fraîche. Par la suite, l'étude qualitative a montré que la piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou » contient des composés phytochimiques aux propriétés antioxydantes. Des études plus approfondies (par approche quantitative) sont à envisager sur le piment (*Capsicum annuum*) type « Ahalimancou », pour la vulgarisation à grande échelle, permettrait de justifier cette étude qualitative. En sus, cette étude permettra d'insérer ce type de piment dans la base des données des variétés de piment cultivé en Côte d'Ivoire.

### Références bibliographiques

- [1]. Bosland P. W. & Votava E. J. (2012). Peppers: Vegetable and Spice Capsicums. Journal of Atherton and A. Rees (eds), CABI Publishing, 199p.
- [2]. Zimmer A.R., Leonardi B., Miron D., Schapoval E., Oliveira J.R. & Gosmann G. (2012). Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Capsicum baccatum*: From traditional use to scientific approach. *J. Ethnopharmacol.*, **139** (1) : 228-233
- [3]. Menichini F., Tundis R., Bonesi M., Loizzo M.R., Conforti F., Statti G, De Cindio B., Houghton P.J. & Menichini F. (2009). The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of *Capsicum chinense* Jacq. Cv Habanero. *Journal of Food Chemistry*, 114: 553-560.
- [4]. Carrizo Garcia C., Sterpetti M., Volpi P., Ummarino M. & Saccardo F. (2013). Wild capsicums: identification and in situ analysis of Brazilian species. In: Lanteri S, Rotino GL, eds. Breakthroughs in the genetics and breeding of *Capsicum* and eggplant. *Journal of Eucarpia*(Turin), 15: 205-213.
- [5]. Pickersgill B. (2003). Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Journal of Euphytica*, 96: 129-133.
- [6]. Kothari S.L., Joshi A., Kachhwaha S. & Ochoa-Alejo N. (2010). Chilli peppers: a review on tissue culture and transgenesis. *Biotechnologies Adv.*, 28 : 35-48.
- [7]. FAO (2017). Food and Agriculture Organisation of the United Nations. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>FAO. Consulté le 12 Octobre 2019.
- [8]. Dias G.B., Gomes V.M., Moraes T.M., Zottich U.P., Rabelo G.R., Carvalho A.O., Moulin M., Gonçalves L. S., Rodrigues R. & Da Cunha M. (2013). Characterization of *Capsicum* species using anatomical and molecular data. *Journal of Genetics and Molecular Research*, 8:156-166.
- [9]. Ludy M-J., Moore G. E. & Mattes R. D. (2012). The effects of capsaicin and capsiate on energy balance: critical review and meta-analyses of studies in humans. *Journal Chemistry Senses*, 37: 103-111.
- [10]. Barbieri S. K., Walters S., Bickford J., Cooper W. & Muller R. (2013). Site fidelity and reproductive timing at a spotted seatrout spawning aggregation site: individual versus population scale behavior. *Journal of Ecology Programs*, 481: 181-197.
- [11]. Meghvansi M. K., Siddiqui S., Haneef Khana, Gupta V.K., Vairalea M.G., Gogoi H.K. & Lokendra Singha (2010). Naga chilli: A potential source of capsaicinoids with broad spectrum ethnopharmacological applications. *Journal of Ethnopharmacology*, 132 : 1 14.
- [12]. Khan S. T., Khan M., Ahmad J., Wahab R., Abd-Elkader O. H. & Musarrat J. (2014). Thymol and carvacrol induce autolysis, stress, growth inhibition and reduce the biofilm formation by *Streptococcus mutans*. *AMB Express* 7: 49p.
- [13]. Wahyuni Y., Ballester A-R., Sudarmonowati E., Bino R.J. & Bovy A.G. (2013). Secondary Metabolites of *Capsicum* Species and Their Importance in the Human Diet. *Journal of Naturals Products*,60: 53-62.
- [14]. Nemlin J. & Brunel J. (1995). Fascicule de travaux pratiques de matière médicale (3eme année). Université nationale de Côte d'Ivoire. Faculté de Pharmacie. Département de Pharmacognosie. Laboratoire de phytoologie, p 47.
- [15]. Sraboni E., Malapit H. J., Quisumbing A. R. & Ahmed A. U. (2014). Women's empowerment in agriculture: what role for food security in Bangladesh. *World Development* 61 :11-52.
- [16]. Kouassi K.C. & Koffi-Nevry R. (2012). Evaluation de la connaissance et utilisation des variétés de piment (*Capsicum*) cultivées en Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6 (1) : 175-185.
- [17]. Laleye F. O. A., Mensah S., Assogbadjo A. E. & Ahissou H. (2015). Diversity, knowledge, and use of plants in traditional treatment of diabetes in the Republic of Benin. *Journal of Ethnobotany Research and Applications*, 14 : 231-257.
- [18]. Souto T. & Ticktin T. (2012). Understanding interrelationships among predictors (age, gender, and origin) of local ecological knowledge. *Economic Botany*, 66 (2): 149-164.
- [19]. Tchiegang C. & Kitikil A. (2004). Données ethno nutritionnelles et caractéristiques Physicochimiques des légumes feuilles consommés dans la savane de l'Adamaoua (Cameroun). *Journal of Tropicultura*, 22(1) : 11-18.
- [20]. Sène E.H. (1985). Arbres, production alimentaire et lutte contre la désertification. F.A.O., Unasylyva, 37(15): 19-26
- [21]. Koffi A.C., Koffi-Nevry R., Kouassi K.C. & Loukou Y.G. (2014). Activité des extraits de six variétés de piment (*Capsicum*) utilisés en Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 82: 7379-7388.

- [22]. Koffi-Nevry R., Kouassi C., Nanga Z., Koussémon M. & Loukou G. (2012). Antibacterial activity of two bell pepper extracts: *Capsicum annum* L. and *Capsicum frutescens*. *International Journal and Food Propieties*, 15: 961-971
- [23]. Gbesso G. H. F., Logbo J., Lougbégnon O. T. & Codjia J. T. C. (2017). Biodiversité et valeurs d'usages des plantes utilisées comme arômes traditionnels par les populations du plateau d'Allada au Sud Bénin. *Revue CAMES Série Pharmacie Médecine Traditionnelle Africaine*, 18(2) : 1-12.
- [24]. Koffi D. A. M., Koffié-Bikpo C. & Nassa D.A (2011). Réponses du pays rural Ebrié à la demande alimentaire de l'aire métropolitaine d'Abidjan » Sécurité alimentaire et approvisionnement des marchés urbains en produits vivriers en Côte d'Ivoire, Paris, l'Harmattan p 205-230.
- [25]. El-Ghoraba A.H., Javedb Q., Anjumb F.M., Hamedc S.F. & Shaabana H.A. (2013). Pakistani Bell Pepper (*Capsicum annum* L.): Chemical Compositions and its Antioxidant Activity. *International Journal of Food Properties*, 16(1):18-32.
- [26]. Rojita M. & Satpal S. B. (2011). Antioxidants and Their Charecterization. *Journal of Pharmacy Research* ,4 (8) :2744-2746.
- [27]. Hervert-Hernandez D., Sayago-Ayerdi S. G. & Goni I. (2010). Bioactive compounds of four hot pepper varieties (*Capsicum annum* L.): antioxidant capacity and intestinal bioaccessibility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 3399-3406.

## Identification d'anthocyanes par HPLC-MS/MS, et détermination des teneurs en micronutriments et de l'activité antiradicalaire du fruit de *Hexalobus monopetalus*

Arrounan Noba<sup>1</sup>, Adama Hema<sup>1\*</sup>, Bazoin Sylvain Raoul Bazie<sup>4</sup>, Remy K. Bationo<sup>1,3</sup>, Moumouni Koala<sup>1,2</sup>, Constantin M. Dabiré<sup>1</sup>, Eloi Palé<sup>1</sup> Et Mouhoussine Nacro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire 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.

<sup>2</sup>Institut de Recherche en Sciences de la Santé, Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (IRSS/CNRST), 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

<sup>3</sup>CNRST/IRSAT/ Département Substances Naturelles, 03 BP 7047 Ouagadougou 03 Burkina Faso

<sup>4</sup>Laboratoire National de Santé Publique (LNSP), 09 BP 24 Ouagadougou 09 Burkina Faso

### Résumé

La consommation régulière de fruits et légumes joue un effet positif dans la diminution des risques de cancer, de maladies cardiaques, d'hypertension et d'accidents vasculaires cérébraux. Cela s'explique par la présence de substances phytochimiques et d'antioxydants dans ces fruits telles que les caroténoïdes et les composés phénoliques. Dans le cadre de la valorisation des espèces fruitières sauvages, le fruit de *Hexalobus monopetalus* de la forêt classée de Niangoloko a été étudié du point de vue de sa teneur en micronutriments (composé phénoliques, flavonoïdes et anthocyanes) et son activité antiradicalaire. Des structures d'anthocyanes du fruit étudié ont été identifiées par chromatographie liquide à haute performance couplée à un détecteur de masse à interface d'ionisation par pulvérisation (CLHP-ESI-MS/MS). La teneur en composés phénoliques de ce fruit est estimée à  $11650 \pm 3,10 \mu\text{g d'EAG/g}$  de fruit frais. La teneur en flavonoïdes totaux est de l'ordre de  $449.10^2 \pm 20,20 \mu\text{g d'EQ/g}$ . Par ailleurs, ce fruit contiendrait en moyenne  $360 \pm 17 \mu\text{g d'EC-3-G/g}$  de fruit frais. Par la méthode au DPPH et à l'ABTS, la teneur en antioxydant est estimée à  $1065 \pm 30 \mu\text{g d'ET/g}$  et  $2715 \pm 80 \mu\text{g d'ET/g}$ . Trois molécules anthocyaniques ont été identifiées à savoir la cyanidine 3-(p-coumaroyl) glucoside, la pélargonidine 3-glucoside et la pélargonidine 3-rutinoside. La présence de ces molécules justifierait l'activité antiradicalaire de ce fruit.

**Mots clés :** *Hexalobus monopetalus*, micronutriments, antiradicalaire, CLHP-ESI-MS/MS

### Identification of anthocyanins by HPLC-MS/MS, and determination of micronutrient contents and antiradical activity of *Hexalobus monopetalus* fruit.

#### Abstract

Regular consumption of fruits and vegetables has a positive effect in reducing the risk of cancer, heart disease, hypertension and stroke. This is due to the presence of phytochemicals and antioxidants in these fruits such as carotenoids and phenolic compounds. Within the framework of the valorization of wild fruit species, the fruit of *Hexalobus monopetalus* from the classified forest of Niangoloko was studied from the point of view of its content of micronutrients (phenolic compounds, flavonoids and anthocyanins) and its antiradical activity. Anthocyanin structures of the studied fruit were identified by high performance liquid chromatography coupled with a spray ionization interface mass detector (HPLC-ESI-MS/MS). The phenolic compound content of this fruit was estimated to be  $11650 \pm 3.10 \mu\text{g GAE/g}$  fresh fruit. The total flavonoid content is about  $449.10^2 \pm 20.20 \mu\text{g QE/g}$ . Moreover, this fruit would contain on average  $360 \pm 17 \mu\text{g EC-3-G/g}$  fresh fruit. By DPPH and ABTS method, the antioxidant content is estimated to be  $1065 \pm 30 \mu\text{g TE/g}$  and  $2715 \pm 80 \mu\text{g TE/g}$ . Three anthocyanin molecules were identified, namely cyanidin 3-(p coumaroyl) glucoside, pelargonidin 3-glucoside and pelargonidin 3-rutinoside. The presence of these molecules would justify the antiradical activity of this fruit.

**Keywords :** *Hexalobus monopetalus*, micronutrients, antiradical, HPLC-ESI-MS/MS

## 1. Introduction

Les fruits et leurs dérivés sont une source importante de nutriments et d'autres composés bioactifs aux potentialités multiformes [1]. En effet, ils sont riches en antioxydants qui contribuent à réduire l'incidence des maladies dégénératives [4,5]. Les antioxydants les plus abondants dans les fruits sont les polyphénols et la vitamine C, les vitamines A, B et E et les caroténoïdes sont présents dans une moindre mesure dans certains fruits.

Les composés phénoliques de façon générale ont une grande importance dans les propriétés nutritionnelles, organoleptiques et commerciales des fruits et de leurs produits dérivés. Parmi ces composés phénoliques, les flavonoïdes représentent la classe la plus importante et la plus représentée. Leurs propriétés biologiques sur la santé humaine ne sont plus à démontrer.

En particulier les anthocyanes sont à l'origine de divers effets biologiques [5]. Les anthocyanes représentent une classe de pigments végétaux présents dans de nombreux fruits tels que le raisin, le cassis, les cerises et les myrtilles. Elles possèdent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires. Ce sont également des composés qui présentent des propriétés protectrices de l'ADN et sont associés à des bienfaits pour la santé [9,10]. La consommation d'anthocyanes peut réduire les concentrations du cholestérol total (CT), des lipoprotéines de faible densité (LDL) et des triglycérides (TG) chez l'homme [11,12].

Les effets bioactifs majeurs des polyphénols en général et des anthocyanes en particulier ne sont plus à démontrer. Par conséquent, la découverte de nouvelles anthocyanes dans les matériels végétaux ne fera qu'augmenter les potentielles sources de ces antioxydants.

De façon générale, les données de la littérature ont fait cas de plusieurs travaux sur les différents organes de l'espèce *Hexalobus monopetalus* à l'exception des fruits. En effet, il existe peu de travaux réalisés sur le fruit de cette espèce en particulier sa composition en substances bioactives notamment les composés phénoliques en général mais particulièrement les anthocyanes, ainsi que son activité biologique telle que l'activité anti-radicalaire. L'objectif de ce travail est de réaliser une étude quantitative sur les micronutriments en générale et en particulier une étude qualitative des anthocyanes de ce fruit.

Par conséquent, nous avons étudié les profils de pigments anthocyaniques de ce fruit ainsi que les teneurs en composés phénoliques, flavonoïdes et en anthocyanes. À cet effet, les anthocyanes présentes dans ce fruit étudié ont été identifiées en utilisant la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) couplée à la spectrométrie de masse (MS). L'activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique acidifié (1% HCl) du fruit a été déterminée en utilisant la méthode basée sur le radical-cation ABTS<sup>+</sup>.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel végétal

Les fruits mûrs de l'espèce *Hexalobus monopetalus* ont été récoltés dans la forêt classée de Niangoloko. Une identification de l'espèce a été effectuée à l'université Joseph KI-ZERBO par Dr Paulin OUOBA. Les fruits ont été soigneusement lavés et conservés au congélateur.

Pour l'obtention des différents extraits, les fruits ont été légèrement broyer à l'aide d'un mortier en porcelaine. Le broyat obtenu a été utilisé pour les différentes extractions.

### 2.2. 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'extrait 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 jusqu'à la mesure des teneurs en anthocyanes totales.

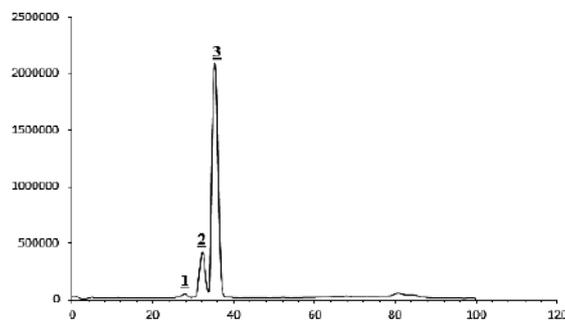
### 2.3. Analyse par HPLC-MS/MS des anthocyanes

✓ **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'éluat recueilli est concentré à sec sous pression réduite (40 mbar) à l'aide d'un évaporateur rotatif (Buchi Switzerland,

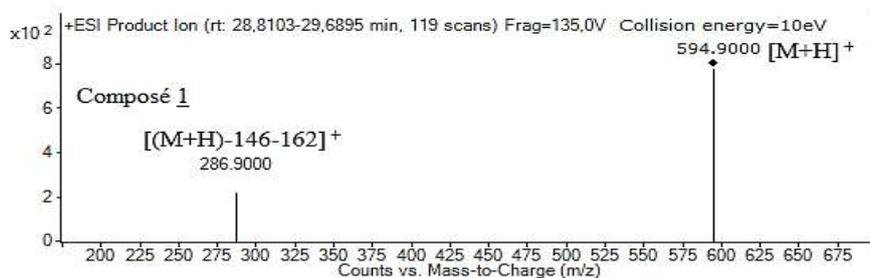
L'analyse MS-MS du composé **3** a indiqué un pic majoritaire à  $m/z$  270,9000 (figure 4) qui correspond à la masse calculée à l'aide de la formule  $C_{15}H_{11}O_5$ , un pic minoritaire à  $m/z$  432,9000 correspondant à la masse calculée à l'aide de la formule  $C_{21}H_{21}O_{10}$  et un pic moyen à  $m/z$  578,9000 correspondant à la masse calculée à l'aide de la formule  $C_{27}H_{31}O_{14}$ . L'ion fragment à  $m/z$  433 est obtenu par perte d'une unité de 146 u qui serait un rhamnoside ou l'acide coumarique. Par ailleurs, l'ion fragment à  $m/z$  271 est issu de la perte d'une masse de 162 u par l'ion fragment à  $m/z$  433. Cette perte correspondrait à un glucosyle ou à un galactosyle. Le composé **3** pourrait être la pélargonidine 3-(*p*-coumaroyl) glucoside, la pélargonidine 3-rutinoside, la pélargonidine 3-glucoside-5-rhamnoside. Cependant, les anthocyanes acylées substituées en C3 ne produisent en MS-MS qu'un seul fragment correspondant à l'aglycone dans leur fragmentation [18] ce qui n'est pas le cas de la MS-MS du composé **3**. La présence d'un ion fragment à  $m/z$  433 suggère que le composé **3** ne peut être la pélargonidine 3-(*p*-coumaroyl) glucoside. En outre, la chromatographie liquide haute performance en phase inverse a la caractéristique de prédire l'ordre d'élué des anthocyanes basé sur la polarité de celles-ci. En effet, les triglycosides sont élués avant les diglycosides qui, à leur tour sont élués avant les monoglycosides. Une exception à cette généralisation est que les 3-rutinosides ont un temps de rétention plus long que celui de leurs homologues 3-glucosides à cause du groupement méthyle apolaire du rhamnose [21]. Cette observation est faite entre le composé **2** ( $R_T = 32,3023$  min) qui serait un dérivé monoglucosylé de la pélargonidine et le composé **3** ( $R_T = 35,5933$  min) qui serait de la pélargonidine diglycosylée. Somme toute, le composé **3** serait la pélargonidine 3-rutinoside.

**Tableau 1 :** Identification des anthocyanes du fruit de *Hexalobus monopetalus*

Pics	Temps de rétention (min)	Composé	$[M]^+$	$[M-162/146]^+$	$[M-162-146]^+$	Molécules identifiées
1	27,972	1	595	-	287	Cyanidine 3-( <i>p</i> -coumaroyl) glucoside
2	32,3023	2	433	271	-	Pélargonidine 3-glucoside
3	35,5933	3	579	433	271	Pélargonidine 3-rutinoside



**Figure 1 :** Chromatogramme HPLC de l'extrait méthanolique



**Figure 2 :** Spectre de masse du composé **1**

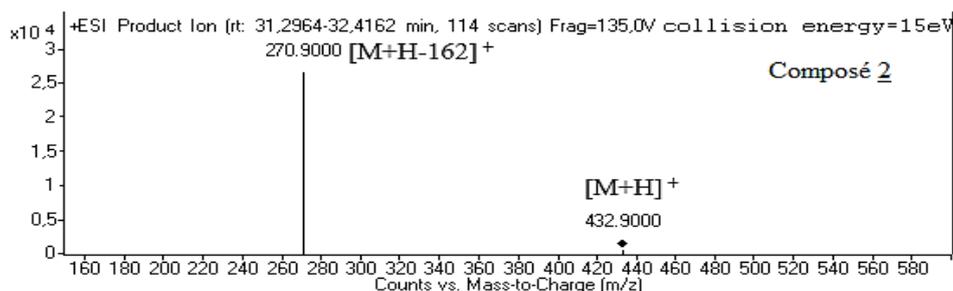


Figure 3 : Spectre de masse du composé 2

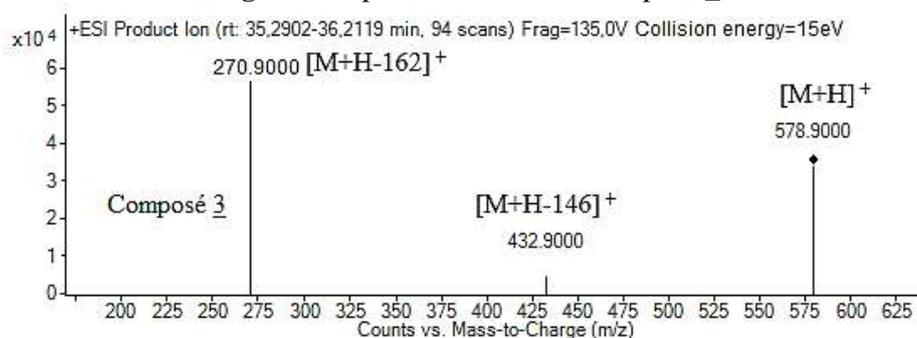


Figure 4 : Spectre de masse du composé 3

### 3.2. Teneur en composés phénoliques totaux

La méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu est une technique de quantification qui permet d'évaluer rapidement la teneur en composés phénoliques totaux dans les aliments [22]. Le tableau 2 présente les résultats issus de l'analyse quantitative. Ces résultats sont exprimés en  $\mu\text{g}$  d'équivalent d'acide gallique (EAG) par gammes de fruits frais à partir de l'équation de la courbe ( $y = 24,941x + 0,1225$  ;  $R^2 = 0,9995$ ).

De façon générale, les données de la littérature ont fait cas de plusieurs travaux sur les différents organes de cette espèce à l'exception des fruits. En effet, il existe peu de travaux réalisés sur les fruits en particulier leur composition en substances bioactives. Cependant, à l'issue de l'évaluation des teneurs en composés phénoliques, il ressort que le fruit de *Hexalobus monopetalus* contient en moyenne  $1165.10^3 \pm 310$   $\mu\text{g}$  d'EAG/100g de fruit frais (Tableau 2). La teneur en composés phénolique totaux de ce fruit étudié est supérieure à celles de certains fruits consommés au Burkina Faso tels que *Diospyros mespiliformis*, *Ficus sycomorus*, *Gardenia erubescens*, *Parkia biglobosa*, *Vitellaria paradoxa* [23]. Ainsi, les teneurs remarquables en composés phénoliques pourraient faire de ce fruit des sources d'antioxydants et d'éléments nutritifs pour les consommateurs.

### 3.3. Teneurs en flavonoïdes totaux (TFT)

Les flavonoïdes, qui constituent l'un des groupes de composés naturels les plus divers et les plus répandus, sont probablement les composés phénoliques naturels les plus importants [22]. Outre leur activité antioxydante, les flavonoïdes présentent une large gamme d'effets biochimiques et pharmacologiques, notamment des effets anti-inflammatoires, antiviraux, anti-allergènes, anti-cancérigènes, anti-âge [22]. Les TFT de notre extrait sont exprimées en  $\mu\text{g}$  d'Equivalents de Quercétine (mg EQ) par grammes de fruit frais à partir de l'équation de la courbe ( $y = 1,0409x + 0,3078$  ;  $R^2 = 0,9974$ ). Le tableau 3 présente les valeurs des TFT.

Le fruit de cette espèce contient une teneur non négligeable en composés phénoliques ( $1165.10^3 \pm 310$  d'EAG/g de fruit frais). Par ailleurs, à l'issue de l'évaluation des teneurs en flavonoïdes totaux, il ressort que ce fruit  $449.10^4 \pm 2020$   $\mu\text{g}$  d'EQ/100g. Comparativement à certains fruits sauvages consommés au Burkina Faso, tels que *Ximenia americana*, *Vitellaria paradoxa*, *Tamarindus indica*, *Saba senegalensis*, *Lannea microcarpa*, *Adansonia digitata*, les teneurs en flavonoïdes de ce fruit ne sont pas en reste [23].

Il a été signalé que les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier contribuent à l'activité antioxydante en inhibant l'oxydation des radicaux libres par un mécanisme de transfert d'électrons ou d'atomes d'hydrogène. Les régimes alimentaires à forte teneur en composés phénoliques tels que les flavonoïdes ont été associés à des taux de mortalité plus faibles dus aux maladies coronariennes [24]. Ainsi, la consommation régulière de fruits pourrait être bénéfique pour la santé humaine, en réduisant par exemple le risque d'affections cardiovasculaires et de cancers [25].

### 3.4. Teneur en anthocyanes totales (TAT)

A l'issue de la détermination de la teneur en anthocyanes totales, le fruit de cette espèce contient en moyenne  $36.10^3 \pm 17 \mu\text{g}$  d'équivalents de cyanidine-3-glucoside pour 100 gramme de matériel frais (Tableau 3). La teneur en anthocyanes est élevée dans ce fruit par rapport à celle du chou rouge, l'oignon rouge, la groseille rouge, la prune et à la fraise [20]. Par ailleurs, la teneur en anthocyanes est élevée dans ce fruit par rapport à certains fruits tempérés et tropicaux [32, 33]. Les anthocyanines sont caractérisées par leurs propriétés antioxydantes favorables à la santé et notamment contre le vieillissement cellulaire. Ainsi, cette teneur remarquable en anthocyanes ferait de ce fruit une source potentielle d'anthocyanes au profit des consommateurs.

### 3.5. Activités anti-radicalaires

Le radical-cation  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  mis en œuvre dans ce test n'est pas disponible dans le commerce et doit être généré par voie chimique. Par cette méthode, la concentration du radical-cation réduit par les extraits anthocyaniques totaux pendant 35 minutes a été mesurée. Ainsi, la réactivité est estimée par la concentration effective  $\text{CE}_{50}$  (ou l'inverse  $1/\text{CE}_{50}$ ) de l'extrait, qui correspond à une réduction de 50% de l'activité (de l'absorbance) du radical-cation  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  dans le mélange réactionnel. La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que sa  $\text{CE}_{50}$  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  $\text{T}_{\text{EC}_{50}}$  nécessaire pour atteindre l'équilibre à  $\text{CE}_{50}$ .

L'extrait anthocyanique étudié possède une  $\text{CE}_{50}$  de 4,24 mg/mL contre 0,024 et 0,034 mg/mL respectivement pour l'acide ascorbique et le Trolox et un temps  $\text{T}_{\text{EC}_{50}}$  de 21 minutes (réaction intermédiaire) (tableau 3). En effet, le temps  $\text{T}_{\text{EC}_{50}}$  permet de classer la réactivité d'un extrait. La réaction est rapide lorsque le  $\text{T}_{\text{EC}_{50}}$  est inférieur à 5 minutes, intermédiaire lorsque  $\text{T}_{\text{EC}_{50}}$  est compris entre 5 à 30 minutes et lente si le  $\text{T}_{\text{EC}_{50}}$  est supérieur à 30 minutes [16]. La faible activité antiradicalaire et réactivité de notre extrait pourraient s'expliquer d'une part par le mécanisme d'action de piégeage du radical-cation  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  et d'autre part par la structure des molécules.

Des études comparatives réalisées sur les aglycones des anthocyanes révèlent que les groupements hydroxyles et méthoxyles influencent l'activité antioxydante. En effet, les anthocyanes possédant un seul groupement OH en position 4' sur le cycle B telles que la pélagonidine, la malvidine et la péonidine ont une faible activité antioxydante par rapport à la cyanidine hydroxylée en positions 3' et 4' [28]. Bors et ses collaborateurs [29] ont montré que les hydroxyles en positions 3' et 4' du noyau B des anthocyanes sont très déterminants dans l'activité antiradicalaire. L'analyse par HPLC-ESI-MS/MS révèle que notre extrait contiendrait trois molécules anthocyaniques (cyanidine 3-(p-coumaroyl) glucoside, pélagonidine 3-glucoside, pélagonidine 3-rutinoside) dont la pélagonidine 3-rutinoside serait le composé majoritaire, ce qui expliquerait donc la faible activité de 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, il faut noter que 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 [29]. 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 [30]

**Tableau 2 :** Teneur en composés phénoliques, flavonoïdes totaux et anthocyanes totales

	TCP	TFT	TAT	TAO	
				ABTS	DPPH
Teneur en $\mu\text{g/g}$	$11650 \pm 3,10$	$449.10^2 \pm 20,20$	$360 \pm 17$	$2715 \pm 80$	$1065 \pm 30$

**Tableau 3 :** Activités antioxydantes de l'extrait anthocyanique total déterminées par la méthode à l'ABTS

Extraits totaux	Equation de la courbe	Coefficient de corrélation	Capacité antioxydante	
			$\text{IC}_{50}$ (mg/mL)	$\text{T}_{\text{EC}_{50}}$ (min)
Acide ascorbique	$0,0577x^{-1,809}$	0,9759	0,024	4
Trolox	$0,3659x^{-1,459}$	0,989	0,034	10
<i>H. monopetalus</i>	$70,227x^{-0,238}$	0,9901	4,24	21

### 3.6 Conclusion

Trois molécules anthocyaniques ont été identifiées dans ce fruit étudié à savoir la cyanidine 3-(p-coumaroyl) glucoside, la pélagonidine 3-glucoside et la pélagonidine 3-rutinoside. La pélagonidine 3-rutinoside serait le composé majoritaire du fruit de cette espèce. Par ailleurs, nous avons évalué l'activité antiradicalaire et suivi la cinétique de réduction du radical-cation ABTS<sup>•+</sup> de l'extrait riche en anthocyane du fruit de *H. monopetalus*. L'extrait a manifesté une activité antiradicalaire plus faible que celle des deux standards utilisés. Cela pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs tels que le mécanisme piégeage du radical-cation ABTS<sup>•+</sup> et d'autre part par la structure des molécules. A l'issue de l'évaluation de la teneur en micronutriment, il ressort que ce fruit est riche en composés bioactif (composés phénoliques, flavonoïdes et anthocyanes). Cette teneur en micronutriment est de loin comparable à celle de certains fruits sauvages consommés au Burkina Faso. Ainsi, malgré une activité antiradicalaire faible, nous pouvons dire que cette espèce peu exploitée, qui pousse à l'état sauvage et dont ses fruits sont peu consommés, représente un réservoir de substances bioactives naturelles très intéressantes pour la prévention et le traitement d'un grand nombre de pathologies.

### 4. Références bibliographiques

- [1] C. Kouebou *et al.*, "Biodiversité et valeur alimentaire des fruits au Cameroun : observations préliminaires dans le Département de la Bénoué (Région du Nord)," *J. Appl. Biosci.*, vol. 69, pp. 5523–5533, 2013, doi: 10.4314/jab.v69i0.95077.
- [2] M. H. Gordon, "Dietary antioxidants in disease prevention," *Nat. Prod. Rep.*, pp. 265–273, 1996.
- [3] B. Halliwell, "Antioxidants in human health and disease," *Annu. Rev. Nutr.*, vol. 16, no. 1, pp. 33–50, 1996.
- [4] D. Feskanich, R. G. Ziegler, D. S. Michaud, E. L. Giovannucci, F. E. Speizer, and W. C. Willett, "Giovannucci, E. L., Speizer, F. E., Willett, W. C., et al. Prospective study of fruit and vegetable consumption and risk of lung cancer among men and women," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 92, pp. 1812–1823, 2000.
- [5] G. Williamson, "The role of polyphenols in modern nutrition," *Nutr. Bull.*, vol. 42, no. 3, pp. 226–235, 2017, doi: 10.1111/nbu.12278.
- [6] M. Schantz, C. Mohn, M. Baum, and E. Richling, "Antioxidative efficiency of an anthocyanin rich bilberry extract in the human colon tumor cell lines Caco-2 and HT-29," *J. Berry Res.*, vol. 1, no. 1, pp. 25–33, 2010, doi: 10.3233/BR-2010-003.
- [7] T. Weisel *et al.*, "An anthocyanin/polyphenolic-rich fruit juice reduces oxidative DNA damage and increases glutathione level in healthy probands," *Biotechnol. J.*, vol. 1, no. 4, pp. 388–397, 2006, doi: 10.1002/biot.200600004.
- [8] M. Habanova *et al.*, "Intake of bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.) reduced risk factors for cardiovascular disease by inducing favorable changes in lipoprotein profiles," *Nutr. Res.*, vol. 36, no. 12, pp. 1415–1422, 2016, doi: 10.1016/j.nutres.2016.11.010.
- [9] T. Bakuradze *et al.*, "Antioxidative activity and health benefits of anthocyanin-rich fruit juice in healthy volunteers," *Free Radic. Res.*, vol. 53, no. S1, pp. 1045–1055, 2019, doi: 10.1080/10715762.2019.1618851.
- [10] R. M. Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventos, "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent," *Methods Enzym.*, vol. 299, pp. 152–178, 1999.
- [11] 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, pp. 555–559, 1999.
- [12] R. A. Khan, "Evaluation of flavonoids and diverse antioxidant activities of *Sonchus arvensis*," *Chem. Cent. J.*, vol. 6, pp. 1–7, 2012.
- [13] M. M. Giusti, M. F. Polit, H. Ayvaz, D. Tay, and I. Manrique, "Characterization and Quantitation of Anthocyanins and Other Phenolics in Native Andean Potatoes," *J. Agric. Food Chem.*, pp. 1–14, 2015, doi: 10.1021/jf500655n.
- [14] 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.
- [15] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-evans, "Antioxidant activity applying an improved abts radical," *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 26, pp. 1231–1237, 1999.
- [16] 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.
- [17] M. M. Giusti, L. E. Rodríguez-Saona, D. Griffin, and R. E. Wrolstad, "Electrospray and tandem mass spectroscopy as tools for anthocyanin characterization," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 47, no. 11, pp. 4657–4664, 1999, doi: 10.1021/jf981242+.
- [18] F. Lopes-Da-Silva, S. De Pascual-Teresa, J. Rivas-Gonzalo, and C. Santos-Buelga, "Identification of anthocyanin pigments in strawberry (cv Camarosa) by LC using DAD and ESI-MS detection," *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 214, no. 3, pp. 248–253, 2002, doi: 10.1007/s00217-001-0434-5.
- [19] X. Wu and R. L. Prior, "Identification and characterization of anthocyanins by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry in common foods in the United States: Vegetables, nuts, and grains," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 53, no. 8, pp. 3101–3113, 2005, doi: 10.1021/jf0478861.
- [20] M. Horbowicz, R. Kosson, A. Grzesiuk, and H. Debski, "Anthocyanins of fruit and vegetables-their occurrence , analysis and role in human nutrition," *Veg. Crop. Res. Bull.*, vol. 68, pp. 5–22, 2008, doi: 10.2478/v10032-008-0001-8.

- [21] E. Palé, "(1998). Contribution à l'étude des composés anthocyaniques des plantes : cas de Hibiscus sabdariffa, Lannea microcarpa, Vigna subterranea et Sorghum caudatum du Burkina Faso. Thèse de troisième Cycle, Université de Ouagadougou 115 pages."
- [22] J. Kubola, S. Siriamornpun, and N. Meeso, "Phytochemicals , vitamin C and sugar content of Thai wild fruits," *Food Chem.*, vol. 126, pp. 972–981, 2011, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.11.104.
- [23] 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.
- [24] R. J. Trappey III and A. G. Woodside, "Consumer Responses to Interactive Advertising Campaigns Coupling Short-Message-Service Direct Marketing and TV Commercials Consumer Responses to Interactive Advertising Campaigns Coupling Short-Message-Service Direct Marketing and TV Commercials," *J. Advert. Res.*, vol. 45, no. 04, pp. 382–401, 2005, doi: 10.1017/S0021849905050476.
- [25] 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.
- [26] J. Lako, V. C. Trenerry, M. Wahlqvist, N. Wattanapenpaiboon, S. Sotheeswaran, and R. Premier, "Phytochemical flavonols , carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit , vegetables and other readily available foods," *Food Chem.*, vol. 101, pp. 1727–1741, 2007, doi: 10.1016/j.foodchem.2006.01.031.
- [27] T. A. Hukkanen, S. S. Pölönen, O. S. Kärenlampi, and I. H. Kokko, "Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Sweet Rowanberries," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, no. 1, pp. 112–119, 2006.
- [28] H. Wang, G. Cao, and R. L. Prior, "Oxygen Radical Absorbing Capacity of Anthocyanins," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 45, no. 2, pp. 304–309, 1997.
- [29] 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.
- [30] 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>.

**Poster: Activité acaricide des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques acclimatées au Burkina Faso sur la tique *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***

21èmes Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM; 10 – 13 Août 2019 à Niamey - NIGER

**Activité acaricide des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques acclimatées au Burkina Faso sur la tique *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***



Hema M. D.<sup>1\*</sup>, Biguezoton A.<sup>2</sup>, Touré A.<sup>2</sup>, Sawadogo I.<sup>1</sup>, Konaté A.<sup>3</sup>, Koné M.<sup>1</sup>, Zoungrana S.<sup>2</sup>, Nebié C.H.R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Département Substances Naturelles, IRSAT/ CNRS, 03 BP 7047 Ouagadougou 03 e-mail: hema.mdelphine@yahoo.fr  
<sup>2</sup> Centre International de Recherche-Développement sur l'Élevage en zone Subhumide (CIRDES), 01 B.P. 454, Bobo-Dioulassa, Burkina Faso  
<sup>3</sup> Institut de l'Environnement et de Recherche Agricole, Station de Kamboina, Laboratoire de Biologie et santé animale, 01 BP 1 476 Ouagadougou 01

**Introduction**

*Rhipicephalus (Boophilus) microplus* est une tique, introduite au Burkina Faso et dans la sous-région Ouest-africaine à travers la transhumance. Elle infeste principalement les bovins et cause des maladies comme la babésiose et l'anaplasmose. Elle constitue un danger pour la santé et la reproduction animale. Son contrôle repose essentiellement sur l'utilisation d'acaricides de synthèse. Malheureusement les tiques ont développées une résistance face à ces produits. L'objectif de cette étude est d'étudier les propriétés acaricides des plantes aromatiques sur la tique adulte de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

**Matériel**

- Tiques adultes de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*,
- Parties aériennes de *Ageratum conyzoides*,
- Parties aériennes de *Cymbopogon giganteus* et
- Parties aériennes de *Lippia multiflora* ont servi pour cette étude.



**Méthodes**

**Extraction des huiles essentielles**

Les huiles sont obtenues par hydro-distillation de la matière végétale (3Kg) pendant trois (03) heures à l'aide d'un alambic en inox.

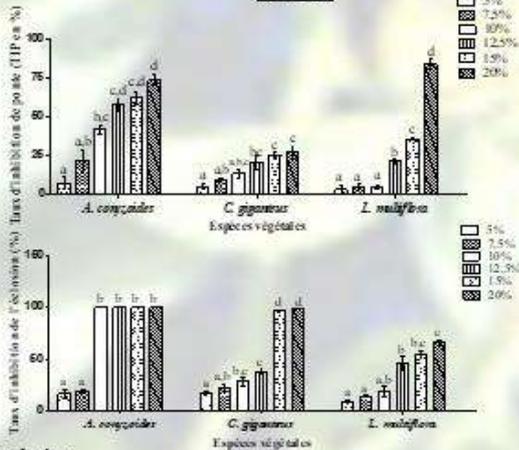
**Culture des tiques**

Les tiques *R. (B.) microplus* collectées sont mises en ponte. Les œufs sont récoltés et mis en éclosion afin d'obtenir des larves. Ces larves sont utilisées pour infester les bovins. Au bout de 20 jours minimum, les larves deviennent des adultes et sont nettement visibles sur les animaux. Ces adultes seront utilisés pour les tests d'efficacité.

**Activité biologique**

Le test d'immersion des tiques adultes a été utilisé selon le protocole décrit par Politi *et al.*, (2012). L'efficacité des différentes huiles essentielles a été évaluée par le calcul du taux de mortalité, du taux d'inhibition de ponte et du taux d'inhibition de l'éclosion des œufs. Le calcul des différents paramètres a été fait selon les formules proposées par Drummond *et al.*, (1973).

**Résultats**



**Discussion**

Les huiles essentielles ont été efficaces sur les tiques adultes de *R. (B.) microplus*. Celle de *L. multiflora* a donné le plus fort taux de mortalité (47%) suivi de *A. conyzoides* (30%) à 20% de concentration. Les huiles essentielles ont inhibé la ponte jusqu'à 84% avec *A. conyzoides* et l'éclosion des œufs jusqu'à 100% avec *A. conyzoides* et *L. multiflora*. Cette efficacité observée pourrait s'expliquer par la présence des composés majoritaires de ses huiles (*A. conyzoides* : précocène et  $\beta$ -caryophyllène ; *L. multiflora* : p-cymène, thymol et  $\beta$ -caryophyllène) ou l'action combinée de ces derniers avec d'autres composés minoritaires.

**Conclusion**

Les huiles essentielles de *A. conyzoides* et de *L. multiflora* ont donné les meilleurs taux de mortalité et d'inhibition de la ponte. Celles de *A. conyzoides* et de *C. giganteus* ont donné les meilleures réductions du taux d'éclosion. L'huile essentielle de *A. conyzoides* s'est montrée particulièrement très active sur les tiques adultes. Les huiles essentielles pourraient être une alternative prometteuse pour la lutte contre la tique *R. (B.) microplus*.

Remerciement: Fond Compétitif National (FCN) - Burkina Faso

**References**

Hema M.D., Biguezoton A., Touré A., Konaté A., Koné M., Zoungrana S., Nebié C.H.R. (2018). Activité acaricide des extraits hexaniques et des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques acclimatées au Burkina Faso, sur la tique *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Science et technique, Sciences naturelles et appliquées Spécial hors-série n° 4* : 353- 361.  
 Drummond R.O., Ernst S.E., Trevino J.L., Gladney W.J. and Graham O.H., (1973). *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: Laboratory Tests of Insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 66 (1), pp.130-133.  
 Politi F.A.S., Glyn M. F., Arsújo A. M., Bruno R.S., Maria I.C.M., Matias P.J.S., Gervásio H. B., Lourdes C.D.S., Wagner V. and Rosemeire C.L.R.P., (2012). Acaricidal activity of ethanolic extract from aerial parts of *Taraxacum officinale* L. (Asteraceae) against larvae and engorged adult females of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). *Parasites & Vectors*, 5, pp.293-305.

## Poster: Efficacité des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du Burkina Faso sur les larves de la tique *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

21èmes Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM; 10 – 13 Août 2019 à Niamey - NIGER



### Efficacité des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du Burkina Faso sur les larves de la tique *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Hema M. D.<sup>1\*</sup>, Biguezoton A.<sup>2</sup>, Sawadogo I.<sup>1</sup>, Coulibaly A.<sup>1</sup>, Konaté A.<sup>3</sup>, Koné M.<sup>1</sup>, Zoungrana S.<sup>2</sup>, Nebié C.H.R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies, Département Substances Naturelles, 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso

<sup>2</sup>Centre International de Recherche Développement sur l'élevage en zone Subhumide, Service Acarologie, 01 BP 451 Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

<sup>3</sup>Institut de l'Environnement et de Recherche Agricole, Station de Kamboinsin, Laboratoire de Biologie et santé animale, 01 BP 1 476 Ouagadougou 01

#### Introduction

L'infestation du bétail par la tique *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* est fréquente au Burkina Faso. Les tiques constituent l'un des principaux dangers qui affectent la santé et la reproduction des animaux d'élevage à cause de leur effet pathogène direct. Elles induisent également des pertes économiques importantes. Pour faire face aux infestations des tiques, les éleveurs font recours aux acaricides de synthèse. Cependant, l'utilisation intensive de ces produits a développé des résistances chez les tiques, d'où la nécessité de développer de nouvelles méthodes de lutte avec les plantes à propriétés acaricides.

#### Objectif

L'objectif de ce travail est d'évaluer les propriétés acaricides des huiles essentielles sur la tique *R. (B.) microplus* des bovins afin de trouver un potentiel bio-acaricide au profit des éleveurs de bétail.

#### Matériel

Le matériel végétal est constitué de *Cymbopogon giganteus* Chiov et de *Lippia multiflora* Mold. Le matériel animal est constitué des bœufs, des tiques adultes et des larves *R. (B.) microplus*.

##### Matériel végétal



*Cymbopogon giganteus* Chiov.



*Lippia multiflora* Mold.

##### Matériel animal



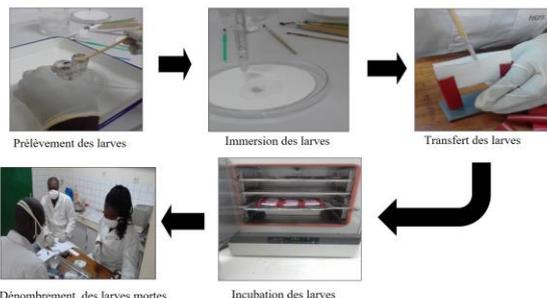
Tiques adultes de *R. (B.) microplus*



larves de *R. (B.) microplus*

#### Méthodologie

Le protocole employé est celui de Shaw (1996) et modifié par Politi *et al.* (2012).



L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du logiciel GraphPad Prism 5. Les concentrations létales LC50, LC90 et LC99 ont été calculées selon le modèle Probit. Une ANOVA à un facteur a été effectuée et toutes les moyennes ont été comparées par le test de Tukey HSD à 95 % de niveau de confiance lorsque l'effet du facteur était significatif.

#### Résultats et discussion

Les taux de mortalité larvaire de *R. (B.) microplus* en fonction des différentes concentrations en huile essentielle ont été représentés ci-dessous.

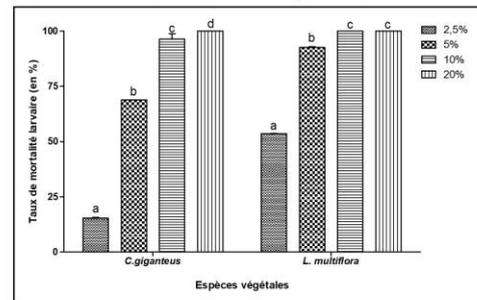


Figure 1: Taux de mortalité larvaires en fonction des concentrations en huile essentielle

- Le taux de mortalité larvaire des huiles essentielles à différentes concentrations a varié de 15,37% à 100%.
- L. multiflora* a causé 100% de mortalité à la concentration 10% et celle de *C. giganteus* à la concentration 20%.
- Les valeurs des doses létales à 50%, 90% et 99% de mortalité larvaire pour les huiles essentielles sont respectivement de 2,39%, 4,6% et 7,85% pour *L. multiflora* et de 4,19%, 8,49% et 15,1% pour *C. giganteus*.
- L'huile essentielle de *L. multiflora* possède une activité plus prononcée sur les larves *R. (B.) microplus* par rapport à celle de *C. giganteus*.
- L'activité larvicide observée au niveau des deux huiles essentielles pourrait être dû à la présence majoritaire des monoterpènes (Lage *et al.*, 2013; Dedomé, 2017).
- Celle de *L. multiflora* serait probablement liée au p-cymène ou  $\beta$ -caryophyllène ou  $\gamma$ -terpinène ou thymol et celle de *C. giganteus* au limonène ou cis-p-mentha-1(7), 8-diène-2-ol ou trans-p-mentha-1(7), 8-diène-2-ol (Somia *et al.*, 2019).

#### Conclusion

Ces huiles essentielles ont montré un potentiel larvicide important sur la tique *R. (B.) microplus*. Cette propriété acaricide est un point de départ vers le développement de formulations d'acaricides naturels à base d'huile essentielle pour lutter efficacement contre les stades larvaires des tiques de bétail.

#### Références

- Dedomé S.L.O. "Composition chimique et activité acaricide des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques acclimatées au Bénin". Thèse de Doctorat Unique, option Chimie organique et Chimie des substances naturelles. Université d'Abomey-Calavi, (2017) 114 pages.
- Lage T.C.A., Montanari R.M., Fernandes S.A., De Oliveira M.C.M., De Oliveira S.S.T., Zeringota V., Calmon F., Da Silva M.R., Daemson E. Activity of essential oil of *Lippia triplinervis* Gardner (Verbenaceae) on *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitology Research*, (2013). 112 (2):863-869.
- Politi F.A.S., Figueira G.M., Mendez A.A., Sampieri B.R., Mathias M.I.C., Szabó M.P.J., Bechara G.H., Dos Santos L.C., Vilegas W. and Pietro R.C.L.R. Acaricidal activity of ethanolic extract from aerial parts of *Tagetes patula* L. (Asteraceae) against larvae and engorged adult females of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). *Parasit. Vectors*, (2012) vol. 5, pp. 295-305.

Remerciement: Fond Compétitif National (FCN) - Burkina Faso

## **Groupe Thématique 3 (ReSAOA) : Sciences agroalimentaires**

## **Production des jujubes et tamarins au Mali : ravageurs et maladies affectant la qualité des fruits de *Ziziphus mauritiana* (L.) et *Tamarindus indica* (L.) de la pépinière génétique de Samanko.**

Karim Dagno<sup>1</sup>, Bama Sékou Dao<sup>1,2</sup>, Youssouf Faya Keita<sup>2</sup>, Cathérine Ky-Dembélé<sup>3</sup>

### **Résumé**

Face à la demande grandissante de jujubes et tamarin, faisant l'objet d'un commerce lucratif chez les femmes et la mise à disposition des plants sains devient une nécessité [15]. La présente étude a porté sur l'identification des insectes et agents pathogènes qui affectent la qualité des fruits de *Ziziphus mauritiana* (L.) et *Tamarindus indica* (L.) à l'unité des ressources génétiques de Samanko au Mali. L'échantillonnage des fruits symptomatiques s'est déroulé d'août à décembre 2018. Cinq fruits malades et 5 fruits asymptomatiques ont été récoltés. Les fruits malades ont été mis en incubation dans les pots avec du sable humide et sur milieu PDA. Les résultats obtenus ont montré chez *Ziziphus*, 70 ravageurs regroupés sous 3 ordres avec 5 espèces dont le plus dominant a été *Carpomya incompleta* (61,53%) [19] tandis que 26 ravageurs ont été observés chez le *Tamarindus* avec 2 ordres et 2 espèces dont *Helicoverpa armigera* comme dominant (69,23%). Quant aux maladies, 7 genres de pathogènes regroupant 270 espèces ont été observés chez *Ziziphus* ; 4 genres renfermant 136 espèces ont été identifiés chez *Tamarindus* [21]. Cette étude permettra de développer un programme de gestion efficace des bioagresseurs du jujubier et du tamarinier pour garantir le revenu des vergers au Mali.

**Mots clés :** Jujubier, tamarinier, ravageurs, maladies, Mali.

## **Production of jujubes and tamarins in Mali: pests and diseases affecting the fruits quality of *Ziziphus mauritiana* (L.) and *Tamarindus indica* (L.) at the genetic nursery of Samanko.**

### **Abstract**

Faced with the growing demand for jujube and tamarind, subject to a lucrative trade in women and the provision of healthy plants becomes a necessity [15]. This study focused on the identification of insects and pathogens that affect fruits quality of *Ziziphus mauritiana* (L.) and *Tamarindus indica* (L.) at the Samanko Genetic Resources Unit in Mali. Sampling of symptomatic fruits took place from August to December 2018. Five diseased fruits and 5 asymptomatic fruits were collected. The diseased fruits were incubated in the pots with moist sand and on PDA medium. The results obtained showed in *Ziziphus*, 70 pests grouped under 3 orders with 5 species, the most dominant of which was *Carpomya incompleta* (61.53%) [19] while 26 pests were observed in *Tamarindus* with 2 orders and 2 species including *Helicoverpa armigera* as dominant (69.23%). As for diseases, 7 genera of pathogens grouping together 270 species were observed in *Ziziphus*; 4 genera containing 136 species have been identified in *Tamarindus* [21]. This study will make it possible to develop an effective management program for jujube and tamarind pests to guarantee the income of small farmers in Mali.

**Keywords:** Jujube, tamarind, pests, diseases, Mali.

### **1. INTRODUCTION**

Depuis les années 1974, les sécheresses récurrentes ont plongé certains pays africains surtout sahéliens dans une incertitude de campagnes agricoles. Or, l'alimentation des ménages dans cette région est essentiellement basée sur les produits agricoles (mil, maïs, sorgho, haricot) et les produits forestiers non ligneux (Fruits et légumes) collectées dans les champs et autres formations naturelles boisées [1].

Le jujubier (*Ziziphus mauritiana* L.) est une espèce fruitière forestière locale au Sahel. Il est rencontré à l'état sauvage dans la zone soudano-sahélienne du Burkina Faso, Cameroun, Gambie, Guinée, Mali, Niger et du Sénégal. L'espèce est également présente en Asie du Sud tropicale (Inde, Pakistan, Bangladesh, Sri Lanka) [2].

Parmi les maladies les plus répandues et qui occasionnent des dégâts économiques on note la cercosporiose (*Creosota jujuba*), Oïdium (du genre *Oiliopsis*) [3].

Le tamarinier (*Tamarindus indica* L.) est originaire des régions tropicales sèches d'Afrique de l'Est où il pousse à l'état sauvage. [4] a rapporté que l'arbre a été répandue par les arabes en Inde.

Ce constat est encore fait sur les fruits des accessions du jujubier et du tamarinier dans la pépinière des banques de gène de l'ICRAF-Samanko au Mali. C'est dans ce contexte donc que s'inscrit le présent travail. De nombreuses études menées sur ces variétés en Asie et en Inde ont porté sur les caractères végétatifs, la biologie de la reproduction, les caractéristiques physicochimiques des fruits l'amélioration génétique [5]. En Afrique, quelques études ont été faites sur la sylviculture en pépinière les caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques en comparaison avec la variété locale et sur la morphologie florale [6] et sur l'effet de la fertilisation sur la production de fruits [7].

Toutefois ces études encore sommaires ne permettent pas de connaître fondamentalement l'écologie de ces variétés dans le contexte du Sahel. On note également que peu d'informations sur l'entomofaune et maladies de ces variétés qui pourtant, peut être le premier facteur responsable de la dépréciation des fruits commercialisés au Mali. En effet, [8] a rapporté que la floraison est le siège d'une forte interaction entre les insectes et les maladies.

La présente étude s'est déroulée pendant 2 campagnes hivernales d'août à décembre. L'objectif a été la réalisation d'un inventaire des insectes et les agents pathogènes affectant les fruits de deux arbres (*Z. mauritiana* et *T. indica*) dans les collections de l'ICRAF- Samanko, Mali.

## **2. MATERIEL ET METHODES**

### **2.1. Matériel biologique**

Il est constitué par soixante-six (66) accessions de jujubier (*Ziziphus mauritiana*), et quarante (40) accessions de tamarinier (*Tamarindus indica*). Ils proviennent de la pépinière des banques de gènes de l'ICRAF- Samanko au Mali.

### **2.2. Matériel de collecte**

Le matériel utilisé sur le terrain comprend : blocs notes, crayon; sachets plastiques, appareil photo numérique, étiquettes et glacière.

### **2.3. Matériel de laboratoire :**

Au laboratoire, plusieurs matériels et outils ont été utilisés. Ils comprennent : milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar), eau distillée, tube Erlen Meyer, boîtes de Pétri, loupes binoculaires de poche et de table, alcool, une balance à précision, incubateur, microscope optique, lames et lamelles, pots d'élevage, sable fin, tissu voile et bracelets élastiques.

### **2.4. Echantillonnage des fruits**

Les fruits ont été collectés sur trois arbres par espèce choisis de façon aléatoire. Sur chaque arbre les collections ont été faites de la manière suivante :

- 5 fruits présentant des signes distinctifs externes d'attaque d'insectes et / ou d'infection d'agent pathogène, et 5 fruits sans symptômes.
- Les fruits avec les mêmes symptômes (c'est-à-dire les dommages causés par les insectes, l'infection par un agent pathogène, et les fruits sans symptômes) ont été mis ensemble dans des sacs étiquetés donnant ainsi 3 sacs par arbre.
- Les étiquettes des sacs comprennent la date, l'emplacement, le cultivar (ou l'accession) et le nom du collecteur.
- Les arbres échantillonnés ont été marqués tandis que les fruits collectés ont placés dans des sacs en tissu de coton ont été disposés dans une glacière et transportés au laboratoire, puis conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à ce qu'ils soient traités.

### **2.5. Diagnostique des ravageurs et maladies**

Au laboratoire, les échantillons de fruits prélevés sur les arbres sont soumis au processus de diagnostic suivant :

- Les fruits sont minutieusement inspectés et décrits avant de prendre des photos des symptômes externes ;
- Ensuite, les fruits inspectés avec ou sans symptômes sont disséqués et les dommages internes sont bien décrits avec prise des images internes.

Les supports techniques qui ont aidé à l'identification des différents bioagresseurs sont les suivants entre autres:

- Clés d'identification des insectes décrites par [9] et [10].
- Clés d'identification des champignons décrites par [11] et [12].

Sites Web spécialisés en diagnostique et identification des bioagresseurs.

- Lors de la dissection, les larves présentes sont prélevées, leur morphologie est décrite avec une prise de photo.
- Les larves extraites des fruits disséqués sont placées dans des flacons étiquetés remplis d'éthanol dilué à 70% pour éviter la décomposition.
- Les insectes émergés sont décrits puis conservés dans des flacons étiquetés contenant de l'éthanol dilué à 70%.

#### **2.6. Mise en élevage des fruits avec attaque d'insectes**

Les fruits sont déposés individuellement dans des pots d'élevage contenant du sable fin légèrement humidifié, puis fermés par un tissu voile maintenu par un bracelet élastique. Le sable est régulièrement humidifié et observé pour récupérer les insectes émergés et placés dans la solution de conservation.

#### **2.7. Préparation du milieu de culture**

Le milieu de culture, Potato Dextrose Agar (PDA, Merck, Darmstadt, Germany) a été utilisé lors de cette étude diagnostique. En effet, c'est un milieu favorable à la croissance des microorganismes en générale et celle fongique en particulier [13]. La dose de préparation est conforme à celle du fabricant (39g/l-1). La préparation a été faite suivant le protocole commun en vigueur au laboratoire de phytopathologie de Sotuba [14].

#### **2.8. Isolement des champignons**

Des parties de tissus nécrosés sur les fruits portant le front d'avancement des symptômes pour les fruits symptomatiques, et des parties des fruits asymptomatiques sont découpées et trempées pendant 15 mn dans l'hypochlorure à 25%;

Elles sont ensuite rincées à l'eau distillée stérilisée;

Les boîtesensemencées sont paraffinées et mises en incubation dans l'incubateur à la température  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  pour que l'agent pathogène émerge sur le milieu PDA.

#### **2.9. Identification des champignons**

Les colonies et les fructifications des champignons obtenus après incubation des boîtes sont prélevées à l'aide d'une aiguille puis montées entre lame et lamelle pour les observations au microscope optique ; l'identification est faite en se basant sur des caractéristiques des champignons phytopathogènes et en faisant recours à des dessins.

#### **2.10. Identification des insectes**

Les insectes sont identifiés en les observant avec la loupe binoculaire et en faisant recours aux clés d'identification des insectes. Et ceux dont on n'a pas pu identifier sont maintenus dans l'alcool jusqu'à ce qu'on puisse les identifier.

#### **2.11. Analyse des données**

Toutes les données d'identification ont été saisies à l'aide du programme Excel. Le calcul des moyennes et des écarts types qui ont servi à construire les différents histogrammes, a été fait à l'aide du logiciel « R » version 2015 tandis que ces histogrammes ont été faits à l'aide du programme Excel. Les résultats sont soumis à une analyse de variance (ANOVA) en utilisant le logiciel Système d'Analyse Statistique (SAS) version 20, suivie d'une séparation par le test de Tukey au seuil de 5%.

### **3. RESULTATS ET DISCUSSIONS**

#### **3.1. Résultats**

La figure 1 illustre la fréquence des insectes émergés des fruits piqués par les insectes, dont l'espèce la plus fréquemment observée *Carpomya incompleta* avec 61.53%, et la fréquence minimale de 1.28% pour *Caryedon gonagra*. L'évolution des populations d'insectes ayant émergés au cours de la période de production des fruits est illustrée par la figure 2. Elle montre la présence de *C. incompleta* pendant une longue durée de fructification jusque fin novembre tandis que l'*Agrotis* sp. et *C. gonagra* apparaissent de mi-octobre à mi-décembre. Par ailleurs, *Bactrocera bhutaniae* a eu une pic de présence en novembre et celui de *B. nigrifacia* en août ; *Bactrocera* sp. s'étale de mi-août à fin novembre. Les Charançons font leur apparition de fin novembre à mi-décembre.

Chez *Tamarindus indica*, la figure 3 illustre la fréquence des insectes émergés. La forte présence de ces ravageurs dans la pépinière a été observée chez *Helicoverpa armigera* (69,23%) et celle minimum chez *Bactridium* sp. (7,4%).

L'espèce *H. armigera* a été présente pendant toute la période d'étude dans la pépinière de mi-août à mi-novembre. Cette même période correspond également à la période de pullulation de *C. gonagra* et de *Bactridium* sp. chez *T. indica* (Figure 4).

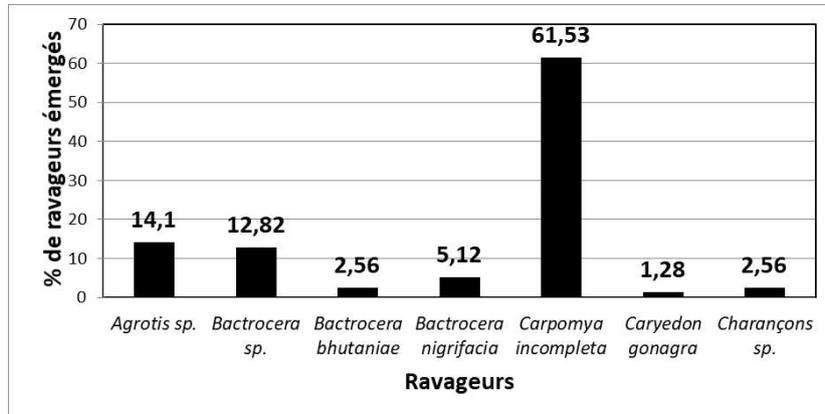


Figure 1: Fréquence des ravageurs émergés des fruits infestés des cultivars de *Ziziphus mauritiana* dans la pépinière de l'ICRAF-Samanko, Mali.

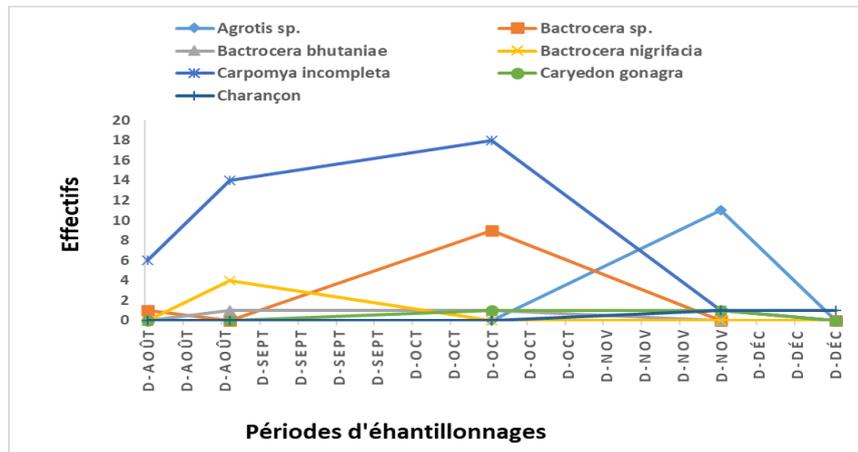


Figure 2: Fluctuation des populations des ravageurs dans la pépinière des cultivars de *Ziziphus mauritiana* dans la pépinière de l'ICRAF-Samanko, Mali.

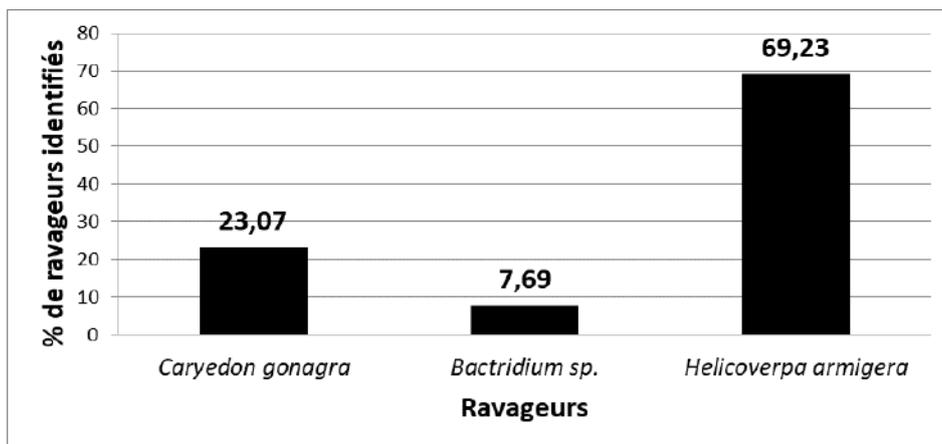


Figure 3: Fréquence des ravageurs identifiés chez les cultivars de *Tamarindus indica* dans la pépinière de l'ICRAF-Samanko, Mali.

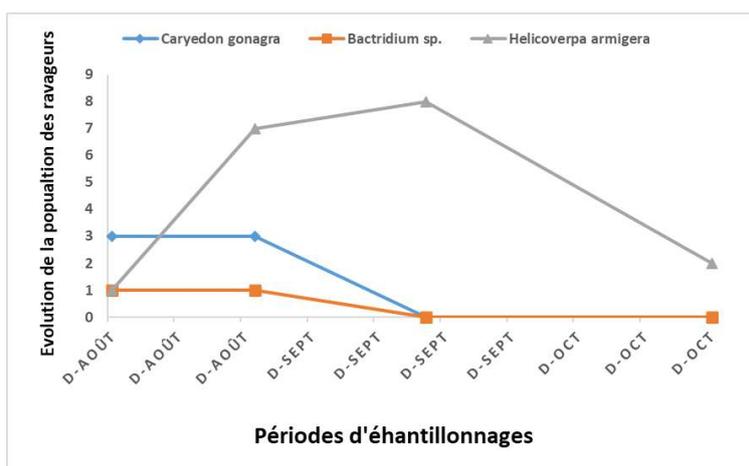


Figure 4: Evolution de la populations au cours de l'année des ravageurs de *Tamarindus indica* dans la pépinière de l'ICRAF-Samanko, Mali.

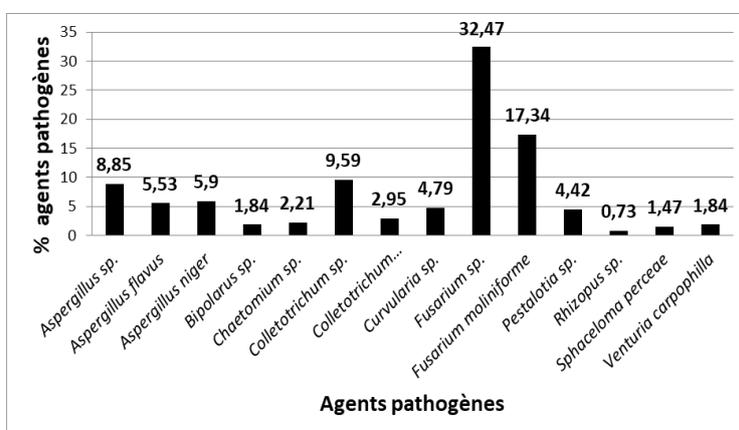


Figure 5: Pourcentage d'agents pathogènes identifiés chez les cultivars de *Ziziphus mauritiana* dans la pépinière de l'ICRAF-Samanko, Mali.

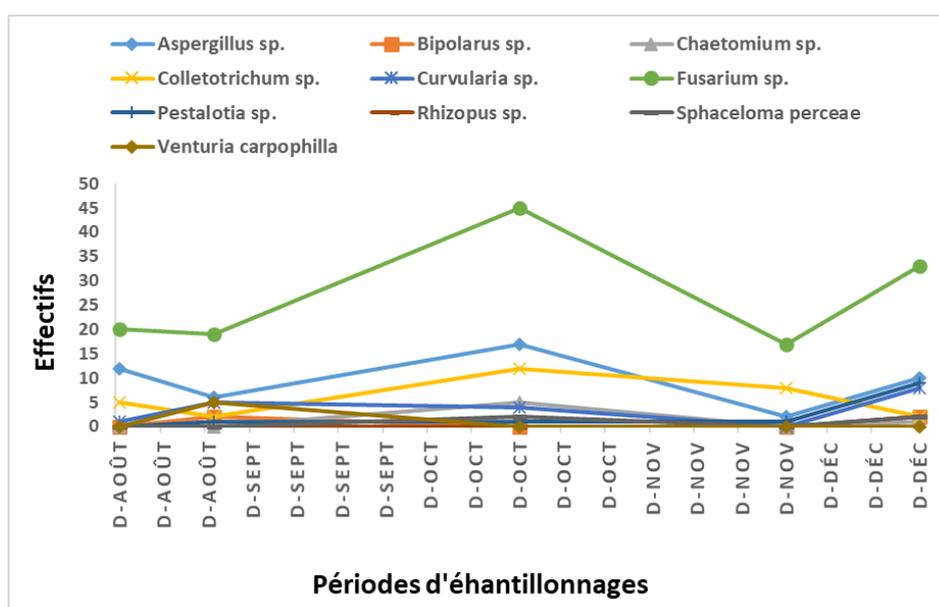


Figure 6: Evolution de la populations au cours de l'année des pathogènes chez les cultivars de *Ziziphus mauritiana* dans la pépinière de l'ICRAF-Samanko, Mali.

Les genres fongiques observés sur les fruits des cultivars de *Tamarindus indica* dont le plus dominant a été *Fusarium* sp. (39,25%) suivi de *Colletotrichum* sp. et *Curvularia* sp. avec 2,96% (Figure 7).

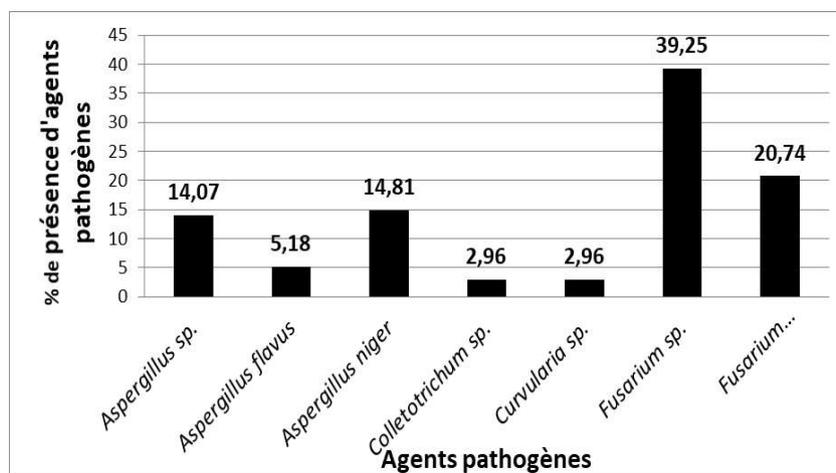


Figure 7: Pourcentage d'agents pathogènes identifiés chez les cultivars de *Tamarindus indica* dans la pépinière de l'ICRAF-Samanko, Mali.

La figure 8 illustre l'évolution des agents pathogènes au cours de l'année dans la pépinière des cultivars de *T. indica*. Les genres *Aspergillus* et *Fusarium* ont été les plus fréquemment observés.

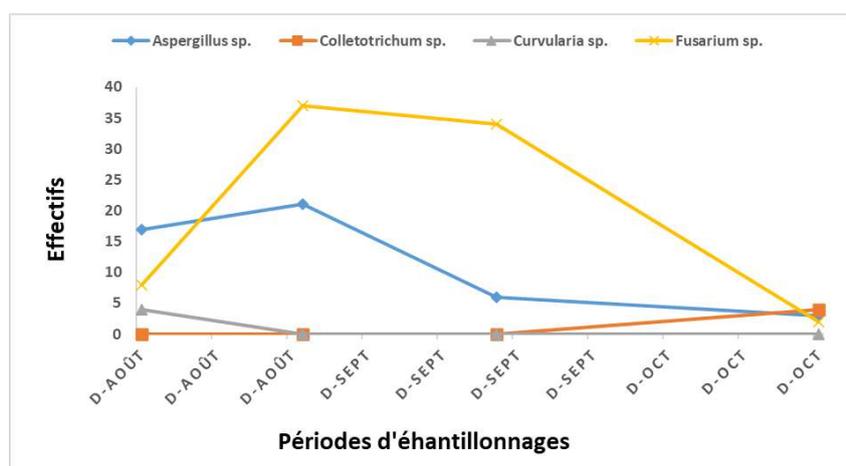


Figure 8: Evolution de la populations au cours de l'année des pathogènes chez les cultivars de *Tamarindus indica* dans la pépinière de l'ICRAF-Samanko, Mali.

Les résultats d'analyse ANOVA ont montrés une différence significative entre les moyennes des ravageurs en fonction du taux attaque sur non seulement un même arbre, mais aussi sur les deux. Ce qui explique le principe de monophagie qui se traduit par l'utilisation par un insecte une seule espèce de plante comme hôte. De même l'analyse statistique révèle qu'il y a une différence significative sur les moyennes du niveau d'attaque des agents pathogènes en fonction des deux arbres. Cela peut être expliqué par le développement plus rapide de certains agents pathogènes que d'autres ; ce qui fait que certains sont plus fréquents et d'autres sont rares.

### 3.2. Discussion

L'inventaire des insectes et des agents pathogènes qui affectent les fruits de *Ziziphus mauritiana* et de *Tamarindus indica* ont été mis en évidence au cours de cette étude à l'ICRAF/ Samako. Parmi eux les mouches des fruits avec *Carpomya incompleta* et les genres *Bactrocera* sont les plus fréquentes. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par [15] puis par [16] au Burkina Faso. [17] ainsi que [18] ont trouvé les mêmes résultats en Côte d'Ivoire. L'espèce la plus dominante dans la collection de l'ICRAF

Samanko a été *C. imcompleta* qui a causé la plupart des dégâts à l'instar de ceux rapporté au Burkina Faso [19]. Nous pensons que cette dominance s'explique par la présence de son hôte *Z. mauritiana* ; les travaux de [15] confirme nos résultats. Ainsi, on pense que cette nouvelle espèce est inféodée au genre *Ziziphus*. De nombreux auteurs l'ont décrite comme une espèce monophage dont l'hôte spécifique est *Z. mauritiana* [20].

L'espèce *H. armigera*, espèce dominante sur les cultivars de *T. indica* au Mali n'avait pas été jusque-là rapporté sur cette culture à travers le monde. [21] rapportent que les ravageurs qui causent plus de dégâts sur le Tamarinier sont les dendroctones du bruche dentelé ; donc sa forte présence par rapport aux bruches s'explique par le fait que les nouveaux ravageurs sont plus compétitifs que les premiers ce qui oblige ceux-ci à choisir d'autres plantes hôtes. Il s'agirait alors d'une stratégie d'exploitation des ressources présentes dans l'environnement dont la fonction adaptative est de diminuer la compétition. [22] ont appelé le déplacement des ravageurs autochtones de leur gamme de plantes hôtes et de leur aire d'extension géographique. Ceci a été observé par la présence de *C. gonagra* non seulement chez *T. indica* mais aussi chez *Z. mauritiana*. [15] ont fait la même observation à l'Île de la Réunion sur les agrumes où l'espèce autochtone *Ceratitis catoirii* a été déplacée par une succession d'arrivage de *C. capitata*, *C. rosa* et *B. zonata* devenues dominantes sur les plantes hôtes majeures précédemment colonisées par les deux premières espèces de *Ceratitis*.

Quant aux maladies, il est probable que la plupart des pourritures de fruits (Fusariose et Aspergillose) sont associées des piqûres provoquées par les mouches de fruits. Sous l'effet des conditions atmosphériques favorables (humidité relative, température, pluies), elles ont abouti à la désintégration des fruits. Ces mêmes constats ont été faits sur les mangues au Mali [19] et sur les jujubes au Burkina faso par [15].

Il n'y a pas de maladie spécifique observée chez le *T. indica* alors que des tamarins pourris ont été trouvé sans attaquent d'insectes chez les différents cultivars ; cela peut être dû soit au climat, soit aux caractères intrinsèques de ces cultivars. Selon [21], le Tamarinier craint l'humidité excessive et la forte pluviométrie ; ce qui peut être la principale cause car la forte pluviométrie a été constatée cette année. Si la périodicité d'émergence des insectes (Figures 3 & 5) se confirme, ceci serait un indicateur important pour mettre en place une lutte plus ciblée. Ces pullulations périodiques pourraient être liées à certains facteurs climatiques tels que la température, l'humidité relative et la répartition pluviométrique. [7] note en effet qu'une augmentation de l'humidité relative de l'air entraînait une augmentation des attaques des mouches des fruits et inversement.

#### 4. Conclusion et perspective

Ce travail original a permis de dresser un inventaire des principaux ravageurs et pathogènes concourant à la pourriture des fruits de jujubier et de tamarinier.

Nos résultats ont mis en évidence les maladies et ravageurs potentiels des jujubiers et tamariniers au Mali. Des études complémentaires sur l'identification de l'espèce d'*Agrotis*, *Carpomya*, *Caryedon*, *Scab*, *Aspergillus* et *Fusarium* et sur la biologie, l'écologie et le comportement des ravageurs pathogènes incriminés seront nécessaires pour la définition de méthodes de lutte agroécologique en plantations de jujubiers et de tamarinier au Mali.

#### Remerciements

Cette étude a été réalisée avec l'appui financier de l'ICRAF Mali.

#### 5. References

- [1] Yaro, B.R. "Gestion des produits forestiers non ligneux et réduction de la pauvreté : dynamique de la fréquentation des forêts classées de Dindéresso et du Kou", Mémoire de fin d'études. (2006). p53.
- [2] Koné, B. ; Kalinganire, A. et Doumbia, M. "La culture du jujubier: un manuel pour l'horticulteur sahélien". 2009. p39.
- [3] Munier, P. "le jujubier et sa culture". (1973). p379-380
- [4] Lisan, B. "Fiche présentation arbre : Tamarindus indica L". (2018). Disponible sur Word Wide Web <<http://en.wikipedia.org/wiki/Tamarind>>. Consulté le 15-11-2018.
- [5] Vashishtha, B.B. et Pareek, O.P. "Preliminary studies on the intervarietal crossability in ber (*Ziziphus mauritiana* L)". *Annal of the Arid Zone*, 1983. 22 (1): 43-45.

- [6] Diagne, A. "Ziziphus mauritiana: hybridation contrôlée entre jujubiers locaux et variété Gola de jujubier". Cyberdocs. (2006). p2.
- [7] Ouedraogo, S.N. Etude des attaques des mouches des fruits (Diptera: Tephritidae) sur la mangue dans la province du Kéné Dougou (Ouest du Burkina Faso). Mémoire de DEA, Institut du Développement Rural, Université Polytechnique de Bobo Dioulasso. (2007). p58.
- [8] Dao, M.C.E. "Biologie de la reproduction sexuée de Ziziphus mauritiana L. (Rhamnaceae)". DEA, Université de Ouagadougou, Burkina Faso. (2002). 58p.
- [9] Delvare, G. et Aberlenc, H.P. "Ordre Diptera". In : Oelvaere G. et Aberlenc H.P. Les insectes d'Afrique et d'Amérique tropicale; clés pour la reconnaissance des familles; Prifas-CIRAD, Montpellier, France. 1989. p 229-263.
- [10] Mignon, J. ; Haubruge, E. et Francis, F. "Clé d'identification des principales familles d'insectes d'Europe". (2016). 19p.
- [11] Rieuf, P. "Clé d'identification des champignons rencontrés sur les cultures maraichères". (2008). 75p.
- [12] Larone, D.H. "Guide to identification of fungi in culture". (1995). 168p.
- [13] Dagno, K.; Diourté, M.; Lahlali, R. et Jijakli, M.H. "Fungi occurring on water hyacinth [Eichhornia crassipes (Martius) Solms-Laubach] in Niger River in Mali and their evaluation as mycoherbicides". J. Aquat. Plant Manage. (2012). 50: 25-32.
- [14] Dagno, K.; Diourté, M. et Lahlali, R. et Jijakli, M.H. "Production and oil-emulsion formulation of *Cadophora malorum* and *Alternaria jacinthicola*, two biocontrol agents against water hyacinth (*Eichhornia crassipes*)". Afr. J. Microbiol. Res. (2011). 5: 924-929.
- [15] Tankoano, M.P. "Identification des agents responsables des piqûres et des pourritures internes des fruits des cultivars indiens de jujubiers au Burkina Faso". (DEA). (2010). p8-15
- [16] Carrière, Y. et Roitberg, B.D. "Evolution of host selection behaviour in insect herbivores: genetic variation and covariation in host acceptance between population of *Choristoneura rosaceana* (Family: Tortricidae), the obliquebanded leafroller. Heredity." (1995). 74: 357-368.
- [17] Stonehouse, J. ; Ritchie, M. ; Paqui, T. ; Ndiaye, M. ; Tchibozo, S. ; Dabire, R. ; Jobe, L. et Billah, M. "Etude de dimensionnement des dommages infligés à la production fruitière d'Afrique de l'Ouest par les mouches des fruits et plan d'action pour une réponse coordonnée au niveau régional. Rapport final
- [18] CIRAD, "Rapport de mission au Mali sur le complexe des mouches des fruits (Diptera, Tephritidae) inféodées au mangoier". (2000). 42p.
- [19] N'Dépo, R.; Halan, R.; Allou, K. ; Aboua, L.R. ; Kouassi, K.P. ; Vayssières, J.F. ; et Meyer, M.D. "Abondance des mouches des fruits dans les zones de production fruitières de Côte d'Ivoire : dynamique des populations de *Bactrocera invadens* (Diptera : Tephritidae)". (2009). p314-320.
- [20] Ouedraogo, S.N. "Dynamique spatio temporelle des mouches des fruits (Diptera, Tephritidae) en fonction des facteurs biotiques et abiotiques dans les vergers de mangoiers de l'ouest du Burkina Faso" Thèse Doc, Université Paris Est. p. 12-29. 2011
- [21] Sookar, P.; Permalloo, S.; Alleck, M. et Seewooruthun, S.J. "Development of improved attractants and their integration into fruit fly management programmes. Fruit Flies of Economic importance": From Basic to Applied Knowledge Proceedings of the 7th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance. 10-15 September 2006, Salvador, Brazil. 2010. p :71-79.
- [22] Delange, J. "Tamarinier arbre magique". Éditions Quintessence. (2013). p 11-12.
- [23] Stonehouse, J. ; Ritchie, M. ; Paqui, T. ; Ndiaye, M. ; Tchibozo, S. ; Dabire, R. ; Jobe, L. et Billah, M. "Etude de dimensionnement des dommages infligés à la production fruitière d'Afrique de l'Ouest par les mouches des fruits et plan d'action pour une réponse coordonnée au niveau régional. Rapport final. (2008). 70p.

## **Criblage des Variétés Améliorées de Sorgho à Usage Multiple Sous Infestation Artificielle de *Colletotrichum Sublineolum* à la Station Agronomique de Sotuba, Mali.**

Halimatou Timbiné<sup>1</sup>, Karim Dagno<sup>1</sup>, Abdoulaye Diallo<sup>1</sup>, Baloua Nébié<sup>2</sup>

<sup>1</sup>IER, Centre Régional de Recherche Agronomique de Sotuba. BP : 262. Bamako, Mali, Email : [halimatoutimbine@gmail.com](mailto:halimatoutimbine@gmail.com) ; [karimdagno@yahoo.fr](mailto:karimdagno@yahoo.fr) ; [diolloabdoulayeier@gmail.com](mailto:diolloabdoulayeier@gmail.com).

<sup>2</sup>ICRISAT, Bamako, Mali. Email : [b.nebie@cgiar.org](mailto:b.nebie@cgiar.org)

### **Résumé :**

L'antracnose est une maladie causée par *Colletotrichum sublineolum* qui s'attaque la plante à tous les stades de développement. Elle constitue un problème majeur dans la production du sorgho amélioré à double usage destiné à l'alimentation humaine et animale ([1] ; [2]). Les pertes occasionnées par la maladie sont de 30 à 50%. L'objectif de cette étude est d'évaluer la résistance des 25 descendances de sorgho amélioré type Guinea/taille moyenne, issues du croisement Kenikenidiéma x Tiandougou coura. Trois types d'inoculum du pathogène ont été utilisés pour induire la forte pression artificielle de l'antracnose dans les parcelles expérimentales. Les plants ont été évalués au stade de maturité physiologique des grains pour la sévérité d'antracnose foliaire suivant l'échelle (1-9) [3]. Les résultats obtenus ont illustré des Indices de Sévérité allant de 2 à 7 correspondants à des rendements de 2000 kg à 300 kg pour les variétés résistantes et sensibles respectivement. Des essais multilocaux dans les conditions naturelles de présence de la maladie permettront de confirmer ces résultats afin d'identifier les variétés aux besoins des paysans (fourragère et grains). Ces résultats ouvrent les perspectives d'une production durable du sorgho fourrager et des grains de qualités au Mali.

**Mots clés :** Sorgho ; fourrager ; grains ; anthracnose.

### **Screening of improved varieties of multiple-use sorghum under *Colletotrichum sublineolum* artificial infestation at Research Agronomic Station of Sotuba, Mali.**

#### **Abstract**

Anthrachnose is a disease caused by *Colletotrichum sublineolum* which attacks the plant at all stages of development. It is a major problem in the production of improved dual-use sorghum for food and feed ([1]; [2]). The losses caused by the disease are 30 to 50%. The objective of this study is to assess the resistance of 25 improved sorghum progenies of the Guinea type / medium size, obtained from the cross Kenikenidiéma x Tiandougou coura. Three types of pathogens inocula were used to induce the high artificial pressure of anthracnose in the experimental plots. Plants were assessed at physiological seed maturity stage for leaf anthracnose severity on the scale (1-9) [3]. The results obtained illustrated Severity Indices ranging from 2 to 7 corresponding to yields of 2000 kg to 300 kg for resistant and sensitive varieties respectively. Multilocal trials under the natural conditions of the presence of the disease will confirm these results in order to identify the varieties that meet the needs of the farmers (fodder production and quality grains). These results open up the prospects for a sustainable production of fodder sorghum and quality grains in Mali.

Key words: Sorghum; forage; grains; anthracnose

#### **1. Introduction :**

Le Mali est un pays à vocation essentiellement agro-pastorale qui se subdivise en plusieurs zones climatiques suivant le régime pluviométrique.

Au Mali, la zone soudano sahélienne est confrontée au problème de disponibilité en terres cultivables et de ressources fourragères pour l'alimentation des animaux. Celui-ci est le fait de l'extension des terres cultivées liée à la croissance démographique, à la faible fertilité des sols et à la précarité de la pluviométrie.

Dans cette région, le sorgho est la céréale dominante et ses pailles constituent la première ressource fourragère dans l'alimentation des animaux de trait et des petits élevages bovins. Pour garantir la sécurité alimentaire des populations et la sécurité des aliments bétail, le Mali doit recourir à une augmentation de la production et plus durable ([4], [5]). Afin de mieux répondre aux besoins actuels des agriculteurs et des éleveurs, la recherche doit développer de nouvelles variétés de sorgho dites à double usage qui cumuleraient un potentiel de rendement grains élevé, une bonne qualité des grains comparable à celle des variétés locales et une bonne valeur nutritive de la paille. L'objectif de cette étude est d'améliorer la sécurité alimentaire et le revenu des producteurs à travers le développement et la diffusion des nouvelles technologies du sorgho.

Pour atteindre cet objectif, une évaluation des variétés de sorgho a été effectuée dans les conditions de forte pression de l'antracnose à la station de recherche agronomique de Sotuba.

## 2. Matériels et Méthodes

### 2.1. Matériel fongique

Inoculum constitué de colonie pure de *Colletotrichum sublineolum* responsable de la maladie d'antracnose produit en masse sur grains de sorgho stérilisé.

### 2.2 Matériel végétal :

Vingt-cinq variétés en tests préliminaires de rendement ont été évaluées et comparées à 2 témoins de référence (SURENO et IRAT204)

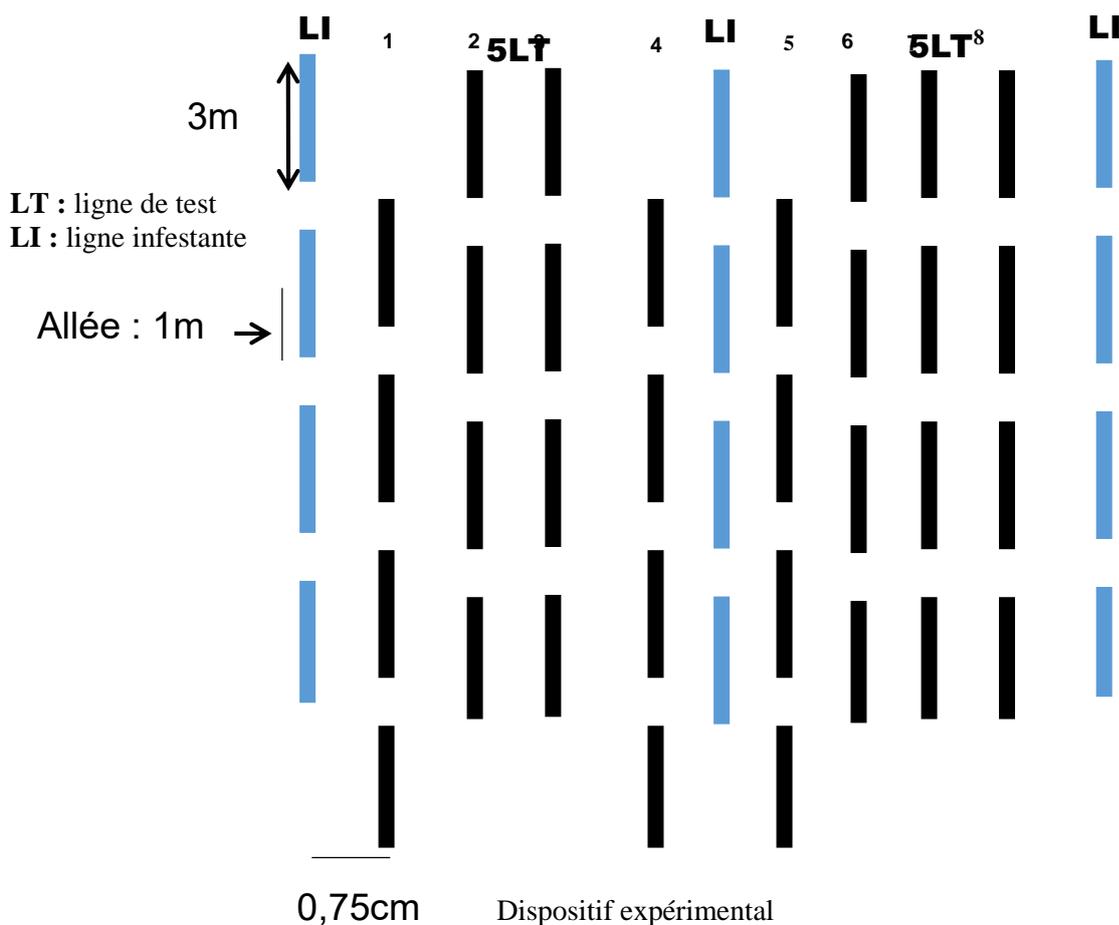
### 2.3 Méthodologie

Le dispositif utilisé était une simple parcelle d'observation. Chaque descendance a été semée sur une parcelle élémentaire de 2 lignes de 5 m de long aux écartements de 0,75 m entre les lignes et 0,30 m entre les poquets, Le démariage a été effectué à 2 plants par poquet.

#### ➤ Mise en place de la pression artificielle de l'antracnose :

Pour créer artificiellement les conditions de forte pression de la maladie d'antracnose, trois inocula ont été utilisés :

- **Premier Inoculum** : Enfouissement des résidus de récolte de la variété sensible (IRAT204) en début de la campagne 2020.
- **Deuxième Inoculum** : Semis en ligne intercalaire de la variété sensible IRAT204 quinze jours avant la mise en place des variétés/Descendances à évaluer.



- **Troisième Inoculum** : La culture monosporique de *Colletotrichum sublineolum* est réalisée au laboratoire à partir des échantillons de feuilles, panicules ou tiges infectées par le pathogène. Les monospores de *C. sublineolum* sont produites en masse sur des grains de sorgho stérilisés.

➤ **Fertilisation**

Le Di ammonium phosphate (DAP 18-46-0) a été apporté à la dose de 100kg/ha quinze jours après le semis. L'urée a été apportée à la dose de 50 kg/ha à la montaison.

➤ **Observations**

Les observations ont porté sur les symptômes de l'antracnose foliaire à différents stades physiologiques : plantule, montaison, floraison et maturité physiologique des grains pour le potentiel rendement et seulement à la récolte pour le potentiel de la production biomasse aérienne. L'échelle (1-9) [3] a été utilisée pour évaluer les symptômes de la maladie sur les feuilles où :

1= (0%) ; 2 = (5%) ; 3= (6-10%) ; 4= (11-20%) ; 5 = (21-30%) ;  
6= (31-40%) ; 7= (41-50%) ; 8= (51-75%) et 9 = (+75%) [3].

L'indice de sévérité (IS) est évalué en appliquant le rapport suivant :

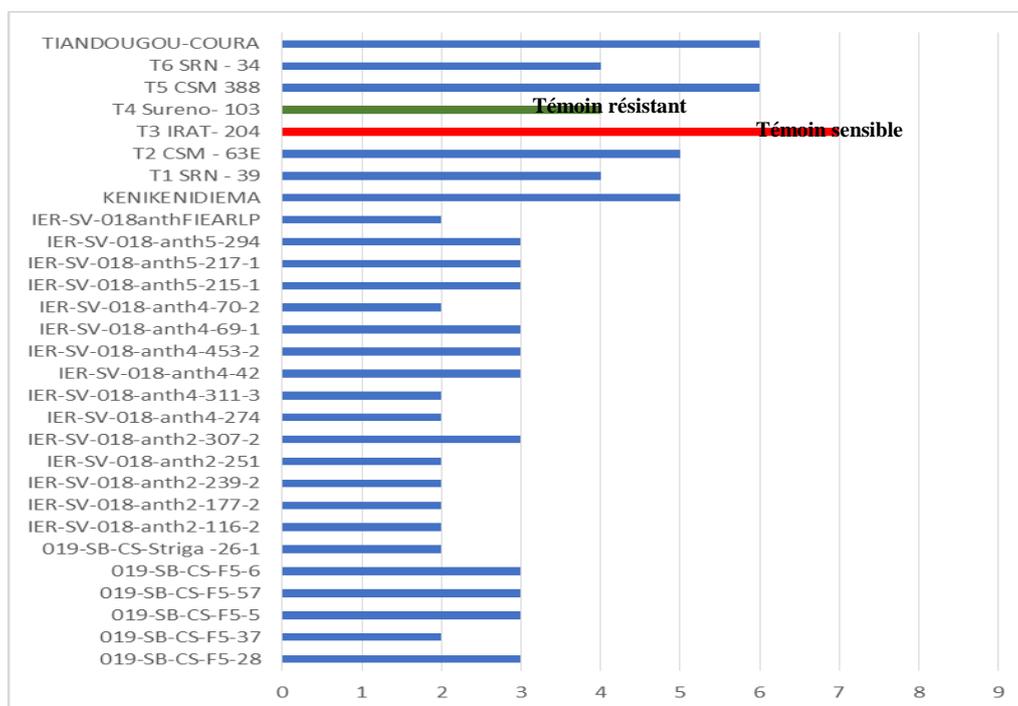
**IS** = [(Note feuille1 x 3) + (Note feuille2 x 2) + (Note feuille3 x 1) / N] où N= nombre total de feuille évaluée.

**2.4 Analyse Statistique**

L'analyse des données a été faite à l'aide de GENSTAT, la comparaison des moyennes avec ANOVA et la séparation des traitements avec Duncan's new multiple range test au seuil de 0,05.

**3. Résultats et Discussion**

**3.1. Résultats**



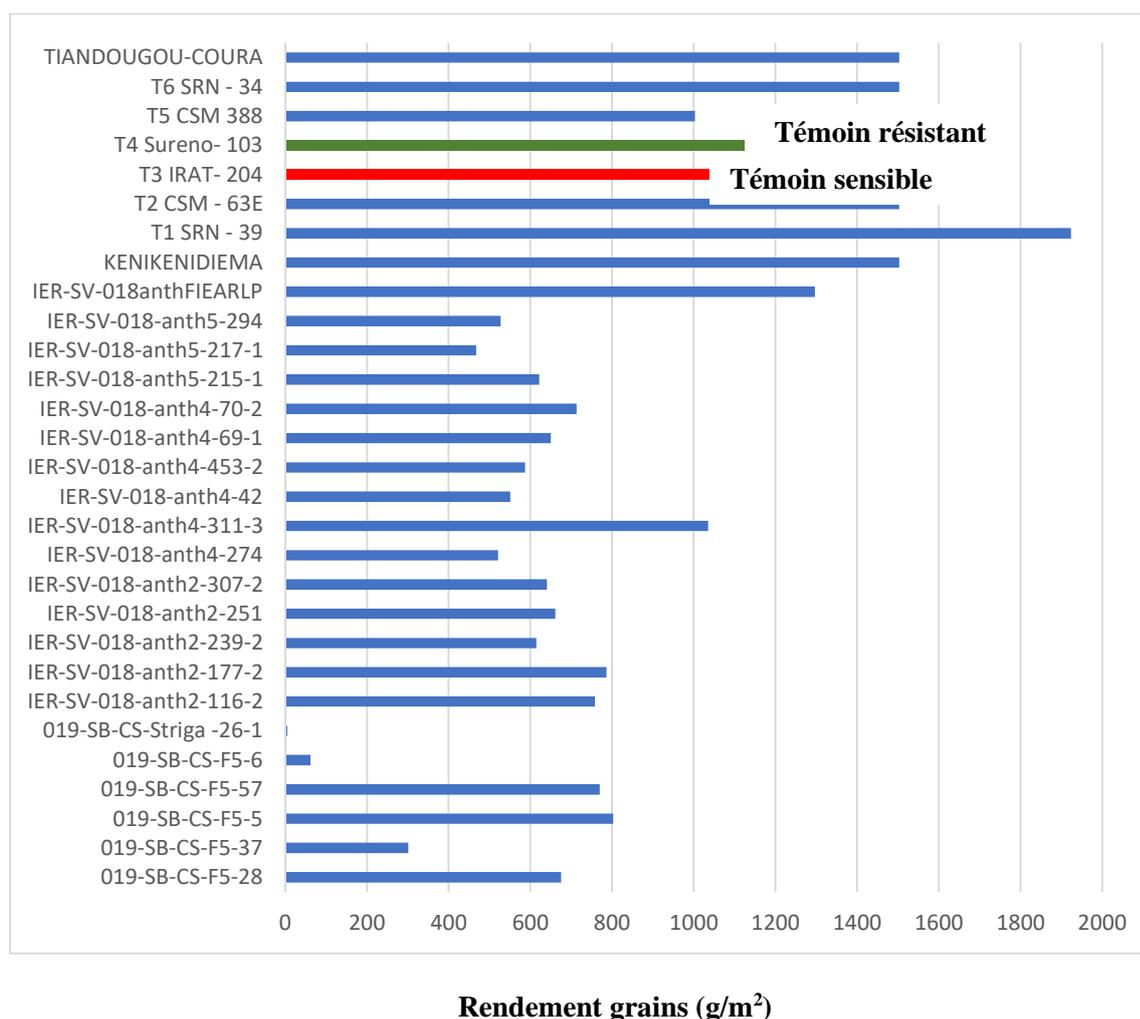
**Indice de sévérité de l'antracnose**

**Figure 1 :** Histogrammes des meilleures variétés issues des lignées Type Guinea-Taille moyenne résistantes à l'antracnose en comparaison des indices de sévérité avec les témoins de références et certaines variétés vulgarisées.

L'analyse de la variance des variétés issues des lignées Type Guinea-Taille moyenne soumises aux conditions de forte pression de l'antracnose a donné une différence significative pour la variable sensibilité à l'antracnose. En effet, des variétés comme IER-SV-018anthFIEARLP, IER-SV-018-anth2-116-2, IER-SV-018-anth4-311-3, IER-SV-018-anth2-251 et 019-SB-CS-F5-37 entre autres ont eu une meilleure résistance avec un indice de sévérité inférieur à 3 comparé à celui du témoin sensible (IRAT avec IS=7).

Les variétés qui ont associé la résistance à l'antracnose et un meilleur rendement grain et en biomasse sont reprises dans la figure 1.

La figure 2 illustre les rendements obtenus par les meilleures variétés à l'antracnose. Les variétés IER-SV-018anthFIEARLP et IER-SV-018-anth4-311-3 ont non seulement obtenues un bon comportement vis-à-vis de l'antracnose en outre elles eu un meilleur rendement avec respectivement 1297 et 1035 g/parcelle élémentaire à l'instar de certaines variétés vulgarisées.



**Figure 2 :** Histogrammes des meilleures variétés issues des lignées Type Guinea-Taille moyenne résistantes à l'antracnose en comparaison des rendements grains avec les témoins de références et certaines variétés vulgarisées.

### 3.2. Discussion

Des dégâts foliaires dus aux pathogènes s'est beaucoup observé au stade maturité pour les variétés sensibles. Ces dégâts pourraient s'expliquer par l'efficacité d'inoculum, par la susceptibilité génétique des génotypes, aussi certaines conditions favorables au développement de la maladie telles qu'une pluviométrie alternée avec des poches de sécheresse ont favorisés l'expression du pathogène. Ces résultats obtenus dans cette étude sont similaires à ceux de [6] et [7]

#### 4. Conclusion

Les différentes variétés de sorgho évaluées vis-à-vis de l'antracnose ont donné des résultats préliminaires très intéressants sur leur résistance à la maladie. La poursuite de cette évaluation dans les conditions naturelles d'infestation du pathogène serait nécessaire pour confirmer ces résultats. Les variétés sélectionnées sont encours de multiplication de semence pour leur vulgarisation en milieu paysan.

#### 5. Bibliographie :

- [1]. Timbiné, H. ; Dagno, K. et Diallo, A. Criblage des lignées de sorgho (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) à double usage pour leur résistance à l'antracnose (*Colletotrichum sublineolum*) à la station de recherche agronomique de Sotuba. Comm. Orale, 1<sup>ères</sup> JS- DER-BIO – FST/ USTTB, Bamako Mali, 14 Novembre 2020.
- [2]. Malle, A. Criblage des variétés de sorgho améliorées pour leurs résistances à l'antracnose foliaire et aux moisissures des grains au Mali. Mémoire de fin d'études, AGRYMET, Niamey, Niger (2012). 36p.
- [3]. Subrahmanyam, P.; Donald, D. Mc.; Waliyar, F. JReddy, L.; Nigam, S. N.; Gibbons, R.W.; Ramanatha Rao V., Singh, A. K., Pande, S., Reddy P. M. & Subba P. V. Rao, Screening Methods and Sources of Resistance to Rust and Late Leaf Spot of Groundnut, International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, Patanchem 502-324, 1995. *Information Bulletin no. 47*. 26 p.
- [4]. Michel, P. Pour une agriculture mondiale productive et durable 2011 120p.
- [5]. Dagno, K. Technique innovante, simple et moins couteuse pour évaluer les maladies du sorgho causées par *Colletotrichum sublineolum* a la station de recherche agronomique de sotuba. 2020. IER info N°70 ISSN 1987-0019. pp 4-6.
- [6]. Dourte, M. Les maladies du sorgho au Mali, Deuxième séminaire sur la lutte intégrée contre les ennemis des cultures vivrières dans le sahel du 4-9 janvier 1990. 2006
- [7]. Touré, M. Etudes comparatives de la résistance des variétés "tan" et non "tan" de sorgho sorgho (*Sorghum bicolor* (L) Moench vis-à-vis des principales maladies à sotuba, mémoire de DEA/ISFRA-Bamako/Mali, 2005. P 7-23.

## Amélioration de la valeur nutritionnelle d'une farine infantile à base de mil destinée aux enfants en âge de sevrage

TRAORE Sékou, AKAKI Koffi David

*Institut National Polytechnique Houphouët-Boigny (INP-HB), UMRI 58, Laboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse et de l'Environnement ; BP 1093 Yamoussoukro Côte d'Ivoire*

**Résumé** : Après 6 mois, le lait maternel dont la composition est adaptée au besoin de l'enfant [1] ne contient plus les nutriments nécessaires pour répondre à sa demande croissante [2]. Pour solutionner ce problème, des farines composites ont été formulées. Le mil a été choisi comme céréale de base pour sa richesse en éléments minéraux (Béninga, 2011). Plusieurs mélanges binaires et ternaires ont été réalisés. Des mélanges binaires, M30A fait à base de mil non fermenté fortifié de 30% d'amande de cajou déclassée et MF30A fait à base de mil fermenté enrichi à 30% d'amande de cajou déclassée ont donné les meilleures proportions. Soit 13,13% de protéine, 1,86% de cendre, 8,44 ppm de fer, 0,98 ppm de zinc pour le M30A et 12,25% de protéine, 1,05% de cendre, 9,77 ppm de fer, 1,06 ppm de zinc pour MF30A. En ce qui concerne les mélanges ternaires, M5A12S fait à base de mil enrichi à 25% d'amande, 5% de souchet a présenté les meilleures proportions soit 10,125 % de protéine, 20,31 ppm de fer, 5,37 ppm de zinc. En perspective, une étude comparative des farines infantiles à base de riz et de mil fortifiées au souchet pourrait être étudiée.

**Mots clés** : amande de cajou déclassée, souchet, mil, farine infantile

## Improvement of the nutritional value of a millet-based infant flour intended for children of weaning age

**Abstract** : After 6 months, breast milk, the composition of which is adapted to the needs of the child (Picaud, 2010) no longer contains the nutrients necessary to meet its growing demand (WHO, 2003). To solve this problem, composite flours have been formulated. Millet was chosen as the staple cereal for its richness in mineral elements (Béninga, 2011). Several binary and ternary mixtures have been carried out. Binary blends, M30A made from unfermented millet fortified with 30% downgraded cashew kernel and MF30A made from fermented millet enriched with 30% downgraded cashew kernel gave the best proportions. Either 13,13% protein, 1,86% ash, 8,44 ppm iron, 0,98 ppm zinc for M30A and 12,25% protein, 1,05% ash, 9,77 ppm iron, 1,06 ppm zinc for MF30A. Regarding the ternary mixtures, M5A12S made from millet enriched with 25% almonds, 5% nutsedge presented the best proportions, i.e. 10,125% protein, 20,31 ppm iron, 5,37 ppm zinc . In perspective, a comparative study of infant flour made from rice and millet fortified with tigernuts could be studied.

**Key words**: downgraded cashew kernel, nutgrass, millet, infant flour

### 1.Introduction

La malnutrition apparaît généralement après le sixième mois de la vie de l'enfant. C'est la période d'introduction des aliments de complément chez le nourrisson [4]. Dans la plupart des pays en développement (PED), les bouillies infantiles données aux nourrissons à partir de l'âge de six mois sont à base de céréales. Les céréales dans leur diversité font partie de l'alimentation de base dans les pays du sud. Parmi ces dernières, le mil (*Pennisetum glaucum*) occupe une place de choix parmi les céréales les plus cultivées. C'est une céréale qui possède une valeur nutritive supérieure comparativement au riz, au maïs et au blé. En tant que tel, il participe fortement à l'amélioration de l'alimentation des mères et de leurs enfants [5]. Le mil présente cependant des contraintes en ce sens que les minéraux présents ne sont pas souvent bio disponibles. Pour remédier à cela certaines technologies sont utilisées, on cite entre autres la fermentation. La fermentation est souvent utilisée en Afrique pour préparer les aliments [6]. Elle présente de nombreux avantages. Elle permet l'acidification du milieu permettant ainsi de réduire les risques de développement des microorganismes pathogènes, elle détruit les facteurs antinutritionnels tels que les phytates et améliore le goût de l'aliment par la production d'acides organiques et arômes. Une autre alternative de lutte contre la malnutrition est l'enrichissement de ces produits locaux par des légumineuses [7]. En ce qui concerne les légumineuses utilisées pour relever la valeur nutritionnelle des aliments infantiles le soja et l'arachide viennent en première position. Ces deux légumineuses sont utilisées dans 75% des formulations de farines infantiles [8]. Une autre légumineuse en plein essor est l'anacarde qui introduit au départ pour lutter contre l'avancée du désert est devenu une culture de marque en côte d'ivoire. L'amande de cajou qui est le fruit de l'anacarde est connu pour sa richesse en protéine et en éléments minéraux[9].

Il s'agira donc dans cette étude de mettre en place des farines infantiles à base de produits locaux (noix de cajou et mil) qui seront utilisées comme aliments de complément pour nourrisson.

Les résultats attendus au terme de ce projet de Thèse de Doctorat sont précisés comme suit :

- Formulations des farines composites à base de mil enrichies à l'amande de cajou en utilisant l'hexane comme solvant d'extraction des lipides de l'amande
- Formulations des farines composites à base de mil enrichies à l'amande de cajou en utilisant la méthode traditionnelle pour l'extraction des lipides de l'amande
- Caractérisation physico-chimiques des farines formulées
- Caractérisation biochimiques des farines formulées
- Détermination des propriétés anti-nutritives des farines
- Détermination des propriétés fonctionnelles des farines formulées
- Etude comparative des farines formulées avec ou sans hexane

## 1- Matériel et méthodes

### 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

#### ➤ Farine de mil fermenté

Les grains de céréales (mil) (500g) sont nettoyés à la main avec de l'eau distillée et trempés dans de l'eau propre pendant 24h. la matière première est ensuite retirée 24h plus tard et rincée avec de l'eau distillée. Les grains sont ensuite laissés dans l'eau pendant 72 heures à fermenter en utilisant les micro-organismes naturellement présents sur la surface des grains. Les grains fermentés sont lavés à nouveau avec de l'eau distillée manuellement, égouttés et séchés au four (Plus11 Sanyo Gallenkamp PLC, Royaume-Uni) à 60°C pendant 48 heures. Les grains séchés sont broyés à l'aide d'un blender Philips laboratoire (HR2811 modèle), tamisés à travers 60mm et stockés dans un plastique hermétique à température ambiante 27°C

#### ➤ Farine de mil non fermenté

Les grains de céréales (mil) (500 g) sont triés et lavés plusieurs fois afin de les débarrasser de toutes les impuretés. Les grains de mil sont ensuite déposés dans un séchoir à 60°C pendant 17h. le mil séché est ensuite broyé à l'aide d'un broyeur. La farine obtenue est conservée dans des pots et conservés à la température ambiante.

#### ➤ Farine d'amande de cajou délipidée

La production de la farine d'amande de cajou a été inspirée par la méthode décrite par (Sze-Tao et Sathé, 2000) modifiée. Les amandes de cajou obtenues sont concassées à l'aide d'un broyeur semi-artisanal. L'hexane a été utilisé pour extraire l'huile d'amande deux fois dans une cuve en inox par macération continue pendant 30 minutes. La cuve contenant l'amande et l'hexane est déposée sur une plaque chauffante pendant 50 minutes à 130°C. la cuve est ensuite déposée en lieu sûr pendant 24 heures pour incubation. L'huile et l'hexane constituent le surnageant et l'amande déshuilée le tourteau. Un tissu en coton servira à emballer le tourteau qui sera mis sous presse manuelle pendant 24 heures. Le tourteau déshuilé est étalé sur des plateaux inoxydables et déposés à l'étuve à 70°C pendant 12 heures. Cela permettra d'éliminer les traces d'hexane et purifier le tourteau. Le tourteau séché est broyé à l'aide d'un broyeur à tamis 500 microns. La farine d'amande obtenue est conservée dans des pots en plastique.

#### ➤ Farine de souchet

Les grains de souchets achetés au grand marché de Bouaké (ville située au centre de la Côte d'Ivoire) ont été triés pour les débarrasser des impuretés puis lavés plusieurs fois avec de l'eau propre. Les grains ont été ensuite 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.

#### ➤ Farine d'amande de cajou non délipidée

La production de la farine d'amande de cajou déclassée a été inspirée par la méthode décrite par (Sze-Tao et Sathé, 2000) 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

➤ **Formulations de farines infantiles : mil/amande de cajou**

Les mélanges ont été inspiré d'un plan de mélange de Henri Schéffé

**Tableau 1 :** matrice d'expérience mil non fermenté et de la farine l'amande de cajou

ECHANTILLONS	MIL NON FERMENTE	AMANDE DE CAJOU
M0A	1	0
M30A	0	1
M15A	0,5	0,5
M7,5A	0,75	0,25
M22,5A	0,25	0,75
M15A	0,5	0,5
M15A	0,5	0,5

**Tableau 2 :** tableau de proportion du mélange des farines de mil non fermenté et d'amande de cajou

ECHANTILLONS	MIL NON FERMENTE	AMANDE DE CAJOU
M0A	100%	0%
M30A	70%	30%
M15A	85%	15%
M7,5A	92,5%	7,5%
M22,5A	77,5%	22,5%
M15A	85%	15%
M15A	85%	15%

**Tableau 3 :** matrice d'expérience du mélange des farines de mil fermenté et d'amande de cajou

ECHANTILLONS	MIL NON FERMENTE	AMANDE DE CAJOU
MF0A	1	0
MF30A	0	1
MF15A	0,5	0,5
MF7,5A	0,75	0,25
MF22,5A	0,25	0,75
MF15A	0,5	0,5
MF15A	0,5	0,5

**Tableau 4 :** tableau de proportion du mélange des farines de mil fermenté et d'amande de cajou

ECHANTILLONS	MIL FERMENTE	AMANDE DE CAJOU
MF0A	100%	0%
MF30A	70%	30%
MF15A	85%	15%
MF7,5A	92,5%	7,5%
MF22,5A	77,5%	22,5%
MF15A	85%	15%
MF15A	85%	15%

**Tableau 5 :** matrice d'expérience du mélange ternaire

Numéro	ECHANTILLONS	X1	X2	X3
1	FM5A5S	0	0	1
2	FM5A12S	0	1/3	2/3
3	FM5A18S	0	2/3	1/3
4	FM5A25S	0	1	0
5	FM12A5S	1/3	0	2/3
6	FM12A12S	1/3	1/3	1/3
7	FM12A18S	1/3	2/3	0

8	FM18A5S	2/3	0	1/3
9	FM18A12S	2/3	1/3	0
10	FM25A5S	1	0	0
11	FM25A5S	1	0	0

**Tableau 6** : proportion du mélange ternaire

Numéro	ECHANTILLONS	AMANDE	SOUCHET	MIL
1	FM5A5S	0,05	0,05	0,9
2	FM5A12S	0,05	0,12	0,83
3	FM5A18S	0,05	0,18	0,77
4	FM5A25S	0,05	0,25	0,7
5	FM12A5S	0,12	0,05	0,83
6	FM12A12S	0,12	0,12	0,76
7	FM12A18S	0,12	0,18	0,7
8	FM18A5S	0,18	0,05	0,77
9	FM18A12S	0,18	0,12	0,7
10	FM25A5S	0,25	0,05	0,7
11	FM25A5S	0,25	0,05	0,7

Les analyses sont réalisées en triple afin d'en faire la moyenne pour la détermination du paramètre considéré.

% P=6,25 % N

**La matière sèche** a été déterminée après séchage des échantillons dans une étuve (Memmert 854 Schwabach, Allemagne) à 105°C pendant 24H. [11]. **Le taux de lipide** a été déterminée par la méthode de Soxhlet (*unit Tecator, System HT2 1045, suède*). L'hexane (le solvant) est récupéré à l'aide d'un évaporateur rotatif (BUCHI rotavapor R-215). L'échantillon contenu dans la capsule est séché dans une étuve (*Memmert 854 schwabach, Allemagne*) à 105°C pendant 1H afin d'éliminer les traces du solvant. La différence de poids obtenue a permis d'estimer le taux de lipides de l'échantillon. [11]. 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 [11].

% P=6,25 % N

(1)

**Le taux de cendre** est déterminé par incinération de 10g d'échantillon dans un four à moufle (*Nabertherm GmbH Bahnhofstr.20, 28865Lilienthat, Bremen, Germany*) à 550°C pendant 8H. L'échantillon est retiré du four et refroidi dans un dessiccateur pendant 20 mn puis pesée sur une balance (*CHIMADZU Japon*). [11]. **Le taux d'humidité** est déterminé en se servant de la formule (2).

% d'humidité = 100 - % de matière sèche

(2)

#### ➤ **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. Le logiciel a permis de réaliser le test de corrélation afin d'identifier d'éventuelles relations entre les paramètres physico-chimiques et entre les minéraux. Le coefficient de corrélation r de Bravais-Pearson varie de -1 à +1. La valeur -1 indique une parfaite relation inverse entre les paramètres alors que la valeur +1 fait ressortir une parfaite relation positive. La valeur 0 montre qu'il n'y a aucune corrélation entre les paramètres étudiés. Cependant plus le coefficient de corrélation r se rapproche de -1 et de +1 plus la relation linéaire est forte. Plus la valeur de r se rapproche de 0 plus la relation linéaire est faible [12].

## 2- Résultats et discussion

Tableau 7 : résultats des mélanges binaires non fermentés

	Protéine (%)	Fer (ppm)	Zinc (ppm)	Cendre (%)
MOA	7,53	5,84	0,56	0,2
M7,5A	9,1	5,56	0,78	1,15
M15A	10,5	7,32	0,77	1,05
M22,5A	12,25	4,44	0,78	1,7
M30A	13,13	8,44	0,98	1,86
M14,3	10,318	8,213	0,779	1,365

Tableau 8 : résultats des mélanges binaires fermentés

	Protéine (%)	Fer (ppm)	Zinc (ppm)	Cendre (%)
MFOA	6,13	3,89	0,9	0,25
MF,5A	7,35	2,88	0,98	0,6
MF15A	9,1	7	0,27	0,72
MF22,5A	10,85	10	0,49	0,3
MF30A	12,25	9,77	1,06	1,05
MF19,025	10,025	7,8	1,06	1,212

Tableau 9 : résultats des mélanges ternaires

EXPERIENCE	AMANDE	SOUCHET	MIL	PROTEINE (%)	FER (ppm)	ZINC (ppm)
1	0,05	0,05	0,9	8,56	7,06	5,81
2	0,05	0,12	0,83	7,87	9,75	6,09
3	0,05	0,18	0,77	6,62	13,4	5,59
4	0,05	0,25	0,7	7,87	3,45	5,92
5	0,12	0,05	0,83	8,37	3,75	6,31
6	0,12	0,12	0,76	7,87	11,07	1,93
7	0,12	0,18	0,7	8,75	9	1,79
8	0,18	0,05	0,77	9,125	9,75	5,7
9	0,18	0,12	0,7	9,125	9,74	5,61
10	0,25	0,05	0,7	10,125	20,31	5,37
11	0,25	0,05	0,7	9,625	21,27	5,43
12	0,05	0,121	0,829	7,325	9,815	6,085

L'effet de l'amande de cajou déclassée sur le mil se perçoit fortement (tableau 7). Les teneurs en protéine dans le mélange augmentent avec l'augmentation de la teneur en amande de cajou. Elle est passée de 7,53% à 13,13%. Cela pourrait s'expliquer par la richesse de l'amande de cajou en protéine [13]. Ces résultats sont inférieurs à ceux trouvés par [14], lors d'une étude sur l'enrichissement de farines de maïs par l'amande de cajou déclassée. La différence des résultats pourrait s'expliquer par le traitement préalable des matières premières avant leur transformation en farine. Les meilleures teneurs en fer et en zinc ont été observées dans le mélange M30A. cela est bien illustré dans la teneur en cendre qui renseigne sur la teneur en minéraux. La teneur en zinc de l'échantillon est la plus élevée de tous les échantillons avec une teneur de 1,86%. Au terme de cette première partie de l'étude le mélange constitué de 14,3% d'amande de cajou est retenu pour l'enrichissement du mil. cela à l'avantage d'utiliser peu d'amande de cajou dans l'enrichissement quand on sait la cherté de cette légumineuse sur le marché.

Dans le cas du mélange binaire fermenté (tableau 8) on constate que la teneur en protéine des échantillons augmente proportionnellement avec le taux d'amande de cajou incorporé. Cela s'explique par la forte teneur observée dans l'amande de cajou [13]. L'augmentation significative du taux de protéine dans les échantillons fermentés avait été indiquée par Chelule et al (2010). L'échantillon le plus riche en amande de cajou également présentait les teneurs minérales les plus élevées. La teneur en cendre a augmenté dans les échantillons formulés. Cela serait dû à la richesse d'amande de cajou en cendre. Les taux élevés de cendre dans l'amande de cajou avaient été mentionnés par [15] et [16]. La teneur d'amande de cajou sélectionnée pour l'optimisation est de 19,025%.

Le souchet a été utilisé pour renforcer le mélange en minéraux. Le souchet présente de forte teneur en cendre qui indique une présence importante de calcium, de phosphore, de zinc, de fer et de magnésium. Ce tubercule est plus riche en minéraux que les fruits, les légumes et les céréales souvent consommés [17]. Son utilisation dans les mélanges ternaires (Tableau 9) a permis une amélioration globale de la teneur en cendre dans l'ensemble des mélanges constitués. Cependant le mélange constitué de 5% de souchet et 25% d'amande de cajou a présenté les meilleurs teneurs en protéine soit 10,125 % et en fer soit 20,31 ppm. Un mélange optimum a été proposé. Ce mélange est constitué de 5 % de protéine, 12,1% de souchet et 82,9 % de mil. un tel mélange permet une faible incorporation de l'amande de cajou qui reste avantageux vu son coût élevé. La farine de souchet quant à elle est une alternative de la farine de blé. Elle entre dans la fabrication de gâteaux de biscuits et de pain sans gluten [18]. Les tubercules de souchet sont très souvent conseillés et utilisés pour fortifier d'autres régimes. C'est ce qui explique son utilisation dans la fortification de kunu [19].

### Conclusion

Le mil est une céréale qui a été souvent utilisée comme aliment de base pour la formulation des farines infantiles. Cela pourrait s'expliquer par sa disponibilité sur le marché. Mais si le mil est connu pour être riche en glucide et en minéraux il est cependant reconnu que le mil est pauvre en protéine. Sa combinaison avec des aliments riches en protéines et en minéraux tels que les amandes de cajou et le souchet s'avère nécessaire. Ainsi le mil fortifié à l'amande de cajou et au souchet est une alternative à la lutte contre la malnutrition infantile.

### References bibliographiques

- [1] J. Picaud, "Allaitement maternel et lait maternel : quels bénéfices pour la santé de l'enfant Breastfeeding and human milk : What benefits for neonates and infants," vol. 22, no. 2008, pp. 71–74, 2010.
- [2] OMS, "Rapport sur la santé dans le monde : 2003 : façonner l'avenir," p. 213, 2003.
- [3] Béninga Marboua B., "Caractérisation chimique et minérale des grains de mil [ Pennisetum glaucum ( L. ) R. Br. ] de Côte d'Ivoire Béninga Marboua BEKOYE," vol. 5, no. October, pp. 2039–2044, 2011.
- [4] K. G. Dewey and K. H. Brown, "Update on technical issues concerning complementary feeding of young children in developing countries and implications for intervention programs," *Food Nutr. Bull.*, vol. 24, no. 1, pp. 5–28, 2003.
- [5] M. Vital, "Comité De L' Agriculture," *Millets Sorghum Forgot. foods Futur. Foodtank, 2018 [en ligne]*, pp. 1–9, 2018.
- [6] A. Blandino, M. E. Al-Aseeri, S. S. Pandiella, D. Cantero, and C. Webb, "Cereal-based fermented foods and beverages," *Food Res. Int.*, vol. 36, no. 6, pp. 527–543, 2003.
- [7] OMS, "Principes directeurs pour l'alimentation des enfants de 6 à 24 mois qui ne sont pas allaités au sein," p. 44, 2005.
- [8] L. T. Songré-ouattara, K. Gorga, and A. Savadogo, "Evaluation de l' aptitude nutritionnelle des aliments utilisés dans l' alimentation complémentaire du jeune enfant au Burkina Faso," pp. 41–50, 2016.
- [9] A. Coulibaly, "Evolution recente de la filiere anacarde côte d'ivoire," 2018.
- [10] K. W. C. Sze-Tao and S. K. Sathe, "Functional properties and in vitro digestibility of almond (*Prunus dulcis* L.) protein isolate," *Food Chem.*, vol. 69, no. 2, pp. 153–160, 2000.
- [11] AOAC, "Official methods of analysis of AOAC International, 16th ed," *Choice Rev. Online*, vol. 35, no. 02, pp. 35-0912-35-0912, 1990.
- [12] Y. B. Koffi, K. E. Ahoussi, A. M. Kouassi, and O. Kouassi, "Application des réseaux de neurones formels pour la prévision des débits mensuels du Bandama blanc à la station de Tortiya (Nord de la Côte d'Ivoire)," *Afrique Sci. Rev. Int. des Sci. Technol.*, vol. 10, no. 3, pp. 134–145, 2014.
- [13] E. C. . Emelike N. J.T, Barber L.I, "Proximate, minéral and functional properties of defatted and undefatted cashew (*Anacardium Occidentale* Linn.) kernel flour," *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 53, no. 9, pp. 1689–1699, 2015.
- [14] O. I. and M. O. Ijarotimi OS, "Volume 12 No. 5 August 2012 NUTRIENT COMPOSITION, FUNCTIONAL, SENSORY AND MICROBIAL STATUS OF POPCORN-BASED (," *African J. Food, Agric. Nutr. Dev.*, vol. 12, no. 5, pp. 6424–6446, 2012.
- [15] B. P. C. M. Aremu M.O., Olonisakin D.A, "Compositional Studies and Physicochemical characteristics of Cashew Nut (*Anacardium occidentale*) Flour." 2006.
- [16] Omosuli S. V. Ibrahim T. A Oloye Dare Agbaje R. Jude-Ojei B., "Proximate and Mineral Composition of Roasted and Defatted Cashew Nut (*Anacardium occidentale*) Flour." 2009.
- [17] Ban-Koffi, "Caractérisation Physico-Chimique," vol. 17, no. 1, pp. 63–71, 2005.
- [18] F. Length, "Effect of fermentation methods on the mineral , amino and fatty acids composition of *Cyperus esculentus*," vol. 9, no. 7, pp. 89–94, 2015.
- [19] M. A. Belew and O. A. Abodunrin, "Preparation of Kunnu from Unexploited Rich Food Source : Tiger Nut ( *Cyperus esculentus* )," vol. 1, no. 1, pp. 19–21, 2006.

## Profil sensoriel et caractéristiques physico-chimiques du jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé au cours de sa conservation

Kouassi Kan Kouassi Parfait<sup>1\*</sup>, Soro Doudjo<sup>1</sup>, Kone Youssouf Kisselmina Youssouf<sup>1</sup>, Cisse Mady<sup>2</sup>, Assidjo Nogbou Emmanuel<sup>1</sup>, Yao Kouassi Benjamin<sup>1</sup>

1 : Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèses de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN)/Institut National Polytechnique Félix HOUPOUËT-BOIGNY de Yamoussoukro, BP 1313 Yamoussoukro-Côte d'Ivoire

2 : Laboratoire de Formation Continue en Industries Agroalimentaire, Ecole Supérieure Polytechnique de l'UCAD

### Resume

La pomme de cajou est le faux fruit de l'anacardier et n'est pas valorisée en Côte d'Ivoire et pourrie sur les lieux de récolte. Cette étude s'intéresse à la valorisation des pommes de cajou en jus. Cependant, ses paramètres nutritionnelles et organoleptiques sont affectés par la température et la durée du stockage. L'objectif est donc de déterminer les caractéristiques nutritionnelles et organoleptiques du jus de pomme de cajou pendant sa production et sa conservation. Les analyses physico-chimiques réalisées sont le pH et l'extrait sec soluble. Quant au profil sensoriel il a consisté à faire des analyses hédoniques et descriptives. Le jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé s'est avéré être le meilleur avec un taux d'acceptabilité de 42%. Les caractéristiques descriptives sont la clarté, la couleur, l'arôme et la non astringence. Le jus conservé à température ambiante était plus apprécié jusqu'au 90<sup>ème</sup> jour pour être déprécié au profil du jus conservé à 4°C. L'analyse statistique montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les valeurs du pH et de l'Extrait Sec Soluble Réfractométrique (ESSR) pendant la conservation. Le jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé conserve mieux ses propriétés à une température de conservation inférieure à 27°C.

**Mots clés** : pomme de cajou, jus, profil sensoriel, caractéristiques physico-chimiques

### INTRODUCTION

Originaire des côtes du Brésil, l'anacardier fût découvert par les portugais puis introduit dans les colonies d'Afrique et d'Asie (Bhat *et al.*, 2010 ; Adesiji *et al.*, 2012). Cependant les plus grandes zones de production sont le Sud-Est de l'Asie, l'Afrique de l'Ouest, l'Afrique de l'Est et le Brésil (Lautié *et al.* 2001).

Introduite en Côte d'Ivoire dans les années 1960 afin de lutter contre la désertification, l'anacardier (*Anacardium occidentale* L) fait partie aujourd'hui des cultures de rente après le cacao. En 2018 la Côte d'Ivoire a produit environ 711 236 tonnes de noix de cajou qui fait d'elle le premier pays producteur mondial (Anonyme, 2018). L'anacardier produit deux fruits : la noix de cajou (vrai fruit) et la pomme de cajou (faux fruit).

La noix de cajou est un akène de couleur grise ou brun gris, réniforme et mesurant en moyenne 2,7 cm de long sur 2,1 cm de large et 1,6 cm d'épaisseur. Son poids varie de 3 à 10 g avec une moyenne de 5 g, mais certaines peuvent atteindre 20 g au Brésil (Lautié *et al.* 2001). Décortiqué, elle peut être consommée salée ou pimentée ou utilisée dans l'industrie alimentaire pour faire des gâteaux, du chocolat, du nougat, de la confiserie, des crèmes glacées et de l'huile. (Pierre RICAU, Juin 2013). Aussi l'on peut extraire le baume de cajou des coques entourant la noix, qui est un liquide oléagineux noirâtre et caustique (Soro *et al.*, 2011)

La pomme de cajou est le pédoncule hypertrophié de la noix de cajou. A maturité, elle est de couleur jaune, rouge ou orangé (figure 1). Cette couleur est due à la fine couche cireuse qui constitue la peau de la pomme. Quelle que soit la couleur de la peau, sa chair est toujours jaune. La forme de la pomme est ronde ou cordiforme (forme de cœur), d'où son nom *Anacardium* qui signifie forme de cœur. Cette pomme représente 9 à 10 fois le poids de la noix et est généralement délaissée sur les lieux de récolte où elle pourrie.

La pomme de cajou est riche en éléments nutritifs. Elle est très juteuse (85 à 90% d'eau) et moyennement sucrée (7 à 13% de glucides) (Lautié *et al.*, 2001). Elle est également riche en vitamine C, en polyphénols (Michodjehoun-Mestres *et al.*, 2009) et contient des quantités non insignifiantes de caroténoïdes (Assunção and Mercadante, 2003 ; Abreu, 2012). Malgré cette grande richesse, la pomme de cajou n'est pas exploitée et valorisée en Côte d'Ivoire.

Pour sa valorisation, nous avons donc opté pour la transformation en jus. Cependant, sa thermo sensibilité due à la vitamine C abondante et aux sucres réducteurs, sa forte astringence liée à la présence des tannins condensés limitent sa transformation.

L'un des défis majeurs dans la production de jus de fruits est l'élimination de la turbidité sans perdre les caractéristiques sensorielles (Lucas Dal Magro *et al.*, 2020 ; Ziyu Deng *et al.*, 2019). Les techniques utilisées pour éliminer les particules en suspension dans les jus consistent en l'ajout d'agents clarifiants,

tels que la gélatine, la bentonite, l'albumine. Il y a également la méthode chimique avec l'utilisation des enzymes comme les protéases et les pectinases, ainsi que des méthodes physiques telles que la filtration et la centrifugation. Bien que celles-ci présentent des résultats probants, ces pratiques peuvent également éliminer certains composés essentiels tels que la couleur et l'arôme des jus (B. Erkan-Koç et al, 2015 ; I. Benucci et al., 2019). Aussi, ces procédés peuvent être très laborieux, prendre du temps et fonctionner de manière discontinue. En outre, l'utilisation d'additifs peut laisser un léger arrière-goût dans le jus (R.C.C. Domingues et al., 2012 ; Alvarez S et al., 2000). En effet, le traitement avec des protéases et des pectinases a provoqué une perte de protéines et de phénols actifs dans le jus de fruit (M. Cerreti et al., 2016 ; M. Cerreti et al., 2017).

Plusieurs études ont été menées afin de pouvoir clarifier le jus de pomme de cajou brut. Nous avons l'utilisation de l'amidon de manioc et le gruau de riz qui ont été expérimentés au Bénin (Emmanuelle S.C.A et al, 2015) ainsi que l'utilisation de la microfiltration tangentielle au Brésil. La clarification par la gélatine est aussi utilisée.

Pour mieux garantir la qualité des produits finis, différents paramètres tels que les paramètres physico-chimiques, microbiologiques, biochimiques sont pris en compte et aussi l'analyse organoleptique ou sensorielle. La dernière citée est une nouvelle science qui a fait son apparition vers les années 1940-1950 au sein de l'armée américaine dans le but d'optimiser les degrés d'acceptabilité du menu suivi de ses soldats (Armed-Forces-Food, Container-Institute, Peryam, Pilgrim, & Peterson, 1954).). L'analyse sensorielle repose sur l'organisation des séances d'évaluation avec un panel où les sujets ont un niveau de connaissance sur l'univers du produit ou non et/ou de la méthode employée plus ou moins développée en fonction de la tâche à réaliser (Depledt & SSHA, 2009).

Deux types d'analyses composent l'analyse sensorielle. Nous avons l'analyse descriptive et l'analyse hédonique. L'analyse descriptive est employée dans le but de qualifier les différences entre les produits en établissant un profil sensoriel pour chacun d'eux. L'entraînement des sujets est une clé de l'analyse descriptive. Le profil conventionnel est la méthode de référence recommandée par les normes AFNOR (NF ISO 13299 Mai 2010). Le profil conventionnel peut se résumer en quatre grandes phases (Strigler et al, 2009) : (1) établir une liste descripteur la plus exhaustive possible dans le but de couvrir toutes les caractéristiques sensorielles des produits à évaluer ; (2) Mesurer l'intensité de la sensation perçue pour chacun des attributs sensoriels à partir d'une échelle (structurée ou non) définie en amont ; (3) établir le profil des produits via l'ensemble de ses caractéristiques sensorielles. Pour se fait, différentes représentations possible (histogramme, graphique, polaire) ; (4) comparer les profils des différents produits évalués.

Quant à l'analyse hédonique, elle fait appel à des sujets naïfs n'ayant eu aucune pratique sur l'analyse sensorielle (Stone & Sidel. 2004). Les méthodes hédoniques portent sur les références de consommateurs et ont pour but de comparer l'appréciation hédonique globale de différent produit en se focalisant sur les ressentir individuels liés au plaisir ou au déplaisir provoqué par l'aliment (Stone & Sidel. 2004).

L'objectif général de notre travail est de produire un jus de pomme de cajou non astringent de qualité nutritive et sensorielle. Les objectifs spécifiques sont d'une part de déterminer le type de jus de cajou apprécié par le consommateur et d'autre part de suivre les caractères organoleptiques du jus de pomme de cajou le plus apprécié lors de sa conservation à différentes températures.

## **Materiel et methodes**

### **Matériel végétal**

Pour le matériel végétal, on a utilisé des pommes de cajou arrivées à maturité qui peuvent être soit jaune soit rouge orangé. Ces fruits ont été récoltés à Béoumi dans la région du Gbèkè au centre de la Côte d'Ivoire dans la zone savanicole.

### **METHODE**

#### **Méthode de production du jus de pomme de cajou**

Le processus de production du jus est résumé dans le diagramme de la figure 2.

#### **Récolte et extraction**

La récolte des pommes de cajou à maturité (jaune et rouge) a été réalisée par cueillette sur les arbres ou par ramassage des pommes tombées et qui sont encore saines. Afin d'éviter toute blessure de la pomme qui pourrait entraîner un début de dégradation du fruit, les noix ont été séparées minutieusement des pommes avec des fils en nylon afin. Ensuite les pommes de cajou ont été nettoyées et lavées afin

d'éliminer les impuretés physiques telles que le sable, les feuilles mortes puis elles ont été désinfectées avec 100 ppm de chlore actif dans pendant 15 minutes dans des bacs. Rincées à l'eau, les pommes ont été pressées avec une presse hydraulique automatique (Solano, France) à une pression de 300 bars.

#### **Méthode de clarification du jus de pomme de cajou par la gélatine**

Pour la clarification nous avons utilisé de la gélatine commerciale en poudre issue de la peau de poisson. On prépare donc une solution de gélatine à 10%. La solution obtenue est laissée au repos durant 1 h. on ajoute au jus obtenu après pressage une quantité de 2,5mL/L de la solution de gélatine à 10%. On observe une floculation qui va décanter au fil du temps. Le jus clarifié est obtenu après filtration sur un tissu en coton qui va retenir la fraction décantée contenant les tannins et la gélatine précipités.

Le jus obtenu est pasteurisé à 85°C pendant 30 secondes.

#### **Méthode de conservation du jus**

Durant nos travaux, les échantillons ont été conservés à trois (03) températures distinctes : 4°C et 20°C dans différents réfrigérateurs et à température ambiante (28°C en moyenne).

#### **Méthode d'analyse**

Les analyses effectuées sur le jus, concernent : le Potentiel d'Hydrogène (pH), l'extrait sec soluble (ESS) et l'analyse sensorielle.

- **Potentiel d'hydrogène (pH) (ISO 1842, 1991)**

Le principe de la détermination du pH consiste à créer une différence de potentiel dans la solution à analyser au niveau de la double électrode. Le pH-mètre détermine et affiche la valeur. Avant la détermination du pH des solutions, le pH-mètre est étalonné à la température de lecture avec deux solutions tampons de pH4 et pH7. Le pH des solutions liquides est déterminé en introduisant l'électrode dans 20 ml de la solution prélevée dans un bécher de 50 ml. Au bout de 5s la valeur est affichée par le pH-mètre de marque Hanna ha 118.

- **Extrait sec soluble Réfractométrique (ESSR) (ISO 2173: 2003)**

L'extrait sec soluble, est déterminé grâce à un réfractomètre de précision 0,01. Il est aussi appelé degré Brix et est exprimé en g/100g. La détermination consiste à déposer une goutte sur le prisme du réfractomètre et la valeur est affichée au bout de 5s.

#### **Analyse sensorielle**

L'analyse sensorielle a consisté à la réalisation de deux tests à savoir le test hédonique par classement sur les trois types de jus de pomme de cajou (brut, clarifié, clarifié pasteurisé) ainsi que les jus de pommes de cajou clarifiés et pasteurisés stockés à différentes températures d'une part, le test descriptif des trois types de jus de pomme de cajou (brut, clarifié, clarifié pasteurisé) d'autre part. Une échelle linéaire à 9 points (figure 4) a permis d'évaluer le degré d'appréciation des caractéristiques organoleptiques

#### **Test hédonique**

Un panel de cinquante (50) personnes a été mis en place. Ce panel était composé de personnes qui n'avaient pas été formées aux caractéristiques choisies. Il s'était agi de tester l'acceptabilité des différents échantillons de jus de pomme de cajou. Les échantillons de jus de pomme de cajou ont été présentés simultanément et de manière randomisée à chaque panéliste suivant une distribution en aveugle (échantillons codés). Chaque panéliste a classé les différents jus en fonction du plaisir ressenti. A la suite du test hédonique par classement, un test descriptif a été réalisé sur ces différents jus. Ensuite, des tests hédoniques ont été réalisés sur le jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé au cours de la conservation à différentes températures (Ouattara et al, 2016).

#### **Analyse descriptive**

La méthode a consisté à évaluer et quantifier les descripteurs appropriés (couleur, fluidité, clarté, arôme, sucré, acidité et astringence) selon une échelle de catégorie. L'intensité des descripteurs a été évaluée sur une échelle non structurée de 9 cm. De 0 pour descripteur non perçu à 9 pour extrêmement intense. Les échantillons ont été présentés à un panel composé de 50 personnes. Ces derniers sont composés de femmes et d'hommes. Les juges ont été sélectionnés sur la base de leur disponibilité et n'ayant pas d'inimitié pour le produit. Leur degré de sensibilité sensorielle, leur motivation et leur capacité à décrire un produit ont été aussi des critères de sélection. Ce jury a été entraîné à l'analyse sensorielle. L'échantillon a été présenté de façon monadique à chaque panéliste (Ouattara et al, 2016).

#### **Analyse statistique**

L'analyse statistique a été réalisée par les logiciels Excel 2016 et Statistica 7.1. Les comparaisons entre les variables ont été déterminées par analyse de variance ANOVA, test de Fisher dont le seuil de significativité est de 5%.

## RESULTATS

### Production du jus de pomme de cajou

Après extraction, le jus de pomme de cajou brut obtenu a une couleur blanchâtre. Le rendement de production du jus brut est donc de 79 %.

Après ajout de la gélatine on observe une floculation qui se décante au cours du temps. Les tanins en présence de protéines complexent. C'est cette propriété qui est utilisée pour clarifier le jus de pomme de cajou. La filtration avec un tissu en coton propre permet d'obtenir du jus clarifié incolore.

La pasteurisation du jus à 85 °C pendant 30 secondes donne un jus brun. Cette coloration est due à un brunissement non enzymatique appelé encore réaction de Maillard. En effet, le jus de pomme de cajou contient du glucose et du fructose qui sont des sucres réducteurs (Kouassi kan et al, 2017 ; Soro, 2012). Pendant le chauffage les groupements carbonyles de ces sucres vont se condenser avec les groupements amines des acides aminés des protéines pour donner des glucosamines et des fructosamines. Par une série de réactions de réarrangement et de polymérisation, ces molécules vont donner des mélanoidines qui sont de couleur brune, d'où la coloration brune de notre jus.

### ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

#### Jus brut, jus clarifié et jus clarifié pasteurisé

Les résultats des analyses physico-chimiques ayant portées sur le jus brut et le jus clarifié et pasteurisé lors de la transformation sont consignés dans le tableau 1.

La clarification a permis d'éliminer tous les tanins responsables de l'astringence de ce jus. L'étape de la filtration après la floculation permet l'élimination tous les tanins Le pH du jus lors de sa transformation est quasi stable passant de 4,27 à 4,21. Cela suppose que la clarification par la gélatine et la pasteurisation n'ont pas d'influence sur le pH. En plus le pH acide ( $4,21 \pm 0,01$ ) traduit une stabilité du jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé. Dans les jus de fruit, l'extrait sec soluble correspond à la teneur en sucre soluble contenu dans le jus. Les résultats montrent qu'après la pasteurisation cette teneur augmente à cause d'une concentration du jus.

#### Evolution au cours de la conservation

L'évolution du pH des échantillons de jus de pomme de cajou varie en fonction de la température de stockage et de la durée de stockage. En général, cette évolution est marquée par une augmentation du pH dans les trois conditions de stockage pour ensuite revenir au pH initial à température ambiante. Dans les échantillons de jus clarifiés pasteurisés et conservés à 4 °C, le pH est passé de  $4,21 \pm 0,01$  à  $4,49 \pm 0,00$ , pour les échantillons conservés à 20°C de  $4,21 \pm 0,01$  à  $4,39 \pm 0,01$  et de  $4,21 \pm 0,01$  à  $4,20 \pm 0,01$  pour les échantillons conservés à température ambiante. Il n'y a pas de différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les variations de pH du jus stocké aux différentes températures.

L'évolution de l'extrait sec soluble (ESS) d'échantillons de jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé conservés aux différentes températures de stockage est marquée par une diminution pour tous les échantillons (Figure 4). Les variations de l'ESS sont respectivement de  $9,6 \pm 0,0$  à  $9,27 \pm 0,15$  Brix et de  $9,6 \pm 0,0$  à  $8,77 \pm 0,05$  Brix pour les échantillons conservés à 4 et 20° C. pour ceux conservés à température ambiante, on observe une légère augmentation variant de  $9,6 \pm 0,0$  à  $9,7 \pm 0$  °Brix. Les différentes variations enregistrées ne sont pas statistiquement significatives ( $p < 0,05$ ).

### PROFIL SENSORIEL

#### Jus brut, jus clarifié, jus clarifié pasteurisé

##### Test hédonique

Les résultats du test hédonique présentés sur la figure 5 montrent que les différents jus de pomme de cajou ont été diversement appréciés. Le jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé a été le plus apprécié à 42% suivie du jus de pomme de cajou brut à 35% et le jus de pomme de cajou clarifié à 23%.

##### Test descriptif

Les caractéristiques sensorielles moyennes des jus de pomme de cajou sont présentés sur la figure 6. Les caractéristiques étudiées sont : la couleur, la fluidité, la clarté, l'arôme, la saveur, l'acidité et l'astringence.

Le jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé a une couleur jaune tandis que le jus brut est trouble et le jus clarifié incolore. Comparer aux deux autres jus, le jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé a

un arôme plus prononcé (7,35), elle est plus fluide (7,05) avec une bonne clarté (6,75). Elle est également plus sucrée (5,35), moins acide (1) et moins astringent (1). D'où le choix du panel.

#### **Test hédonique au cours de la conservation**

Au cours de la conservation, il ressort que le jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé conservé à température ambiante est plus apprécié par le panel au détriment de ceux conservés à 4 et 20°C. cependant à partir du 3<sup>ème</sup> mois de conservation (séance 4), celui-ci est déprécié au profit du jus conservé à 4°C.

#### **DISCUSSION**

Les jus de pommes de cajou brut, clarifié et clarifié pasteurisé analysés ont un pH respectif de 4,2, 4,11 et 4,21. Akinwalé (2000), Damasceno et al. (2008) et Adou et al. (2012), lors de leurs travaux ont obtenu respectivement un pH de 4,15 ; 4,4 ; 4,37 à 4,5 pour des jus bruts de pomme de cajou. Cette légère différence est due au fait que ces auteurs ont travaillé sur des jus bruts (non clarifiés) de pomme de cajou. Aussi, Adou et al. (2012) ont utilisé des pommes de cajou provenant de deux différentes régions de la Côte d'Ivoire que sont le centre et le nord-est. Les facteurs tels que la variété, la zone agro-écologique, le climat, les pratiques culturales, le niveau de maturité du fruit à la récolte (Drake et Eisele, 1994), les conditions de stockage du fruit (Drake et al., 2002; Drake et Eisele, 1999) et même les couleurs et formes des pommes cajou affectent leur composition physico-chimique (Adou et al., 2012). Au cours du stockage le pH passe de 4,21 à 4,49 pour 4°C, 4,39 pour 20°C et 4,20 pour la température ambiante. Cette variation est différente de celle observée par Adou et al (2019) où ils ont observé une baisse du pH au cours de la conservation. En effet, le pH a varié de 3,92 à 3,87 pour la température de 22°C et de 3,92 à 3,83 pour 5°C. cette différence serait due à la nature du jus car ayant travaillé sur le jus de pomme de cajou brut.

L'extrait sec soluble des jus de pomme de cajou est de 9,3°Brix pour le jus brut, 8,4°Brix pour le jus clarifié et 9,6 pour le jus clarifié pasteurisé. Akinwalé (2001) au Nigéria et Adou et al. (2012) en Côte d'Ivoire ont obtenu respectivement une teneur en extrait sec soluble de 11 et 10,2 à 10,9 °Brix pour le jus brut de pommes cajou. Ces valeurs qui ne sont pas identiques à celles trouvées dans la présente étude peuvent s'expliquer par des différences de conditions pédologiques et climatiques de ces pays. Au cours de la conservation il y a une baisse de la teneur en extrait sec soluble à 4 et 20°C et une augmentation de cette teneur à température ambiante. Elle passe respectivement de 9,6 °Brix à 9,27 et 8,77 à 4 et 20°C et à 9,7 °Brix à température ambiante. Les évolutions à 4 et 20°C sont semblables à celles observées par Adou et al (2019) où l'évolution était marquée par une diminution pour tous les échantillons à toutes les températures de conservation.

Le choix du panel pour le jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé peut s'expliquer par le fait qu'il est le plus sucré avec un extrait sec soluble de 9,6 °Brix par rapport aux jus brut et clarifié qui ont respectivement un °Brix de 9,3 et 8,4. Aussi ce meilleur résultat est dû à l'utilisation de la gélatine comme agent de clarification qui a permis d'éliminer les tanins du jus brut. En effet la teneur, naturellement élevée dans le jus brut de pomme de cajou (Adou et al., 2012) est responsable de l'astringence de ce dernier (Abreu et al., 2005).

Les profils sensoriels des jus de pomme de cajou montrent que le jus clarifié et pasteurisé est de couleur jaune, moins acide et moins astringent. Cette baisse de l'astringence s'explique par l'élimination des tanins. La clarification, la filtration et la pasteurisation influent sur la clarté, la couleur, l'indice de brunissement des jus. Le chauffage du jus pendant un temps relativement long engendre des jus beaucoup plus sombres. La même observation a été faite par Damasceno et al. (2008) au cours du traitement thermique du cajou à 80 et 121 °C.

La dépréciation du jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé conservé à température ambiante au profit du jus conservé à 4°C est due au changement de couleur et d'arôme de celui-ci. En effet, au cours de la conservation à température ambiante, nous observons la poursuite de la réaction de Maillard qui a pour effet d'impacter la couleur du jus. Le jus conservé à température ambiante est passé de la coloration jaune (blonde) à la coloration brune (caramel) alors que les jus conservés à 4 et 20°C ont conservé la coloration jaune d'origine. Cette observation a aussi été faite par Gössinger qui a montré que l'un des principaux problèmes des produits à base de fraise est que leur couleur rouge change facilement lors du stockage et est remplacée par une couleur brunâtre terne (Gössinger et al., 2009). Cela résulte de la dégradation simultanée des pigments naturels rouges d'anthocyanes en composés incolores (Kirca & Cemeroglu, 2003 ; Mercadante & Bobbio, 2008) et de la formation de pigments bruns due à des réactions

enzymatiques et/ou non enzymatiques (Bharate & Bharate, 2014 ; Garzón & Wrolstad, 2002 ; Gössinger et al., 2009).

Les réactions non enzymatiques de brunissement sont liées à la dégradation de l'acide ascorbique, aux réactions associées à Maillard et à la dégradation des sucres catalysée par les acides. Les intermédiaires de la dégradation de l'acide ascorbique et des sucres, tels que les composés carbonyles, peuvent se polymériser ou réagir avec les acides aminés et participer aux réactions associées à Maillard pour former des pigments de couleur brune (mélanoidines) (Carolien Buvé et al., 2017 ; Belitz et al., 2009 ; Bharate & Bharate, 2014 ; Roig et al., 1999 ; Yuan & Chen, 1998).

Aussi, les facteurs favorisant les réactions de brunissement non enzymatiques sont notamment le pH, la concentration en acide ascorbique, les sucres et les acides aminés, la disponibilité de l'oxygène et les conditions de traitement et de stockage (Bharate & Bharate, 2014 ; Castañeda Ovando et al., 2009 ; Mercadante & Bobbio, 2008). Bien que le brunissement des produits à base de fruits pendant le stockage ait déjà fait l'objet d'études intensives, la compréhension de ce problème est encore limitée (Bharate & Bharate, 2014).

## CONCLUSION

Cette étude entre dans le cadre de la valorisation de la pomme de cajou en Côte d'Ivoire. L'analyse hédonique réalisé sur les trois types de jus de pomme de cajou a montré que le jus clarifié et pasteurisé est le plus prisé.

Les opérations unitaires que sont la clarification, la filtration et la pasteurisation ont contribué à l'obtention d'un jus de pomme de cajou de qualité nutritionnel et organoleptique. Ce jus a pour qualités référentielles une belle couleur (jaune), une bonne clarté, un bon arôme de pomme de cajou, une faible acidité et surtout sa non astringence. L'étude de stabilité des différents échantillons conservés à différentes températures a montré que le pH variait peu et restait inférieur à 4,5 comme recommandé par la norme sur les jus de fruit. Aussi la variation de l'extrait sec soluble n'était pas significative d'où la stabilité nutritionnelle du jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé au cours de sa conservation. Cependant il est à noter le changement de couleur du jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé conservé à température ambiante qui a eu comme conséquence la dépréciation de ce jus après trois mois de conservation. De manière générale, le traitement thermique et une température basse (<28°C) de conservation sont les moyens efficaces de conserver le jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé. Enfin, pour déterminer la qualité globale du jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé, il faut faire un test de vieillissement à travers les analyses microbiologiques.

## Reference bibliographique

- Abreu Fernando AMP, Dornier M, Reynes M.**, 2005. Potentialités de la microfiltration tangentielle sur membranes minérales pour la clarification du jus de pomme de cajou. *Fruits*. 60 : 33-40.
- Abreu**, 2012 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
- Adesiji G.B, Omotesho K.F, Bolarin O. and Aigbavboa P.**, 2012. Assessment of Training Needs of Cashew Farmers in Owan East Local Government Area of Edo State, Nigeria. *Agrosearch*, 12(2) :184 – 195.
- Adou M, Tetchi FA, Gbané M, Kouassi KN, Amani NG.**, 2012. Physico-chemical characterization of cashew apple juice (*Anacardium occidentale* L.) from Yamoussoukro (côte d'ivoire). *Innov. Rom. Food Biotechnol.*, 11: 32-43.
- Adou Marc, Tetchi Fabrice Achille, Adjouman Yao Désiré, Amani N'Guessan Georges**, 2019. Stabilization and Sensory Evaluation of Cashew Apple Juice (*Anacardium occidentale* L.) from the Northeast Region in Côte d'Ivoire, *J Food Sci Nutr Res*; 2 (2): 108-127
- Akinwale TO**. 2000. Cashew apple juice: Its use in fortifying the nutritional quality of some tropical fruits. *Eur. Food Res. Technol.*, 211: 205-207.
- Akinwalé TO, Aladesua OO**. 2001. Comparative study of physico-chemical properties and effect of different techniques on the quality of cashew juice from Brazilian and local varieties. *Nig. J. Tree Crop Research.*, 3(1): 56-58
- Alvarez S, Riera FA, Alvarez R, Coca J, Cuperus FP, Bouwer ST, et al., 2000. A new integrated membrane process for producing clarified apple juice and apple juice aroma concentrate. *J Food Eng.* (46) 109–25.
- Anonyme 1, Conseil du Coton et de l'Anacarde (CCA)**, 2018
- Armed-Forces-Food, Container-Institute, Peryam, D. R., Pilgrim, F. J., & Peterson, M. S.** (1954). Food Acceptance Testing Methodology: Advisory Board on Quartermaster Research and Development, Committee on Foods, Nat'l Academy of Sciences/National Research Council.
- Assunção, R. B. and A. Z. Mercadante**, 2003. "Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.): variety and geographic effects." *Food Chemistry* 81(4): 495-502.
- Belitz H.-D., Grosch W., Schieberle P.**, 2009. *Food Chemistry* (4th revise). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. P. 1070.

- Betül Erkan-Koç , Meltem Türkyılmaz , Oktay Yemis , Mehmet Özkan**, 2015. Effects of various protein- and polysaccharide-based clarification agents on antioxidative compounds and colour of pomegranate juice. *Food Chem.* (184) 37-45.
- Bharate S.S., Bharate S.B.**, 2014. Non-enzymatic browning in citrus juice : chemical markers, their detection and ways to improve product quality. *J. Food Sci. Technol.* (51) 2271–2288.
- Bhat M.G., Nagaraja K.V. and Rupa T.R.**, 2010. Cashew research in India, *Journal of Horticultural Sciences*, 5(1) : 1-16.
- Carolien Buvé, Biniam T. Kebede, Cédric De Batselier, Celia Carrillo, Huong T.T. Pham, Marc Hendrickx, Tara Grauwet, Ann Van Loey**, 2017. Kinetics of colour changes in pasteurised strawberry juice during storage, *Journal of Food Engineering*, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2017.08.002.
- Castañeda-Ovando A., Pacheco-Hernández M. d. L., Páez-Hernández M.E., Rodríguez J.A., Galán-Vidal, C.**, 2009. Chemical studies of anthocyanins : A review. *Food Chem.* (113) 859-871.
- Damasceno LF, Fernandes FANM, Brito ES**. 2008. Evaluation and optimization of non enzymatic browning of “cajuina” during thermal treatment. *Bra. J. Chem Eng.*, 25(02): 313-320. [Anacardiuminfo.com](http://Anacardiuminfo.com)
- Deng, Z., Wang, F., Zhou, B., Li, J., Li, B., Liang, H.**, 2019. Immobilization of pectinases into calcium alginate microspheres for fruit juice application, *Food Hydrocolloids* (89) 691-699
- Depled, F., & SSHA**, 2009. Evaluation sensorielle : manuel méthodologique (3e édition). In, *Collection Sciences & Techniques Agroalimentaires* (ISSN 0243-5624). Paris (FRA): Lavoisier, Tec et Doc
- Dossou J., Ahouansou R.H., Sanya C.A.K., V. Ahyi**, 2019. Etude des performances techniques d'un filtre-pressé pour la filtration du jus de pomme d'anacarde (*anacardium occidentale L.*). *Afr. J. Food Agric. Nutr. Dev.*; 19(3): 14690-14707.
- Drake SR, Eisele TA.**, 1994. Influence of harvest date and controlled atmosphere storage delay on the color and quality of 'delicious' apples stored in a purge-type controlled-atmosphere environment. *Hort. Technol.*, 4: 260-263.
- Drake SR, Eisele TA.**, 1999. Carbohydrate and acid contents of gala apples and bartlett pears from regular and controlled atmosphere storage. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 3181-3184.
- Drake SR, Elfving DC, Eisele TA.**, 2002. Harvest maturity and storage affect quality of 'cripps pink' (pink lady) apples. *Hort. Technol.*, 12: 388-391.
- Emmanuelle S.C.A. DEDEHOU, Joseph DOSSOU, Mohamed M. SOUMANOU**, 2015. Etude diagnostique des technologies de transformation de la pomme de cajou en jus au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 9(1) : 371-387.
- Garzón G.A., Wrolstad R.E.**, 2002. Comparison of the Stability of Pelargonidin-based Anthocyanins in Strawberry Juice and Concentrate. *J. Food Sci.* (67) 1288–1299.
- Gninfanni Silvere OUATTARA, Doudjo SORO, Kouamé Olivier CHATIGRE, Ernest Kouadio KOFFI**, 2016. Caractérisation physico-chimique et sensorielle de diverses formulations de jus à base de pomme de cajou et d'ananas. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 10(6): 2447-2460.
- Gössinger M., Moritz S., Hermes M., Wendelin S., Scherbichler H., Halbwirth H., Stich K., Berghofer E.**, 2009. Effects of processing parameters on colour stability of strawberry, nectar made from puree. *J. Food Eng.* (90) 171–178.
- Iliaria Benucci, Caterina Mazzocchi, Claudio Lombardelli, Iliaria Cacciotti, Marco Esti** , 2019. Multi-enzymatic Systems Immobilized on Chitosan Beads for Pomegranate Juice Treatment in Fluidized Bed Reactor: Effect on Haze-Active Molecules and Chromatic Properties. *Food Bioprocess Tech.* (12) 1559–1572
- ISO 1842**, 1991, Produits dérivés des fruits et légumes, Mesurage du pH
- ISO 2173**, 2003, Produits dérivés ds fruits et légumes. Détermination du résidu sec soluble, méthode réfractométrique.
- Kirca A., Cemeroglu B.**, 2003. Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. *Food Chem.* (81) 583–587.
- Lautié, E., M. Dornier, F. De Souza, M. and M. Reynes**, 2001. "Les produits de l'anacardier: caractéristiques, voies de valorisation et marchés." *Fruits* 56: 235-248.
- Lucas Dal Magro, João Pedro S. Pessoa, Manuela P. Klein, Roberto Fernandez-Lafuente, Rafael C. Rodrigues**, 2020. Enzymatic clarification of orange juice in continuous bed reactors: Fluidized-bed versus packed-bed reactor. *Catalysis Today*, <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2020.02.003>
- Martina Cerreti, Katia Liburdi, Iliaria Benucci, Marco Esti** , 2016. The effect of pectinase and protease treatment on turbidity and on haze active molecules in pomegranate juice. *LWT - Food Science and Technology* (73) 326-333
- Martina Cerreti, Katia Liburdi, Iliaria Benucci , Sara Emiliani Spinelli, Claudio Lombardelli, Marco Esti**, 2017. Optimization of pectinase and protease clarification treatment of pomegranate juice. *LWT - Food Science and Technology* (82) 58-65
- Mercadante A.Z., Bobbio F.O.**, 2008. Anthocyanins in Foods: Occurrence and Physicochemical Properties, in: Socaciu, C. (Ed.), *Food Colorants-Chemical and Functional Properties*. CRC Press, Boca Raton, pp. 241–276.
- Michodjehoun-Mestres, L.**, 2009. Etude des composés phenoliques de la pomme cajou (Anacardium occidentale L.). *Biochimie, chimie et technologie alimentaire*. Montpellier, Université Montpellier II. Thèse de Doctorat: 97 pages.
- NF EN ISO 13299** : Analyse sensorielle - Méthodologie - Directives générales pour l'établissement d'un profil sensoriel  
Titre : Analyse sensorielle - Méthodologie - Directives générales pour l'établissement d'un profil sensoriel  
Indice de classement : V09-007
- Ricau P.**, 2013. Connaitre et comprendre le marché international de l'anacarde. *RONGEAD*, 49 p.
- Roig M.G., Bello J.F., Rivera Z.S., Kennedy J.F.**, 1999. Studies on the occurrence of non-enzymatic browning during storage of citrus juice. *Food Res. Int.* (32) 609–619.
- Rui Carlos Castro Domingues, Sebastião Braz Faria Junior, Rafael Bernardes Silva, Vicelma Luiz Cardoso, Miria Hespagnol Miranda Reis**, 2012. Clarification of passion fruit juice with chitosan : Effects of coagulation process variables and comparison with centrifugation and enzymatic treatments. *Process Biochemistry* (47) 467–471
- Soro D, Abreu F, Assidjo E, et al.**, 2011. The cashew (*anacardium occidentale*) industry in Côte d'Ivoire: analysis and prospects for development. *Fruits* 66 (2011): 237-245.

**Soro D.**, 2012. Couplage de procédés membranaires pour la clarification et la concentration du jus de pomme de cajou : performances et impacts sur la qualité des produits. Thèse de doctorat : Génie des procédés, Institut des régions chaudes, Montpellier, Montpellier, SupAgro.

**Stone H., & Sidel J. L.**, 2004. Sensory Evaluation Practices. London, U.K.: Elsevier Academic Press.

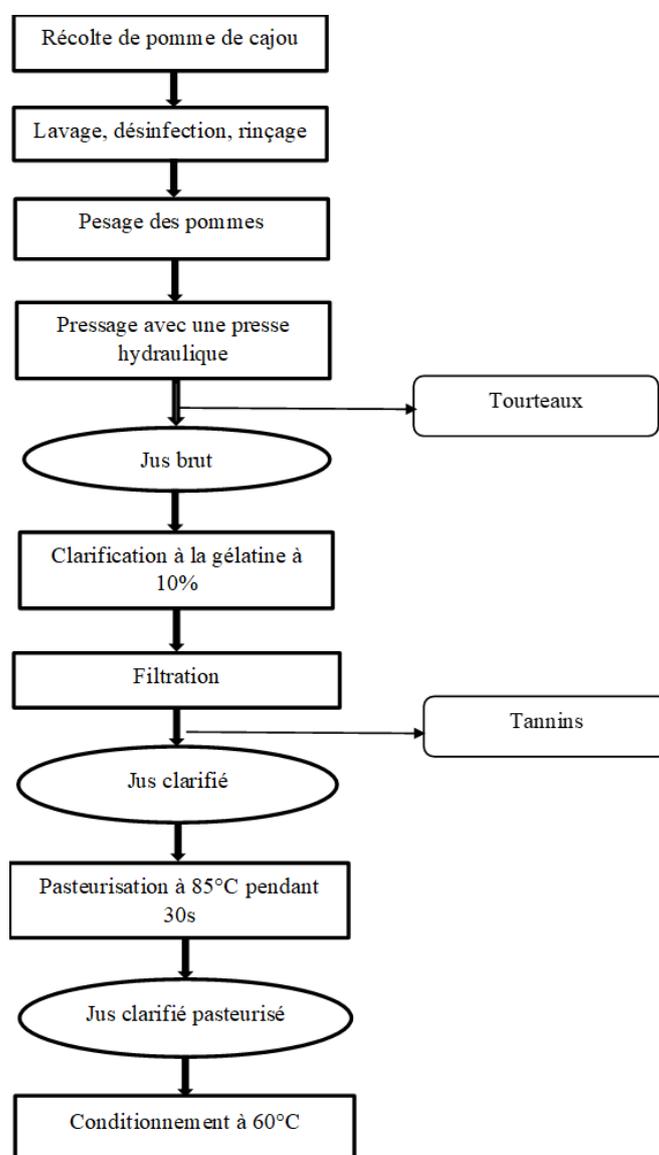
**Strigler, F., Touraille, C., Sauvageot, F., Barthélémy, J., Issanchou, S., & Pagès, J.**, 2009. Les épreuves discriminatives et descriptives. In, Evaluation sensorielle : manuel méthodologique (3e édition). Paris (FRA): Lavoisier, Tec et Doc.

**Yuan J.-P., Chen F.**, 1998. Degradation of Ascorbic Acid in Aqueous Solution. J. Agric. Food Chem. (46) 5078–5082.

## FIGURES ET DIAGRAMME



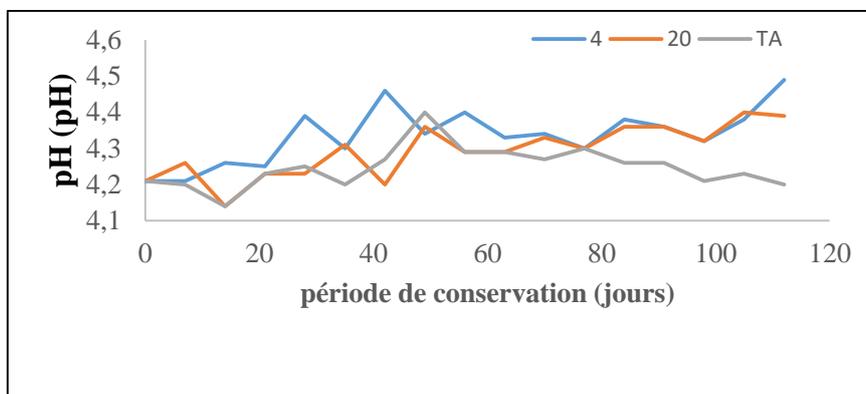
**Figure 1** : photographie de pomme de cajou



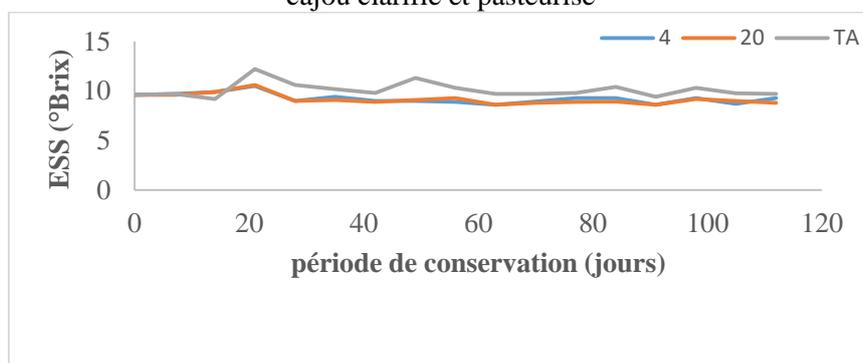
**Figure 2** : Diagramme de production de jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé

**Tableau 1:** évolution des paramètres physicochimiques du jus de pomme de cajou au cours de la production

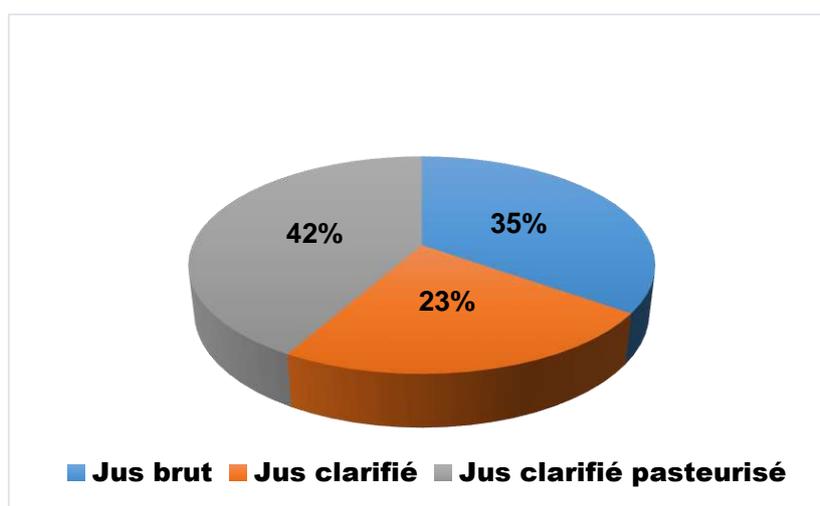
PARAMETRES	Jus brut	Jus clarifié	Jus clarifié pasteurisé
pH	4,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	4,11 ± 0,0 <sup>b</sup>	4,21 ± 0,0 <sup>a</sup>
ESS (g/100g)	9,3 ± 0,0 <sup>a</sup>	8,4 ± 0,15 <sup>b</sup>	9,6 ± 0,0 <sup>c</sup>



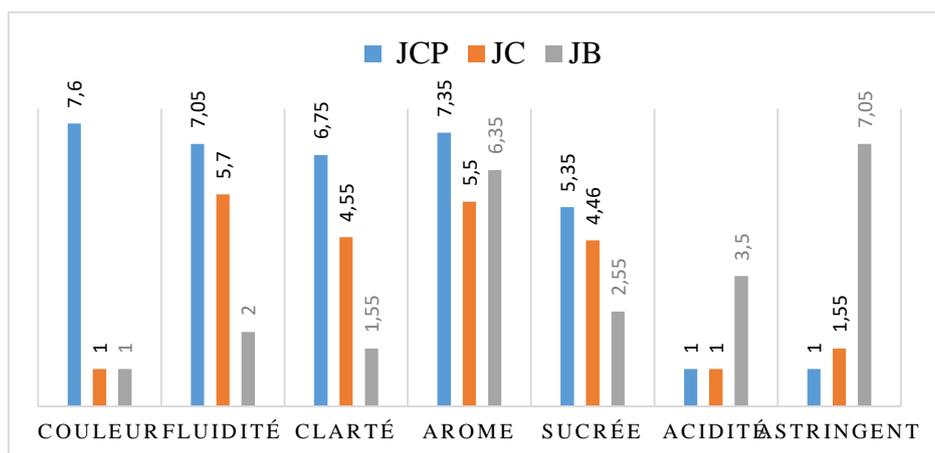
**Figure 3:** Evolution du pH lors de la conservation à différentes températures du jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé



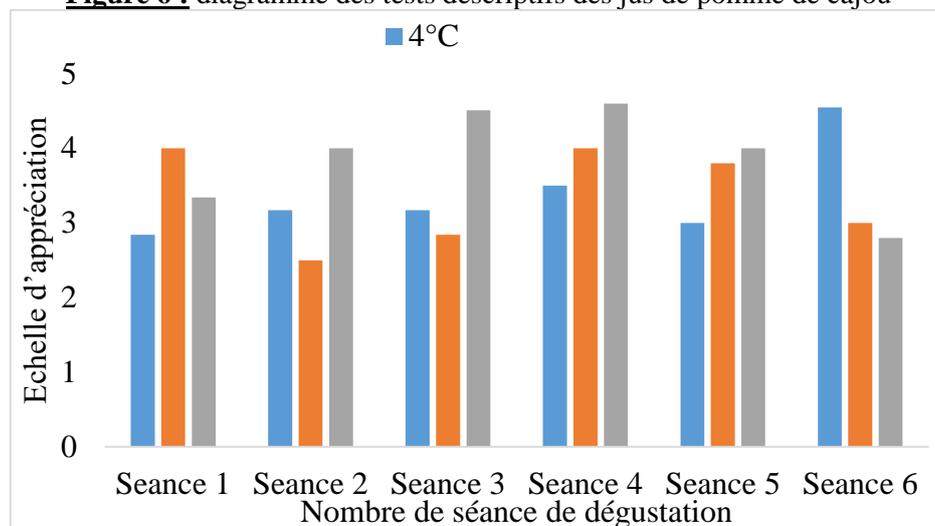
**Figure 4:** Evolution de l'ESS lors de la conservation à différentes températures du jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé



**Figure 5 :** diagramme d'acceptabilité du jus de pomme de cajou



**Figure 6 :** diagramme des tests descriptifs des jus de pomme de cajou



**Figure 7:** Diagramme d'évolution de l'appréciation du jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé au cours de sa conservation

## **Modelisation et commande d'un procede d'extraction d'huile vegetale par extrudeuse bivis**

**Droguy Yves<sup>1\*</sup>, Soro Yaya<sup>2</sup>, Sissoko Amara<sup>3</sup>**

*BP 1093 Yamoussoukro, Cote d'Ivoire.*

*BP 1093 Yamoussoukro, Cote d'Ivoire.*

*BP 1093 Yamoussoukro, Cote d'Ivoire.*

Les oléagineuses sont des plantes dont les graines contiennent une grande quantité d'huile. Nous avons généralement deux technologies utilisées pour l'extraction de ces huiles que sont l'extraction par réacteur et par presse mono-vis. C'est deux technologies bien qu'utilisées en industrie ont des limites notamment au niveau de la quantité d'extraction pour le réacteur et au niveau de la qualité des huiles extraites pour la presse monovis. Face à ces défis, nous voudrions utiliser une extrudeuse bivis comme extracteur d'huile végétale. Notons cependant l'utilisation optimale d'une extrudeuse nécessite l'asservissement des paramètres qui gouvernent celle-ci. Ainsi l'objectif final de ce projet consistera à synthétiser une loi de commande qui permettra de contrôler les rendements et la qualité des huiles en sortie d'une extrudeuse bivis. Concrètement nous allons d'abord comparer la qualité des huiles obtenues par extrudeuse bivis et presse mono-vis. Ensuite développer un modèle thermomécanique d'une extrudeuse bivis. Enfin synthétiser une loi de commande.

A cet stade, nous avons établi des modèles représentant l'aspect écoulement et thermique de notre extrudeuse. Ce modèle reste incomplet car il ne décrit pas tous les aspects de notre technologie. En perspective nous devons élaborer l'aspect réactionnel de notre modèle puis synthétiser notre loi de commande

**Mots Clés :** presse mono-vis ; extrudeuse bivis ; modélisation

### **Modeling and control of vegetable oil extraction process with twins screws extruder**

#### **Abstract**

Oilseeds are plants whose seeds contain a large amount of oil. We generally have two technologies used for the extraction of these oils, which are reactor extraction and single-screw press. These two technologies, although used in industry, have limits, particularly in terms of the quantity of extraction for the reactor and the quality of the oils extracted for the single screw press. Faced with these challenges, we will want to use a twin-screw extruder as a vegetable oil extractor. Note, however, the optimal use of an extruder requires the control of the parameters that govern it. Thus, the final objective of this project will consist in synthesizing a control law which will make it possible to control the yields and the quality of the oils leaving a twin-screw extruder. In concrete terms, we will first compare the quality of the oils obtained by a twin-screw extruder and a single-screw press. Then develop a thermomechanical model of a twin-screw extruder. Finally, synthesize a control law.

At this stage, we have established models representing the flow and thermal aspect of our extruder. This model remains incomplete because it does not describe all aspects of our technology. In perspective, we must develop the reactional aspect of our model and then synthesize our control law

**Keywords :** single-screw press ; twin-screw extruder : modelling

#### **1. Introduction,**

Procédé continu fondé sur un système vis-fourreau, l'extrusion est utilisée pour fabriquer des produits finis ou des semi-produits par passage à travers une filière mais également pour des étapes de granulation, de compoundage ou de polymérisation [2]. On parle d'extrusion monovis lorsqu'il existe une vis unique, tournant au sein d'un fourreau cylindrique et d'extrusion bivis lorsque l'on a affaire à deux vis, généralement parallèles, tournant à l'intérieur d'un fourreau dont la section a la forme d'un huit. La différence entre ces deux technologies réside principalement dans le mécanisme de transport et le mode d'écoulement [3].

Notons que les extrudeuses bivis ont été d'abord développées en plasturgie pour la mise en forme des polymères. Ensuite elles ont été développées dans le domaine alimentaire avec la fabrication des pattes infantiles. Aussi elles ont été extrapolées dans le domaine pharmaceutique. Enfin dans ces dernières décennies, certains auteurs les ont utilisées comme extracteur d'huile végétal tel que l'huile de neem, de colza, de jatropha et de luzerne.

Ce travail ira donc dans le même sens en utilisant une extrudeuse bivis comme extracteur de certaines graines oléagineuses de Côte d'Ivoire

## 2. Matériel et méthodes

Comme matériels nous allons utiliser une presse monovis semi -industrielle et une extrudeuse bivis, tout deux situés sur le site de l'INP-HB. A ces deux équipements , il faudrait ajouter un colorimètre , un viscosimètre , des colorants alimentaires et des logiciels de simulation.

D'autre part, les graines oléagineuses retenues sont l'amande d'arachide, l'amande de cajou, la fève de cacao et la graine de jatropha.

Quant à la méthode de travail, elle pourrait être subdivisée en deux grandes parties dont une méthodes thermo-chimique et une méthode thermo-mécanique.

La méthode thermo-chimique consistera à :

- Faire un plan d'expérience
- Caractériser les huiles obtenues par presse et extrudeuse bivis
- Déterminer le couple de paramètres opératoires optimaux
- Construction d'un modèle statistique

Quant à l'aspect thermo-mécanique , il consistera à :

- Synthétiser des équations
- Construire un modèle dynamique global théorique
- Valider le modèle dynamique théorique
- Linéariser et Intégrer le modèle dans un simulateur
- Synthétiser une loi de commande

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Premier sous-titre : Représentation en RCPA de notre extrudeuse bivis

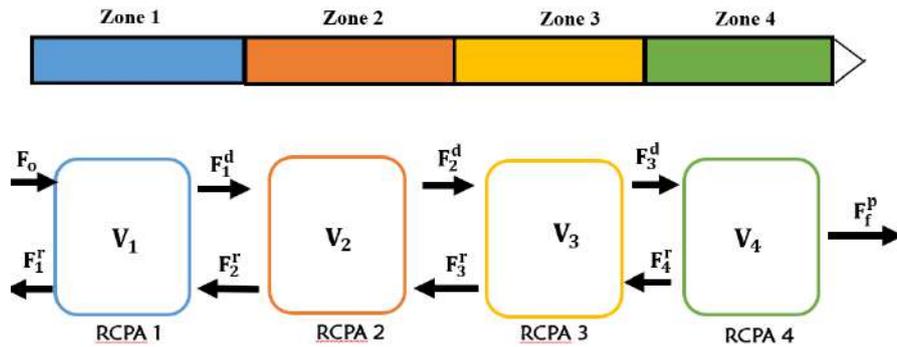


Figure I : Subdivision de l'extrudeuse en reacteur

### 3.2. Deuxième sous-titre : Modèle écoulement théorique

$$F_2^d + F_4^r = F_3^d + F_3^r \quad f = 1$$

$$F_2^d - F_3^d = \frac{K_3^r}{\eta_3} (P_3 - P_2) - \frac{K_4^r}{\eta_4} (P_4 - P_3)$$

$$F_1^d - F_2^d = \left( \frac{K_3^r}{\eta_3} + \frac{K_4^r}{\eta_4} \right) P_3 - \frac{K_3^r}{\eta_3} P_2 - \frac{K_4^r}{\eta_4} P_4$$

Type d'équation 1 : Bilan de masse globaux

$$\text{Eq1} \left\{ \begin{array}{l} \rho_m V_1 \frac{df_1}{dt} = F_0 - F_1^d - F_1^r + F_2^r \\ \rho_m V_2 \frac{df_2}{dt} = F_1^d - F_2^d - F_2^r + F_3^r \\ \rho_m V_3 \frac{df_3}{dt} = F_2^d - F_3^d - F_3^r + F_4^r \\ \rho_m V_4 \frac{df_4}{dt} = F_3^d - F_f^p + F_4^r \end{array} \right. \text{Eq3}$$

$$\left. \begin{array}{l} \text{Eq2} \\ F_1^d + F_3^r = F_2^d + F_2^r \quad f = 1 \\ F_1^d - F_2^d = \frac{K_2^r}{\eta_2} (P_2 - P_1) - \frac{K_3^r}{\eta_3} (P_3 - P_1) \\ F_1^d - F_2^d = \left( \frac{K_2^r}{\eta_2} + \frac{K_3^r}{\eta_3} \right) P_2 - \frac{K_2^r}{\eta_2} P_1 - \frac{K_3^r}{\eta_3} P_3 \end{array} \right\} 381$$

**Type d'équation 2 : Bilan des pressions**

$$\text{Eq4} \quad \begin{bmatrix} P_1 \\ P_2 \\ P_3 \\ P_4 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{1}{1} & 0 & 0 & 0 \\ \frac{1}{1} & -\frac{K_2^r}{\eta_2} & \frac{K_2^r}{\eta_2} + \frac{K_3^r}{\eta_3} & -\frac{K_3^r}{\eta_3} \\ 0 & -\frac{K_3^r}{\eta_3} & \frac{K_3^r}{\eta_3} + \frac{K_4^r}{\eta_4} & -\frac{K_4^r}{\eta_4} \\ \frac{1}{1} & 0 & 0 & \frac{1}{1} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} P_0 \\ F_1^d - F_2^d \\ F_2^d - F_3^d \\ P_0 \end{bmatrix}$$

Les équations du modèle écoulements permettront de calculer les pressions, les taux de remplissage et les débits directs au sein de notre extrudeuse bivis [1]

**3.3. Troisième sous titre : Modèle thermique théorique**

**Type d'équation 1 : Bilan d'énergie sur la matière**

$$\begin{aligned} f_1 \cdot M_1^m \cdot \frac{dT_1^m}{dt} &= F_0 C_p^m (T_m - T_1^m) + F_2^r \cdot C_p^m (T_2^m - T_1^m) + U_f \cdot f_1 \cdot S_f^1 (T_1^f - T_1^m) + U_v \cdot f_1 \cdot S_f^1 (T_1^v - T_1^m) \\ &\quad + f_1 \cdot q_1^{ciz} + f_1 \cdot V_1 \cdot r_1 + (-\Delta H_r) \\ f_2 \cdot M_2^m \cdot \frac{dT_2^m}{dt} &= F_1^d \cdot C_p^m (T_1^m - T_2^m) + F_3^r \cdot C_p^m (T_3^m - T_2^m) + U_f \cdot f_2 \cdot S_2^f (T_2^f - T_2^m) + U_v \cdot f_2 \cdot S_2^v (T_2^v - T_2^m) \\ &\quad + f_2 \cdot q_2^{ciz} + f_2 \cdot V_2 \cdot r_2 + (-\Delta H_r) \\ f_3 \cdot M_3^m \cdot \frac{dT_3^m}{dt} &= F_2^d \cdot C_p^m (T_2^m - T_3^m) + F_4^r \cdot C_p^m (T_4^m - T_3^m) + U_f \cdot f_3 \cdot S_3^f (T_3^f - T_3^m) + U_v \cdot f_3 \cdot S_3^v (T_3^v - T_3^m) \\ &\quad + f_2 \cdot q_2^{ciz} + f_3 \cdot V_3 \cdot r_3 + (-\Delta H_r) \\ f_4 \cdot M_4^m \cdot \frac{dT_4^m}{dt} &= F_3^d \cdot C_p^m (T_3^m - T_4^m) + F_4^r \cdot C_p^m (T_4^m - T_3^m) + U_f \cdot f_4 \cdot S_4^f (T_4^f - T_4^m) + U_v \cdot f_4 \cdot S_4^v (T_4^v - T_4^m) \\ &\quad + f_4 \cdot q_4^{ciz} + f_4 \cdot V_4 \cdot r_4 + (-\Delta H_r) \end{aligned}$$

**Type d'équation 2 : Bilan d'énergie sur le fourreau**

$$\begin{cases} M_1^f \cdot C_p^f \cdot \frac{dT_1^f}{dt} = U_{ext} \cdot S_{ext} \cdot (T_{ext} - T_1^f) + U_f \cdot f_1 \cdot S_1^f (T_1^m - T_1^f) + \frac{\lambda_f S_f}{e_1} (T_2^f - T_1^f) + \phi_1 & M_2^f \cdot C_p^f \cdot \frac{dT_2^f}{dt} = \\ U_{ext} \cdot S_{ext} \cdot (T_{ext} - T_2^f) + U_f \cdot f_2 \cdot S_2^f (T_2^m - T_2^f) + \frac{\lambda_f S_f}{e_2} (T_1^f - T_2^f) + \frac{\lambda_f S_f}{e_2} (T_3^f - T_2^f) + \phi_2 \\ M_3^f \cdot C_p^f \cdot \frac{dT_3^f}{dt} = U_{ext} \cdot S_{ext} \cdot (T_{ext} - T_3^f) + U_f \cdot f_3 \cdot S_3^f (T_3^m - T_3^f) + \frac{\lambda_f S_f}{e_3} (T_2^f - T_3^f) \\ \quad + \frac{\lambda_f S_f}{e_3} (T_4^f - T_3^f) + \phi_3 \\ M_4^f \cdot C_p^f \cdot \frac{dT_4^f}{dt} = U_{ext} \cdot S_{ext} \cdot (T_{ext} - T_4^f) + U_f \cdot f_4 \cdot S_4^f (T_4^m - T_4^f) + \frac{\lambda_f S_f}{e_4} (T_3^f - T_4^f) + \phi_3 \end{cases}$$

**Type d'équation 3 : Bilan d'énergie sur la vis**

$$M_1^f \cdot C_p^v \cdot \frac{dT_1^f}{dt} = U_v \cdot f_1 \cdot S_1^v (T_1^m - T_1^v) + \frac{\lambda_v S_v}{e_2} (T_2^v - T_1^v)$$

$$M_2^f \cdot C_p^v \cdot \frac{dT_2^f}{dt} = U_v \cdot f_2 \cdot S_2^v (T_2^m - T_2^v) + \frac{\lambda_v S_v}{e_1} (T_1^v - T_2^v) + \frac{\lambda_v S_v}{e_2} (T_3^v - T_2^v)$$

$$M_3^f \cdot C_p^v \cdot \frac{dT_3^f}{dt} = U_v \cdot f_3 \cdot S_3^v (T_3^m - T_3^v) + \frac{\lambda_v S_v}{e_2} (T_2^v - T_3^v) + \frac{\lambda_v S_v}{e_3} (T_4^v - T_3^v)$$

$$M_4^f \cdot C_p^v \cdot \frac{dT_4^f}{dt} = U_v \cdot f_4 \cdot S_4^v (T_4^m - T_4^v) + \frac{\lambda_v S_v}{e_3} (T_3^v - T_4^v)$$

Les équations du modèle thermique permettront de calculer les températures au sein de notre extrudeuse bivis [1]

#### 4. Conclusion (Times New Roman 11 normal)

Au terme de notre première partie de projet, nous avons développé des modèles régissant l'aspect écoulement et thermique d'une extrudeuse bivis. cette modélisation est encore incomplète car nous devons élaborer un modèle réactionnel. Notons cependant que ces équations sont théoriques, nous devons désormais les valider expérimentalement, les linéariser puis synthétiser notre loi de commande.

Par ailleurs, nous devons commencer les travaux régissant l'aspect thermo-chimique qui consistera d'emblée à caractériser les huiles obtenues en extrudeuse bivis et en presse monovis.

#### 5. Bibliographie : numérotées dans le texte avec des [ ], ici par ordre d'apparition

- 1) Ville d'Avray, M.-A. de. Contribution à l'élaboration d'un Outil de Simulation de Procédés de Transformation Physico-Chimique de Matières Premières Issues Des Agro Ressources : Application Aux Procédés de Transformation de Biopolymères Par Extrusion Réactive. Theses, Ecole Centrale Paris, 2010.
- (2) Fenouillot, F. L'extrusion Réactive, Une Voie Privilégiée Pour La Synthèse de Nouveaux Matériaux Polymères et Composites.
- (3) Choulak, S. E. Modélisation et Commande d'un procédé d'Extrusion Réactive. phdthesis, Université Claude Bernard - Lyon I, 2004.
- (4) Diagne, M. L. Modelling and Control of Systems of Conservation Laws with a Moving Interface : An Application to an Extrusion Process. Theses, Université Claude Bernard - Lyon I, 2013.
- (5) Quelal, R. S. R. Processing, Characterization and Simulation of Extrusion Process. 2019

## Clarification du jus de pomme de cajou avec la gomme d'anacardier [*anacardium occidentale* (L.)]

Toure Naka<sup>1</sup>, Soro Pégnonsienrè Lacina<sup>1</sup> Et Dabonne Soumaïla<sup>2</sup>

*1Laboratoire de Biocatalyse et des Bioprocédés, UFR des Sciences et, UFR des Sciences et Technologies des Aliments, Université NANGUI ABROGOUA (02 BP 801 Abidjan 02, 00225, Côte d'Ivoire)*

*2Laboratoire de Biotechnologie et Valorisation des Agroressources et Substances Naturelles UFR Sciences Biologiques de l'Université Pelefero Gon Coulibaly (BP1328 Korhogo, Côte d'Ivoire)*

[tnakan@yahoo.fr](mailto:tnakan@yahoo.fr)

**Résumé :** La pomme de cajou, bien que riche en nutriments demeure un sous-produit industriel par rapport à la noix [1]. Aussi, sa transformation en jus constituerait une source de revenu supplémentaire pour les producteurs . Cependant, cette transformation est fortement limitée par l'astringence du jus due à la présence de tannins condensés, sa grande thermo sensibilité et sa richesse en sucres réducteurs responsables des réactions de Maillard lors des traitements thermiques. L'objectif de la présente étude est de mettre au point des technologies simples et appropriées pour la transformation de la pomme en des produits exemptes de toute astringence et facilement acceptés par les populations locales. La gomme purifiée à partir des exsudats du tronc de l'anacardier a été utilisée comme agent de clarification du jus brut des pommes. Les caractéristiques physico chimiques des jus bruts et des jus clarifiés ont été analysées. Les résultats obtenus montrent que la gomme réduit de 48% le taux de tannin et de 89,5% le taux de protéine. En conclusion, elle améliore nettement la clarté du jus comparé à la gélatine (agent de référence). Toutefois, la maîtrise du potentiel de clarification avec la gomme exige une connaissance plus approfondie de celle-ci et de ses propriétés

**Mots clés :** jus de pomme de cajou, gomme d'anacardier, clarification

## Clarification of apple juices with cashew gum [*western anacardium* (L.)]

### Abstract :

Cashew apples, although rich in nutrients (vitamin C, Mg, P ...), remain an industrial by-product compared to cashew nuts, although rich in nutrients (vitamin C, Mg, P ...). Also, its transformation into juice would be an additional source of income for producers. However, this transformation is strongly limited by the astringency of the juice due to the presence of condensed tannins, the high sensitivity of the product in terms of nutritional and sensory and the richness in reducing sugar responsible for Maillard's reactions during heat treatments. The objective of this study is to develop simple and appropriate technologies for the transformation of apples into products that are free of astringency and easily accepted by local populations. The vegetable gum purified from the trunk exudates of the cashew tree was used as a clarification agent for the crude cashew apple juice. The physicochemical characteristics of raw juices and clarified juices were analyzed. The results obtained show that cashew gum reduces tannin by 48% and protein content by 89.5%. Moreover, the gum significantly improves the clarity of the juice (78%) compared to the gelatin (reference agent). The effective concentration of the gum for juice clarification by precipitation is 4.762 g / L.

Keywords: cashew apple juice, cashew gum, clarification.

### 1. Introduction

L'anacardier est cultivé dans la plupart des pays tropicaux du monde entier en majeure partie pour sa noix [1]. Depuis 2014, elle est devenue la deuxième culture commerciale principale en Côte d'Ivoire en termes de valeur à l'exportation derrière le cacao et devant le coton. En Côte d'Ivoire, la noix de cajou a très vite suscité un intérêt si bien que le pays est devenu aujourd'hui, avec quelques 702 000 tonnes de noix de cajou, le 1<sup>er</sup> producteur mondial devant l'Inde [2]. Ce tonnage de noix correspond à 5.616.000 tonnes par an de pommes cajou selon le rapport de poids pomme/noix qui est de 8/1 [3]. Sa production permet de résoudre les problèmes complémentaires de développement tels que l'économie, le social et l'environnement [4]. Cependant, les 19 régions de production de noix de cajou présentent les taux de pauvreté les plus élevés du pays [5]. alors que la culture de l'anacardier présente de nombreux sous-produits non utilisés tels que la pomme cajou. Malheureusement, à la récolte de la noix, la pomme de cajou est délaissée dans les champs sans une valorisation appropriée [6]. Jusqu'à présent la consommation de la pomme cajou brute ou sous la forme transformée ne dépasse pas 10% de la production totale. Ce qui indique pratiquement une perte post-récolte annuelle d'environ 90% de la production, alors qu'elle peut être valorisée en la transformant en jus. Les jus de fruits sont un marché très important dans le monde. Initialement, le marché des jus de fruits était principalement dominé par l'orange, la pomme, le pamplemousse et l'ananas. Pendant vingt ans, plusieurs jus de fruits tropicaux

connaissaient une croissance considérable et d'autres fruits restent à exploiter. Parmi ces produits, le jus de pomme de cajou est un fruit tropical riche en éléments nutritifs et est un potentiel de marché intéressant. Cependant, l'astringence est le principal problème limitant l'acceptabilité du jus de pommes de cajou et son utilisation sur le marché mondial. Pour remédier à cette astringence, plusieurs méthodes de clarification dont la microfiltration et l'utilisation d'agents clarifiant (gélatine, polyvinyl pyrrolidone, amidon et gruau au riz) ont fait l'objet d'étude. Certains produits chimiques, à savoir, PVP et tannase sont coûteux et ne sont pas facilement disponibles alors que la méthode de microfiltration est difficile à exploiter. Par conséquent, il est nécessaire d'explorer une méthode rentable pour diminuer l'astringence et améliorer la durée de conservation du jus. Ainsi, une étude a été réalisée sur la gomme de cajou en tant qu'agent clarifiant. Cette gomme est un polysaccharide obtenu après purification de l'exsudat des arbres d'*Anacardium occidentale* L. Elle a des propriétés physico-chimiques et rhéologiques semblables à celles de la gomme arabique obtenue auprès d'*Acacia Sénégal* et déjà commercialisée. Ainsi, l'objectif de cette étude est développée des produits de haute valeur ajoutée à partir de la pomme de cajou et des exsudats d'anacardiens.

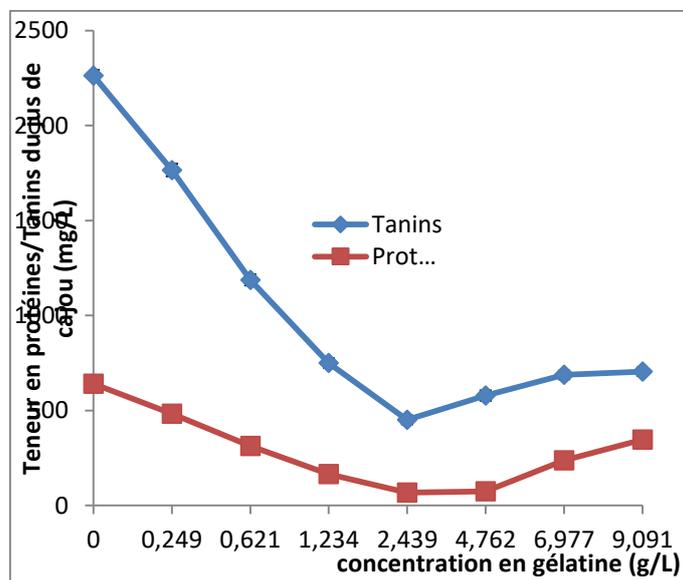
### 3. Résultats et discussions

#### 3.1. Resultants

##### 3.1.1. Pouvoir clarifiant de la gélatine et de la gomme de cajou : effet sur la teneur en tanins et en protéines du jus de pommes de cajou

###### 3.1.1.1. Pouvoir clarifiant de la gélatine

Les résultats de la clarification démontrent une réduction importante de la teneur en tanins et en protéines du jus de cajou en fonction de la concentration en gélatine ajoutée (**figure 1**). La teneur en tanins et protéines diminue considérablement jusqu'à une concentration de 2,439 g/L de gélatine. Au-delà de cette concentration, la teneur en tanins et en protéine augmente progressivement pour les concentrations supérieures à 4,762 g/L de gélatine, l'augmentation de la concentration en protéine étant la plus significative.



**Figure 1** : Teneur en tanins et en protéines du jus en fonction de la quantité de gélatine ajoutée

###### 3.1.1.2. Pouvoir clarifiant de la gomme de cajou (GC)

Les résultats de la **figure 1** démontrent que la teneur en tanins et en protéine diminue avec l'augmentation de la quantité de gomme utilisée jusqu'à 4,762 g/L. Au-delà de 4,762 g/L de gomme, les concentrations de protéines et tanins augmentent très légèrement dans le jus. Ces travaux ont révélé que la concentration efficace de gomme pour la réduction du taux de protéines et de tanins est de 4,762 g/L.

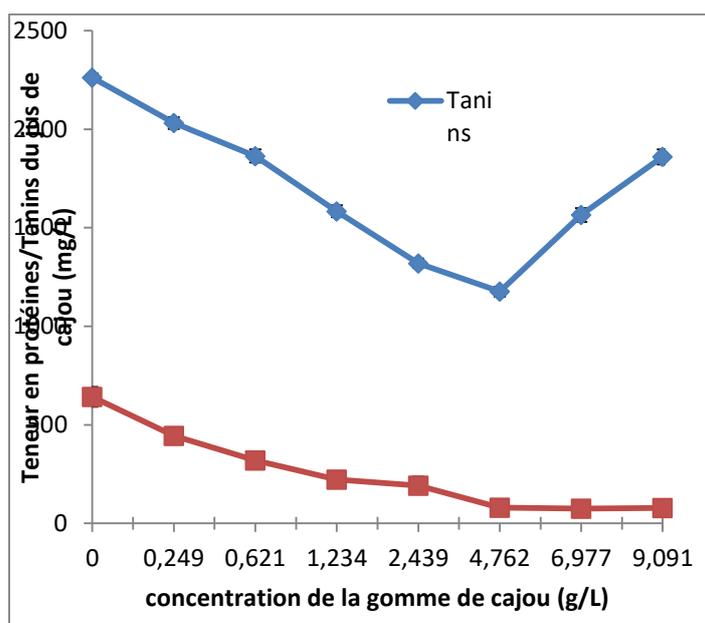


Figure 2 : Teneur en tanins et en protéines résiduelles du jus en fonction de la quantité de gomme de cajou

### 3.1.2. Impacts de la clarification sur les autres constituants du jus

Les concentrations efficaces de gélatine et de gomme de cajou utilisées pour la clarification du jus de pomme cajou ont été de 2,439 g/L et 4,762 g/L, respectivement (**tableau 1**).

#### 3.1.2.1. Clarté

Après traitement, la clarté passe de  $4,60 \pm 0,12\%$  pour le jus brut à  $78,00 \pm 0,17\%$  et  $57,4 \pm 0,12$  pour le jus clarifié respectivement par la gomme de cajou et la gélatine (**tableau 1**). Ainsi, il apparaît une différence entre la clarté du jus traité par la gomme et celle du jus traité par la gélatine.

#### 3.1.2.2. Sucres totaux et total des solides solubles (TSS)

Le traitement de clarification entraîne une baisse de la teneur en sucres totaux. Elle varie de  $330,32 \pm 0,34$  à  $317,17 \pm 0,16$  et  $328,47 \pm 0,12$  respectivement pour le jus brut et du jus traité avec la gélatine (**tableau 1**). D'autre part, la teneur en sucres totaux du jus brut de pomme et le jus clarifié avec gomme de cajou ne diffère pas significativement ( $p > 0,05$ ). Les valeurs des teneurs en solides solubles varient de respectivement  $12 \pm 0,1$  à  $10,6 \pm 0,1$  et  $11,2 \pm 0,1$  dans les jus bruts, clarifiés à la gélatine et à la gomme de cajou. La gomme de cajou impacte moins la teneur en TSS (**tableau 1**).

#### 3.1.2.3. pH et teneur en vitamine C

Le pH du jus n'est pas affecté par les traitements de clarification effectués aussi bien avec la gélatine que la gomme de cajou. La clarification des jus fait baisser significativement la teneur en vitamine C. Le jus brut en contient  $563,44 \pm 0,2$  mg/100 mL contre  $415,67 \pm 0,14$  mg/100 mL et  $418,35 \pm 0,23$  mg/100 mL pour les jus clarifiés à la gélatine et par la gomme de cajou (**tableau 1**).

Tableau1: Impact de la clarification sur les autres constituants du jus de pomme rouge de la région du Zanzan.

Paramètres	Jus brut	Jus clarifié avec la gélatine	Jus clarifié avec la gomme cajou purifiée
Clarté (%T)	$4,6 \pm 0,12^a$	$57,4 \pm 0,12^b$	$78 \pm 0,17^c$
Sucres totaux (g/L)	$330,32 \pm 0,34^c$	$317,17 \pm 0,16^a$	$328,47 \pm 0,12^c$
TSS (°Brix)	$12 \pm 0,1^c$	$10,6 \pm 0,1^a$	$11,2 \pm 0,1^b$
pH	$4,09 \pm 0,02^a$	$4,07 \pm 0,1^a$	$4,08 \pm 0,03^a$
Vitamine C (mg /100mL)	$563,44 \pm 0,21^c$	$415,67 \pm 0,14^a$	$418,35 \pm 0,23^b$

Les valeurs d'une même ligne affectées de la même lettre ne sont pas significativement différentes entre elles d'après le test de comparaison multiple de Duncan au seuil de 5%. Ces valeurs sont exprimées entant que Moyenne  $\pm$  Ecart type ( $n = 3$  détermination)

### 3.2. Discussion

La clarification du jus par la gélatine montre une réduction importante de la teneur en tanins et en protéines du jus de cajou. La réduction des tanins est liée à la formation des complexes tanins-protéines insolubles qui sont ensuite éliminés par filtration. Cette précipitation des tanins dépend principalement des liaisons hydrogènes entre groupements peptidiques et fonctions phénols, mais aussi à la contribution de la différence de charges électriques entre la gélatine et les tanins. En effet, selon les travaux de [8], la charge électrique de la gélatine varie selon le pH du milieu, le point isoélectrique et le type de gélatine mis en œuvre. La forme de la courbe de réduction des tanins en fonction de la quantité de gélatine est conforme à celle généralement observée dans les jus de pomme [9]. Le jus de cajou brut utilisé dans notre expérience contenait 2,26 g de tanins / L. La clarification efficace du jus nécessite l'utilisation de 2,439 g de gélatine/L de jus. Cette concentration est plus faible que celle rapportée par Augustin [10] qui a utilisé entre 3 et 4 g de gélatine/L de jus pour une quantité initiale de tanins comprise entre 3,4 et 3,7 g/L de jus. La teneur résiduelle de tanins pour le jus obtenu lors de notre expérimentation était de 407,26 mg/L de jus comparativement à une valeur de 260 mg/L de tanins résiduels obtenue par [11]. Cette quantité résiduelle de tanins, ne se combinant pas à la gélatine, est soit caractéristique de l'état d'équilibre de la formation des complexes tanins-gélatine [12], soit due probablement aux tannins qui ne sont pas éliminés efficacement par la gélatine du fait de leur poids moléculaire élevé [13]. Cependant, au-delà de cette concentration (> 2,349 g/L) de gélatine, on observe une augmentation de la teneur en protéines du jus probablement due à un excès de gélatine demeurant en solution après le seuil de saturation.

La réduction des protéines par la gélatine suit une tendance similaire à celle des tannins. Cet effet s'explique par le fait que la plupart des protéines solubles sont porteuses d'une charge nette négative, ce qui favorise leurs liens avec la gélatine chargée positivement et conduit à la formation de complexes gélatine-protéine insolubles [14]. Les interactions sont, les interactions hydrophobes essentiellement non-covalentes, qui réagissent par le poids moléculaire, la solubilité, la taille et la flexibilité conformationnelle des composés phénoliques, protéines et amidon.

Les résultats démontrent une réduction importante de la teneur en protéines et en tanins en fonction de la quantité de gomme utilisée. La réduction des tannins et des protéines a atteint environ 48 % et 89,5 % respectivement pour une concentration de 4,762 g/L. Ces résultats montrent clairement que la gomme de cajou possède une affinité plus élevée pour les protéines que pour les tanins du jus de pomme de cajou. En effet, la gomme est un acide ramifié hétéro-polysaccharide contenant du galactose comme constituant majeur ainsi que du glucose, de l'arabinose, du rhamnose et de l'acide glucuronique [15]. La formation d'un complexe de polysaccharide et de protéine est principalement en raison de diverses interactions non covalentes, comme l'électrostatique, la liaison hydrogène, les interactions hydrophobes et stériques [16]. Dans le cas contraire, la formation et la déformation de ce complexe polysaccharide-protéine et sa solubilité dépendra de divers facteurs tels que la charge, la nature des biopolymères, le pH, la force ionique, la température du milieu et même la présence de l'agent tensio-actif [17].

Plusieurs études ont indiqué que les processus de clarification ont favorisé la diminution de la teneur en tanins et en protéines dans le jus de pomme. L'efficacité des agents de clarification à supprimer les tanins et les phénols dépend de leur concentration, de leur composition, des caractéristiques des tanins et des conditions de l'interaction (pH, température, composition du jus, et temps de stockage) [18]. L'augmentation de la teneur en protéines après la concentration efficace de la gélatine peut être due à un excès de gélatine dans la solution.

Si le traitement par la gélatine a montré une réduction plus efficace des tanins et des protéines du jus de cajou, il a entraîné également des pertes substantielles en éléments nutritifs du jus. Ces autres constituants nutritifs de jus de pomme cajou après clarification ont diminué de façon significative ( $p \leq 0,05$ ), quel que soit l'agent clarifiant à l'exception de la clarté. L'amélioration de la clarté par la gomme pourrait être la suppression des caroténoïdes, principalement la  $\beta$ -cryptoxanthine, ce qui rend le jus plus clair et transparent [19]. La perte de la vitamine C et des sucres totaux a été respectivement de 26,23 % et 3,98 %. Ces résultats sont cependant surestimés en raison de l'effet de dilution provoqué par l'ajout de la gélatine. Le pH demeure constant, probablement à cause de l'effet tampon des polyacides organiques du jus [20]. Bien que la gomme de cajou (GC) soit plus sélective pour les protéines, elle entraîne aussi une diminution des autres composés nutritifs. En effet, on observe une diminution de 0,56 % des sucres totaux et 25,75 % de la vitamine C.

#### 4. Conclusion

L'extraction et la caractérisation de la gomme de cajou a montré l'abondance de celle-ci en polysaccharides et en minéraux. Son utilisation pour la clarification du jus de pomme cajou révèle une plus grande efficacité dans l'amélioration de la couleur et dans la réduction des protéines du jus, mais pas pour la réduction des tanins.

#### 5. Bibliographie

- [1]. Touré N., Djè K.M., Dabonné S., Guehi T.S., Kouamé L.P.; (2016). Some physico-chemical properties of cashew gum from cashew exudates and its use as clarifying agent of juice from cashew apple. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 7(2), 105-115
- [2]. MINAGRI (2016). Ministère de l'Agriculture. Conférence de presse: en route pour l'émergence. Auditorium de la Primature 06 Juin 2016. [www.gouv.ci](http://www.gouv.ci).
- [3]. Koné (2001). Le rôle de l'anacardier dans la composition des règles de gestion foncières et des relations sociales: l'exemple de Kouaakro dans la région de Bouaké, Université de Bouaké –Cirad, 55 pages
- [4]. Cornier R. (2008). Clarification of cashew apple juice and commercial application. Oxfarm Quebec, Benin, West Africa, 13 pages.
- [5]. Adeoti R., Fanou L., Fandohan P., Koumassa L., Coulibaly O., Hell K., Koudande D.O. & Mensah G. A., 2010. Amélioration de la compétitivité de la chaîne de valeur de l'anacarde au Bénin. Poster. Dépôt légal N° 4895 du 25 Novembre 2010, 4ème trimestre, Bibliothèque nationale (BN) du Bénin – ISBN: 978-99919-366-0-4.
- [6]. Aboh A.B., Dougnon J.T., Atchade G.S.T. & Tandjiekpon A.M., 2011. Effet d'aliments à base de pomme cajou sur les performances pondérale et la carcasse des canetons en croissance au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 5(6): 2407-2414. [4]. Cornier R. (2008). Clarification of cashew apple juice and commercial application. Oxfarm Quebec, Benin, West Africa, 13 pages.
- [7]. Cornier R. (2008). Clarification of cashew apple juice and commercial application. Oxfarm Quebec, Benin, West Africa, 13 pages.
- [8]. Görtges S., Haubrich H. (1992). Fining agent and their effect on the treatment of fruitjuice and wine. *Fruit Process*, 2: 119-123.
- [9]. Ringland C., Eschenbruch R. (1983). Gelatine for juice and wine fining. *Food and Technologic*, 8: 40-41.
- [10]. Augustin A. (1982). Studie on Clarification of Cashew-Apple Juice for the Preparation of Cashew Syrup. *Indian Journal Nutrition and Dietetics*, 19: 169-172.
- [11]. Augustin A. (1982). Studie on Clarification of Cashew-Apple Juice for the Preparation of Cashew Syrup. *Indian Journal Nutrition and Dietetics*, 19: 169-172.
- [12]. Haslam E. (1998). Practical polyphenols: from structure to molecular recognition and physiological action. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 420 pages.
- [13]. Ringland C., Eschenbruch R. (1983). Gelatine for juice and wine fining. *Food and Technologic*, 8: 40-41
- [14]. Stanford P.A (1989). Chitosan : Commercial uses and potential applications. In : Chitin and Chitosan. Sources, Chemistry, Biochemistry, Physical Properties and Applications. *Elsevier Applied Sciences*, 8: 51-70.
- [15]. De Paula R.C.M., Heatley F.P.M. (1998). Characterization of *Anacardium occidentale* exudates polysaccharide. *Polymérisation Internationale*, 45: 27-35.
- [16]. Kruif C.G., Tuinier R. (2001). Polysaccharide protein interactions. *Food Hydrocolloid*. 15: 555-563.
- [17]. Ghosh A., Bandyopadhyay P. (2011). Chemical Communications. *Advance Application. Microbiological*, 47: 8937-8939.
- [18]. Jayalekshmy V.G. and John P.S. (2004). "Sago": a natural product for cashew apple juice clarification. *Journal of Tropical Agriculture*, 42: 67-68.
- [19]. Hagerman A.N., Butler L.G. (1978). Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Journal Agricultural. Food Chemical*, 26: 809-812.
- [19]. Doores S. (1983). Organic Acid. *Antimicrobials in Foods*, pp. 75-108

## **Evaluation des conditions de production, de la qualité physico-chimique et microbiologique des cossettes de manioc (*Manihot esculanta* Crantz) dans la commune de Bassila (Nord-Bénin)**

Christian T. R. Konfo<sup>1,2\*</sup>, René G. Degnon, Edwige Dahouenon-Ahoussi<sup>2</sup> Dominique C.K. Sohounhloue<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'étude et de Recherche en Chimie Appliquée/ Ecole Polytechnique d'Abomey Calavi/ Université d'Abomey Calavi, 01BP: 2009 Cotonou, Bénin.

<sup>2</sup> Ecole des Sciences et Techniques de Conservation et de Transformation des Produits Agricoles, Université Nationale d'Agriculture, BP : 114, Sakété, Bénin.

### **Résumé**

La haute périssabilité des tubercules de manioc rend obligatoire leur transformation en différents produits dont les cossettes<sup>1,2,3</sup>. L'étude vise à évaluer la qualité physico-chimique, microbiologique et les conditions de production des cossettes de manioc dans la commune de Bassila au Nord du Bénin. Ces conditions de production ainsi que les différentes variantes technologiques ont été évaluées à l'aide d'une enquête semi-structurée. Un échantillonnage aléatoire simple de 27 prélèvements regroupés en 09 échantillons a été ensuite fait. Les cossettes collectées ont été caractérisées aux plans physico-chimique et microbiologique. Les résultats ont révélé que les femmes productrices sont en majorité des groupes socioculturels et sociolinguistiques *Koula* et *Kotokoli*. Deux variantes technologiques de production ont été répertoriées. Ces procédés permettaient d'obtenir des cossettes de granulométries différentes. L'analyse des conditions de production a révélé des manquements graves aux règles élémentaires d'hygiène. Les échantillons collectés présentaient des teneurs en eau comprises entre  $11,15 \pm 1,13\%$  et  $12,89 \pm 1,08\%$  et trois échantillons sur les 09 ont eu une teneur en eau supérieure au critère de la Norme Béninoise (12%). Les cossettes étaient de qualité microbiologique non satisfaisante. Il urge de penser à l'amélioration des procédés de production des cossettes en vue de l'amélioration de la qualité des produits finis.

**Mots clés :** Tubercules, manioc, transformation, cossettes.

## **Evaluation of the production conditions, the physico-chemical and microbiological quality of cassava (*Manihot esculanta* Crantz) chips in the commune of Bassila (Northern Benin)**

### **Abstract**

High perishability of cassava roots impose their transformation into different products, including chips<sup>1,2,3</sup>. This study aimed at evaluating the physico-chemical and microbiological quality and the conditions of production of cassava chips in Bassila (in Northern Benin). The conditions of production and different technological variants were assessed using a semi-structured survey. A simple random sample of 27 specimens grouped in to 09 samples was then made. The chips collected were characterized on physico-chemical and microbiological plans by standard methods. The results reveal that producers were women, from *Koula* and *Kotokoli* socio-cultural and sociolinguistic groups. Two technological variants of chips production were recorded and those just differed in cutting operations for one and crumbling to the other; which allowed obtaining different size chips. The analysis of production conditions has revealed serious breaches of basic hygiene. Evaluation of storability showed that the collected samples water contents were between  $11.15 \pm 1.13$  and  $12.89 \pm 1.08$  and that three samples in the 09 had exceeds Benin Standard. The evaluation of the microbiological quality of the samples showed that no samples satisfy the normative criteria. It becomes urgent to think about improving chips production processes to improve the finished products quality.

**Keywords:** Tubers, cassava processing, chips.

### **1.Introduction**

L'agriculture constitue une ressource territoriale historique majeure qui contribue au bien-être humain en produisant, entre autres, de la nourriture, des matières premières et de l'emploi [1,2]. Les plantes à racines, notamment le manioc, tiennent une place importante dans l'alimentation des béninois [3]. Le manioc s'impose désormais comme culture de première importance dans les nouvelles stratégies de développement agricole au Bénin. Grâce au Programme de Développement de la Filière Manioc (PDFM), la filière manioc se retrouve parmi les 13 filières identifiées (du point de vue de ses opportunités : les dérivés) à travers le plan stratégique de développement du secteur agricole. Ainsi, un important investissement est fait dans la filière manioc depuis quelques années. En conséquence, il a été enregistré une augmentation considérable de la production et de la transformation du manioc au Bénin. Ainsi, 3.603.019 tonnes de manioc ont été produites en 2015 contre 3.880.489 tonnes en 2014. La production

des racines et tubercules à dominance manioc et igname a enregistré un accroissement de 14,14% et est passée de 6.128.288 tonnes en 2015 à 6.994.622 tonnes en 2016 [4]. De par l'accroissement de sa production, la diversité de ses dérivés et l'importance de sa demande sur les marchés nationaux et internationaux, le manioc constitue une culture socialement et économiquement porteuse.

A cause de l'importance des pertes poste-récoltes du manioc, sa transformation s'impose comme la meilleure stratégie de sa valorisation. Le manioc est généralement transformé en divers produits (gari, tapioca, farine, alcool, cossette etc.) dont la conservation est relativement facile. Cela se justifie par le fait qu'il contient près de 70% d'eau [5,6]. Cette teneur élevée ne permet pas une longue conservation dans les conditions climatiques tropicales du Bénin.

Une enquête effectuée en 2013 auprès des 51 des 64 unités de transformations artisanales et semi artisanales montrent que ces dernières ont traité environ 4700 tonnes de manioc frais. Les 43% de ce volume de manioc frais ont été transformés par ces 51 unités, soit 43% (2021 tonne) sont utilisés pour le gari, 7% (329 tonnes) sont affectés au tapioca, 24% (1128 tonnes) ont servi à la fabrication des cossettes et 2% (94 tonnes) sont destinés à la fabrication du *lafun* [5]. Les cossettes sont obtenues par épluchage, rouissage, fermentation et séchage des tubercules de manioc. Il a été rapporté qu'au Bénin, plusieurs technologies traditionnelles présentent des insuffisances pouvant influencer la qualité des produits finis [7]. C'est le cas de la transformation des tubercules de manioc en cossettes. Au fil du temps, les conditions de production et de stockage des cossettes n'auraient pas évolué. Le séchage des tubercules se ferait toujours en plein air, en bordure des voies. De plus, le processus de production souffre d'un manque de bonnes pratiques d'hygiène. Ainsi, les produits issus de cette transformation seraient très hétérogènes et répondraient difficilement aux critères fixés par la Norme Béninoise.

Cette étude avait pour objectif d'évaluer la qualité physico-chimique et microbiologique ainsi que les conditions de production des cossettes de manioc dans la commune de Bassila au Nord du Bénin.

## **2. Cadre d'étude, Matériel et méthodes**

### **2.1. Cadre d'étude**

L'enquête semi-structurée ayant permis de répertorier les variantes technologiques de production de cossettes a été réalisée dans neuf (09) villages de l'arrondissement d'Allédjo dans la commune de Bassila (Latitude : 9°00'29" Nord/Longitude : 1°39'55" Est). Le choix de ces villages se justifie par le fait qu'ils sont des zones de forte production de cossettes dans la commune. Des interviews semi-structurées et structurées, individuelles et de groupe avec les transformatrices ont été effectuées. Les informations collectées étaient relatives aux données socioculturelles et sociolinguistiques, le niveau d'instruction, la technologie de production... Des fiches d'enquête ont été également adressées aux agents en service au Secteur Communal du Développement Agricole (SCDA) de Bassila. A cet effet nous avons réalisé 50 fiches d'enquêtes qui ont été adressées aux structures et aux personnes ciblées.

### **2.2. Matériel et méthodologie**

#### **2.2.1. Echantillonnage**

Afin d'évaluer les qualités physico-chimique et microbiologique des cossettes de manioc produites dans les localités enquêtées, un répertoire de productrices connus dans chaque village a été constitué. Ensuite, un échantillonnage aléatoire simple de trois productrices a été effectué par localité à l'aide du logiciel Microsoft Excel. Au total, 27 prélèvements ont été effectués dans les neuf (09) villages (Alédjo, Akaradè, Partogo, Tchémberri, Kadagué, Boutou, Kaouté, Odola, et Nibadara). Les prélèvements issus de chaque localité ont été ensuite soigneusement mélangés pour constituer un total de neuf (09) échantillons qui ont fait l'objet des analyses physico-chimiques et microbiologiques.

#### **2.2.2. Caractérisation physico-chimique des échantillons**

La matière sèche et le pH ont été déterminés par la méthode A.O.A.C. [8]. L'acidité exprimée en gramme par litre (g/L) a été déterminée par dosage avec de l'hydroxyde de sodium 0,1 mol/L en présence de la phénolphtaléine comme indicateur coloré [9].

#### **2.2.3. Caractérisation microbiologique des échantillons**

Les échantillons prélevés ont été évalués en recherchant par des méthodes standards, les paramètres microbiologiques de qualité. Ainsi, la flore aérobie mésophile totale a été dénombrée par ensemencement sur le milieu Plate Count Agar (PCA) et incubation à 30 °C pendant 24-48 h [10], alors

que les coliformes totaux, thermotolérants ont été recherché sur le milieu Violet Red Bile Lactose (VRBL) avec incubation à 30 et 44 °C respectivement pendant 24 h [11]. Quant à *E. coli* une à deux doses du milieu VRBA sont inoculées sur un milieu EMB et l'incubation a été effectuée pendant 24h à 37°C [12]. *Staphylococcus aureus* a été recherché sur le milieu Baird Parker avec incubation à 37 °C pendant 24-48 [13], tandis que les levures et moisissures l'ont été sur le milieu Sabouraud au chloramphénicol, puis incubées à 25 °C pendant 3 à 5 jours [14]. Les Bactérie Anaérobies Sulfito-Réducteurs ont été recherché sur gélose Tryptone Sulfite Néomycine (TSN) avec incubation à 46°C pendant 20H [15]. Enfin la recherche des Salmonelles a été effectuée par un pré-enrichissement de la solution mère à 37 °C pendant 19 h. L'enrichissement a été fait sur les milieux Rappaport Vassiliadis (RV), Müller Kauffmann (KM) et l'isolement sur les milieux Xylose-Lysine-Décarboxylate (XLD) et Hektoen [16].

#### 2.2.4. Analyses statistiques

Les données issues de cette recherche ont été soumises à une statistique descriptive. Ainsi, les valeurs moyennes ainsi que les écart-types ont été calculés. Ces données ont été organisées sous forme de tableau et de graphiques à l'aide du tableur Microsoft Excel 2010.

### 3. Resultats

#### 3.1. Profils socio-culturel et socio-linguistique des productrices

Dans cette partie des résultats, nous présentons les données sociales relatives aux productrices de cossettes, les variantes technologiques de production des cossettes et les conditions de production des cossettes.

Les résultats issus de la classification des productrices en tenant compte de leur répartition selon les groupes socio-culturels et socio-linguistiques, l'âge et le niveau d'instruction ont été présentés dans les figures 1, 2 et 3. L'analyse de ces résultats a montré que la production et la commercialisation des cossettes étaient plus pratiquées (Figure 3) par les groupes socio-culturels et socio-linguistiques Koura (75,25%) et Kotokoli (23,73%). Les productrices sont de la trentaine à la quarantaine d'âge en majorité (38,4%) en moyenne (Figures 1) avec un niveau d'instruction (Figure 2) primaire (63,83%) ou non scolarisées (36,17%).

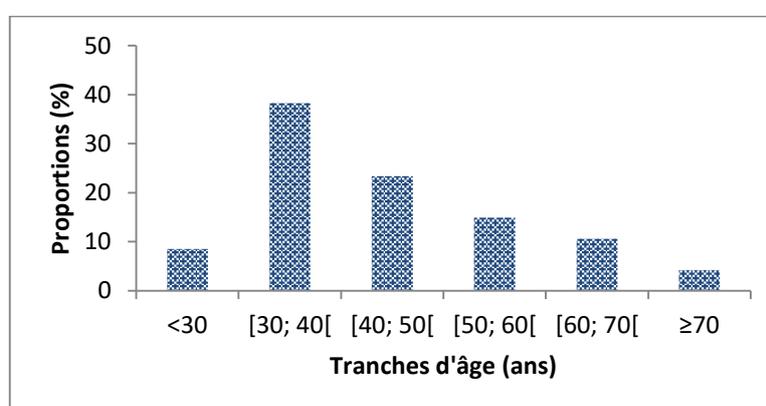
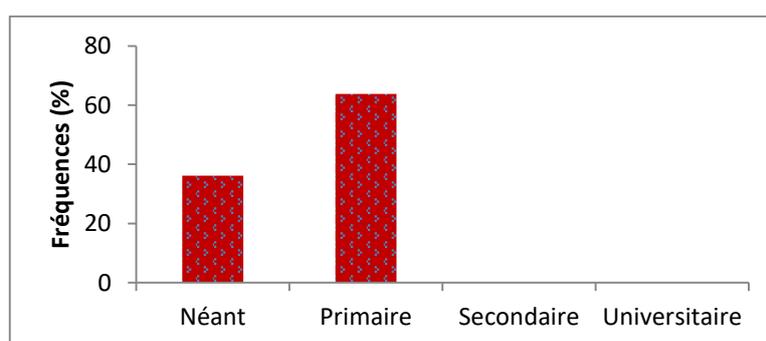
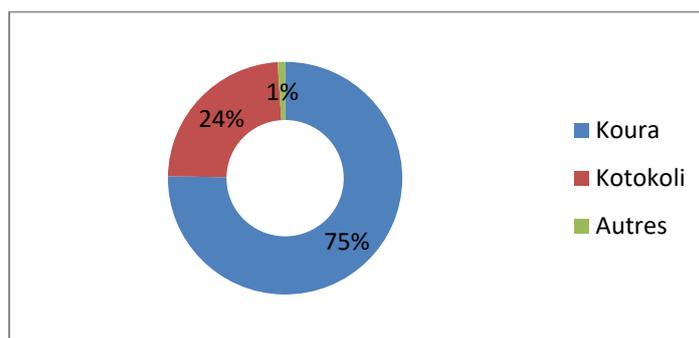


Figure 34 : Répartition des productrices en fonction de leurs âges.



**Figure 35 :** Répartition des productrices en fonction de leur niveau instruction.

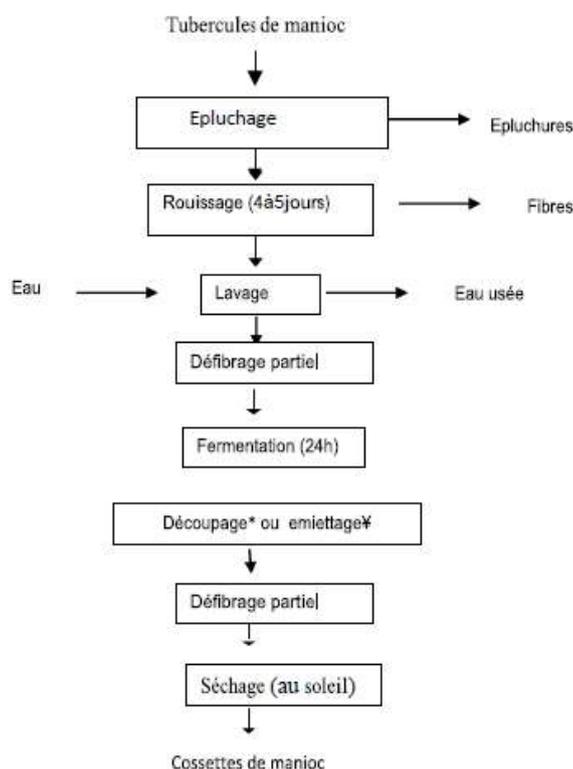


**Figure 36 :** Répartition des productrices en fonction de leurs groupes socioculturels et socio-linguistiques.

### 3.2. Variantes technologiques de production de cossettes de manioc dans les localités ciblées

Au terme de l'enquête, deux technologies de productions ont été répertoriées (Figures 4). Ces deux technologies présentent beaucoup de similitudes. Après réception, les tubercules débarrassés des épluchures (parties contenant l'essentiel des cyanures et des tannins), sont trempés dans de l'eau additionnée d'inoculum dans des fûts hermétiquement fermés. L'inoculum utilisé pour cette opération est un ferment naturel obtenu à partir du jus de manioc trempé dans de l'eau durant 28 h environ.

La température ambiante est favorable pour la multiplication des micro-organismes responsables du ramollissement des tubercules. Ainsi, après 36 heures de trempage, on obtient des tubercules bien ramollis (au touché) qu'on doit sortir de l'eau pour leur faire subir la fermentation. Elle se fait par entassement des pâtes de tubercules ramollis dans des sacs surmontés de poids afin d'égoutter partiellement l'excès d'eau lors du rouissage. Selon le type de produit souhaité, on effectue ensuite un découpage (variante 1) ou un émiettage (variante 2) par pilage (Figure 4-Photos A et B respectivement). Le pilage est effectué lorsqu'on veut obtenir un produit consommable après seulement deux jours de séchage.



**Figure 37 :** Transformation traditionnelle de tubercules de manioc en cossettes

### 3.3. Conditions de production des cossettes de manioc dans les localités ciblées

Toutes les transformatrices opèrent en plein air, parfois non loin des routes en latérite où d'énormes quantités de poussières se déposent chaque jour (Photos F). La qualité de l'eau (provenant des citernes ou des puits à cause des coupures régulières de l'eau de robinet) utilisée au cours de la transformation est parfois douteuse (Photo C) et les produits (intermédiaires ou finis) sont entreposés par terre, dans un environnement où les animaux pullulent et les enfants s'amuse à longueur de journée (Photos D, E et F). En outre, d'autres productrices sèchent les cossettes sur des tôles de cuisines malpropres et à la portée des oiseaux, de la volaille et de la flore aéroportée (Photo G).



**Photo A :** Cossettes obtenues par découpage.



**Photo B :** Cossettes obtenues par émiettage.

*Figure 5 : Photos de produits finis issus des différentes variantes de transformations*



**Photo C :** Echantillon posés à même le sol dans un environnement malsain.



**Photo D :** Maniocs épluchés entreposés en vrac par terre.



**Photo E :** Cossettes mises en séchage dans une aire naturelle (roche).



**Photo F :** Cossettes mises en séchage non loin d'une voie en latérite (poussière) et autour desquelles pullulent des animaux.



**Photo G :** Cossettes mises en séchage sur des tôles de cuisines.



**Photo G :** Cossettes mises en séchage dans un environnement où les enfants s'amuse.

**Figure 6 :** Photos montrant les conditions de manque d'hygiène dans lesquelles les cossettes sont transformées.

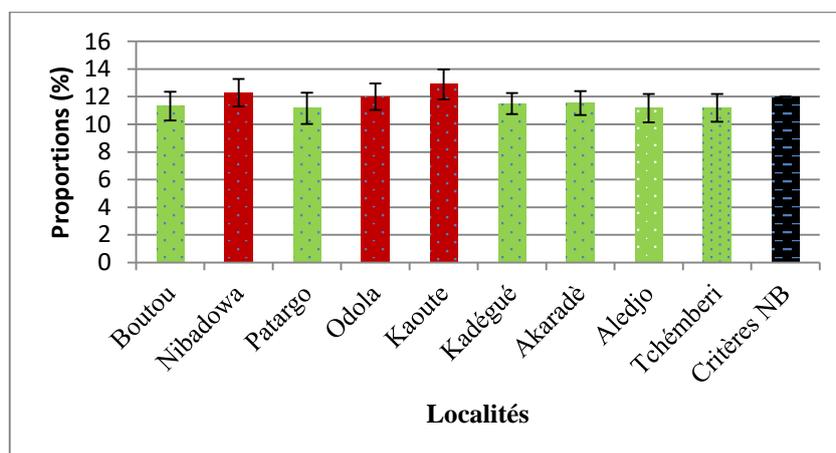
### 3.4. Caractéristiques physico-chimiques des cossettes produites dans les localités ciblées

Les échantillons collectés présentent des teneurs en eau comprises entre 11,15±1,13% (Patargo) et 12,89±1,08% (Kaouté) (Tableau1). Les échantillons collectés à Nibadowa, à Odola et à Kaouté ont une teneur en eau supérieure à 12% (Figure 7).

Les teneurs en matière sèche calculées au cours de cette étude ont varié entre 88,83 ±1,0% et 87,10±1,08%. Les échantillons collectés à Alédjo, Tchémberri, Boutou et Kadégué ont présenté les plus fortes teneurs en matière sèche. Aussi, tous les échantillons ont un pH acide (5,3±1,05 et 6,51±0,3) et une acidité titrable plus ou moins élevée (variant de 8,01±0,99 à 13,44±1,90).

**Tableau 9 :** Teneurs en matière sèche, pH et acidité titrable des échantillons

Localités	Matière Sèche (%)	pH	Acidité titrable (g/L)
Boutou	88,68±1,04	5,3±1,05	8,05±1,10
Nibadowa	87,71±1	5,40±0,99	9,12±2,10
Patargo	88,84±1,13	5,50±0,88	13,44±1,90
Odola	87,99±0,95	5,10±0,89	12,40±1,00
Kaouté	87,10±1,08	5,90±0,55	9,40±2,4
Kadégué	88,49±0,77	6,50±1,03	8,01±0,99
Akaradè	88,46±0,86	5,90±1,01	12,4±0,84
Aledjo	88,83±1,03	5,50±0,25	13,1±1,41
Tchémberri	88,80±0,99	5,10±0,77	11,4±0,85



**Figure 7 :** Teneur en eau des échantillons de cossettes.

### 3.5. Caractéristiques microbiologiques des cossettes produites dans les localités ciblées

L'analyse du Tableau 2 révèle que les échantillons sont contaminés par les germes aérobies L'analyse du Tableau 2 révèle que les échantillons sont contaminés par les germes aérobies

L'analyse du Tableau 2 révèle que les échantillons sont contaminés par les germes aérobies mésophiles, les coliformes totaux, les coliformes thermo-tolérants, staphylocoques coagulase positive, les levures et les moisissures. Par contre, les entérobactéries présumées, les bactéries Anaérobies Sulfite-Réductrices (ASR) et les salmonelles sont absents dans tous les échantillons prélevés. *E. coli* glucuro-nidase+ est fortement présent dans les échantillons collectés à Nibadarou, à Kaouté, à Kadegue, à Partago à

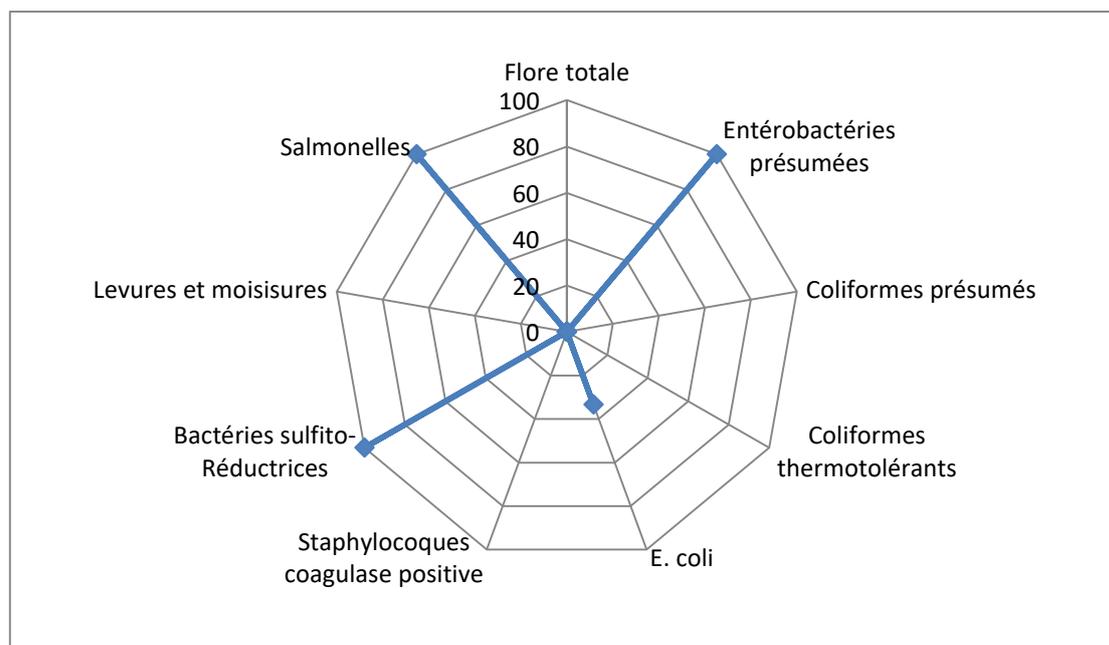
Tchemberi, à Aledjo et à Odola tandis que sa présence dans les autres échantillons est à des proportions indétectables.

Les proportions des échantillons répondant aux critères microbiologiques ont été présentées sur la figure 8. Son analyse révèle qu'aucun des échantillons prélevés ne satisfait les critères normatifs relatifs à la flore aérobie mésophile totale, aux levures et moisissures, aux coliformes présumés, aux coliformes thermotolérants ainsi que pour *Staphylococcus aureus*. Néanmoins, tous les échantillons satisfont les critères relatifs aux Bactéries Sulfito-Réductrices, aux entérobactéries présumés et aux Salmonelles. Enfin, seulement 33,33% des échantillons sont satisfaisants pour le dénombrement de *Escherichia coli*.

**Tableau 10 : Qualité microbiologique des échantillons collectés**

RECHERCHE EFFECTUEE	Flore totale (UFC /g)	Entérobactéries présumés UFC/g	COLIMETRIE UFC/G			<i>Staphylocoques aureus</i> UFC/g	Bactéries Sulfito-Réductrices UFC/g	Levures et Moisissures UFC/g	Salmonelles dans 25g de cossette
			Coliformes présumés UFC/g	Coliformes thermo-tolérants UFC/g	<i>E. coli</i> UFC/g				
NIBADAROU	2,1. 10 <sup>6</sup>	-	>3.10 <sup>4</sup>	> 3.10 <sup>3</sup>	> 3.10 <sup>3</sup>	>1,5.10 <sup>4</sup>	-	L :1,3.10 <sup>5</sup> M :1,3. 10 <sup>4</sup>	-
KAOUTE	> 3.10 <sup>6</sup>	-	>3.10 <sup>4</sup>	> 3.10 <sup>3</sup>	> 3.10 <sup>3</sup>	>1,5.10 <sup>4</sup>	-	L >3.10 <sup>5</sup> M :4,2. 10 <sup>4</sup>	-
KADEGUE	> 3.10 <sup>6</sup>	-	>3.10 <sup>4</sup>	> 3.10 <sup>3</sup>	2,5.10 <sup>2</sup>	>1,5.10 <sup>4</sup>	-	L :4,7.10 <sup>4</sup> M :7. 10 <sup>3</sup>	-
PATARGO	> 3.10 <sup>6</sup>	-	>3.10 <sup>4</sup>	> 3.10 <sup>3</sup>	> 3.10 <sup>3</sup>	>1,5.10 <sup>4</sup>	-	L >3.10 <sup>5</sup> M :4,7. 10 <sup>4</sup>	-
TCHEMBERI	2,6.10 <sup>6</sup>	-	>3.10 <sup>4</sup>	> 3.10 <sup>3</sup>	<10	>1,5.10 <sup>4</sup>	-	L>9,2.10 <sup>4</sup> M :2.10 <sup>3</sup>	-
BOUTOU	> 3.10 <sup>6</sup>	-	>3.10 <sup>4</sup>	> 3.10 <sup>3</sup>	<10	>1,5.10 <sup>4</sup>	-	L >1,3.10 <sup>5</sup> M >1,5.10 <sup>5</sup>	-
ALEDJO	> 3.10 <sup>6</sup>	-	>3.10 <sup>4</sup>	> 3.10 <sup>3</sup>	> 3.10 <sup>3</sup>	>1,5.10 <sup>4</sup>	-	L >3.10 <sup>5</sup> M :8. 10 <sup>3</sup>	-
ODOLA	> 3.10 <sup>6</sup>	-	>3.10 <sup>4</sup>	> 3.10 <sup>3</sup>	7.10 <sup>2</sup>	>1,5.10 <sup>4</sup>	-	L :3,6.10 <sup>4</sup> M :1,3. 10 <sup>4</sup>	-
AKAREDE	> 3.10 <sup>6</sup>	-	>3.10 <sup>4</sup>	> 3.10 <sup>3</sup>	<10	>1,5.10 <sup>4</sup>	-	L :3,6.10 <sup>4</sup> M :1,3. 10 <sup>4</sup>	-
Critères : m M	10 <sup>5</sup> 10 <sup>6</sup>	-	10 <sup>3</sup> 10 <sup>4</sup>	-	-	-	-	-	-

- : Absent ; L : levure ; M : Moisissures.



**Figure 8 : Proportions des échantillons répondant aux critères microbiologiques.**

## Discussion

Le manioc (*Manihot esculenta* Crantz) est une importante plante à tubercule cultivée dans de nombreux pays à travers le monde et plus particulièrement en Afrique de l'Ouest [17]. Deux variantes technologiques de production de cossettes de manioc ont été répertoriées dans cette étude. Ces procédés diffèrent seulement au niveau d'une opération unitaire à savoir le découpage (variante 1) ou l'émiettage (variante 2). Ces procédés concordent avec ceux rapportés par l'auteur [18] en République Centre Africaine (RCA) qui a fait des investigations sur l'amélioration des techniques de transformation du manioc en cossettes. Ces travaux qui ont expérimenté le rouissage en vase clos et le séchage en cage thermique ont montré qu'en moins de 12 h, la température de 28 °C est atteinte. Celle-ci est favorable pour la multiplication des micro-organismes responsables du ramollissement des tubercules.

Les fortes teneurs en eau relevées dans les échantillons collectés à Nibadowa et Kaouté (12,28% et 12,89% respectivement) sont supérieures au critère normatif (<12%) rapportés par Soule et al. [19]. Ceci peut engendrer une faible aptitude à la conservation de ces cossettes. En effet, selon l'auteur Faiveley, [20], la teneur en eau des aliments est corrélée avec leur durée de conservation. Bien qu'elle n'apporte aucune valeur énergétique aux aliments, son existence joue un rôle très important. Elle influence la structure, l'apparence, le goût des aliments et leur susceptibilité à la dégradation. Elle impacte principalement sur l'activité enzymatique et la croissance microbienne dans l'aliment. La croissance des bactéries par exemple est généralement impossible lorsque l'activité de l'eau ( $a_w$  : paramètre fortement lié à la teneur en eau) est inférieur à 0,90. Les moisissures et les levures sont inhibés respectivement vers une  $a_w$  de 0,7 et 0,8 sauf certaines moisissures et levures osmophiles qui peuvent se développer jusqu'aux des  $a_w$  de 0,6. Les résultats de recherche sont similaires aux résultats (84,47-88,63%) obtenus par Mukandila et al. [21] sur la qualité des produits dérivés du manioc prélevés dans les marchés de Kinshasa (RD Congo). Cependant, la faible acidité observée au niveau des échantillons pourrait témoigner de l'activité des bactéries lactiques au cours de la fermentation.

D'autres part, la présence des moisissures sur les produits alimentaires dérivés du manioc, comme constaté par le présent travail, a été rapportée par d'autres études antérieures [22]. D'autres auteurs ont constaté la présence de *A. flavus* et de *A. niger* dans du *gari* stocké au Nigeria [23]. Essono et al. [24] ont observé la présence de treize espèces de *Aspergillus* sur les cossettes de manioc au Cameroun. Au Sénégal, Diallo et al. [6] ont remarqué la présence des *Aspergillus spp.* En ce qui est de la présence des germes aérobies mésophiles, le résultat obtenu par le présent travail confirme celui obtenu par Djoulde et al. [25] au Bénin, Gbaguidi-Darboux [26] a noté l'implication des bactéries dans le processus de fermentation du manioc. D'après Darman [27], la flore microbienne sur les produits dérivés du manioc est constituée principalement par les bactéries lactiques et ont été identifiées lors de la fermentation du manioc pour la production du *gari* [28]. Ainsi, la flore aérobie mésophile constatée sur les produits dérivés du manioc dans ce travail serait principalement constituée par les bactéries lactiques.

Le niveau de contamination microbiologique élevé de certains échantillons par *S. aureus*, les champignons (levures et moisissures) ainsi que *E. coli* expose le consommateur à des affections d'origines alimentaires telles les infections, les toxi-infections et les intoxications alimentaires [29]. L'intoxication alimentaire staphylococcique est due à des *entérotoxines* produites par plusieurs espèces de *Staphylococcus* (principalement *S. aureus*). Les toxines sont thermostables et ne sont pas inactivées par le chauffage ou la cuisson de l'aliment. Ces résultats microbiologiques non satisfaisants pourraient s'expliquer par les niveaux de scolarisation faible (primaire (63,83%) ou non scolarisées (36,17%)) des productrices qui ont ainsi peu ou pas de notions des règles de Bonnes Pratiques d'Hygiène (PBH) et de Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF). Elles doivent donc s'approprier ces règles afin d'améliorer la qualité du produit. La recherche scientifique doit également travailler la mise au point des séchoirs adaptés au séchage des cossettes de manioc.

## Conclusion

Cette étude a permis de mettre en exergue les conditions de production des cossettes de manioc ainsi que la qualité physico-chimique et microbiologique de cette denrée dans la commune de Bassila. L'enquête effectuée prouve que cette activité est exclusivement réalisée par des femmes, des groupes socioculturels et sociolinguistique Koura et Kotokoli. Ces productrices sont pour la plupart de la trentaine à la quarantaine d'âge en moyenne et ont niveau d'instruction primaire ou non scolarisées. L'évaluation des conditions de production a révélé que les technologie utilisées sont artisanales et ne sont pas de nature à favoriser une bonne qualité du produit fini. Ainsi, certains échantillons présentent

une teneur en eau supérieure à 12%, valeur seuil fixée par la Norme Béninoise. D'autres encore présentent des caractéristiques microbiologiques non satisfaisantes et leur consommation peut être à l'origine d'infection, de toxi-infection ou d'intoxication alimentaire.

Au vue de tout ce qui précède, il urge d'améliorer la technologie de production et de conservation des cossettes, afin de préserver la santé publique. Aussi, les autorités compétentes doivent prendre les mesures idoines pour atteindre cet objectif. Cela passe par la vulgarisation des règles basiques d'hygiène ainsi que la formation des acteurs du secteur.

## References

- [1] Abou M, Yabi I, Yolou I, Ogouwale E. 2018. Caractérisation des systèmes de production sur les sites d'aménagements hydro-agricoles dans le doublet Dangbo-Adjohoun au sud du Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(1): 462-478. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v12i1.36>
- [2] Millogo, V., Sissao, M., & Ouedraogo, G. A. (2018). Qualité nutritionnelle et bactériologique des échantillons de quelques produits laitiers locaux de la chaîne de production au Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(1), 244-252. DOI : <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v12i1.19>
- [3] Biaou G, Monhouanou J, Ahanchede A. 2006. Evaluation interne globale des performances et des résultats du Programme de Développement des Plantes à Racines et Tubercules (PDRT), Volume 1, version provisoire, 128 p.
- [4] MAEP (2007). Annuaire de la statistique : campagne 2016-2017. Cotonou.
- [5] Soulé BG, Aboudou F, Gansari S, Tassou M, Yallou JD. 2013. Analyse de la structure et la dynamique de la chaîne de valeur du manioc au Bénin. Rapport d'étude réalisé par le Laboratoire d'Analyse Régionale et d'Expertise Sociale. LARES, Cotonou, Bénin.
- [6] Diallo Y, Gueye M T, Sakho M, Darboux PG, Kane A, Barthelemy JP, Lognay G. 2013. Importance nutritionnelle du manioc et perspectives pour l'alimentation de base au Sénégal (synthèse bibliographique)/Nutritional importance of cassava and perspectives as a staple food in Senegal. *A review. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 17(4) : 634.
- [7] Konfo CT, Chabi NW, Agbadjizo J, Dahouenon-Ahoussi E, Soumanou MM, Sohounhloue DC. 2014. Influence de la feuille de *Hemizygia bracteosa* (Benth) sur la qualité de la bière du sorgho " tchakpalo" produite au Bénin/[Influence of *Hemizygia bracteosa* (Benth) sheet on the quality of sorghum beer" tchakpalo" produced in Benin]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 7(2) : 453-463.
- [8] AOAC, Official methods of analysis. 18 h edition, Arlington, Bénin. 1984, 16p
- [9] AOAC, "Official methods of analysis" 17th edition Arlington Washington D.C., pp 882-883, 1990.
- [10] NF V08-051, "Food Microbiology. Enumeration of Microorganisms by Counting the Colonies Obtained at 30°C", Routine method, 1999.
- [11] NF V08-050, "Food microbiology. Coliform counts by counting the colonies obtained at 30°C", Routine method, 1999.
- [12] NF ISO 7251 (juillet 2005) Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour le dénombrement d'*Escherichia coli* présumés – Technique du nombre le plus probable (Indice de classement : V08-020).
- [13] NF EN ISO 6888-1/A1, "Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) " - Partie 1 : technique utilisant le milieu gélosé de Baird-Parker-Amendement 1 : inclusion des données de fidélité, 2004.
- [14] NF V08-059, "Food Microbiology. Enumeration of Yeasts and Molds by Counting Colonies at 25°C", Routine method, 2002.
- [15] NF ISO 15213. 2003. Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour le dénombrement des bactéries sulfite-réductrices se développant en conditions anaérobies (Indice de classement : V08-029).
- [16] NF EN ISO 6579. 2002. Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp. (Indice de classement : V08-013).
- [17] Gmakouba T, Koussao S, Traore E. R, Kpemoua K. E, Zongo J D. 2018. Analyse de la diversité agromorphologique d'une collection de manioc (*Manihot esculenta* Crantz) du Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(1) : 402-421.
- [18] Rasoanantoandro-Gothard M C, Boukar J J L. Floret S C. 2003. L'amélioration des techniques de transformation du manioc en cossettes en RCA : rouissage en vase clos et séchage en encage thermique., Cirad - Prasac, p. 6
- [19] Soule B G, Gansari, Sanni G M. 2008. Bénin : étude sur la commercialisation des produits dérivés du manioc vers les marchés des pays limitrophes (Niger, Nigeria, Togo et Burkina Faso). Initiative régionale pour la transformation et la commercialisation du manioc (IRTCM). Projet de développement de racines et tubercules (PDRT). Rapport final. P.78.

- [20] FAIVELEY, M. 2012. L'eau et la conservation des aliments. <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/biochimie-alimentaire-analyses-et-alimentation-humaine-42470210/l-eau-et-la-conservation-des-aliments-f1011/>
- [21] Mukandila K P, Hell K, Hauser S, Lamboni L, Masimango JT. 2012. Qualité des produits dérivés du manioc prélevés au niveau des sites de fabrication et dans les marchés de Kinshasa, RD Congo.
- [22] Gnonlonfin G J B, Hell K, Fandohan P, Siame, A B. 2008. Mycoflora and natural occurrence of aflatoxins and fumonisin B 1 in cassava and yam chips from Benin, West Africa. *International Journal of Food Microbiology*, 122(1) : 140-147.
- [23] Amadi J E, Adebola, MO. 2008. Effect of moisture content and storage conditions on the storability of gari. *African Journal of Biotechnology*. 7 (24). 4591-4594.
- [24] Essono G, Ayodele M, Akoa A, Foko J, Olembo S, Gockowski J. 2007. *Aspergillus* species on cassava chips in storage in rural areas of southern Cameroon: their relationship with storage duration, moisture content and processing methods. *African Journal of Microbiology Research*, 1(1): 1-8.
- [25] Djoulde, DR, Essia, N G, Etoa, F X. 2007. Nutritive value, toxicological and hygienic quality of some cassava based products consumed in Cameroon. *Pakistan Journal of Nutrition* 6 (4): 404-408. DOI: 10.3923/pjn.2007.404.408
- [26] Gbaguidi-Darboux, P., Kouazoundé, G., Chabi China, L. A., Aruna, W., & Mestres, C. (2001). Caractéristiques de la production du lafou au Bénin.
- [27] Darman, R. D. (2004). Mise au point d'un ferment mixte destiné à la bioconversion des tubercules de manioc cyanogène (Doctoral dissertation, Université de Ngaoundéré).
- [28] Moorthy, S. N., & Mathew, G. (1998). Cassava fermentation and associated changes in physicochemical and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(2), 73-121.
- [29] Boubendir, A. Polycopié Cours de Microbiologie Alimentaire.

## Table de composition de cinq légumes-feuilles domestiques du Mali-sud

\*Cheickna Daou<sup>1</sup>, Ousmane Keita<sup>2</sup>, Julien Coulibaly<sup>2</sup>, Mamadou Wele<sup>2</sup>

<sup>1</sup>. Laboratoire de Technologie Alimentaire. Institut des Sciences Appliquées de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) – Mali, P B : 423 Bamako, Mali.

<sup>2</sup>. Laboratoire de Biochimie Alimentaire. Institut des Sciences Appliquées de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) – Mali, P B : 423 Bamako, Mali.

### Résumé

Les légumes feuilles sont utilisés dans l'alimentation comme compléments alimentaires et ingrédients des sauces. Au Mali, peu d'étude a été faite pour déterminer leurs tables de composition. Ainsi, le but de la présente est d'évaluer la composition physicochimique des feuilles de : *Arachis hypogaea*, *Solanum aethiopicum*, *Hibiscus sabdariffa*, *Ipomea batatas Lan* et *Manihot esculentus* Gantz provenant de quatre différentes zones du Mali.

L'humidité, la cendre, les protéines, les lipides, les glucides et les minéraux sont déterminés respectivement par déshydratation à l'étuve à 105 °C, incinération à 600°C et les méthodes de Kjeldahl, de Soxhlet, d'Anthrone et d'absorption atomique.

La provenance a peu influencé les différents paramètres. Les feuilles de *Manihot esculentus* Gantz de Bamako ont présenté la plus faible teneur en humidité (2,66 %) tandis que celles de *Arachis hypogaea* de Ségou la teneur en cendre la plus faible (4,44 %) et celle de Bamako la plus faible teneur en huile (1,3 %). Les feuilles de *Hibiscus sabdariffa* de Bamako et *Arachis hypogaea* ont présenté la teneur la plus faible en glucide (3,22%).

Les légumes feuilles étudiés ont montré une table de composition très riche en éléments nutritifs avec des concentrations variables. Une étude sera faite sur leurs activités biologiques.

**Mots clés :** Légumes - feuilles, domestique, table de composition, Mali

### Composition table of five domestic leafy vegetables from southern Mali

#### Abstract :

Leaves vegetables are used in food as a food supplement and as an ingredient in sauces. In Mali few studies have been done to determine their composition tables. Thus, the aim of the present study is to determine the physicochemical composition of the leaves of: *Arachis hypogaea*, *Solanum aethiopicum*, *Hibiscus sabdariffa*, *Ipomea batatas* and *Manihot esculentus* Gantz from four different areas of Mali.

Moisture, ash, proteins, lipids, carbohydrates and minerals are determined respectively by oven dehydration at 105 °C, incineration at 600 °C, methods of Kjeldahl, Soxhlet, Anthrone and atomic absorption.

The provenance had few influence on the various parameters. The leaves of *Manihot esculentus* Gantz from Bamako had the lowest moisture content (2.66 %) while those of *Arachis hypogaea* from Segou the lowest ash content (4.44 %) and that of Bamako the lowest oil content (1.3 %). The leaves of *Hibiscus sabdariffa* from Bamako and *Arachis hypogaea* had the lowest carbohydrate content (3.22 %).

The studied leaves vegetables showed a composition table very rich in nutrients with varying concentrations. Another study needed to investigate their biological activities.

Keywords: Leaves vegetables, domestic, composition tables, Mali

### Introduction

Les légumes-feuilles jouent un rôle important dans les régimes alimentaires de toutes les populations du monde, particulièrement en Afrique, en Asie et en Océanie, où ils assurent la partie essentielle des besoins nutritionnels et médicaux [1].

L'Afrique subsaharienne est dotée d'une grande diversité de plantes alimentaires. Parmi celles-ci se trouvent les légumes-feuilles [2]. Ils jouent un grand rôle dans l'agriculture et dans l'alimentation et génèrent des revenus non négligeables aussi bien dans les zones rurales que dans les zones urbaines [3].

Au Mali, les légumes-feuilles tels que *Arachis hypogaea*, *Solanum aethiopicum*, *Hibiscus sabdariffa*, *Ipomea batatas Lan* et de *Manihot esculentus* Gantz, occupent une place de choix dans l'habitude alimentaire. Ils sont cultivés comme plantes maraîchères et vendus sur les marchés. Ils sont également utilisés par les populations dans l'alimentation comme compléments alimentaires et ingrédients des sauces. En plus, Ils ont des vertus thérapeutiques diverses telles que les activités antioxydantes [4].

Ces légumes-feuilles renferment des micronutriments (vitamines, minéraux) qui contribuent au bien-être de l'organisme [4]. Cependant, malgré leurs multiples vertus et le grand intérêt qu'ils suscitent chez certains consommateurs, très peu de données sont disponibles sur leurs compositions physico-chimiques, nutritionnelles et énergétiques.

### Matériel et méthodes

#### Matériel végétal

Le matériel végétal était composé de poudre de feuilles de dix plantes alimentaires sauvages dont : *Arachis hypogaea*, *Solanum aethiopicum*, *Hibiscus sabdariffa*, *Ipomea batatas* et de *Manihot esculentus*.

## Méthodes

### Echantillonnage

Les feuilles des légumes et des plantes ont été achetées avec les producteurs ou cueillies dans la brousse. Ces échantillons provenaient de cinq localités choisies au hasard dont Banamba, Bamako, Bougouni, Kati et Ségou.

Les feuilles achetées ou cueillies ont été transportées au laboratoire de technologie alimentaire de l'ISA où elles ont été lavées avec de l'eau javellisée et séchées à l'ombre. Une fois séchées ont été broyées puis tamisées pour avoir des poudres utilisées pour la détermination de leur table de composition.

### 2.2.2. Détermination de l'humidité et la teneur en matière sèche

Cette détermination a été faite par dessiccation de 5g de chaque échantillon dans une étuve réglée à 105 °C. Après avoir passé 3 heures dans l'étuve, les échantillons ont été pesés après refroidissement. Il a été procédé ainsi jusqu'à l'obtention d'un poids constant. L'opération a été répétée 3 fois.

$$\% \text{ Humidité} = [(P1 - P0) / PE] \times 100$$

**Matière sèche** = 100 - % Humidité, avec : P0 = Poids de coupelle vide ; P1 = Poids de la coupelle après incinération ; PE = Masse de la prise d'essai.

### 2.2.4. Détermination de la teneur en cendres totales

Elle a été faite par incinération de 5 g de chaque échantillon dans un four à moufle réglé à 600 °C jusqu'à l'obtention de cendre de couleur blanchâtre (6 heures). La teneur en cendres en pourcentage (%) des différents échantillons a été calculée par la formule ci-dessous :

$$\% \text{ Cendres} = [(P1 - P0) / PE] \times 100, \text{ avec : } P0 = \text{Poids du creuset vide ; } P1 = \text{Poids du creuset après incinération ; } PE = \text{Masse de la prise d'essai.}$$

### 2.2.5. Dosage des protéines dans les échantillons

La teneur en protéine a été déterminée par la méthode de Kjeldahl rapportée par Makalao [5].

La teneur en protéine de l'échantillon a été calculée de la manière suivante :

$$\% \text{ Protéine} = [(V_1 - V_0) \times T \times 0,014 \times 100] / m \times 6,25, \text{ avec : } V_1 = \text{Volume de } H_2SO_4 \text{ utilisé pour le titrage de l'échantillon ; } V_0 = \text{Volume de } H_2SO_4 \text{ utilisé pour le titrage du blanc } T = \text{Titre de l'acide sulfurique (0,5 mol/L) ; } m = \text{masse de prise d'essai de l'échantillon.}$$

### 2.2.6. Dosage des lipides dans les échantillons

La teneur en lipide de chaque échantillon a été déterminée par la méthode Soxhlet rapportée par Doukani [6].

$$\% \text{ matières grasses} = [(P1 - P0) / PE] \times 100, \text{ avec : } P0 = \text{Poids du ballon à vide ; } P1 = \text{Poids du ballon contenant les lipides ; } PE = \text{Prise d'essai.}$$

### 2.2.7. Dosage des glucides dans les échantillons

Le dosage des glucides a été fait par la méthode colorimétrique à anthrone suivant le protocole de « Plant Lab. Protocol » [7].

### 2.2.8. Détermination de la teneur en minéraux

La teneur en minéraux a été déterminée par le spectrophotomètre d'absorption atomique de marque Perkin Elmer, de la série A.Analyst 400. Ainsi, 1g de chaque échantillon a été minéralisé avec 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 150 °C jusqu'à ce que le mélange devienne blanc, soit pendant 30 min. Ensuite, 10 mL d'acide nitrique et 10 mL d'acide sulfurique ont été ajoutés afin de mettre les minéraux en solution. Le mélange filtré dans une fiole de 100 mL a été complété avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge. Après, chaque échantillon minéralisé a été analysée au spectrophotomètre afin de déterminer sa teneur en cet atome.

$$T \text{ (mg/Kg)} = C \times V/S, \text{ avec : } T : \text{Concentration de l'élément en mg/Kg ; } C : \text{Concentration en mg/L déterminée par la courbe d'étalonnage ; } S : \text{Poids de la prise de plante en g (1g) ; } V : \text{Volume d'extraction en mL (100 mL).}$$

### 6.1.1. Analyse statistique

Chaque concentration a été lue trois fois (n=3). La valeur obtenue est la moyenne de ces trois lectures. La moyenne, les écart-types et figures ont été faits à partir du logiciel Excel.

## Résultats et discussion

### Résultats

### 3.1.1. Composition physico-chimique des feuilles des légumes –feuilles domestiques

Les tableaux I, II et III représentent la composition physico-chimique des légumes-feuilles.

**Tableau I:** Composition physico-chimique des feuilles de *Arachis hypogaea* et de *Solanum aethiopicum*

Provenances	<i>Arachis hypogaea</i>			<i>Solanum aethiopicum</i>		
	Humidité (%)	Matière sèche (%)	Cendre (%)	Humidité (%)	Matière sèche (%)	Cendre (%)
Bamako	9,1 ± 0,37 <sup>AB</sup>	90,9 ± 0,37 <sup>AB</sup>	7,04 ± 0,11 <sup>C</sup>	3,93 ± 0,30 <sup>AB</sup>	96,07 ± 0,30 <sup>AB</sup>	17,73 ± 0,08 <sup>C</sup>
Banamba	7,3 ± 0,76 <sup>B</sup>	92,7 ± 0,76 <sup>A</sup>	7,91 ± 0,25 <sup>B</sup>	4,42 ± 0,17 <sup>AB</sup>	95,58 ± 0,17 <sup>AB</sup>	18,5 ± 6,06 <sup>A</sup>
Bougouni	8,4 ± 1,42 <sup>B</sup>	91,6 ± 1,42 <sup>A</sup>	6,68 ± 0,22 <sup>C</sup>	5,65 ± 1,58 <sup>A</sup>	94,35 ± 1,58 <sup>B</sup>	17,17 ± 0,29 <sup>D</sup>
Kati	7,93 ± 0,96 <sup>B</sup>	92,07 ± 0,76 <sup>A</sup>	9,41 ± 0,15 <sup>A</sup>	4,74 ± 0,22 <sup>AB</sup>	95,28 ± 0,22 <sup>AB</sup>	16 ± 0,00 <sup>E</sup>
Ségou	11,62 ± 1,18 <sup>A</sup>	88,38 ± 1,18 <sup>B</sup>	4,44 ± 0,39 <sup>D</sup>	3,99 ± 0,70 <sup>B</sup>	96,01 ± 0,70 <sup>A</sup>	21,13 ± 0,32 <sup>B</sup>

**Tableau II:** Composition physico-chimique des feuilles *Hibiscus sabdariffa* et de *Manihot esculentus* Gantz

Provenances	<i>Hibiscus sabdariffa</i>			<i>Manihot esculentus</i> Gantz		
	Humidité (%)	Matière sèche (%)	Cendre (%)	Humidité (%)	Matière sèche (%)	Cendre (%)
Bamako	4,46 ± 0,30 <sup>C</sup>	95,54 ± 0,30 <sup>A</sup>	7,95 ± 0,08 <sup>AB</sup>	2,66 ± 0,05 <sup>AB</sup>	97,34 ± 0,05 <sup>A</sup>	8,29 ± 0,25 <sup>A</sup>
Banamba	6,29 ± 0,25 <sup>C</sup>	93,71 ± 0,25 <sup>A</sup>	9,17 ± 0,3 <sup>A</sup>	5,48 ± 0,27 <sup>A</sup>	94,52 ± 0,27 <sup>B</sup>	8,23 ± 0,06 <sup>A</sup>
Bougouni	4,83 ± 0,09 <sup>C</sup>	95,17 ± 0,09 <sup>A</sup>	8,67 ± 3,01 <sup>A</sup>	3,86 ± 0,22 <sup>C</sup>	96,14 ± 0,22 <sup>AB</sup>	8,33 ± 0,58 <sup>A</sup>
Kati	15 ± 0,29 <sup>A</sup>	85 ± 0,29 <sup>C</sup>	7,1 ± 0,07 <sup>B</sup>	4,21 ± 0,15 <sup>BC</sup>	95,79 ± 0,15 <sup>A</sup>	8,00 ± 0,00 <sup>A</sup>
Ségou	12,08 ± 1,59 <sup>B</sup>	87,92 ± 1,59 <sup>B</sup>	8,14 ± 0,2 <sup>AB</sup>	3,85 ± 0,11 <sup>C</sup>	96,15 ± 0,11 <sup>A</sup>	8,69 ± 0,63 <sup>A</sup>

**Tableau III:** Composition physico-chimique des feuilles de *Ipomea batatas* Lan

Provenances	Humidité (%)	Matière sèche (%)	Cendre (%)
Bamako	3,93 ± 0,50 <sup>B</sup>	96,07 ± 0,50 <sup>A</sup>	17,31 ± 0,74 <sup>A</sup>
Banamba	5,95 ± 0,27 <sup>A</sup>	94,02 ± 0,27 <sup>B</sup>	14,9 ± 2,63 <sup>AB</sup>
Bougouni	4,58 ± 0,21 <sup>AB</sup>	95,42 ± 0,21 <sup>AB</sup>	12,46 ± 0,26 <sup>B</sup>
Kati	3,61 ± 0,81 <sup>B</sup>	96,39 ± 0,81 <sup>AB</sup>	11,71 ± 0,05 <sup>B</sup>
Ségou	4,78 ± 0,57 <sup>AB</sup>	95,22 ± 0,57 <sup>A</sup>	12,33 ± 0,51 <sup>B</sup>

### 3.1.2. Caractérisations nutritionnelle et énergétique des feuilles-feuilles domestiques

Les caractérisations nutritionnelle et énergétique des légumes-feuilles sont représentées dans les tableaux IV, V et VI.

**Tableau IV:** Caractérisations nutritionnelle et énergétique des feuilles de *Arachis hypogaea* et de *Solanum aethiopicum*

Provenances	<i>Arachis hypogaea</i>				<i>Solanum aethiopicum</i>			
	Glucides (mg/100mg)	Lipides (%)	Protéines (%)	Valeur Energétique (Kcal)	Glucides (mg/100mg)	Lipides (%)	Protéines (%)	Valeur Energétique (Kcal)
Bamako	4,46 ± 0,83 <sup>B</sup>	1,7 ± ,37 <sup>A</sup>	5,92±0,25 <sup>C</sup>	56,79±5,02 <sup>BC</sup>	5,70 ± 0,46 <sup>A</sup>	3,33 ± 0,29 <sup>B</sup>	5,18±0,68 <sup>C</sup>	73,53±5,67 <sup>B</sup>
Banamba	3,99 ± 0,68 <sup>B</sup>	1,76±0,35 <sup>A</sup>	9,07±0,21 <sup>A</sup>	68,07±3,21 <sup>AB</sup>	4,24 ± 0,42 <sup>B</sup>	3,5 ± 0,87 <sup>B</sup>	7,73±0,20 <sup>B</sup>	79,39±7,16 <sup>B</sup>
Bougouni	3,28 ± 0,75 <sup>B</sup>	1,97±0,59 <sup>A</sup>	6,22±0,03 <sup>C</sup>	55,78±4,11 <sup>C</sup>	5,58 ± 0,21 <sup>A</sup>	3,33 ± 0,47 <sup>AB</sup>	7,96±0,41 <sup>B</sup>	87,13±6,03 <sup>B</sup>
Kati	3,65 ± 0,8 <sup>B</sup>	2,01±0,77 <sup>A</sup>	7,14±0,03 <sup>B</sup>	61,22±5,20 <sup>BC</sup>	5,39 ± 0,48 <sup>A</sup>	2,33 ± 0,23 <sup>B</sup>	8,18±0,07 <sup>B</sup>	75,26±0,80 <sup>B</sup>
Ségou	6,79 ± 0,6 <sup>A</sup>	1,37 ± 0,3 <sup>A</sup>	8,85±0,01 <sup>A</sup>	74,91±4,34 <sup>A</sup>	5,41 ± 0,37 <sup>A</sup>	5,17 ± 0,76 <sup>A</sup>	10,28±0,03 <sup>A</sup>	109,26±7,53 <sup>A</sup>

**Tableau V:** Caractérisations nutritionnelle et énergétique des feuilles de *Hibiscus sabdariffa* et de *Manihot esculentus* Gantz

Provenances	<i>Hibiscus sabdariffa</i>				<i>Manihot esculentus</i> Gantz			
	Glucides (mg/100mg)	Lipides (%)	Protéines (%)	Valeur Energétique (Kcal)	Glucides (mg/100mg)	Lipides (%)	Protéines (%)	Valeur Energétique (Kcal)
Bamako	3,28 ± 0,27 <sup>C</sup>	5,00 ± 0,5 <sup>A</sup>	3,35±0,37 <sup>D</sup>	71,51±4,35 <sup>AB</sup>	5,81 ± 0,66 <sup>A</sup>	7,33 ± 0,76 <sup>A</sup>	5,10 ±0,47 <sup>D</sup>	109,68 ±8,22 <sup>BC</sup>
Banamba	4,81 ± 0,44 <sup>AB</sup>	4,00± 0,5 <sup>AB</sup>	5,90±0,66 <sup>B</sup>	78,84±2,63 <sup>A</sup>	5,39 ± 0,31 <sup>A</sup>	5 ± 0,87 <sup>C</sup>	8,67 ±0,34 <sup>C</sup>	101,24 ±8,35 <sup>C</sup>
Bougouni	5,99 ± 0,52 <sup>A</sup>	4,5 ± 0,82 <sup>A</sup>	4,58±0,26 <sup>BC</sup>	82,78±10,05 <sup>A</sup>	3,57 ± 0,02 <sup>B</sup>	7,83 ± 0,58 <sup>A</sup>	10,52 ±0,26 <sup>AB</sup>	126,85 ±5,87 <sup>A</sup>
Kati	3,96 ± 0,91 <sup>BC</sup>	2,31± 0,76 <sup>B</sup>	3,88±0,16 <sup>CD</sup>	52,16±10,39 <sup>B</sup>	6,19 ± 0,41 <sup>A</sup>	5,33 ± 0,29 <sup>BC</sup>	11,23 ±0,18 <sup>A</sup>	117,67 ±2,01 <sup>AB</sup>
Ségou	3,78 ± 0,01 <sup>BC</sup>	2,4 ± 0,73 <sup>B</sup>	5,54±0,09 <sup>AB</sup>	58,90±6,30 <sup>B</sup>	4,99 ± 0,69 <sup>A</sup>	6,67 ± ,29 <sup>AB</sup>	10,37 ±0,18 <sup>B</sup>	121,46 ±3,34 <sup>AB</sup>

**Tableau VI :** Caractérisations nutritionnelle et énergétique des feuilles de *Ipomea batatas* Lan

Provenances	Glucides (%)	Lipides (%)	Protéines (%)	Valeur Energétique
Bamako	4,79 ± 0,86 <sup>B</sup>	3,33 ± 0,29 <sup>AB</sup>	4,42±0,06 <sup>C</sup>	66,85±1,44 <sup>C</sup>
Banamba	4,97 ± 0,02 <sup>B</sup>	2,67 ± 0,76 <sup>AB</sup>	11,46±0,55 <sup>A</sup>	89,72±5,45 <sup>AB</sup>
Bougouni	6,86 ± 0,36 <sup>A</sup>	2,5 ± 0,01 <sup>B</sup>	8,41±0,66 <sup>B</sup>	83,59±1,41 <sup>B</sup>
Kati	5,45 ± 0, <sup>58B</sup>	3,17 ± 0,29 <sup>AB</sup>	7,94±0,70 <sup>B</sup>	82,07±3,71 <sup>B</sup>
Ségou	4,40 ± 0,25 <sup>B</sup>	3,67 ± 0,29 <sup>A</sup>	11,53±0,49 <sup>A</sup>	96,74±1,94 <sup>A</sup>

### 3.1.3. Concentration en minéraux des feuilles-feuilles domestiques

Les teneurs en minéraux des légumes –feuilles est répertoriée dans les tableaux VII, VIII et IX.

**Tableau VII:** Concentration en minéraux des feuilles de *Arachis hypogaea* (A) et des feuilles de *Solanum aethiopicum* (B)

Provenances	Minéraux (mg/100 g)													
	Ca		Fe		K		Mg		Na		P		Zn	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Banamba	412,5	450,26	55,2	70,76	1328,9	109,03	44,8	84,31	69,4	13,26	23,4	130,6	4,1	25,94
Bamako	415	496,22	35,5	17,97	745	108,86	45,5	47,85	58,3	52,2	22	975	13,2	157,4
Bougouni	385,8	55,09	89,3	6,75	554,6	108,94	45,8	86,14	63,2	45,21	185,8	630,2	11,7	321,1
Kati	427	320,42	73,6	12,23	1371,6	109,14	4,59	81,72	67,1	10,74	13,4	124,7	6,8	0
Ségou	354,4	225,2	153,1	0	852	107,52	47,3	47,52	54,1	18,91	107,2	100,5	14,3	138,2

**Tableau VIII :** Concentration en minéraux des feuilles de *Hibiscus sabdariffa* (A) et des feuilles de *Manihot esculentus* Gantz (B)

Provenances	Minéraux (mg/100 g)													
	Ca		Fe		K		Mg		Na		P		Zn	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Banamba	421,74	355,32	18,19	13,17	110,6	109,53	47,27	101,25	21,27	10,41	110,8	100,5	38,6	0,5
Bamako	340,37	480,05	25,09	25,92	109,85	109,42	86,41	100,9	32,2	24,17	590,4	170,9	21,58	15,88
Bougouni	483,72	548,83	7,08	6,27	109,96	109,49	41,33	101,51	17,85	11,52	100,4	110,8	52,2	0
Kati	465,4	532,99	191,7	54,7	633,7	109,62	53,7	100,91	70,7	15,75	9,4	120,4	4,9	182,24
Ségou	419,9	595,78	199,6	47,09	278,7	109,9	45,2	76,58	24,2	8,58	348	180,8	18,6	45,24

**Tableau IX** : Concentration en minéraux des feuilles de *Ipomea batatas* Lan

Provenances	Minéraux (mg/100 g)						
	Ca	Fe	K	Mg	Na	P	Zn
Banamba	392,64	0	108,65	94,67	72,28	180,8	40,33
Bamako	338,05	17,55	108,76	47,93	27,56	242,8	1,8
Bougouni	280,31	67,23	108,79	101,13	21,45	173,9	14,45
Kati	323,05	0	108,94	100,4	16,43	420,3	9,6
Ségou	488,33	41,1	108,89	93,61	42,09	235,5	0

### Discussion

L'analyse physico-chimique des différents légumes-feuilles a révélé une grande variabilité pour la plupart des paramètres étudiés.

Le taux d'humidité de ces légumes-feuilles varie entre 2,66 et 15,08 %. Ce résultat est significativement différent de celui trouvé par Yao [8]. Cette différence pourrait s'expliquer par l'analyse de leurs échantillons à l'état frais. La teneur en cendre des légumes-feuilles est de 4,44 à 21,13 %. Ces valeurs sont supérieures à ceux de Prisacaru [9].

Ces légumes-feuilles sont riches en lipides (1,37 à 7,83 %). Ces valeurs sont supérieures à celles trouvées par Yao [8]. Quant aux protéines, la teneur a varié entre 3,35 et 11,53% qui est supérieure à celles obtenues par Moussa [10] et inférieure à celles obtenues par Glew [11]. Les teneurs en glucides des légumes-feuilles sont comprises entre 3,28 et 6,86 mg/100mg.

Les minéraux sont importants dans l'alimentation du fait de leurs rôles physiologiques et métaboliques. Les teneurs en fer des légumes-feuilles analysés comprises entre 0 et 199,6 mg /100g sont similaires à celles trouvées dans les légumes-feuilles par Anin [12]. Ils constituent une bonne source de fer permettant d'éviter l'anémie et d'autres déficiences en micronutriments [13]. Le calcium a un effet sur la santé des os en termes de protection. Les teneurs en calcium comprises entre 55,09 et 595,78 mg/100g sont inférieures à celles trouvées dans les légumes-feuilles par Odhav [14].

### Conclusion

Cette étude a permis de montrer que les feuilles de *Arachis hypogaea*, *Solanum aethiopicum*, *Hibiscus sabdariffa*, *Ipomea batatas* et de *Manihot esculentus* sont riches en minéraux, protéines, lipides et en glucides qui doivent être conseillées aux populations et pouvant contribuer à la prise en charge de l'insécurité alimentaire et de la malnutrition.

### Remerciements

Nous remercions le rectorat de l'Université des sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) du Mali pour le financement de la présente étude et l'Institut des Sciences Appliquées (ISA) pour sa réalisation.

### Références bibliographiques

- [1] Batawila, K., Kokou, K., Koumaglo, K., Gbeassor, M., de Foucault, B., Bouchet, Ph., Akpagana, K. Antifungal activities of five *Combretaceae* used in Togolese traditional medicine. *Fitoterapia* (2005) vol 76 (2) p. 264 – 268.
- [2] Almekinders C. & Boef W. Encouraging diversity. The conservation and development of plant genetic resources. Intermediate Technology. Publication (2000), London (UK), 14 P.
- [3] Sène E.H. Forêts et sécurité alimentaire en Afrique. La place de la foresterie dans le Programme spécial pour la sécurité alimentaire de la FAO. In: FAO (eds.) (2000). *Forêts, sécurité alimentaire et moyens de subsistance durables*.
- [4] Nabila BOUGANDOURA, Nassima BENDIMERAD. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Revue « Nature & Technologie »*. B-Sciences Agronomiques et Biologiques (2013) n° 09. Pages 14 à 19
- [5] Makalao. M. M., SAVADOGO, A., Zongo, C., & Traore, A. S. composition nutritionnelle de 10 fruits sauvages consommés dans trois départements du Tchad. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, (2015) 9 (5), 2385-2400. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i5.11>
- [6] Doukani, K., & Tabak, S. profil physicochimique du fruit "Lendj" (*Arbutus unedo* L.). *Revue Nature & Technologie* (2015) 12, 53-66
- [7] [https://biocyclopedia.com/index/plant\\_protocols/carbohydrates/total\\_carbohydrates\\_by\\_anthrone.php](https://biocyclopedia.com/index/plant_protocols/carbohydrates/total_carbohydrates_by_anthrone.php) Plant Lab. Protocol

- [8] Yao N'Zué B, Kpata-Konan Nazo E, Guetandé Koné L, Tano K. Caractérisation De Quelques Légumes-Feuilles Les Plus Consommés Dans La Ville De Daloa (Centre-Ouest, Côte d'Ivoire). European Scientific Journal, ESJ (2020), 16 (36) ISSN: 1857-7881 (Print) e - ISSN 1857-7431
- [9] Prisacaru A. E., Apostol L. C. & Ropciuc S. Estimation of heavy metal levels in green leafy vegetables purchased from suceava. Journal of Faculty of Food Engineering, Stefan cel Mare University of Suceava, Romania (2017). Volume XVI, pp 234 – 238.
- [10] Moussa N., Wade S., Dossou N., Amadou T. & Rokhaya D. Valeur nutritionnelle du *Moringa oleifera*, étude de la biodisponibilité du fer, effet d'enrichissement de divers plats traditionnels Sénégalais avec la poudre des feuilles. African journal of Food Agriculture Nutrition and Development (2007), vol. 7, N0.3.
- [11] Glew R. S., Dorothy J., Chuang L.-T., Huang Y.-S., Millson M., Glew R. H. Nutrient content of four edible wild plants from West Africa. Plant Foods Hum. Nutr. (2005) 60: 187-193.
- [12] Anin L. O. A., Soro L. C., Kouamé C., Agbo E. A. & Kouadio K. K. A. (2012). Valeur nutritionnelle des légumes-feuilles consommés en Côte d'Ivoire. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 6(1): 128-135
- [13] Nangula P., Oelofse A., Duodu, K. G., Bester M. J., Mieke, F. Nutritional value of leafy vegetables of Sub-Saharan Africa and their potential contribution to human health: A Review. Journal of food composition and Analysis (2010), Vol. 23 (6) p 499-509
- [14] Odhav B., Beekrum S., Akula U. & Baijnath H. (2007). Preliminary assessment of nutritional value of traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. Journal of Food Composition and Analysis, 20: 430–435.

## Table de composition de cinq légumes-feuilles sauvages du Mali-sud

\*Cheickna Daou<sup>1</sup>, Ousmane Keita<sup>2</sup>, Julien Coulibaly<sup>2</sup>, Mamadou Wele<sup>2</sup>

<sup>1</sup>. Laboratoire de Technologie Alimentaire. Institut des Sciences Appliquées de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) – Mali, P B : 423 Bamako, Mali.

<sup>2</sup>. Laboratoire de Biochimie Alimentaire. Institut des Sciences Appliquées de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) – Mali, P B : 423 Bamako, Mali.

### Résumé

Au Mali, les légumes-feuilles sauvages sont utilisés dans l'alimentation comme compléments alimentaires et ingrédients des sauces. Cependant, peu d'étude a été faite pour déterminer leurs tables de composition. Ainsi, le but de la présente est d'évaluer la composition physicochimique des feuilles de : *Moringa Oleifera*, *Portulaca oleracea*, *Ceratotheca sesamoides* Endl., *Cordia myxa* L., et *Corchorus tridens* L.

L'humidité, le cendre, les protéines, les lipides, les glucides et les minéraux sont déterminés respectivement par déshydratation à l'étuve à 105 °C, incinération à 600°C et les méthodes de Kjeldahl, de Soxhlet, d'Anthrone et d'absorption atomique.

Les feuilles de *Moringa oleifera* de Kati et de Ségou ont présenté la plus faible teneur en humidité (3,66 %) tandis que celles de *Ceratotheca sesamoides* Endl de Bamako la teneur en cendre la plus faible (6,67 %). *Cordia myxa* L de Kati a présenté la plus faible teneur de glucide (2,51 mg /100 g) et Les feuilles de *Portulaca oleracea* de Kati et Ségou ont présenté la teneur la plus faible en lipide (0,84 %).

Les légumes feuilles étudiés ont montré une table de composition très riche en éléments nutritifs avec des concentrations variables. Une étude sera faite sur leurs activités biologiques.

**Mots clés :** Légumes - feuilles, sauvage, table de composition, Mali

## Composition table of five wild leafy vegetables from southern Mali

### Abstract:

In Mali, wild leafy vegetables are used in food as food supplement and as an ingredient in sauces. However, few studies have been done to determine their composition tables. Thus, the aim of this study is to determine the physicochemical composition of the leaves of: *Moringa oleifera*, *Portulaca oleracea*, *Ceratotheca sesamoides* Endl. *Cordia myxa* L and *Corchorus tridens* L.

Moisture, ash, proteins, lipids, carbohydrates and minerals are determined respectively by oven dehydration at 105 °C, incineration at 600 °C, methods of Kjeldahl, Soxhlet, anthrone and atomic absorption.

*Moringa oleifera* leaves from Kati and Segou had the lowest moisture content (3.66 %) while, those of *Ceratotheca sesamoides* Endl. From Bamako had the lowest ash content (6.67 %). *Cordia myxa* L from Kati had the lowest carbohydrate content (2.51 mg/100g) and *Portulaca oleracea* leaves from Kati and Segou had the lowest lipid content (0.84 %).

The studied leaves vegetables showed a composition table very rich in nutrients in varying concentrations. Another study needed to investigate their biological activities.

**Keywords:** leaves vegetables, wild, composition table, Mali

### Introduction

Les légumes-feuilles jouent un rôle important dans les régimes alimentaires de toutes les populations du monde, particulièrement en Afrique, en Asie et en Océanie, où ils assurent la partie essentielle des besoins nutritionnels et médicaux [1].

L'Afrique subsaharienne est dotée d'une grande diversité de plantes alimentaires. Parmi celles-ci se trouvent les légumes-feuilles [2]. Ils jouent un grand rôle dans l'agriculture et dans l'alimentation et génèrent des revenus non négligeables aussi bien dans les zones rurales que dans les zones urbaines [3].

Au Mali, les légumes-feuilles tels que *Moringa oleifera*, *Portulaca oleracea*, *Ceratotheca sesamoides*, *Cordia myxa* et *Corchorus tridens* occupent une place de choix dans l'habitude alimentaire. Ils sont cultivés comme plantes maraîchères et vendus sur les marchés. Ils sont également utilisés par les populations dans l'alimentation comme compléments alimentaires et ingrédients des sauces. En plus, Ils ont des vertus thérapeutiques diverses telles que les activités antioxydantes. [4].

Ces légumes-feuilles renferment des micronutriments (vitamines, minéraux) qui contribuent au bien-être de l'organisme [4]. Cependant, malgré leurs multiples vertus et le grand intérêt qu'ils suscitent chez certains consommateurs, très peu de données sont disponibles sur leurs compositions physico-chimiques, nutritionnelles et énergétiques.

## Matériel et méthodes

### 6.2. Matériel végétal

Le matériel végétal était composé de poudre de feuilles de dix plantes alimentaires sauvages dont : *Moringa oleifera*, *Portulaca oleracea*, *Ceratotheca sesamoides*, *Cordia myxa* et *Corchorus tridens*.

### 6.3. Méthodes

#### 6.3.1. Echantillonnage

Les feuilles des légumes et des plantes ont été achetées avec les producteurs ou cueillies dans la brousse. Ces échantillons provenaient de cinq localités choisies au hasard dont Banamba, Bamako, Bougouni, Kati et Ségou.

Les feuilles achetées ou cueillies ont été transportées au laboratoire de technologie alimentaire de l'ISA où elles ont été lavées avec de l'eau javellisée et séchées à l'ombre. Une fois séchées ont été broyées puis tamisées pour avoir des poudres utilisées pour la détermination de leur table de composition.

#### 6.3.2. Détermination de l'humidité et la teneur en matière sèche

Cette détermination a été faite par dessiccation de 5g de chaque échantillon dans une étuve réglée à 105 °C. Après avoir passé 3 heures dans l'étuve, les échantillons ont été pesés après refroidissement. Il a été procédé ainsi jusqu'à l'obtention d'un poids constant. L'opération a été répétée 3 fois.

$$\% \text{ Humidité} = [(P1 - P0) / PE] \times 100$$

**Matière sèche** = 100 - % Humidité, avec : P0 = Poids de coupelle vide ; P1 = Poids de la coupelle après incinération ; PE = Masse de la prise d'essai.

#### 6.3.3. Détermination de la teneur en cendres totales

Elle a été faite par incinération de 5 g de chaque échantillon dans un four à moufle réglé à 600 °C jusqu'à l'obtention de cendre de couleur blanchâtre (6 heures). La teneur en cendres en pourcentage (%) des différents échantillons a été calculée par la formule ci-dessous :

**% Cendres** =  $[(P1 - P0) / PE] \times 100$ , avec : P0 = Poids du creuset vide ; P1 = Poids du creuset après incinération ; PE = Masse de la prise d'essai.

#### 6.3.4. Dosage des protéines dans les échantillons

La teneur en protéine a été déterminée par la méthode de Kjeldahl rapportée par Makalao [5].

La teneur en protéine de l'échantillon a été calculée de la manière suivante :

**% Protéine** =  $[(V_1 - V_0) \times T \times 0,014 \times 100] / m \times 6,25$ , avec : V<sub>1</sub> = Volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> utilisé pour le titrage de l'échantillon ; V<sub>0</sub> = Volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> utilisé pour le titrage du blanc T = Titre de l'acide sulfurique (0,5 mol/L) ; m = masse de prise d'essai de l'échantillon.

#### 2.2.6. Dosage des lipides dans les échantillons

La teneur en lipide de chaque échantillon a été déterminée par la méthode Soxhlet rapportée par Doukani [6].

**% matières grasses** =  $[(P1 - P0) / PE] \times 100$ , avec : P0 = Poids du ballon à vide; P1 = Poids du ballon contenant les lipides ; PE = Prise d'essai.

#### 2.2.7. Dosage des glucides dans les échantillons

Le dosage des glucides a été fait par la méthode colorimétrique à anthrone suivant le protocole de « Plant Lab. Protocol » [7].

#### 2.2.8. Détermination de la teneur en minéraux

La teneur en minéraux a été déterminée par le spectrophotomètre d'absorption atomique de marque Perkin Elmer, de la série A.Analyst 400. Ainsi, 1g de chaque échantillon a été minéralisé avec 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 150 °C jusqu'à ce que le mélange devienne blanc, soit pendant 30 min. Ensuite, 10 mL d'acide nitrique et 10 mL d'acide sulfurique ont été ajoutés afin de mettre les minéraux en solution. Le mélange filtré dans une fiole de 100 mL a été complété avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge. Après, chaque échantillon minéralisé a été analysée au spectrophotomètre afin de déterminer sa teneur en cet atome.

**T (mg/Kg)** = C x V/S, avec : T : Concentration de l'élément en mg/Kg ; C : Concentration en mg/L déterminée par la courbe d'étalonnage ; S : Poids de la prise de plante en g (1g) ; V : Volume d'extraction en mL (100 mL).

#### 6.3.5. Analyse statistique

Les moyennes et les écart-types ont été calculés par le logiciel Excel. Le traitement statistique a été faite par le logiciel Mini tab 18.

## 7. Résultats et discussion

### 7.1. Résultats

### 3.1.1. Composition physico-chimique des légumes –feuilles domestiques

Les tableaux I, II et III représentent la composition physico-chimique des légumes-feuilles.

**Tableau I:** Composition physico-chimique des feuilles de *Moringa oleifera* et des feuilles de *Portulaca oleracea*

Provenances	<i>Moringa Oleifera</i>			<i>Portulaca oleracea</i>		
	Humidité (%)	Matière sèche (%)	Cendre (%)	Humidité (%)	Matière sèche (%)	Cendre (%)
Bamako	5,98±0,25 <sup>B</sup>	94,02±0,25 <sup>B</sup>	9,98 ± 0,63 <sup>B</sup>	8,79 ± 0,58 <sup>B</sup>	91,21± 0,58 <sup>C</sup>	20,59±0,18 <sup>B</sup>
Banamba	9,98±0,32 <sup>A</sup>	90,02±0,32 <sup>C</sup>	8,83 ± 0,13 <sup>B</sup>	7,54 ± 0,28 <sup>C</sup>	92,46 ± 0,28 <sup>B</sup>	21,38±0,25 <sup>B</sup>
Bougouni	5,71±0,11 <sup>B</sup>	94,29±0,11 <sup>B</sup>	11,68 ± 0,4 <sup>A</sup>	5,03 ± 0,22 <sup>D</sup>	94,97 ± 0,22 <sup>A</sup>	19,46±0,11 <sup>C</sup>
Kati	3,66±0,30 <sup>C</sup>	96,34±0,30 <sup>A</sup>	10,50±0,00 <sup>B</sup>	10,12±0,45 <sup>A</sup>	89,88 ± 0,45 <sup>D</sup>	17,27±0,57 <sup>D</sup>
Ségou	3,66±0,11 <sup>C</sup>	96,34±0,11 <sup>A</sup>	12,48±0,03 <sup>A</sup>	8,94±0,42 <sup>B</sup>	91,06 ± 0,42 <sup>C</sup>	25,94±0,56 <sup>A</sup>

**Tableau II:** Composition physico-chimique des feuilles de *Ceratotheca sesamoides* et des feuilles de *Cordia myxa*

Provenances	Humidité (%)	Matière sèche (%)	Cendre (%)	Humidité (%)	Matière sèche (%)	Cendre (%)
Bamako	8,05±0,84 <sup>B</sup>	91,95±0,84 <sup>B</sup>	6,67 ± 0,12 <sup>B</sup>	6,73±0,75 <sup>C</sup>	93,27± 0,75 <sup>A</sup>	11,46 ± 0,31 <sup>B</sup>
Banamba	5,91±0,31 <sup>C</sup>	94,09±0,31 <sup>A</sup>	8,67 ± 0,76 <sup>A</sup>	6,18±0,41 <sup>C</sup>	93,82± 0,41 <sup>A</sup>	12,97 ± 0,03 <sup>A</sup>
Bougouni	6,64±0,29 <sup>BC</sup>	93,36±0,29 <sup>AB</sup>	10,21±0,08 <sup>A</sup>	8,52±0,68 <sup>B</sup>	91,48± 0,68 <sup>B</sup>	13,2 ± 0,46 <sup>A</sup>
Kati	10,45±0,65 <sup>A</sup>	89,55± 0,65 <sup>C</sup>	9,64 ± 0,65 <sup>A</sup>	11,12±0,95 <sup>A</sup>	88,88± 0,95 <sup>C</sup>	9,72 ± 0,13 <sup>C</sup>
Ségou	7,09±1,06 <sup>BC</sup>	92,91±1,06 <sup>AB</sup>	9,87 ± 0,86 <sup>A</sup>	7,21±0,35 <sup>B</sup>	92,79±0,35 <sup>AB</sup>	11,91 ± 0,48 <sup>B</sup>

**Tableau III:** Composition physico-chimique des feuilles de *Corchorus tridens*

Provenances	Humidité (%)	Matière sèche (%)	Cendre (%)
Bamako	7,38 ± 0,67 <sup>B</sup>	92,62 ± 0,67 <sup>B</sup>	9,84 ± 0,27 <sup>D</sup>
Banamba	7,11± 0,58 <sup>BC</sup>	92,89 ± 0,58 <sup>A B</sup>	12,48 ± 0,07 <sup>B</sup>
Bougouni	4,96 ± 0,05 <sup>C</sup>	95,04 ± 0,05 <sup>A</sup>	19,83 ± 0,29 <sup>A</sup>
Kati	9,32 ± 0,93 <sup>B</sup>	90,68 ± 0,93 <sup>B</sup>	11,78 ± 0,1 <sup>C</sup>
Ségou	12,09 ± 1,38 <sup>A</sup>	87,91 ± 1,38 <sup>C</sup>	9,98 ± 0,35 <sup>D</sup>

### 3.1.2. Caractérisations nutritionnelle et énergétique des feuilles-feuilles domestiques

Les caractérisations nutritionnelle et énergétique des légumes-feuilles sont représentées dans les tableaux IV, Vet VI.

**Tableau IV:** Caractérisations nutritionnelle et énergétique des feuilles de *Moringa Oleifera* et des feuilles de *Portulaca oleracea*

Provenances	<i>Moringa Oleifera</i>				<i>Portulaca oleracea</i>			
	Glucides (mg/100 mg)	Lipides (%)	Protéines (%)	Valeur Energé-tique (kcal)	Glucides (mg/100 mg)	Lipides (%)	Protéines (%)	Valeur Energétique (kcal)
Bamako	6,45±0,89 <sup>A</sup>	8,17± 1,26 <sup>A</sup>	5,12±0,07 <sup>D</sup>	119,79±8,60 <sup>AB</sup>	6,70 ± 0,16 <sup>A</sup>	2,33 ± 0,29 <sup>A B</sup>	4,39 ± 0,15 <sup>B</sup>	65,38 ± 2,39 <sup>A</sup>
Banamba	2,99±0,33 <sup>C</sup>	4,89± 0,47 <sup>B</sup>	8,54±0,10 <sup>B</sup>	90,18 ± 2,61 <sup>D</sup>	4,95 ± 0,58 <sup>B C</sup>	2,43 ± 0,38 <sup>A</sup>	5,44 ± 0,14 <sup>A</sup>	63,42 ± 3,97 <sup>A</sup>
Bougouni	3,78±0,04 <sup>BC</sup>	6,67± 0,21 <sup>A</sup>	6,62±0,06 <sup>C</sup>	103,51±1,82 <sup>CD</sup>	5,91 ± 0,17 <sup>A B</sup>	1,61 ± 0,3 <sup>B</sup>	4,71 ± 0,08 <sup>B</sup>	56,95 ± 3,64 <sup>A</sup>
Kati	6,96± 0,1 <sup>A</sup>	5± 0,5 <sup>B</sup>	8,52±0,07 <sup>B</sup>	106,92±4,63 <sup>BC</sup>	3,71 ± 0,77 <sup>C D</sup>	0,78 ± 0,13 <sup>C</sup>	4,40 ± 0,35 <sup>B</sup>	39,40 ± 4,02 <sup>B</sup>
Ségou	4,86± 0,5 <sup>B</sup>	7 ± 0,5 <sup>A</sup>	11,27±0,17 <sup>A</sup>	127,54± 6,59 <sup>A</sup>	3,43 ± 0,55 <sup>D</sup>	0,85 ± 0,23 <sup>C</sup>	5,59 ± 0,09 <sup>A</sup>	43,72 ± 3,99 <sup>B</sup>

**Tableau V:** Caractérisations nutritionnelle et énergétique des feuilles de *Ceratotheca sesamoides* et des feuilles de *Cordia myxa*

Provenances	<i>Ceratotheca sesamoides</i>				<i>Cordia myxa</i>			
	Glucides (mg/100 mg)	Lipides (%)	Protéines (%)	Valeur Energétique (kcal)	Glucides (mg/100 mg)	Lipides (%)	Protéines (%)	Valeur Energétique (kcal)
Bamako	5,35 ± 0,55 <sup>B</sup>	3,14 ± 0,86 <sup>A</sup>	2,83 ± 0,07 <sup>C</sup>	60,99 ± 8,90 <sup>A</sup>	3,34 ± 0,47 <sup>AB</sup>	3,67±0,25 <sup>A</sup>	4,40±0,09 <sup>C</sup>	63,97±3,43 <sup>A</sup>
Banamba	6,91 ± 0,43 <sup>A</sup>	1,33 ± 0,29 <sup>B</sup>	4,43 ± 0,17 <sup>AB</sup>	57,38 ± 3,30 <sup>A</sup>	4,10 ± 0,19 <sup>A</sup>	2 ± 1,00 <sup>AB</sup>	7,01±0,18 <sup>A</sup>	62,46±10,13 <sup>A</sup>
Bougouni	6,95 ± 0,56 <sup>A</sup>	1,33 ± 0,58 <sup>B</sup>	3,38 ± 0,05 <sup>BC</sup>	53,32 ± 2,92 <sup>A</sup>	3,31 ± 0,33 <sup>AB</sup>	2,14 ± 0,48 <sup>AB</sup>	6,35±0,33 <sup>B</sup>	57,93 ± 3,92 <sup>A</sup>
Kati	7,92 ± 0,09 <sup>A</sup>	0,88 ± 0,58 <sup>B</sup>	3,81 ± 0,08 <sup>BC</sup>	54,80 ± 5,03 <sup>A</sup>	2,51 ± 0,17 <sup>B</sup>	1,02 ± 0,82 <sup>B</sup>	4,65±0,33 <sup>C</sup>	37,85 ± 8,90 <sup>B</sup>
Ségou	2,89 ± 0,61 <sup>C</sup>	1,9 ± 0,26 <sup>AB</sup>	5,37 ± 0,89 <sup>A</sup>	50,11 ± 5,05 <sup>A</sup>	4,07 ± 0,51 <sup>A</sup>	2,16 ± 0,45 <sup>AB</sup>	7,07±0,07 <sup>A</sup>	64,04 ± 4,23 <sup>A</sup>

**Tableau VI :** Caractérisations nutritionnelle et énergétique des feuilles de *Corchorus tridens*

Provenances	Glucides (%)	Lipides (%)	Protéines (%)	Valeur Energétique
Bamako	5,55 ± 0,54 <sup>B</sup>	3,4 ± 0,98 <sup>A</sup>	3,04±0,11 <sup>E</sup>	64,96±9,18 <sup>B</sup>
Banamba	7,78 ± 0,37 <sup>A</sup>	1,2 ± 0,1 <sup>B</sup>	4,10±0,03 <sup>B</sup>	43,15±2,96 <sup>A</sup>
Bougouni	5,15 ± 0,26 <sup>BC</sup>	4,33 ± 0,23 <sup>A</sup>	3,64±0,01 <sup>C</sup>	74,144±1,61 <sup>A</sup>
Kati	3,89 ± 0,85 <sup>CD</sup>	3,36 ± 0,55 <sup>A</sup>	3,35±0,06 <sup>D</sup>	59,19±1,89 <sup>AB</sup>
Ségou	3,69 ± 0,28 <sup>D</sup>	2,74 ± 0,99 <sup>AB</sup>	5,95±0,11 <sup>A</sup>	63,19±10,09 <sup>A</sup>

### 3.1.3. Concentration en minéraux des feuilles-feuilles domestiques

Les teneurs en minéraux des légumes –feuilles est répertoriée dans les tableaux VII, VIII et IX.

**Tableau VII:** Concentration en minéraux des feuilles de *Moringa Oleifera* (A) et des feuilles de *Portulaca oleracea* (B)

Provenances	Minéraux (mg / Kg)													
	Ca		Fe		K		Mg		Na		P		Zn	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Banamba	468,9	284,1	54,2	160,7	682,4	2729,3	44	46,4	70,5	116,2	345,8	16,9	8,2	13,7
Bamako	758,84	261,22	10,84	48,86	109,43	108,94	84,52	64,95	55,82	114,51	120,3	158,5	66,88	127,2
Bougouni	446,6	346,3	274,6	210,5	933,9	2600,4	46,2	47,8	80,2	106,3	90,3	12,7	9,2	12,9
Kati	592,56	170,34	11,39	19,95	109,49	108,06	88,03	83,9	20,11	114,69	230	190,7	93,37	0
Ségou	329,47	475,96	20,2	56,6	109,41	107,58	100,9	92,36	19,42	83,5	254,7	152,6	0	0

**Tableau VIII :** Concentration en minéraux des feuilles de *Ceratotheca sesamoides* (A) et des feuilles de *Cordia myxa* (B)

Provenances	Minéraux (mg/100 g)													
	Ca		Fe		K		Mg		Na		P		Zn	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Banamba	511,79	431,75	45,22	34,31	109,63	108,67	47,81	94,5	14,36	9,08	145,5	140	112,6	0
Bamako	351	463,4	126,7	59	684,7	1639,1	47,6	43	72,9	63,2	320,9	201,2	14,1	4,1
Bougouni	232	474,3	6,38	80,5	109,91	1600,3	83,24	47,5	14,61	60,6	110,8	11,8	0	11,7
Kati	389,6	444	396,1	193,4	597,5	1530,3	46,6	48,6	64,7	62,7	216,8	13,5	5,2	6,6
Ségou	340,9	449,7	471,9	56,6	700,4	1552,8	44,7	43,8	41,7	65,8	899,2	135,1	12,6	7,5

**Tableau IX :** Concentration en minéraux des feuilles de *Corchorus tridens*

Provenances	Minéraux (mg/100 g)						
	Ca	Fe	K	Mg	Na	P	Zn
Banamba	372,05	23,97	109,16	10,09	10,7	650	21,15
Bamako	417	106,9	1628,31	41,5	50	13,3	10
Bougouni	306,28	478,47	108,9	44,74	22	149	156,5
Kati	398,6	652,1	1716,5	40,8	73,8	16,3	6,8
Ségou	377,2	137,9	1530,3	41,2	69,5	13,5	7,4

## Discussion

L'analyse physico-chimique des différents légumes-feuilles a révélé une grande variabilité pour la plupart des paramètres étudiés.

Le taux d'humidité de ces légumes-feuilles varie entre 3,66 et 12,09 %. Ce résultat est significativement différent de celui trouvé par Yao [8]. Cette différence pourrait s'expliquer par l'analyse de leurs échantillons à l'état frais. La teneur en cendre a varié de 6,67 à 25,94 %. Ces valeurs sont supérieures à ceux de Prisacaru [9].

Ces légumes-feuilles sont riches en lipides (0,78 à 8,17%). Ces valeurs sont supérieures à celles trouvées par Yao [8]. Quant aux protéines, la teneur a varié de 2,83 à 11,27 % qui est supérieure à celle obtenues par Moussa [10] et inférieure à celles obtenues par Glew [11]. Les teneurs en glucides des légumes-feuilles sont comprises entre 2,51 et 7,92 %.

Les minéraux sont importants dans l'alimentation du fait de leurs rôles physiologiques et métaboliques. Les teneurs en fer des légumes-feuilles analysés comprises entre 6,38 et 652,1 mg/100 g sont similaires à celles trouvées dans les légumes-feuilles par Anin [12] et supérieures à celles trouvée par Glew [11]. Ils constituent une bonne source de fer permettant d'éviter l'anémie et d'autres déficiences en micronutriments. Le calcium a un effet sur la santé des os en termes de protection. Les teneurs en calcium comprises entre 170,34 et 758,84 mg/100 g sont inférieures à celles trouvées dans les légumes-feuilles par Odhav [13].

## 8. Conclusion

Cette étude a permis de montrer que les feuilles de *Moringa oleifera*, *Portulaca oleracea*, *Ceratotheca sesamoides*, *Cordia myxa* et *Corchorus tridens* sont riches en minéraux, protéines, lipides et en glucides qui doivent être conseillées aux populations et pouvant contribuer à la prise en charge de l'insécurité alimentaire et de la malnutrition.

## 9. Remerciements

Nous remercions le rectorat de l'Université des sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) du Mali pour le financement de la présente étude et l'Institut des Sciences Appliquées (ISA) pour sa réalisation.

## 10. Références bibliographiques

- [1] Batawila, K., Kokou, K., Koumaglo, K., Gbeassor, M., de Foucault, B., Bouchet, Ph., Akpagana, K. Antifungal activities of five *Combretaceae* used in Togolese traditional medicine. *Fitoterapia* (2005) vol 76 (2) p. 264 – 268.
- [2] Almekinders C. & Boef W. Encouraging diversity. The conservation and development of plant genetic resources. Intermediate Technology. Publication (2000), London (UK), 14 P.
- [3] Sène E. H. 2000. Forêts et sécurité alimentaire en Afrique. La place de la foresterie dans le Programme spécial pour la sécurité alimentaire de la FAO. In: FAO (eds.). *Forêts, sécurité alimentaire et moyens de subsistance durables*.
- [4] Nabila BOUGANDOURA, Nassima BENDIMERAD. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Revue « Nature & Technologie »*. B-Sciences Agronomiques et Biologiques (2013) n° 09. Pages 14 à 19
- [5] Makalao. M. M., SAVADOGO, A., Zongo, C., & Traore, A. S. composition nutritionnelle de 10 fruits sauvages consommés dans trois départements du Tchad. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* (2015) 9 (5), 2385-2400. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i5.11>
- [6] Doukani, K., & Tabak, S. profil physicochimique du fruit "Lendj" (*Arbutus unedo* L.). *Revue Nature & Technologie* (2015) 12, 53-66

- [7][https://biocyclopedia.com/index/plant\\_protocols/carbohydrates/total\\_carbohydrates\\_by\\_anthrone.php](https://biocyclopedia.com/index/plant_protocols/carbohydrates/total_carbohydrates_by_anthrone.php) Plant Lab. Protocol
- [8] Yao N'Zué B, Kpata-Konan Nazo E, Guetandé Koné L, Tano K. Caractérisation De Quelques Légumes-Feuilles Les Plus Consommés Dans La Ville De Daloa (Centre-Ouest, Côte d'Ivoire). European Scientific Journal, ESJ (2020), 16 (36) ISSN: 1857-7881 (Print) e - ISSN 1857-7431
- [9] Prisacaru A. E., Apostol L. C. & Ropciuc S. Estimation of heavy metal levels in green leafy vegetables purchased from suceava. Journal of Faculty of Food Engineering, Stefan cel Mare University of Suceava, Romania (2017). Volume XVI, pp 234 – 238.
- [10] Moussa N., Wade S., Dossou N., Amadou T. & Rokhaya D. Valeur nutritionnelle du *Moringa oleifera*, étude de la biodisponibilité du fer, effet d'enrichissement de divers plats traditionnels Sénégalais avec la poudre des feuilles. African journal of Food Agriculture Nutrition and Development (2007), vol. 7, N0.3.
- [11] Glew R. S., Dorothy J., Chuang L.-T., Huang Y.-S., Millson M., Glew R. H. Nutrient content of four edible wild plants from West Africa. Plant Foods Hum. Nutr. (2005) 60: 187-193.
- [12] Anin L. O. A., Soro L. C., Kouamé C., Agbo E. A. & Kouadio K. K. A. (2012). Valeur nutritionnelle des légumes-feuilles consommés en Côte d'Ivoire. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 6(1): 128-135
- [13] Odhav B., Beekrum S., Akula U. & Baijnath H. (2007). Preliminary assessment of nutritional value of traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. Journal of Food Composition and Analysis, 20: 430–435.

## **Impact de l'utilisation des sous- produits agricoles et agro-industriels dans l'alimentation des poules pondeuses sur la qualité des œufs**

G. M. Agbo<sup>1,2,3</sup>, S. S. Toleba<sup>3</sup>, F. P. Tchobo<sup>1</sup>, C. F. A. Salifou<sup>4</sup>, S. L. Dedome<sup>1</sup>, P. G. Guidigbi<sup>2</sup>, U. R. Adjalian<sup>1</sup>, E. Gangbedji<sup>2</sup>, M. F. Houndonougbo<sup>2</sup>

1- Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie Appliquée- Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Bénin

2- Laboratoire de Recherche Avicole et de Zoo-Economie (LaRAZE/FSA/UAC)

3- Laboratoire de Zootechnie (FSA/UAC)

4- Laboratoire de Biotechnologie Animale et de la Technologie des Viandes (LBATV)

### **Resume**

La production d'œufs au Bénin est soumise à un ensemble de contraintes qui freine son essor en dépit de la demande grandissante en protéines animales<sup>1,2</sup>. Dès lors, trouver des moyens et techniques innovants pour garantir une production en qualité et en quantité serait avantageux<sup>3</sup>. Ce travail a pour but de déterminer l'influence des compléments alimentaires pour animaux sur la qualité des œufs. Six (06) traitements alimentaires ont été testés : ACF (Aliment Complet Farineux), ACG (Aliment Complet Granuleux), CGMc (Complément Granuleux mélangé au Maïs concassé), Mc+CF (Maïs concassé matin/Complément Farineux à 13 heures), CF+Mc (Complément Farineux matin/Maïs concassé à 13 heures) et CG+Mc (Complément granuleux matin/Maïs concassé à 13 heures). La composition chimique et la qualité physique des œufs ont été déterminées. La forme de présentation et le mode de distribution ont significativement influencé la qualité physique des œufs ( $p < 0,05$ ). ACF et CGMc ont présenté une bonne résistance de la coquille ( $7,80 \pm 0,28$  ;  $7,70 \pm 0,28$ ). Le traitement Mc+CF a accumulé les meilleurs scores de qualité physique externe et interne. Ce traitement serait recommandé aux aviculteurs pour avoir des œufs de qualité.

**Mots clés :** Complément alimentaire, granuleux, farineux, distribution séquentielle

## **Impact of use of agricultural and agro-industrial by-products in the feeding of laying hens to quality of egg quality**

### **Abstract**

Egg production in Benin is subject to a series of constraints which are hampering its development despite the growing of demand for animal proteins<sup>1,2</sup>. Therefore, finding innovative means and techniques to underwrite quality and quantity production would be advantageous<sup>3</sup>. The purpose of this work is to determine the influence of animal feed supplements on the quality of eggs. Six (06) food treatments have been tested: ACF (Complete Flour Food), ACG (Granular Complete Food), CGMc (Granular Supplement mixed with Crushed maize), Mc + CF (Crushed maize Morning / Flour Supplement at 1 p.m.), CF + Mc (Morning flour supplement / Crushed maize at 1 p.m.) and CG + Mc (Morning granular supplement / Cracked maize at 1 p.m.). The chemical composition and physical quality of the eggs have been determined. The form of presentation and the mode of distribution significantly influenced the physical quality of the eggs ( $p < 0.05$ ). ACF and CGMc showed good shell resistance ( $7.80 \pm 0.28$ ;  $7.70 \pm 0.28$ ). Mc + CF has accumulated the best scores for external and internal physical quality. This treatment would be recommended to poultry farmers to have better quality eggs.

**Key Words:** Food supplement, granular, floury, sequential distribution

### **Introduction**

Au Bénin, l'élevage des poules et de ses dérivés joue un rôle très important dans l'alimentation et l'économie des communautés pastorales. L'œuf fait partie intégrante de l'alimentation humaine. La production d'œufs de poule au plan national, est passée de 7650 tonnes (6 695 368 œufs plateaux) en 2004 à 12522 tonnes (10 959 398 œufs plateaux) en 2013<sup>1</sup>. Toutefois, la production d'œufs au Bénin continue d'être soumise à un ensemble de contraintes qui freine son essor en dépit de la demande grandissante en protéines animales. De ce fait, l'alimentation constitue l'un des facteurs à maîtriser pour baisser le coût de la production et rendre les produits disponibles à la population. Plusieurs auteurs ont d'ailleurs montré qu'il serait avantageux d'utiliser des ressources alimentaires locales et des moyens et techniques innovants afin de garantir une production en qualité et en quantité suffisante des œufs<sup>3,4</sup>. Ainsi, de meilleurs taux de ponte et des œufs de bonne qualité physique avaient obtenus en utilisant des aliments à base de différentes variétés de grains de maïs dans l'élevage des pondeuses<sup>1</sup>. De même, certains auteurs ont montré que le mode de distribution et la forme de présentation de l'aliment pourraient permettre d'améliorer les performances de ponte et la qualité des œufs des poules alimentées avec des rations à base de feuilles séchées de manioc (*Manihot esculenta*, Crantz)<sup>5</sup>. Ainsi, il est opportun de mettre à la disposition des communautés pastorales (qui sont pour la plupart des producteurs de maïs :

l'aliment de base de la volaille), un complément alimentaire fabriqué à partir des sous-produits agricoles et agro-industriels du Bénin et d'y associer une bonne notice d'utilisation. Cependant, très peu d'études ont été menées sur la qualité des œufs nourris à base de ces aliments au Bénin. Il devient alors nécessaire d'apprécier non seulement l'effet des sous-produits agricoles et agro-industriels sur la qualité des œufs mais aussi de déterminer l'influence de la forme de présentation et du mode de distribution de ce complément alimentaire sur les caractéristiques externes et internes des œufs. D'où la présente étude, dont l'objectif principal a été de déterminer l'influence des compléments alimentaires pour poules sur la qualité des œufs au Bénin. De manière spécifique, il s'agit d'évaluer l'influence de la forme de présentation et du mode de distribution de l'aliment sur les caractéristiques physiques interne et externe des œufs.

## Etude expérimentale

### Zone

L'étude expérimentale sur les poules pondeuses a été effectuée avec l'appui matériel et technique du Laboratoire de Recherche en Aviculture et Zoo-économie (LARAZE) sur la ferme d'application de la Faculté des Sciences Agronomiques de l'Université d'Abomey-Calavi (FSA) sise dans la commune d'Abomey-Calavi (6°21 et 6°42 Nord et 2°13 et 2°25 Est). Le climat est de type subéquatorial comprenant deux saisons sèches (d'Août à mi-Septembre et de Décembre à Mars) et deux saisons pluvieuses (de Mars à Juillet puis de mi-Septembre à début Décembre). L'étude s'est déroulée d'Août 2019 à Février 2020.

### Matériel

#### ❖ Matériel animal

Le matériel animal est constitué de 180 œufs frais du jour de poules de souche Isa- Brownn. Les œufs ont été collectés pendant cinq mois de ponte à partir de vingt-quatre (24) à quarante (40) semaines d'âge des poulettes.

#### ❖ Matériel végétal

La provende utilisée dans le cadre de cette étude a été obtenue à partir de formules standards de l'INRA. Elle constitue l'aliment complet subdivisé en deux parties : le maïs jaune concassé et le complément alimentaire (son de blé, tourteau de soja, tourteau de coton, Soja grain, huile rouge, coquille d'huitres, etc.). Sa composition est donnée par le tableau I.

**Tableau 1.** Composition de la ration alimentaire

Matières premières	Quantités (%)
Maïs jaune	54,5
Son de blé	2
Tourteau soja	8
Tourteau coton	10
Soja graine	9
Huile rouge	1,5
Coquille d'huile	9
Lysine	0,2
Méthionine	0,2
Phosphate bicalcique	0,25
Nacl	0,3
Sulfate de Fer	0,05
Concentrée ponte	5
Total	100

## Méthode

### Production des œufs

L'expérimentation a porté sur 144 poules pondeuses de souche Isa- Brown nourries avec la même qualité et quantité d'aliment complet soit 120g par sujet. L'aliment complet a été présenté sous trois formes (farineuse, granuleuse et mélange de farine et des granules) et différemment distribué selon deux modes (continue et séquentielle). Trois traitements ont été testés pour évaluer l'influence de la forme de présentation : l'aliment témoin ACF (Aliment Complet Farineux), ACG (Aliment Complet Granulé) et CGMc (Complément Granulé mélangé à du maïs concassé). Ces trois formes d'aliment complet ont été distribuées aux animaux en continue toute la journée. A ceux-ci, s'ajoutent trois autres traitements où

les deux parties de l'aliment complet ont été distribuées séparément de façon séquentielle pour évaluer l'influence du mode de distribution. Il s'agit de : CF+Mc (Complet farineux distribué le matin ; Maïs concassé, distribué à 13h), CG+Mc (Complet Granulé distribué le matin ; Maïs concassé, distribué à 13h) et Mc+CF (maïs concassé distribué le matin ; Complément Farineux, distribué à 13h).

#### **Collecte des œufs**

**Photo 5** : aliment complet granulé

Chaque mois, trente-six (36) œufs du jour sont pris au hasard à raison de six (06) œufs par traitement alimentaire. Au total 180 œufs sont collectés au bout de cinq mois de ponte. Les caractéristiques physiques externes et internes ont été déterminées.

#### **❖ Données collectées**

##### **Paramètres externes et internes de qualité physique de l'œuf**

###### **-Masse de l'œuf, du blanc et du jaune d'œuf**

La masse de l'œuf entier, la masse du blanc et celle du jaune d'œuf sont déterminées par pesée à l'aide d'une balance électronique de précision 0,1 grammes (g).

###### **-Dimensions de l'œuf, du blanc d'œuf et du jaune**

La longueur et le diamètre de l'œuf, la longueur et le diamètre du blanc d'œuf, le diamètre du jaune d'œuf ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse et sont exprimés en centimètre (cm). La hauteur du blanc et du jaune d'œuf ont été mesurées à l'aide d'un trépied micrométrique électrique de précision 0,01 micromètre.

###### **-Coloration du jaune d'œuf**

La détermination de la coloration du jaune d'œuf a été effectuée en utilisant l'éventail de Roch sur une échelle allant de 1 à 15<sup>6</sup>.

###### **-Épaisseur de la coquille**

L'épaisseur de la coquille sans la membrane coquillière a été mesurée à l'aide d'un micromètre électrique de précision 0,001mm. Les mesures ont été effectuées à trois endroits différents : à l'extrémité pointue (bas), à l'extrémité arrondie (médiane) et à l'équateur (haut). La valeur de l'épaisseur est obtenue par la moyenne de ces trois mesures.

Ces données ont aidé à calculer les paramètres tels que la proportion de la coquille, la surface de l'œuf, l'index de la coquille, l'index de forme, l'index de blanc, de jaune, l'Unité Haugh, la proportion de jaune et de blanc et la fraction consommable de l'œuf<sup>7,8</sup>.

###### **Surface de la coquille**

$$S \text{ (cm}^2\text{)} = 4,518 \times L^{0,289} \times GD^{0,3164} \times W^{0,4882} \text{ (Carter ; 1975)}$$

###### **Index de la coquille**

$$Ic \text{ (g/100 cm}^2\text{)} = mc \times 100/S$$

Avec mc= masse de la coquille (g) ; S= surface de la coquille

###### **Index de forme**

$$IF = GD/L$$

Avec L (cm)= longueur de l'œuf et GD(cm)= grand diamètre de l'œuf

Index du blanc

$$Ib = Hb \text{ (mm)}/Db \text{ (cm)}$$

Avec Hb = hauteur du blanc et Db = diamètre du blanc

###### **Index du jaune**

$$Ij = Hj \text{ (mm)}/Dj \text{ (cm)}$$

Avec Hj = hauteur du jaune et Dj = diamètre du jaune

###### **Unité Haugh**

$$HU = 100 \times \log(H - 1,7W^{0,37} + 7,57)$$

###### **Analyse statistique**

L'effet de la forme de présentation et du mode de distribution de l'aliment sur la qualité physique interne et externe des œufs a été évalué en effectuant une analyse de la variance dans l'environnement du logiciel R 3.5.1 (R Core Team, 2018). Lorsque la probabilité était significative ( $p < 0,05$ ), une structuration de moyennes est faite avec la fonction SNK du package « agricolae » (de Mendiburu). Les moyennes de

chaque paramètre ont été présentées dans des tableaux avec leurs erreurs types en dehors de la couleur du jaune d'œuf pour laquelle des graphes ont été réalisés.

## Résultats et discussion

### Effet de la forme de présentation

Le tableau 2 présente les résultats de la qualité physique externe des œufs issus des animaux nourris avec l'aliment complet farineux (ACF), l'aliment complet granuleux (ACG) ainsi que le complément granuleux mélangé au maïs concassé (CGMc). La masse des œufs a varié de  $56,07 \pm 0,83$  (ACG) à  $58,10 \pm 0,94$ g (CGMc). Les œufs du traitement CGMc ont obtenu les valeurs de masse les plus élevées. De même, le plus grand diamètre ( $4,28 \pm 0,03$ cm) et la longueur la plus élevée ( $5,48 \pm 0,05$ cm) ont été obtenus par le traitement CGMc tandis que le plus faible diamètre ( $4,21 \pm 0,05$ cm) et la plus faible longueur ( $5,46 \pm 0,04$ cm) ont été obtenus par ACG. Ces résultats montrent que les poules ayant été nourries avec CGMc et ACF ont donné les plus gros œufs comparés à ACG. Toutefois, l'analyse statistique n'a trouvé de différence significative entre la masse, la longueur et le diamètre des œufs issus des poules nourries avec le même aliment présenté sous différente forme. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Joly (2004) qui indiquent que la distribution d'une farine fine comparée à une mouture plus grossière n'entraîne qu'une faible réduction de la masse d'œuf (- 0,9g). La masse, l'index et l'épaisseur moyenne de la coquille ont respectivement varié de  $6,57 \pm 0,27$  (ACG) à  $7,80 \pm 0,28$ g (ACF), de  $9,59 \pm 0,01$  (ACG) à  $11,24 \pm 0,01$  (ACF), et de  $0,491 \pm 0,005$  (ACG) à  $0,496 \pm 0,005$ mm (ACF). La résistance de la coquille était significativement plus élevée pour les œufs ACF et CGMc comparativement à ACG ( $p < 0,05$ ). En effet, la résistance mécanique de la coquille est liée à son épaisseur, à la masse de la coquille et à son organisation structurale. Il est très important que la coquille des œufs de consommation offre une grande résistance mécanique afin de prévenir les fractures résultantes des chocs ou tassements qui surviennent tout au long de la chaîne de production et de transport<sup>9</sup>. L'analyse statistique a révélé que l'influence de la forme de présentation de l'aliment a été significative sur la masse de la coquille, la proportion de la coquille et l'index de la coquille. Ainsi, Les aliments ACF et CGMc ont permis d'avoir les gros œufs avec des coquilles plus résistantes contrairement à l'aliment ACG qui a enregistré les faibles scores de masse d'œuf et qualité de la coquille. Toutefois, les poules mettent toujours la même quantité de calcium (donc de coquille) sur chacun des œufs qu'elles pondent durant leur vie<sup>10</sup>. Lorsqu'une poule pond un œuf, elle perd de 2 à 2,5 g de calcium, et ceci quelle que soit la taille de l'œuf. Ainsi, plus l'œuf est petit, plus la coquille sera épaisse par unité de surface, et plus l'œuf est gros, plus la coquille de l'œuf sera mince. Par conséquent, cette différence de qualité des œufs observée entre les traitements ACF, CGMc et ACG pourrait être due à la qualité sanitaire des aliments.

**Tableau 2.** Effet de la forme de présentation de l'aliment sur la qualité physique externe des œufs

Variables	Rations			P
	ACF	ACG	CGMc	
Masse œuf (g)	$57,03 \pm 1,09$	$56,07 \pm 0,83$	$58,10 \pm 0,94$	0,330
Grand diamètre (cm)	$4,26 \pm 0,04$	$4,21 \pm 0,05$	$4,28 \pm 0,03$	0,453
Longueur (cm)	$5,48 \pm 0,04$	$5,46 \pm 0,04$	$5,48 \pm 0,05$	0,916
Masse coquille (g)	$7,80^a \pm 0,28$	$6,57^b \pm 0,27$	$7,70^a \pm 0,28$	0,004
Proportion coquille (%)	$13,66^a \pm 0,40$	$11,72^b \pm 0,46$	$13,25^a \pm 0,44$	0,005
Surface (cm <sup>2</sup> )	$69,16 \pm 0,89$	$68,40 \pm 0,69$	$70,06 \pm 0,77$	0,332
Index coquille	$11,24^a \pm 0,01$	$9,59^b \pm 0,01$	$10,97^a \pm 0,01$	0,004
Index de forme	$0,78 \pm 0,01$	$0,77 \pm 0,01$	$0,78 \pm 0,01$	0,436
Épaisseur coquille haut (mm)	$0,495 \pm 0,005$	$0,499 \pm 0,006$	$0,498 \pm 0,007$	0,497
Épaisseur coquille bas (mm)	$0,503 \pm 0,007$	$0,495 \pm 0,005$	$0,496 \pm 0,006$	0,615
Épaisseur coquille médiane (mm)	$0,495 \pm 0,005$	$0,499 \pm 0,006$	$0,498 \pm 0,007$	0,888
Épaisseur coquille moyenne (mm)	$0,496 \pm 0,005$	$0,491 \pm 0,005$	$0,494 \pm 0,006$	0,835

ACF : Aliment complet farineux ; ACG : Aliment complet granuleux ; CGMc : Complément granuleux et maïs concassé ; a, b sur la même ligne : les valeurs affectées de différentes lettres sont significativement différentes ; P : Probabilité.

Le tableau 3 présente les caractéristiques physiques internes des œufs en fonction de la forme de présentation. Les paramètres de qualité interne des œufs tels la hauteur du blanc d'œuf, l'unité Haugh

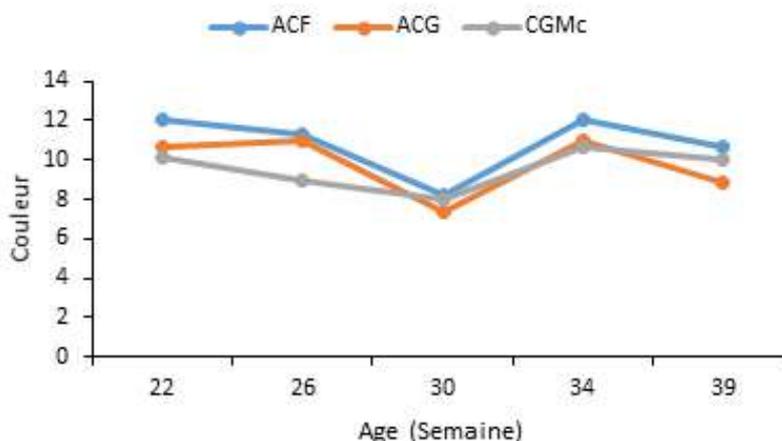
et la fraction consommable ont été significativement affectées par la forme de présentation de l'aliment. Les œufs provenant des poules nourries avec l'aliment témoin ACF ont une hauteur du blanc d'œuf plus élevée (9,36mm) comparativement à CGMc (complément granuleux mélangé au maïs concassé) (8,45mm). Toutefois, la hauteur du blanc des œufs provenant des poules ayant consommées l'aliment complet granuleux (8,67mm) était semblable aux autres traitements. La même tendance a été observée au niveau de l'unité Haugh. Ainsi, la fraîcheur était meilleure avec l'aliment complet farineux (96,77±1,09) comparativement à l'aliment complet granulé (93,34 ±1,38) et le complément granuleux mélangé avec le maïs concassé (91,70±1,44). Les résultats obtenus pour le traitement alimentaire ACF qui avait enregistré à lui seul une épaisseur importante de la coquille ajouté à une meilleure fraîcheur sont en accord avec certains auteurs qui ont trouvé une corrélation positive entre l'épaisseur de la coquille et l'unité Haugh <sup>11</sup>. Selon ces auteurs, plus l'épaisseur de la coquille est importante plus la valeur de l'unité Haugh est élevée. Par ailleurs, il est convenu que les œufs dont l'Unité Haugh indique plus de 70 sont considérés comme étant de qualité excellente, entre 70 et 60, acceptable, tandis que ceux qui indiquent une Unité Haugh inférieure à 60 sont des œufs de mauvaise qualité <sup>12,13</sup>. Ainsi, tous les œufs produits sont peuvent être considérés comme étant de qualité excellente. En ce qui concerne la fraction consommable de l'œuf, ACF offre une proportion plus élevée (88,28±0,46%) que celles obtenues avec ACF (86,34±0,40%) CGMc (86,75±0,44%). En effet, le pourcentage en fraction consommable est très utilisé dans l'industrie d'ovoproduits pour évaluer le rendement en fraction consommable. Il a un intérêt nutritionnel pour le consommateur. Les pourcentages en fraction consommable trouvées dans cette étude se rapprochent de celles obtenues par certains auteurs sur les œufs utilisés dans l'industrie d'ovoproduits au Burkina Faso (88,17 %) <sup>14</sup>.

**Tableau 3.** Effet de la forme de présentation de l'aliment sur la qualité physique interne des œufs

Variables	Rations			P
	ACF	ACG	CGMc	
Hauteur blanc (mm)	9,38 <sup>a</sup> ±0,25	8,67 <sup>ab</sup> ±0,27	8,45 <sup>b</sup> ±0,255	0,035
Hauteur jaune (mm)	18,05±0,19	17,87±0,18	17,61±0,227	0,313
Diamètre blanc (cm)	6,26±0,09	6,36±0,11	6,48±0,12	0,343
Diamètre jaune (cm)	3,79±0,06	3,82±0,07	3,81±0,06	0,942
Index du blanc	1,26±0,04	1,13±0,05	1,11±0,05	0,058
Index du jaune	2,90±0,05	2,84±0,07	2,75±0,06	0,203
Unité Haugh	96,77 <sup>a</sup> ±1,09	93,34 <sup>ab</sup> ±1,38	91,70 <sup>b</sup> ±1,44	0,024
Poids du jaune (g)	14,23±0,31	14,27±0,34	14,23±0,31	0,997
Poids du blanc (g)	34,57±0,86	34,83±0,68	35,77±0,90	0,554
Proportion blanc (%)	70,73±0,47	70,95±0,54	71,33±0,711	0,757
Proportion jaune (%)	29,28±0,47	29,05±0,54	28,66±0,711	0,775
Fraction consommable (%)	86,34 <sup>b</sup> ±0,40	88,28 <sup>a</sup> ±0,46	86,75 <sup>b</sup> ±0,44	0,005

ACF : Aliment complet farineux ; ACG : Aliment complet granuleux ; CGMc : Complément granuleux et maïs concassé ; a, b sur la même ligne : les valeurs affectées de différentes lettres sont significativement différentes ; P : Probabilité.

La figure 3 présente l'effet de la forme de présentation de l'aliment sur la coloration du vitellus. Le degré de coloration de ACF était meilleur aux autres traitements durant toute la durée de l'essai. En effet, dès le début de l'essai, la coloration du vitellus des œufs issus du traitement ACF avait enregistré un score de 12 contre 11 pour ACG et 10 pour CGMc. A trente semaines d'âge, le degré de la coloration jaune a connu une baisse dans tous les traitements. Les scores étaient de 8 pour ACF et CGMc et 7 pour ACG. Les différents scores ont ensuite augmenté après la trentième semaine d'âge. A la fin de la collecte, le jaune d'œuf de l'aliment farineux avait une couleur de 11 contre 9 et 10 respectivement pour ACF, CGMc et ACG. La différence de coloration du jaune observée entre les traitements composés d'aliments granulés et ceux n'en comportant pas pourrait être due à la granulation qui est un traitement thermique pouvant agir sur les pigments thermolabiles (volatiles à la température), les caroténoïdes contenus dans l'aliment responsables de l'intensité du jaune.



**Figure 1.** Effet de la forme de présentation de l'aliment sur la couleur du jaune d'œuf

### Effet du mode de distribution de l'aliment

L'effet du mode de distribution de l'aliment sur la qualité physique externe a été apprécié en comparant dans un premier temps le traitement CF+Mc (complément farineux servi le matin avec le maïs concassé à 13h) et Mc+CF (maïs concassé servi le matin puis le complément farineux à 13h) au témoin ACF (aliment complet farineux) (Tableau 4). Dans un second temps, CGMc (complément granuleux mélangé au maïs concassé) et CG+Mc (complément granuleux servi le matin puis le maïs concassé à 13h) ont été comparés à ACF (aliment complet farineux) (Tableau 5). Dans le premier cas, le mode de distribution n'a eu d'effet que sur l'index de forme des œufs. L'index de forme des œufs provenant des poules ayant reçues le maïs concassé le matin puis le complément farineux à 13h ( $0,80\pm 0,01$ ) était plus élevé que l'aliment complet farineux ( $0,78\pm 0,01$ ). Cependant, l'index de forme des œufs des poules nourries avec le complément farineux servi le matin puis le maïs concassé à 13h ( $0,79\pm 0,01$ ) était semblable aux deux autres traitements. De même, la masse de l'œuf semblait plus élevée avec Mc+CF (maïs concassé le matin puis le complément farineux à 13h) ( $58,40\pm 0,74g$ ) qu'avec les œufs des poules alimentées avec l'aliment témoin ( $57,03\pm 1,09g$ ) et CF+Mc (complément farineux le matin puis le maïs concassé à 13h) ( $57,23\pm 1,16g$ ). La même tendance a été observée pour le grand diamètre, la surface et l'épaisseur de la coquille. Ces résultats montrent que le complément farineux séparé du maïs et donné aux animaux améliore la grosseur des œufs. Cet effet devient significatif lorsque les animaux reçoivent le complément seul dans l'après-midi. Dans le deuxième cas, le mode de distribution de l'aliment n'a pas eu d'effet sur les paramètres de qualité physique externe des œufs. Toutefois, les poules nourries au complément granuleux mélangé au maïs concassé avaient donné des œufs plus lourds ( $58,10\pm 0,94g$ ) que celles alimentées avec l'aliment farineux complet ( $57,03\pm 1,09g$ ) et le complément granuleux le matin puis le maïs concassé à 13h ( $57,70\pm 0,99g$ ) ; bien qu'aucune différence significative n'ait été notée. La même tendance a été observée avec le grand diamètre et la surface. Ces résultats témoignent que la masse de l'œuf a été améliorée lorsque le complément est granuleux et donné de façon continue toute la journée. En effet, les volailles choisissent toujours de consommer en premier lieu, les particules de plus grosses tailles quelle que soit la composition en matières premières<sup>15</sup>. Aussi, l'ingestion de particules grossières permet le développement du gésier, ce qui engendre une amélioration significative du broyage mécanique des aliments (rendant ainsi plus disponible les nutriments pour la digestion et donc l'assimilation)<sup>15</sup>. Cette meilleure assimilation des nutriments explique pourquoi les poules ayant consommé les aliments Mc+CF, CGMc et CG+Mc ont donné de gros œufs comparativement aux autres traitements. L'aliment Mc+CF particulièrement a donné les plus gros œufs comparativement à CGMc et CG+Mc. En effet, certains auteurs avaient trouvé une augmentation de l'indice de consommation lorsqu'ils ont donné aux animaux le matin, du blé ou du maïs entier et un complément riche en protéines et calcium l'après-midi<sup>16</sup>.

**Tableau 4.** Effet du mode de distribution de l'aliment sur la qualité physique externe : complément farineux

Variables	Ratios			P
	ACF	CF+Mc	Mc+CF	
Masse œuf (g)	57,03±1,09	57,23±1,16	58,40±0,74	0,590
Grand diamètre (cm)	4,26±0,04	4,26±0,05	4,34±0,04	0,281
Longueur (cm)	5,48±0,04	5,38±0,05	5,41±0,03	0,229
Masse coquille (g)	7,80±0,28	7,60±0,24	7,57±0,18	0,755
Proportion coquille (%)	13,66±0,40	13,30±0,35	12,93±0,23	0,303
Surface (cm <sup>2</sup> )	69,16±0,89	69,34±0,96	70,32±0,60	0,570
Index coquille	11,24±0,01	10,94±0,01	10,74±0,01	0,443
Index de forme	0,78 <sup>b</sup> ±0,01	0,79 <sup>ab</sup> ±0,01	0,80 <sup>a</sup> ±0,01	0,013
Épaisseur coquille haut (mm)	0,495±0,005	0,495±0,006	0,511±0,006	0,302
Épaisseur coquille bas (mm)	0,503±0,007	0,491±0,007	0,507±0,006	0,245
Épaisseur coquille médiane (mm)	0,495±0,005	0,495±0,006	0,511±0,006	0,079
Épaisseur coquille moyenne (mm)	0,496±0,005	0,491±0,006	0,506±0,005	0,118

ACF : Aliment complet farineux ; CF+Mc : Complément farineux le matin puis maïs concassé à 13h ; Mc+CF : Maïs concassé le matin + complément farineux à 13h ; a, b sur la même ligne : les valeurs affectées de différentes lettres sont significativement différentes ; P : Probabilité.

**Tableau 5.** Effet du mode de distribution de l'aliment sur la qualité physique externe : compléments granuleux

Variables	Ratios			P
	ACF	CGMc	CG+Mc	
Masse œuf (g)	57,03±1,09	58,10±0,94	57,70±0,99	0,750
Grand diamètre (cm)	4,26±0,04	4,28±0,03	4,26±0,05	0,926
Longueur (cm)	5,48±0,04	5,48±0,05	5,43±0,05	0,731
Masse coquille (g)	7,80±0,28	7,70±0,28	7,80±0,31	0,961
Proportion coquille (%)	13,66±0,40	13,25±0,44	13,57±0,52	0,799
Surface (cm <sup>2</sup> )	69,16±0,89	70,06±0,77	69,73±0,82	0,740
Index coquille	11,24±0,01	10,97±0,01	11,19±0,01	0,864
Index de forme	0,78±0,01	0,78±0,01	0,78±0,01	0,693
Épaisseur coquille haut (mm)	0,495±0,005	0,498±0,007	0,504±0,007	0,998
Épaisseur coquille bas (mm)	0,503±0,007	0,496±0,006	0,499±0,010	0,819
Épaisseur coquille médiane (mm)	0,495±0,005	0,498±0,007	0,504±0,007	0,651
Épaisseur coquille moyenne (mm)	0,496±0,005	0,494±0,006	0,497±0,007	0,946

ACF : Aliment complet farineux ; CGMc : Complément granuleux mélangé avec maïs concassé ; CG+Mc : Complément granuleux mélangé le matin puis maïs concassé à 13h ; a, b sur la même ligne : les valeurs affectées de différentes lettres sont significativement différentes ; P : Probabilité.

L'effet du mode de distribution de l'aliment sur les paramètres physiques de qualité interne des œufs a été évalué en comparant dans un premier temps le complément farineux servi le matin avec le maïs concassé à 13h et le maïs concassé servi le matin puis le complément farineux à 13h à l'aliment complet farineux (Tableau 6). Dans un second temps, le complément granuleux mélangé au maïs concassé et le complément granuleux servi le matin puis le maïs concassé à 13h ont été comparés à l'aliment complet farineux (Tableau 7). Dans le premier cas, le mode de distribution n'a eu aucun effet sur les paramètres de qualité physique interne ( $p > 0,05$ ). Dans le deuxième cas, le mode de distribution n'a eu d'effet que sur la hauteur de l'albumen et l'unité Haugh. Ainsi, la hauteur du blanc d'œuf était significativement plus élevée avec l'aliment complet farineux ( $9,38 \pm 0,25$  mm) comparativement au complément granuleux mélangé avec le maïs concassé ( $8,45 \pm 0,25$  mm). Toutefois, la hauteur du blanc des œufs et l'unité Haugh provenant des poules alimentées avec le complément granuleux servi le matin puis le maïs concassé à 13h ( $8,70 \pm 0,26$  mm et  $93,05 \pm 1,44$ ) étaient semblables à ceux des autres traitements. L'unité Haugh était significativement plus élevée avec l'aliment complet farineux ( $96,77 \pm 1,09$ ) contre  $91,70 \pm 1,44$  pour le complément granuleux mélangé avec le maïs concassé et  $93,05 \pm 1,44$  pour le complément granuleux servi le matin puis le maïs concassé à 13h. Ainsi, la fraîcheur des œufs était meilleure l'aliment ACF. Ceci rejoint les observations de certains auteurs qui stipulent que plus l'épaisseur de la coquille est

importante plus la valeur de l'unité Haugh est élevée<sup>11</sup>. Ainsi, ACF a donné une meilleure fraîcheur des œufs car c'est cette même ration alimentaire qui a donné une épaisseur importante de la coquille.

**Tableau 6.** Effet de la ration sur la qualité physique interne : complément farineux

Variables	Rations			P
	ACF	CF+Mc	Mc+CF	
Hauteur blanc (mm)	9,38±0,25	9,73±0,30	9,51±0,28	0,668
Hauteur jaune (mm)	18,05±0,19	18,20±0,18	18,15±0,21	0,844
Diamètre blanc (cm)	6,26±0,09	6,06±0,11	6,18±0,08	0,304
Diamètre jaune (cm)	3,79±0,06	3,68±0,06	3,80±0,06	0,316
Index du blanc	1,26±0,04	1,34±0,04	1,27±0,05	0,465
Index du jaune	2,90±0,05	3,04±0,07	2,95±0,06	0,297
Unité Haugh	96,77±1,09	98,18±1,29	96,89±1,27	0,665
Poids du jaune (g)	14,23±0,31	14,03±0,25	14,10±0,24	0,867
Poids du blanc (g)	34,57±0,86	35,50±0,89	36,43±0,60	0,256
Proportion blanc (%)	70,73±0,47	71,52±0,42	72,04±0,46	0,122
Proportion jaune (%)	29,28±0,47	28,48±0,42	27,96±0,46	0,132
Fraction consommable (%)	86,34±0,40	86,70±0,35	87,07±0,23	0,303

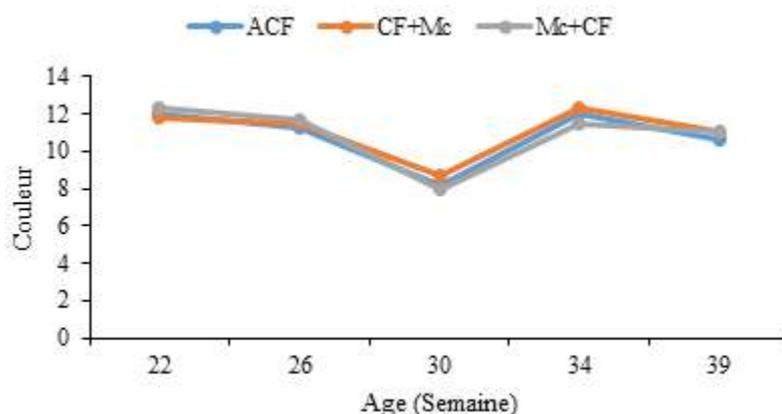
ACF : Aliment complet farineux ; CF+Mc : Complément farineux le matin puis maïs concassé à 13h ; Mc+CF : Maïs concassé le matin + complément farineux à 13h ; a, b sur la même ligne : les valeurs affectées de différentes lettres sont significativement différentes ; P : Probabilité.

**Tableau 7.** Effet de la ration sur la qualité physique interne : complément granuleux

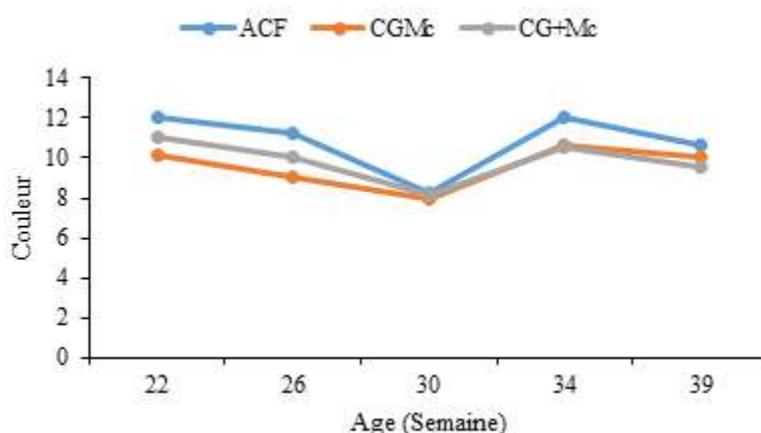
Variables	Rations			P
	ACF	CGMc	CG+Mc	
Hauteur blanc (mm)	9,38 <sup>a</sup> ±0,25	8,45 <sup>b</sup> ±0,255	8,70 <sup>ab</sup> ±0,26	0,039
Hauteur jaune (mm)	18,05±0,19	17,61±0,227	17,77±0,21	0,337
Diamètre blanc (cm)	6,26±0,09	6,48±0,12	6,17±0,14	0,166
Diamètre jaune (cm)	3,79±0,06	3,81±0,06	3,82±0,05	0,947
Index du blanc	1,26±0,04	1,11±0,05	1,16±0,05	0,108
Index du jaune	2,90±0,05	2,75±0,06	2,93±0,09	0,133
Unité Haugh	96,77 <sup>a</sup> ±1,09	91,70 <sup>b</sup> ±1,44	93,05 <sup>ab</sup> ±1,44	0,024
Poids du jaune (g)	14,23±0,31	14,23±0,31	14,20±0,25	0,996
Poids du blanc (g)	34,57±0,86	35,77±0,90	35,40±0,89	0,617
Proportion blanc (%)	70,73±0,47	71,33±0,711	71,16±0,57	0,761
Proportion jaune (%)	29,28±0,47	28,66±0,711	28,84±0,57	0,760
Fraction consommable (%)	86,34±0,40	86,75±0,44	86,43±0,52	0,799

ACF : Aliment complet farineux ; CGMc : Complément granuleux mélangé avec maïs concassé ; CG+Mc : Complément granuleux mélangé le matin puis maïs concassé à 13h ; a, b sur la même ligne : les valeurs affectées de différentes lettres sont significativement différentes ; P : Probabilité.

Les figures 2 et 3 montrent l'évolution de la couleur du jaune d'œuf lors de la distribution séquentielle CF+Mc et Mc+CF d'une part, CGMc et CG+Mc d'autre part, tous comparés au témoin ACF. La couleur du jaune d'œuf du complément farineux servi le matin puis le maïs concassé le soir (CF+Mc) et du maïs concassé le matin puis complément farineux le soir (Mc+CF) étaient similaires de l'aliment complet farineux (ACF) toute la durée de l'expérimentation. Comme vu précédemment, les scores de coloration des différents traitements ont connu une baisse lors de la trentième semaine d'âge des poules et ont augmenté après cette période. A la fin de la période de l'essai, la couleur du jaune était la même (11) dans les différents traitements. Ainsi, la distribution séquentielle CF+Mc et Mc+CF maintiennent l'intensité de la coloration du jaune. Lors de la distribution séquentielle CGMc et CG+Mc, le jaune d'œuf de l'aliment complet farineux était mieux coloré (12) comparativement au complément granuleux mélangé au maïs concassé (10) et au complément granuleux servi le matin puis le maïs concassé servi à 13h (11). Aussi, ces colorations ont connu une diminution à la trentième semaine d'âge des poules et ont augmenté après cette période. En fin de collecte, l'aliment complet farineux (ACF) avait des œufs mieux colorés (11) que les autres traitements (10 et 9 respectivement pour CGMc et CG+Mc). Ces résultats du mode de distribution séquentielle du complément granulé viennent confirmer ceux obtenus plus haut sur la forme de présentation. Par conséquent, la granulation peut être à l'origine de la faible coloration du jaune.



**Figure 2.** Effet du mode de distribution de l'aliment sur la coloration du jaune d'œuf : complément farineux



**Figure 3.** Effet du mode sur la coloration du jaune d'œuf : complément granuleux

### Conclusion

Cette étude entend contribuer à de mettre à la disposition des communautés pastorales qui disposent de stocks de maïs, des compléments alimentaires dans l'objectif de leur réduire le coût de leur production et de rendre les produits accessibles aux populations. Les résultats ont révélé que la présentation complément granuleux mélangé à du maïs concassé (CGMc) permet d'avoir de bonnes qualités physiques interne et externe des oeufs. Quant au mode de distribution, Mc+CF donne des œufs de meilleures qualités physiques externes et CG+ Mc donne des œufs de meilleure qualité physique interne. Le maïs concassé servi le matin et le complément servi sous forme farineuse à 13H a permis compte tenu des objectifs de l'étude, d'avoir une meilleure qualité physique externe et interne de l'œuf et peut donc être recommander aux aviculteurs. Toutefois, il serait intéressant de poursuivre ce travail par d'autres recherches sur la composition chimique des compléments alimentaires produits à de partir des sous-produits agricoles et agro-industriels ; la qualité physique et sanitaire de ces compléments alimentaires ; l'impact de la technologie de granulation sur la coloration du jaune.

### Remerciements

Nous adressons nos vives remerciements au Programme des Fonds Compétitifs de Recherche de l'Université d'Abomey-Calavi qui à travers le projet CAPA ont financé ces travaux.

## Références bibliographiques

- 1- Guédou M. S. E., G. O. Kouato, M. F. Houndonougbo, C. A. A. M. Chrysostome et G. A. Mensah, 2018. Performances de ponte et qualité des œufs de poules pondeuses nourries avec des aliments à base de différentes variétés de grains de maïs. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(6): 2846-2855.
- 2- Babatounde S., A. Saïdou, M. Guidan et G.A. Mensah, 2009. Effet d'une complémentation alimentaire à base de légumineuses fourragères cultivées (*Chamaecrista rotundifolia* et *Aeschynomene histrix*) sur les performances des ovins Djallonké. *Renc. Rech. Ruminants*, 2009, 16.
- 3- Brah N., M. F. Houndonougbo et N. Issa, 2015. Etapes et méthodes de formulation d'aliment de volaille : une synthèse bibliographique. *International Journal of Biological And Chemical Sciences* 9(6): 2924-2931.
- 4- Tchibozo S. V., L. H., Dossa F., Houndonougbo, I. B., Koura B. M., Houinato, 2017. Effets de l'incorporation du son de maïs à différents doses sur les performances de croissance des lapereaux et la rentabilité de l'élevage. *European Scientific Journal* 13(24) :1857 – 7881, ISSN 1857- 7431.
- 5- Houndonougbo M. M. F., Chrysostome C. A. A. M. et V. P. Houndonougbo. 2012. Performances de ponte et qualité des œufs des poules pondeuses ISA Brown alimentées avec des rations à base de feuilles séchées de manioc (*Manihot Esculenta*, Crantz) *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6(5): 1950-1959.
- 6- Thapon J.L et C.M Bourgeois.1994. L'œuf et les ovoproduits.
- 7- Houndonougbo P.V., A.A.C.M. Chrysostome, M. F. Houndonougbo, H. Hammami, J. Bindelle et N. Gengler, 2014. Évaluation de la qualité interne et externe des œufs de cinq variétés de pintades (*Numida meleagris*) locales élevées au Bénin, *Revue Le CAMES, Sciences de la vie, de la terre et Agronomie*, 2(2), 42-47.
- 8- Tossou M.L, A.A.M.C Chrysostome, M.F Houndonougbo, P.U Tougan, M.B Behingan, S. Salifou et A.F Abiola. 2015. Effet de la souche et du système sur la qualité des œufs de trois souches de poules pondeuses élevées au sud du Bénin. *Afrique SCIENCE* 11(5) (2015) 294 – 30.
- 9- Bain M.M., I.C. Dunn, P.W. Wilson, N. Joseph, B. De Ketelaere, J. De Baerdemaeker et D. Waddington, 2006. Probability of an egg cracking during packing can be predicted using a simple non-destructive acoustic test. *Brit.Poult. Sci.*, 47, 462-469.
- 10- Nau, F., H. This, M. Anton, F. Baron, N. Guyot, S. Rehault Godbert, C. Brossard, Y. Nys, J. Gautron, V. Lechevalier and P. Lescoat, 2013. L'œuf aux trésors. Dossier de presse INRA, 24 p.
- 11- King'ori A.M, 2012. « Poultry egg external characteristics: Egg weight, Shape and Shell Color ». *Res. J. Poult. Sci.*, 5(2), 14-17.
- 12- Akouango P. 2014, Evolution qualitative et quantitative des composantes de l'œuf pendant les 3 phases de ponte chez la poule, *Journal of Applied biosciences* 74(1), 6080-6085.
- 13- Monira K.N, M. Salahuddin et G. Miah, 2003, Effect of breed and holding period on egg quality characteristics of chicken. *Int.J.Poult.Sci* (4), 261-263.
- 14- Samandoulougou S., A.J Iiboudo, G.S Ouédraogo., T.S Bagre., F.W Tapsoba., H. Compaoré., A. Dao., A. Zoungrana., A. Savadogo et A.S Traoré. 2016. Qualité physico-chimique et nutritionnelle des œufs de poule locale et de race améliorée consommés à Ouagadougou au Burkina Faso. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 10(2): 737-748.
- 15- Wauters A.M., G. Guibert, A. Bourdillon, M.A. Richard, J.P. Melcion et M. Picard, 1997. Choix de particules alimentaires chez le poussin : effet de la taille et de la composition 2èmes JRA, Tours, 201-204.
- 16- Umar Faruk M, I. Bouvarel, N. Meme, N. Rideau, L. Roffidal, H.M Tukur, D. Bastianelli, Y. Nys and P. Lescoat 2010. Sequential feeding using whole wheat and a separate proteinmineral concentrate improved feed efficiency in laying hens. *Poultry Science* 89, 785-796.

## Contrôle post-récolte de l'antracnose de la mangue par 4 biopesticides à base d'huiles essentielles

Kassi Koffi Fernand Jean Martial<sup>1\*</sup>, Camara Brahim<sup>2</sup>, Kouame Koffi Gaston<sup>3</sup>, N'goran N'dri Sévérin<sup>4</sup>, Coulibaly Kolan Pierre-Marie<sup>5</sup>, Kone Daouda<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Université Félix Houphouët Boigny, UFR Bioscience, Laboratoire de Physiologie Végétale, 22 BP582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

<sup>2</sup>Université Félix Houphouët Boigny, UFR Bioscience, Laboratoire de Physiologie Végétale, 22 BP582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

<sup>3</sup>Université Péléforo Gon Coulibaly, UFR Sciences Biologiques, Département de Biologie Végétale BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

<sup>4</sup>Université Félix Houphouët Boigny, UFR Bioscience, Laboratoire de Physiologie Végétale, 22 BP582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

<sup>5</sup>Université Félix Houphouët Boigny, UFR Bioscience, Laboratoire de Physiologie Végétale, 22 BP582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

<sup>6</sup>Université Félix Houphouët Boigny, UFR Bioscience, Laboratoire de Physiologie Végétale, 22 BP582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

**Résumé:** L'antracnose, causée par *Colletotrichum gloeosporioides* constitue l'une des causes majeures des pertes post récolte des fruits en Côte d'Ivoire. L'objectif de cette étude est de proposer quatre biofongicides (NECO, FERCA, ASTOUN et PRORALY) formulés à base d'huiles essentielles pour la gestion de l'antracnose de la mangue. Dans ce sens, 250 mangues (var. Kent) d'une zone endémique de l'antracnose au nord de la Côte d'Ivoire ont été utilisées. Elles ont été trempées par lots de 25 fruits dans différentes solutions de biopesticides aux doses de 0,15% et de 0,20% pendant 60 secondes et 3 minutes pour le produit de référence à la dose de 0,025%. Les fruits traités ont été entreposés dans une chambre froide à 10°C pendant 15 jours et à température ambiante pendant 7 jours. Les fruits traités avec FERCA et NECO aux doses de 0,20 et 0,15 % n'ont présenté aucun symptôme, tandis que chez le témoin négatif et le produit de référence une incidence supérieure à 10% a été observée. NECO et FERCA peuvent être des alternatives aux produits de synthèse dans la gestion post-récolte de l'antracnose. L'interaction de ces biopesticides avec les propriétés physico-chimiques des fruits pourrait être étudiée.

**Mots-clés :** Anthracnose, *Colletotrichum gloeosporioides*, contrôle, Biofongicides

### Post-harvest control of mango anthracnose by 4 essential oil-based biopesticides

**Abstract:** Anthracnose, caused by *Colletotrichum gloeosporioides*, is one of the major causes of post-harvest losses of fruit in Côte d'Ivoire. Objective of this study is to propose four biofungicides (NECO, FERCA, ASTOUN and PRORALY) formulated with essential oils for the management of mango anthracnose. Thereby, 250 mangoes (var. Kent) from an anthracnose endemic area in northern Côte d'Ivoire were used. They were dipped in batches of 25 fruits in different biopesticide solutions at 0.15 and 0.20% for 60 seconds and 3 minutes for the reference product at 0.025%. The treated fruits were stored in a cold room at 10°C for 15 days and at room temperature for 7 days. Fruits treated with FERCA and NECO at 0.20 and 0.15% showed no symptoms, while in the negative control and the reference product an incidence higher than 10% was observed. NECO and FERCA can be alternatives to synthetic products in the post-harvest management of anthracnose. The interaction of these biopesticides with the physico-chemical properties of the fruits could be studied.

**Keywords:** Anthracnose, *Colletotrichum gloeosporioides*, control, Biofungicides

### 1. Introduction

Le manguier (*Mangifera indica* L) est un arbre, qui est adaptée à différentes zones agro-écologiques, allant des zones subhumides aux zones semi-arides [1]. Le fruit, la mangue, fait partie des récoltes horticoles les plus importantes dans le monde [2]. Elle constitue une source de revenu substantielle pour les pays producteurs. La Côte d'Ivoire avec une production estimée à 180 000 tonnes, est le premier pays Africain exportateur de mangues sur le marché de l'Union Européen et le 3<sup>e</sup> fournisseur au niveau mondial [3]. La principale région naturellement favorable à la production de fruit de bonne qualité est située au nord du pays [4]. La qualité de la mangue est cependant constamment dépréciée par les dégâts provoqués par de nombreux agents pathogènes. Ces pathogènes attaquent la mangue depuis les premiers stades de développement jusqu'à sa conservation. Les maladies fongiques sont les plus redoutables et les causes majeures de dépréciation des fruits [5]. Parmi celles ci, l'antracnose est la principale maladie fongique causant des pertes importantes à la mangue en Côte d'Ivoire [6]. L'incidence de cette maladie peut atteindre 100 % dans les zones à fortes précipitations avec une humidité importante [7]. L'agent pathogène est un champignon du genre *Colletotrichum* qui a une large gamme de plante hôte. 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 [8]. 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 le traitement post-récolte de la mangue suscite beaucoup d'inquiétude pour les exportateurs. Le besoin de nouvelles molécules non nocives et faciles à utiliser devient donc une urgence au niveau mondial. La présente étude a pour objectif de proposer 4 biopesticides (NECO, ASTOUN, FERCA et PRORALY) à base d'extraits de plante pour le contrôle post-récolte de l'antracnose chez la mangue.

## 2. Matériel et méthodes

Le matériel végétal était constitué de mangues de la variété Kent, apparemment saines. Elles ont été sélectionnées au nord de la Côte d'Ivoire, dans une zone endémique de l'antracnose du manguier. Quatre biofongicides (NECO, ASTOUN, PRORALY, FERCA) ont été utilisés. Ces biofongicides, formulés à base d'extraits de plante, ont été fournis par l'Unité de Recherche Industrielle (URI) sur les biopesticides de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY (UFHB). Le MIRAGE 450 EC, fongicide de synthèse homologuée contre l'antracnose de la mangue en Côte d'Ivoire a également été utilisé. Les mangues, au laboratoire ont subi un tri minutieux afin d'écarter tout fruit présentant des blessures, symptômes de maladies fongiques ou attaques de ravageurs et les mangues immatures.

Des lots de 25 fruits ont été ensuite constitués. Les mangues ont été lavées par lots à l'eau de robinet, à l'aide d'une éponge absorbante changée après chaque opération de lavage. Les mangues rangées par lot ont ensuite été séchées à la température ambiante. Deux bouillies à différentes doses ont été préparées pour chaque biofongicide. Pour la première dose (0,15 %) un volume de 75 ml a été prélevé et renversé dans un bac contenant déjà 5 litres d'eau. Après une homogénéisation, le volume a été complété à 50 litres avec de l'eau. Pour la seconde dose (0,20 %), le volume prélevé pour chaque biofongicide a été de 100 ml. En ce qui concerne le fongicide de synthèse, la solution de trempage a été préparé à la dose recommandé par le fabricant, à savoir 0,45 ml/L. Chaque lot de 25 mangues a ensuite été complètement immergé dans les bacs contenant les solutions préparées selon les modalités suivantes:

- Témoin négatif : trempage 3 minutes dans l'eau
- Témoin positif (MIRAGE 450 EC) à la dose de 0,45 ml/ L: trempage pendant 3 minutes.
- FERCA, PRORALY, ASTOUN et le NECO : trempage pendant 1 minute aux doses respectives 0,15 % et 0,20 %.

Après trempage, les mangues ont été séchées sur des tablettes à la température ambiante, puis rangées dans les cartons de conditionnement. Sur ces cartons, sont marqués le nom du produit et sa dose. Les mangues ont été ensuite stockées en chambre froide pendant 21 jours à 10°C. A l'issue de la période de stockage, l'observation a porté l'incidence de la maladie (taux de fruits présentant des symptômes caractéristiques de l'antracnose). Ce paramètre a été évalué tous les 3 jours pendant 10 jours d'observation et calculé selon les formule de [9].

$$IM (\%) = (X_i / X_t) * 100$$

IM: Incidence de la maladie;  $X_i$ : Nombre de fruits infectés;  $X_t$ : Nombre total de fruits

Le niveau de sévérité des symptômes de l'antracnose a été notée pour chaque fruit selon l'échelle de notation de [10].

0 : pas de maladie

1 : 1-5 % de la surface du fruit présente des symptômes légers

2 : 6-9 % de la surface du fruit présente des symptômes modérés

3 : 10-49 % de la surface du fruit présente des symptômes sévères

4 : 50-100 % de la surface du fruit présente des symptômes très sévères

L'indice de sévérité (pourcentage de la surface du fruit infecté : SFI) a été calculée selon la formule de [10].

$$IS (\%) = (\text{Somme } n_i / x_t * 4) * 100$$

Avec ; IS : Indice de sévérité;  $n_i$  : Note individuel au symptôme de la maladie sur chaque fruit ;  $x_t$  : Nombre total de fruits observés ; 4 : Note la plus élevée de l'échelle.

l'incidence et la sévérité de la maladie ont été soumises à une analyse de variance (ANOVA) avec le logiciel STATISCA 7.1. Lorsque les valeurs moyennes présentent des différences significatives, le test de Newman Keuls au seuil de 5 % a été utilisé pour la séparation de celles-ci

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Evaluation de l'incidence de l'antracnose

L'incidence de l'antracnose a varié en fonction des fongicides et de la dose utilisée pour la préparation de la bouillie de traitement (**figure 1**). Elle a été inférieure à 22 % pour tous les traitements évalués. Les fruits traités avec les bio fongicides FERCA et NECO n'ont développées aucun symptôme de l'antracnose

aux doses respectives de 0,20 et 0,15 %. Les fruits traités avec le mirage 450 EC ont présenté une incidence de 10 %. Le NECO utilisé à 0,2 % a engendré une incidence significativement inférieure à celle du fongicide de synthèse.

Pasted Graphic.pdf ↵

Figure 1: Effet des traitements sur l'incidence de la bactériose après 21 de conservation à 10°C ?????

### 3.2. Evaluation de l'indice de sévérité de l'antracnose

L'indice de sévérité de l'antracnose a significativement varié en fonction des fongicides et des doses utilisées (figure 2). Il est inférieur à 6 % pour tous les traitements. Le fongicide de référence Mirage 450 EC et fongicide biologique FERCA et NECO ont significativement réduit la sévérité de l'antracnose par rapport au témoin.

Pasted Graphic 1.pdf ↵

Figure 2: Effet des traitements sur la sévérité de la bactériose après 21 de conservation à 10°C ???

Cet essai d'efficacité des biopesticides dans les conditions identiques à celle d'un centre de conditionnement de la mangue destinée à l'exportation a permis de montrer que tous les fongicides testés ont eu des effets significatifs sur l'évolution de l'antracnose. Les biofongicides FERCA et NECO aux doses respectives de 0,20 et 0,15 %, ont réussi à éradiquer totalement l'évolution de la maladie pendant les 10 jours d'observation après sortie de la chambre froide, avec un indice de sévérité nul. L'activité antifongique d'un biopesticide comme le NECO dépend aussi bien de ses composés aromatiques que de leurs structures. Ainsi, le produit agirait directement sur le pathogène et sur les organes de propagation [11]. 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 [12], 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 [13], 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% [14]. L'apparition des symptômes de l'antracnose a été très moindre chez le fongicide de synthèse (MIRAGE) avec un taux de contamination de 10 % comparée au témoin. Cette efficacité du MIRAGE dont la matière active est le prochloraze a été également prouvée sur de nombreuses plantes cultivées dans le monde [15].

### 4. Conclusion

L'antracnose est la principale maladie qui cause d'énormes pertes de récolte de la mangue en Côte d'Ivoire. L'essai d'efficacité des bio pesticides pour le contrôle de cette maladie a été très promoteur. NECO et FERCA ont assuré une protection totale des mangues et pourrait être utilisés comme alternatifs pour le traitement post récolte des mangues avant le conditionnement.

### 5. Bibliographie

- [1]. Kanté-Traoré, H., Valorisation des variétés de mangues produites au Burkina Faso : Aspect biochimique, biotechnologiques et nutritionnels. Thèse de Doctorat unique: Biochimie-Technologie alimentaire, Université Joseph Ki Zerbo, (2019)161 p.
- [2]. Djioua, T., Amélioration de la conservation des mangues 4ème gamme par application de traitements thermiques et utilisation d'une conservation sous atmosphère modifiée. Thèse de Doctorat, de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. 2010.
- [3]. Firca., 2018. Rapport annuel 2018 [en ligne]. (Consultée le 08-10-2020). <http://firca.ci/wp-content/uploads/2019/11/RAPPORT-FIRCA2018.pdf>
- [4]. Sinan A. & Abou N. K., Impacts Socio- Economiques De La Culture De L'anacarde Dans La Sous-Prefecture d'Odienné (Côte d'Ivoire). Eur. Sci J., (2016) 12 (32): 369 - 383
- [5]. Alloue-Boraud W. A. M., Kofi B. L., Dadié A. T., Dje K. M. & Ongena M., Utilisation de *Bacillus subtilis* GA1

- pour la lutte contre les germes de l'altération de la mangue en Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Science*, (2015) 52 (3): 3954-3965
- [6]. Hala N & Coulibaly F., L'étude diagnostique de l'état sanitaire du verger manguier et les acquis de la recherche agronomique sur la lutte intégrée contre les mouches de fruits et la cochenille farineuse en Côte d'Ivoire. Rapport d'exécution technique (2006). Appel d'offres N° 016/ FIRCA/ Filière Mangue, 74 p.
- [7]. Arauz L.F., Mango Anthracnose: Economic Impact and Current Options for Integrated Management. *Plant Disease* (2000) 84: 600-611
- [8]. Polaniyandi, S.A, Yang, S.H., & Cheng, J.H., Biological Control of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in yam by *steptomycetes* sp.M J M 5763. *Journal of Applied Microbiology*,(2011) 111: 443-455
- [9]. Masyahit M., Sijarn K., Awang Y., Ghazali M., & Satar M. G. M.,. The First Report of the Occurrence of Anthracnose Disease Caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.on Dragon Fruit (*Hylocereus* spp.) in Peninsular Malaysia. *American Journal of Applied Sciences* (2009), 6: 902-912
- [10]. Corkidi, G., Balderas-ruiz, K.A, Taborada, B. Serrano-Carreon, L. & Galindo, E., 2006. Assessing mango anthracnose using a new three-dimensional image-analysis technique to quantify lesions on fruit. *Plant Pathology* (2006), 55: 250–257
- [11]. 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.
- [12]. 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
- [13]. Ouedraogo, I., Sawadogo, A., Nebie, R.C.H & Dakoua, D. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles de *Cymbopogon nardus* (L) et *Occimum gratissimum* (L) contre *Sitophilus zeamais* Motsh et *Rhyzopertha 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
- [14]. Dombia 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
- [15]. PIP. Essais d'efficacité de fongicides en bains post-récolte pour contrôler l'antracnose sur mangue en Côte d'Ivoire (2014). <http://eservice.coleacp.org/fr/e-bibliothèque/essais-defficacite-fongicides-bains-post-recolte-pour-controler-lanthracnose-sur>

## Détoxification de la farine d'épluchures de manioc en produit de haute qualité nutritionnelle

KOBENAN Kouakou N'guessan Stanislas<sup>1\*</sup>, KOUAKOU N'goran David Vincent<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT – BOIGNY de Yamoussoukro, Laboratoire de Zootechnie Production Animale, BP 1093 Yamoussoukro, COTE D'IVOIRE.

\*Email : [Stanislasbelo83@gmail.com](mailto:Stanislasbelo83@gmail.com)

### Résumé

Le manioc (*Manihot esculenta*, Crantz) plante rustique, est un arbuste ligneux de la famille des Euphorbiacées. Elle est une plante polyvalente qui pousse bien sous les tropiques et contient une très bonne source d'énergie. Ses différentes transformations engendrent une importante quantité d'épluchures qui sont souvent entassées sur le sol et deviennent des sources de pollution de l'environnement (Ehouinsou et al., 2007). Afin de valoriser les épluchures de manioc une étude bibliographique a été faite. Il ressort de cette étude que les épluchures ont des valeurs alimentaires assez proches des tubercules (Bindelle & Buldgen, 2004). Mais la composition chimique de celles-ci montre la présence de facteur antinutritionnel à savoir l'acide cyanhydrique qui doit forcément être éliminer avant toute utilisation (Cressey, 2019). De ce fait, des méthodes comme le séchage, la fermentation ont été déjà élaborées pour éliminer l'acide cyanhydrique que contiennent les épluchures. Mais les résultats de ces méthodes montrent des réductions partielles de cet acide. Par conséquent, il reste encore à trouver la méthode de traitement la plus optimale des épluchures. Ainsi il serait judicieux de mener des études sur la possibilité d'élaborer une méthode optimale de détoxification des épluchures de manioc afin de mieux valoriser ce déchet agricole.

Mots Clés : farine épluchures manioc, acide cyanhydrique, qualité nutritionnelle

### Detoxification of cassava peelings into a product of high nutritional quality

#### Abstract

Cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) hardy plant, is a woody shrub of the Euphorbiaceae family. She is a versatile plant that grows well in the tropics and is a very good source of energy. Its various transformations generate a large quantity of peelings which are often piled up on the ground and become sources of environmental pollution (Ehouinsou et al., 2007). In order to promote cassava peelings, a bibliographical study was carried out. It emerges from this study that the peelings have food values quite close to the tubers (Bindelle & Buldgen, 2004). But the chemical composition of these shows the presence of an anti-nutritional factor, namely hydrocyanic acid, which must necessarily be eliminated before any use (Cressey, 2019). Therefore, methods such as drying, fermentation have already been developed to remove the hydrocyanic acid contained in the peelings. But the results of these methods show partial reductions of this acid. Therefore, it remains to find the most optimal method of treating peelings. Thus it would be wise to conduct studies on the possibility of developing an optimal method of detoxifying cassava peelings in order to better recover this agricultural waste.

**Keywords :** cassava peelings flour, hydrocyanic acid, nutritional quality

#### 1. Introduction

Le maïs, la source par excellence d'énergie traditionnelle pour les monogastriques, est de plus en plus concurrencé par l'homme et les industries agro-alimentaires, ce qui le rend moins disponible ou à des prix excessifs dans l'alimentation animale. Selon l'USDA en 2015, de septembre 2005 à Septembre 2015 le prix du maïs a augmenté d'environ 71 %. Cette forte augmentation a contraint à la recherche de sources alternatives d'énergie pour remplacer une partie ou totalement le maïs dans l'alimentation des monogastriques. C'est dans cette optique que la farine de manioc a été incluse dans le régime alimentaire des monogastriques en substitution au maïs [1], [2] avec un avantage économique [3]–[5]. Cependant, la demande accrue du manioc pour des utilisations alimentaires et industrielles, principalement l'amidon peuvent menacer sa disponibilité future pour l'industrie de l'alimentation animale à des prix compétitifs [6]. Toutefois, lors de la transformation du manioc à usage alimentaire et industriel, de grandes quantités d'épluchures sont produites et celles-ci ont une faible valeur économique. De ce fait, la valorisation des épluchures, s'avère nécessaire pour limiter la concurrence alimentaire entre l'homme et les animaux, surtout que ces épluchures ont des valeurs alimentaires assez proches des tubercules [7]. Ainsi, une façon de valoriser efficacement les épluchures pourrait être de les utiliser comme ingrédients pour l'alimentation des monogastriques. Il existe des données publiées sur l'utilisation des épluchures de manioc comme matière première en remplacement du maïs dans la formule alimentaire des monogastriques, mais les résultats n'ont pas toujours été concluant [6]. Le taux d'incorporation de la farine d'épluchures diffère d'un auteur à l'autre à cause des facteurs antinutritionnels et toxiques (acide cyanhydrique) que contiennent les épluchures de manioc. En effet, à l'état frais les épluchures de racine de manioc contiennent une grande quantité d'acide cyanhydrique (265,142 mg / kg) [8] toxique pour les

animaux. Cette quantité varie selon le type de variété de manioc. La peau de la variété de manioc « amer » contient en moyenne 650 ppm de matière sèche et la pâte doit contenir 310 de ppm de MS de cyanure total ; les valeurs correspondantes pour les variétés « douces » étaient de 200 ppm de MS et 38 ppm de matière sèche respectivement [9]. De ce fait, la détoxification est une condition préalable pour l'utilisation des épluchures comme ingrédients pour l'alimentation animale. Ainsi, L'objectif de la présente étude est d'établir une méthode optimale de détoxification des épluchures de manioc permettant d'obtenir une farine de bonne qualité nutritionnelle.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1.1 Matériel végétal

La matière première qui a été utilisée pour la réalisation de notre farine sont des épluchures de manioc qui découle de la transformation du manioc en attiéké (figure 1)



Figure 1 : Epluchures de manioc

### 2.1.2 Matériel technique

La fabrication de la farine d'épluchures de manioc a nécessité l'utilisation de plusieurs matériels notamment une bassine, une presse manuelle, un tamis, une poêle (figure 2).



Figure 2 : Matériel de fabrication de la farine (A,B,C)

## 2.2 Méthodes

### 2.2.1 Préparation de la farine d'épluchures de manioc

L'essai s'est déroulé à l'INP-HB de Yamoussoukro dans le mois de mars 2021. Les épluchures de manioc fraîches ont été collectées auprès des femmes transformatrices de manioc. La méthode de la fabrication de la farine d'épluchures de manioc a consisté à broyer les épluchures fraîches. La pâte obtenue a été fermenter pendant 24h puis presser afin d'extraire le maximum d'effluents. Le gâteau obtenu a été tamisé et torréfié pour l'obtention d'une farine saine.

### 2.2.2 Analyse biochimique de la farine

#### Détermination du taux d'humidité

Selon la méthode [10], les échantillons sont pesés (P0) à l'aide d'une balance de précision de type SARTORIUS BP 310S, Gottingen, West Germany. Ils ont été séchés dans une étuve de marque (MEMERT, Schwabach West Germany), à 105 °C pendant 24 h. A la sortie de l'étuve, les échantillons ont été refroidis dans un dessiccateur et pesés (P1) ; le pourcentage d'humidité a été déterminé par calcul selon, la formule :

$$H = \frac{p0 - p1}{p0} * 100$$

### Détermination du taux de cendres

Selon la méthode [10], cette détermination a été faite par minéralisation d'un échantillon de 5 g (P0) à 550 °C pendant 6 h dans un four à moufle (NABERTERM, GmbH LT9/11/B180, Germany), jusqu'à destruction de toutes les matières organiques contenus dans l'échantillon. La pesée (P1) après refroidissement dans un dessiccateur de la cendre obtenue a permis de déterminer le taux de cendres selon la formule :

$$\% \text{ Cendres} = \frac{P_0 - P_1}{P_0} * 100$$

### Dosage des protéines brutes

Le dosage des protéines a été fait selon la méthode [11] 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) et de sulfate de potassium (K2SO4) dans un digesteur type Buchi 430 (Digestor Germany), pendant 3 h. Ensuite, une distillation est effectuée dans un distillateur type Buchi 320, Germany, après addition de 10 mL de solution de soude (NaOH) à 40 % au minéralisat. Le distillat est recueilli dans une solution tampon d'acide borique préparée par dissolution de 10 g d'acide borique dans 1000 mL d'eau distillée et 11 mL de mélange d'indicateur coloré constitué de vert de bromocrésol et de rouge de méthyl. Le titrage du distillat se fait avec l'acide chlorhydrique (HCl) 0,1 N. Les taux d'azote total et de protéines brutes sont obtenus avec des formules :

$$\text{Taux d'azote total} = \frac{V(\text{HCl}) * N(\text{HCl}) * 0,014 * 100}{P}$$

V(HCl) = volume HCl de la chute de burette ;

N(HCl) = normalité de HCl ;

0,014=coefficient affecté à la concentration de la solution normale d'azote (14/1000) ;

P = poids de l'échantillon

Taux de protéines brutes = Taux d'azote total x 6,25

### Dosage de l'acide cyanhydrique

Ce dosage a été effectué selon la méthode de [12]. 20 g d'échantillon ont été macérés dans 200 cm<sup>3</sup> d'eau distillée pendant 3 à 4 h, suivi de la distillation pour recueillir le distillat sur 20 cm<sup>3</sup> de solution de soude contenant 0,5 g de soude. Ensuite, 100 cm<sup>3</sup> du distillat sont prélevés et 8 cm<sup>3</sup> d'iodure de potassium (KI) à 5 % y sont ajoutés. Le dosage se fait avec une solution de nitrate d'argent (AgNO<sub>3</sub> 0,02N). Selon cette méthode, l'ion CN<sup>-</sup> tend à se combiner avec l'ion Ag<sup>+</sup>, pour former un précipité de cyanure d'argent AgCN. Ce précipité ne se forme pas dans un milieu ammoniacal. La fin de la réaction est obtenue lorsque tous les ions CN<sup>-</sup> ont réagi ; l'ion Ag<sup>+</sup> se combine avec les ions I<sup>-</sup> de l'indicateur iodure de potassium (KI) et le nitrate d'argent (AgNO<sub>3</sub>) rend la solution opalescente. Soit à la quantité de AgNO<sub>3</sub> en ml obtenue en fin de dosage, la quantité d'acide cyanhydrique (HCN) en mg d'échantillon est obtenue par la formule :

$$A \times 1,08 = \text{mg HCN}$$

### Extraction de la matière grasse

Les matières grasses sont extraites selon la méthode de [13,14] utilisant le soxhlet et l'hexane. Trois (3) g de l'échantillon sont introduits dans une cartouche de Whatman. L'appareil est réglé à la température fixe de 60 °C. Cent (100) ml d'hexane sont versé dans le filtre. Le mélange hexane-huile recueilli après 60 écoulements est évaporé au rotavapor pour éliminer le solvant. La teneur en matière grasse (MG) se détermine comme suit :

$$\text{MG} = (\text{Masse de l'huile extraite} \times 100) / \text{Masse de l'échantillon}$$

### Détermination de la fibre brute

La méthode décrite par [10] a été utilisée pour déterminer la fibre brute de manioc. Deux grammes de la farine de manioc ont été bouillie dans 100 ml de solutions d'acide sulfurique 0,25 M au reflux pendant 30 minutes. La solution chaude a été rapidement filtré sous pression d'aspiration. Le résidu a été soigneusement lavé à l'eau chaude jusqu'à ce qu'il soit acide libre. Le résidu a ensuite été bouilli dans 100 ml d'une solution d'hydroxyde de sodium 0,3 M chaude au reflux pendant 30 min et filtré rapidement sous aspiration. Le résidu insoluble a été lavé avec de l'eau chaude jusqu'à ce qu'il soit exempt de

base. C'était séché à poids constant dans une étuve à 100 ° C pendant 2 heures, refroidi dans un dessiccateur et pesé. Le pourcentage la teneur en fibres brutes a été calculée.

### Calcul de l'énergie métabolisable

La valeur de l'énergie métabolisable (EM) s'obtient par calcul à partir des taux de matières grasses, de cellulose et de cendres de l'échantillon. Cette valeur est déterminée à partir de la formule suivante [11] :

$$EM \text{ (kcal/kg)} = 3951 + 54,4 \text{ MG} - 88,7 \text{ CB} - 40,8 \text{ CE}$$

Avec : MG= matière grasse ; CB = cellulose brute ; CE= cendres

### Analyse statistique des résultats

Les résultats ont été soumis à des analyses de variances (ANOVA) réalisées avec le logiciel Stastica 7.0 en vue de comparer les moyennes. En cas de différence significative, le test de Newman-Keuls a permis d'identifier les moyennes responsables de la différence observée au seuil de 5%.

### 3 Résultats Attendus

A la fin de l'étude nous espérons avoir comme résultat la mise en place d'un process simple et efficace permettant de détoxifier la farine d'épluchures de manioc. Aussi, la qualité nutritionnelle de ce produit est connue ainsi que son coût de production.

### 4 Conclusion

Au terme de cette étude, il convient de retenir que la concurrence alimentaire entre l'homme et les monogastriques devient préoccupante en raison de l'augmentation de la population humaine et de l'utilisation commun de la source d'énergie (maïs). Pour pallier ce problème, il est donc nécessaire d'identifier d'autres sources alimentaires non-conventionnelles. Ainsi, l'utilisation de la farine d'épluchures de manioc en substitution au maïs est une voix alternative pour la résolution à ce problème. Mais plusieurs contraintes limitent son utilisation totale pour l'alimentation des monogastriques. Parmi elles, la teneur élevée en fibre et la faible teneur en protéine. Mais la principale contrainte est la présence de facteur toxique à savoir les glucosides cyanogènes. Diverses méthodes montrent la possibilité de réduire considérablement ce facteur limitant. Mais il reste encore à trouver la méthode de traitement la plus optimal des pelures de manioc pour faciliter son utilisation. Certainement la farine bien détoxifiée peut être utilisé dans l'alimentation animale comme humaine sans aucun impact négatif sur la santé.

### 5. Bibliographies

- [1] K. Kreman, « Effets de l'utilisation du manioc comme source d'énergie alimentaire sur les performances de production de la poule locale du Cameroun », 2011.
- [2] J. R. Kana, Ruben Ngouana Tadjong, Hervé Mube Kuintche, Y. Tefack, H. Zambou, et Alexis Tegua, « Valorisation des résidus de manioc en substitution du maïs dans la ration alimentaire du poulet de chair », Cameroun, p. 11, 2014.
- [3] M. Anaeto et L. Adighibe, « Cassava root meal as substitute for maize in layers ration », *Rev. Bras. Cienc. Avic.*, vol. 13, n° 2, p. 153-156, juin 2011, doi: 10.1590/S1516-635X2011000200010.
- [4] S. S. Diarra, D. Sandakabatu, D. Perera, P. Tabuaciri and, et U. Mohammed, « Growth Performance, Carcass Measurements and Organs Weight of Broiler Chickens Fed Cassava Copra Meal-based or Commercial Finisher Diets in Samoa », p. 7, 2014.
- [5] S. H. Khan, « Sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) as feed ingredient in poultry diets », *World's Poultry Science Journal*, vol. 73, n° 1, p. 77-88, mars 2017, doi: 10.1017/S0043933916000805.
- [6] S. S. Diarra, « Peel meals as feed ingredients in poultry diets: Chemical composition, dietary recommendations and prospects », *J Anim Physiol Anim Nutr*, vol. 102, n° 5, p. 1284-1295, oct. 2018, doi: 10.1111/jpn.12954.
- [7] J. Bindelle et A. Buldgen, « Utilisation des plantes à tubercules ou à racines tubéreuses en alimentation animale », vol. 4, p. 8, 2004.
- [8] A. L. van de Ven *et al.*, « Rapid tumorotropic accumulation of systemically injected plateloid particles and their biodistribution », *Journal of Controlled Release*, vol. 158, n° 1, p. 148-155, févr. 2012, doi: 10.1016/j.jconrel.2011.10.021.
- [9] O. O. Tewe, « Indices of cassava safety for livestock feeding », p. 9, 1994.
- [10] AOAC, « Official Methods of Analysis (13th edn). Association of Official Analytical Chemist: Washington, D C », 2000.

- [11] B. I. D. ANALYTIQUE-BIPEA, « Recueil des méthodes d'analyse des communautés Européennes », 1976.
- [12] Liebig–Denige, « Dosage de l'Acide Cyanhydrique Meded. Landbouw Hogeschool: Wageningen », p. 71, 13p, 1971.
- [13] RAUSCHERK K., ENGSTE R. et FREIMUTH U, « Untersuchung Von Lebensmitteln Veb. Fauchbuch verlag, Leipzig. », p. 939, 1986.
- [14] C. A. ROSIGNOL, « Un préliminaire important : l'extraction analytique des lipides. Oléagineux, Corps Gras, Lipides. », p. 5 (4) : 301-307, 1998.

## Champignons sauvages comestibles du Mali : Evaluation préliminaire de la production des sporophores de 4 espèces sur substrats lignicoles.

Mahamoudou Traoré<sup>1,2</sup>, Karim Dagno<sup>1</sup>, Moussa Kanté<sup>3</sup> Alassane Dicko<sup>4</sup>

1. IER, Centre Régional de Recherche Agronomique de Sotuba. BP : 262. Bamako, Mali, Email : [karimdagno@yahoo.fr](mailto:karimdagno@yahoo.fr) ; 2. IPR/IFRA, Tel: (+223) 2126 20 12, FAX : (+223)2126 25 04 E-mail: [mahamoudoutraore85@gmail.com](mailto:mahamoudoutraore85@gmail.com); 3. Université de Ségou, FAMA. Tel : (+223) 21320557 Ségou, Mali. Email : [moussa4ml@yahoo.fr](mailto:moussa4ml@yahoo.fr) ; 4. Office du Moyen Bani, Tel : (+223) 21372638 Ségou, Mali. Email [aassanedicko92@gmail.com](mailto:aassanedicko92@gmail.com).

### Résumé :

Les champignons sauvages comestibles représentent une alimentation locale et de revenus monétaires pour les populations en milieu rural[1]. Cette étude vise la caractérisation agronomique de 4 espèces de champignon comestible. Le blanc- mère a été produit sur différents substrats végétaux et animaux et les sporophores produits sur substrats végétaux sont pasteurisés avant d'être ensemencé par les blanc-mères et incubés pendant 4 semaines à l'obscurité[2]. La technique de 'Gobetage' utilisée pour produire les sporophores[3]. Les souches sauvages ont donné une vitesse de croissance radiale élevée par rapport à l'espèce commerciale avec 0,89cm/j pour JD1478 suivi 0,36cm/j pour KD006 contre 0,07cm/j pour PO. Le mycélium des 5 souches locales a enregistré une durée de colonisation allant de 3 à 25j pour le délai 50% et 4 à 30j pour le délai 100%. Le mil, riz paddy et sorgho ont enregistré une colonisation plus court avec JD1478. La paille de riz (0,2kg) a obtenu le meilleur rendement avec *P. populinus* avec 82g, suivi par *P. oestreatus* avec 33g et *P. cystidiosus* pour 14g. La méthode de production est adaptée aux conditions des organisations féminines. Les meilleurs substrats végétaux devront encore être améliorés par les additifs.

## Wild edible mushrooms from Mali: Preliminary assessment of the production of sporophores of 4 species on lignicultural substrates

### Abstract :

Wild edible mushrooms are a local food and cash income for people in rural areas[1]. This study aims at the agronomic characterization of 4 edible mushroom species. The mother white was produced on different plant and animal substrates and the sporophores produced on plant substrates are pasteurized before being inoculated by the white mothers and incubated for 4 weeks at darkness[2]. The "Casing" technique used to produce the sporophores[3]. The wild strains gave a high radial growth rate compared to the commercial species with 0.89cm / d for JD1478 followed by 0.36cm/day for KD006 against 0.07cm/day for PO. The mycelium of the 5 local strains recorded a colonization period ranging from 3 to 25 days for the 50% period and 4 to 30 days for the 100% period. Millet, paddy rice and sorghum recorded shorter colonization with JD1478 Rice straw (0.2kg) obtained the best yield with *P. populinus* with 82g, followed by *P. oestreatus* with 33g and *P. cystidiosus* for 14g. The production method is adapted to the conditions of women's organizations. The best plant substrates will have to be further improved by the additives.

Keywords: Edible mushroom; food security; sporophore; Mali.

### 1. Introduction

Sur plus de 300 espèces fongiques comestibles recensées en Afrique tropicale, très peu font l'objet de culture artificielle[4]. Autrefois considérés comme des aliments à faible valeur nutritive, les champignons comestibles revêtent aujourd'hui un intérêt particulier. A cet effet, les populations locales considèrent les champignons comestibles comme un aliment « santé » et n'hésitent pas à les inclure dans une diète visant une bonne santé cardiovasculaire [5].

L'insécurité alimentaire touche 49% de la population du Mali et elle est l'une des priorités des politiques publiques [6]. De plus, les céréales constituent la base de l'alimentation de plus de 80% de la population et cette alimentation est caractérisée par non seulement sa pauvreté en vitamines et sels minéraux mais également par sa faible diversité en ingrédients de condiments indispensables pour les personnes vulnérables (enfants et personnes âgées) [7]. Par ailleurs, les zones soudano sahéliennes du Mali possèdent un potentiel de ressources forestières non ligneuses dont les champignons sauvages comestibles poussant spontanément sur le bois mort et sur d'autres matières organiques très souvent aléatoire et en faible quantité à cause du changement climatique [8].

Les espèces de champignons comestibles utilisées dans cette étude sont issues de la Collection Malienne des Champignons Sauvages Comestibles qui est riche de 25 espèces. Toutes ces espèces ont été collectées dans les forêts soudano sahéliennes du Mali. Quatre espèces ont été utilisées dans notre étude dont *Lentinus squarrosulus* (Souches KD00 et JD1478), *Pleurotus cystidiosus* (Souche KD006) et

*Pleurotus populinus* (Souche PG), *Chlorophyllum palaeotropicum* (Souche JD1460), et une espèce commerciale *Pleurotus oestreatus*(PO) qui a servi de témoin dans cette étude.

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 vitesse de croissance radiale de 4 différentes espèces sur le milieu PDA.
- Vérifier la production de blanc- mères des souches KD00, KD006, JD1460, JD1478 et PG sur les grains de céréales et substrats d'origine animale.
- Dégager la capacité de production des carpophores des souches KD00, KD006, JD1460, JD1478 et PG sur substrats d'origine végétale et animale.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel fongique

Le tableau 1 représente le matériel biologique est constitué de quatre espèces sauvages comestibles de la collection du Mali. Ces espèces proviennent de la collection du Mali riche de 25 souches identifiées par le Centre Régional de Recherche Agronomique (CRRA) de Sotuba en collaboration avec le Jardin Botanique de Meise, Belgique. Une espèces commerciales ont été ajoutées à cette étude comme témoins de référence.

**Tableau 1:** Liste des champignons comestibles utilisés dans l'étude.

N°	Espèces	Souches
1	<i>Chlorophyllum palaeotropicum</i> ,	JD1460
2	<i>Lentinus squarrosulus</i>	JD1478
3	<i>Lentinus squarrosulus</i>	KD00
4	<i>Pleurotus cystidiosus</i>	KD006
5	<i>Pleurotus populinus</i>	PG
6	<i>Pleurotus oestreatus</i>	PO

### 2.2. Matériel végétal

Pour le test de production des blancs de semis, les substrats suivants ont été testés : grains de sorgho, riz paddy, mil, maïs, marc de café et marc de thé. Quant à la production des carpophores les substrats d'origines végétales et animales ont été testés :rafle de maïs ,paille de riz, sciure de bois, fumier de ferme, marc de thé et de café.

### 2.3. Croissance des champignons sauvages comestibles sur milieu gélosé (PDA).

Le milieu de culture utilisé pour la croissance des champignons comestibles a été effectuée sur le milieu gélosé Potato Dextrose Agar (PDA; Merck, Darmstadt, Allemagne). 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[9]. 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 [10] :

$$VMC = \frac{vf-vi}{tf}$$

### 2.4. Préparation du substrat de production

Six substrats de culture furent préparés et conditionnés en petits sacs en plastique.

Il s'agit de :

- rafle de maïs (*Zea mays*) ;
- sciure de bois (*Delonix regia*) ;
- paille de riz (*Oryza sativa*);
- terre de parc (fumier de ferme) ;
- marc de café
- marc de thé.

Les substrats ont été choisis en fonction de leur disponibilité locale et de leur qualité lignocellulosique pour la production des carpophores des champignons sauvages comestibles. En vue de réduire les dimensions des matières organiques, de les rendre homogènes et de faciliter le contact avec les micro-organismes[11] le rafle de maïs et la paille de riz furent découpées en morceaux de 1 à 3cm à l'aide d'une machette et la sciure de bois, la terre de parc (fumier de ferme), le marc de café et le marc de thé ont été récupérée puis séché à l'air libre.

Tous ces substrats ont été pesés à 600g de façon homogène, mélangé de 12 g de calcaire, 6ml de mélasse, 1,2g d'urée et de quantité d'eau différent en fonction des différents substrats, 500 ml d'eau pour le rafle de maïs, 800ml d'eau pour la sciure de bois, 1700ml d'eau pour la paille de riz, 400ml d'eau pour la terre de parc (fumier de ferme) et 600ml d'eau pour le marc de thé et café.

Les substrats ont été pasteurisés dans un baril de 200 L pendant 1h30mn.

Le dispositif utilisé est Fisher en six traitement ont été testé en trois répétition pour la production des carpophores.

### 2.5. Lardage du substrat de fructification

Le lardage des substrats a été fait dans une salle propre à raison de 6g de blanc de semis pour 200g de substrat selon la méthode[12]. Les sachets sont ensuite fermés à l'aide de bouchons en mousse (coton) placée au niveau de l'encolure de sacs attachés avec du caoutchouc élastique puis peser à l'aide d'une balance sensible.

## 3. Résultats et discussion

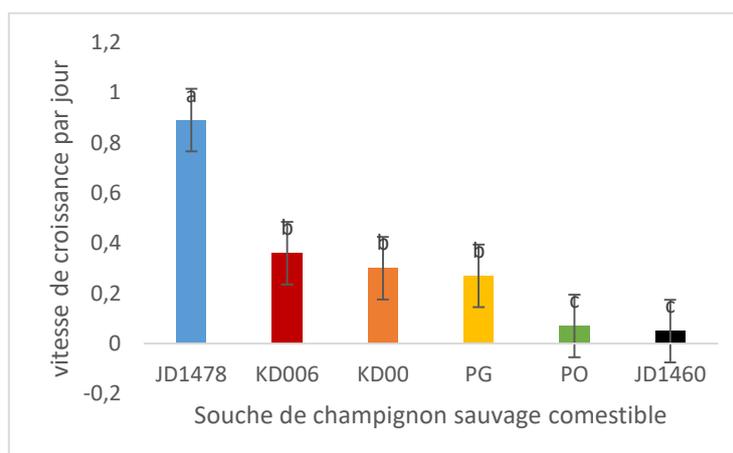
### 3.1. Vitesse moyenne de croissance radiale

L'analyse de la variance a montré une vitesse de progression radiale et une différence hautement significative en fonction des différentes souches sur le milieu PDA. Ceci est consigné dans le tableau 2. La souche JD1478 a obtenu la meilleure vitesse de croissance avec 0,89cm/j suivi par les souches KD00, KD006 et PG avec 0,29cm/j, 0,36cm/j et 0,27cm/j respectivement. Quant aux souches JD1460 et PO (Témoin commerciale), elles ont enregistré la plus faible vitesse avec respectivement 0,05cm/j et 0,07cm/j.

**Tableau 2:** Analyse des variances de la vitesse moyenne de croissance.

Source	ddl	s.s	m.s	v.r	Fpr	CV
Vitesse de croissance radiale	5	1,383178	0,276636	44,14	<.001	24,7

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



**Figure 1:** 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.

### 3.2. Production de blanc de semis

Pour le délai temps de mise en incubation et 50% de colonisation des substrats végétaux, l'analyse de la variance a montré une différence hautement significative entre les souches sur les substrats végétaux et on a obtenu 12 groupes statistiques (Tableau 3).

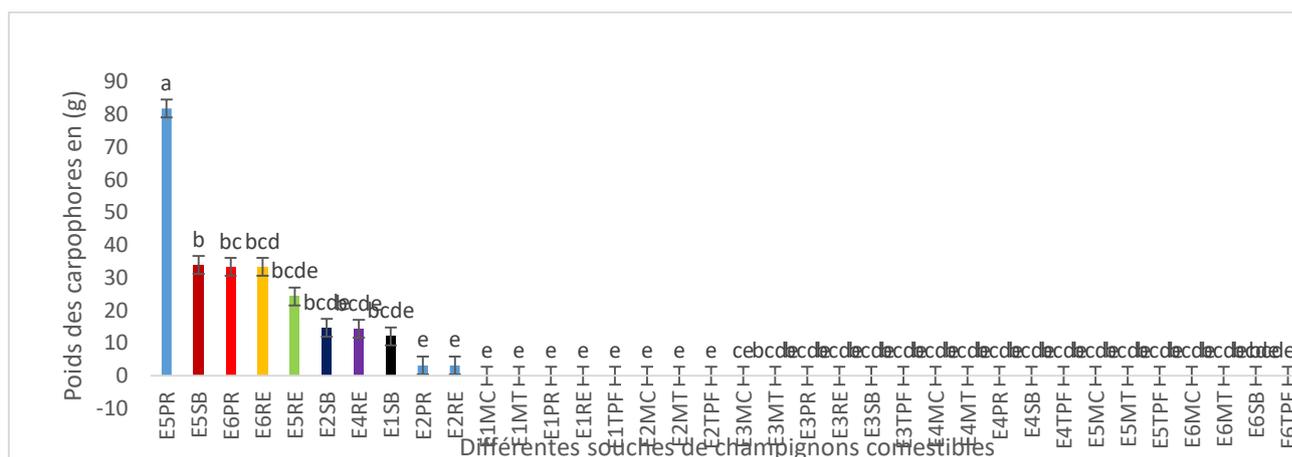
On a observé une meilleure colonisation de la souche JD1478 sur le mil et le paddy avec un temps d'incubation plus court (3j) et la souche PG(E5) sur le maïs a donné du blanc-mère avec un temps d'incubation plus long de 25j. Quant au délai temps de mise en incubation à 100% colonisation des substrats végétaux, l'analyse de la variance a montré une différence hautement significative entre les différentes espèces en fonction des substrats végétaux avec 10 groupes statistiques. Toujours, la souche JD1478 à l'instar du temps de 50% colonisation, elle a poursuivi son meilleur rythme de colonisation sur le mil, riz paddy, sorgho avec un temps d'incubation court de 4j et la souche JD1460 sur le maïs et PG sur le maïs ont donné du blanc-mère avec un temps d'incubation plus long de 30j.

**Tableau 3:** Analyse de variance de la colonisation délai 50% des mycéliums sur les substrats végétaux par Comparaison des moyennes, par le test de Student-Newman –Keuls au seuil de 5%

Codification	Temps de colonisation (jours)
JD1460 sur le substrat marc de café	0a
JD1460 sur le substrat mil	0a
JD1460 sur le substrat sorgho	0a
JD1478 sur le substrat mil	3,333ab
JD1478 sur le substrat riz paddy	3,333ab
JD1478 sur le substrat sorgho	3,667ab
JD1478 sur le substrat marc de thé	5,000ab
JD178 sur le substrat marc de café	5,333ab
KD00 sur le substrat marc de thé	5,333ab
KD006 sur le substrat mil	5,333ab
JD1478 sur le substrat maïs	6,000ab
PO sur le substrat sorgho	6,000ab
KD00 sur le substrat marc de café	6,333ab
KD00 sur le substrat mil	7,000ab
KD006 sur le substrat maïs	7,000ab
KD006 sur le substrat riz paddy	7,000ab
PG sur le substrat riz paddy	7,000ab
PG sur le substrat marc de thé	7,667ab
KD006 sur le substrat sorgho	8,000ab
PG sur le substrat mil	8,000ab
PG sur le substrat sorgho	8,000ab
PO sur le substrat marc de café	8,333ab
KD00 sur le substrat sorgho	9,000ab
PO sur le substrat marc de thé	10,000ab
KD00 sur le substrat maïs	10,333abc
KD006 sur le substrat marc de thé	10,333abcd
PO sur le substrat riz paddy	12,333bcde
PO sur le substrat mil	13bcde
JD1460 sur le substrat marc de thé	13,333bcdef
JD1460 sur le substrat riz paddy	13,333bcdefg
PG sur le substrat marc de café	13,333bcdefg
KD006 sur le substrat marc de café	14,000bcdefg
KD00 sur le substrat riz paddy	15,667bcdefgh
PO sur le substrat maïs	20,667cefghi
JD1460 sur le substrat maïs	23,000fhi
PG sur le substrat maïs	25,000i

### 3.3. Rendement :

La souche *Pleurotus populinus* présente un rendement en carpophore plus élevé sur la paille de riz E5PR (82g/0,2kg) avec un temps de production moyen de 17 jours que sur la sciure de bois E5SB (34g/0,2kg) avec un temps de production long de 39 jours que sur les rafles de maïs (E5RE,24g/0,2kg) avec une durée de production très longue 22 jours. Le rendement de *Pleurotus oestreatus* sur la paille est meilleur E6PR (33g/0,2kg) avec une durée de production moyenne 8 jours que sur les rafles de maïs E6RE (33g/0,2kg) avec une durée de production court 8 jours



**Figure 2:** Rendement de la production des carpophores de champignons comestibles en fonction des différents substrats végétaux et animaux. Les barres verticales représentent les écarts types et les lettres représentent la classification anova.

### 3.4. Discussion

Les souches de *Lentinus* (JD1478 et KD00) et de *Pleurotus* (KD006 et PG) ont enregistré une vitesse de croissance radiale les plus élevées avec un temps plus court. Ceci est confirmées par les travaux de [13] et [9]. Les résultats montrent que les meilleurs substrats obtenus à 50% et 100% avec un temps de colonisation court sont proches des résultats obtenus par [14], qui ont démontré une croissance mycélienne élevée dans le substrat de sorgho par rapport aux autres céréales (seigle, riz, le blé, et le maïs) de *Agaricus bisporus* cité par [15] et similaire au résultat de [16] a montré une colonisation de *Pleurotus florida* sur le substrat sorgho au bout de 4j. L'analyse du rendement montre une variabilité en fonction du substrat. Ainsi la paille de riz est favorable à une bonne production de *Pleurotus populinus* et *Pleurotus oestreatus* ce résultat est similaire aux travaux de [1] qui ont montré que la paille de riz offre respectivement un bon rendement en carpophores de *Pleurotus oestreatus* de même que les travaux [17] pour le rendement élevé de *Pleurotus oestreatus* sur la paille de riz.

## 4. Conclusion

En effet, la souche JD1478 a enregistré la plus forte vitesse de croissance et les résultats ont donné une meilleure colonisation 50% pour la souche JD1478 sur le mil et le riz paddy avec un temps d'incubation plus court (3j). Quant au délai temps de mise en incubation à 100% colonisation des substrats végétaux la souche JD1478 à l'instar du temps de 50% colonisation, elle a poursuivi son meilleur rythme de colonisation sur le mil, riz paddy, sorgho avec un temps d'incubation court de 4j. Le substrat agricole locale comme la paille de riz s'avère idéale pour l'obtention de bons rendements pour la souche *Pleurotus populinus* et *Pleurotus oestreatus* avec une durée de production très courte. Beaucoup de substrats testés pour la production d'une ou plusieurs espèces ont donné des résultats satisfaisants mais devront encore être améliorés en les enrichissant si on souhaite augmenter leur productivité en sporophores. Ce travail préliminaire ouvre une nouvelle voie pour la recherche fondamentale pour développer de nouvelles technologies agroalimentaires dans un domaine jusqu'ici moins connu au Mali.

## 5. Références bibliographiques

- [1] 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), (2020) 13(3), pp. 08-14.
- [2] Dibaluka, S.M. ; Lukoki, F.L. ; Rammeloo, J. et Degreef, J. Culture de Trois Types de Champignons Sauvages Indigènes Comestibles de la Région de Kimura (Bas-Congo/ R.D. Congo): *Auricularia cornea*, *Pleurotus cystidiosus* et *Pleurotus flabellatus*. Rev. Cong. Sci. Nucl.(2009) 23 (2): 223-238.
- [3] 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 de fin de stage. 2018.44p.
- [4] Hennebert G. L et Simon L. Etude de Substrats Artificiels pour la Culture de Champignons Comestibles Orientaux et Tropicaux. Rapports provisoire 1985-1986 laboratoire de Mycologie systématique et appliquée, Fac. Sc. Agro. UCL, 1989.35-93.

- [5] Pedneault. Étude de Composés Extractibles chez les Champignons Indigènes du Québec. Thèse de Doctorat, Département de Phytologie Faculté des Sciences de l'Agriculture et de l'Alimentation Université Laval Québec (Canada). 2007.21 6 p.
- [6] 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.
- [7] Earnshaw, D.M.; Dlamini, B. et Masarirambi, M.T. Growth and Yield of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) Grown on Different Substrates Ammended with Varying Levels of Wheat Bran. International Journal of Life Sciences. 2012. 1(4): 111-117.
- [8] Degreef, J., Dagno, K., ; Kanté, M., Diarra, O. Rapport de Mission d'Appui-Conseil pour le Volet « Champignons Comestibles » (USCPCD et IER) dans le Cadre de la Convention de Service entre le Jardin Botanique Meise et SOS Faim. Mali. 2018. 13p.
- [9] Dibaluka, S. M. ; Lukoki, F. L. ; De Kesel A. et 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
- [10] Israel C.M. Utilization of Palmetto Residue to Produce Hydrolytic Enzymes by Polyporus Fungi (Utilização do resíduo do processamento do palmitero 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.
- [11] Crawford J. H. Composting of Agricultural Waste. A review, process Biochemistry. 1983. 14-18.
- [12] Makaanua. I. D; Mpulusu. S. D; Kasali. J. L; Degreef. J. Culture de trois espèces fongiques sauvages comestibles du Groupement de Kisantu (R.D. Congo) sur des substrats ligno-cellulosiques compostés. Afrique SCIENCE. 2015. 11(3) 241 - 261 241 ISSN 1813-548X.
- [13] Dagno K., Dicko A., Kansaye L. et Diourté M. Contribution à la Lutte Contre l'Insécurité Alimentaire par la Valorisation des Champignons Sauvages Comestibles des Zones Soudano-Sahéliennes du Mali. 20<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques Annuelles de la S.O.A. CHIM 06-09 août 2019, Bamako – Mali.
- [14] KERFEZ K et BRIK O. Culture et Clonage d'un Tissu de Champignon de (*Agaricus bisporus*) de Paris. 2015.
- [15] Dagno, K. ; Traoré, M. ; et 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.
- [16] 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. pp. 576-586.
- [17] Kiyuku P. et Bigawa S. Production de *Pennisetum sp* et son utilisation pour la culture de *Pleurotus ostreatus* au Burundi. Vertigo .la revue électronique en sciences de l'environnement. DOI : 10.4000/vertigo.2013.13948.

## **Efficacité fongicide de trois biopesticides à base d'huiles essentielles sur les principaux champignons associés aux semences de niébé au Burkina Faso**

Toe Mahomed<sup>1\*</sup>, Sawadogo Ignace<sup>1</sup>, Zida P. Elisabeth<sup>2</sup>, Soalla W. Romain<sup>2</sup>, Nebie H. Ch. Roger<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies (IRSAT), Département Substances Naturelles, 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

<sup>2</sup> Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles (INERA), Laboratoire de Phytopathologie, CREA F Kamboinsé, 04 BP 8645 Ouagadougou 04, Burkina Faso.

### **RESUME**

Les maladies fongiques représentent 70% des maladies des plantes cultivées (Jim, 2005). Leurs moyens de lutte principalement demeurent l'usage des produits de synthèse, toxiques pour l'homme et l'environnement (Zongo et al., 2015). Afin de proposer une alternative, ce travail s'est fixé pour objectif d'évaluer l'efficacité antifongique des biopesticides dénommés Chirane, Lirane et Ocirane, formulés à partir de différentes huiles essentielles, sur les champignons des semences de niébé. La méthode du papier buvard (ISTA, 1999) a été utilisée pour l'analyse sanitaire des semences. Par formulation, 5g/kg et 10g/kg de semences ont été appliquées par enrobage, en présence d'un fongicide de référence, d'un témoin non traité et d'un traitement à l'eau chaude. A 10 g/kg, Chirane a réduit les contaminations par *C. dematium* et *Fusarium* spp. à 25% et 4% respectivement contre 52 et 13% pour le témoin. Lirane à la même dose, a provoqué une inhibition totale de *M. phaseolina*, tandis que Ocirane a réduit sensiblement les infections par *Cladosporium* sp. et *M. phaseolina* de 7% et 0,5%, respectivement, contre 57,5% et 10% pour le témoin. L'efficacité de ces biopesticides reste cependant inférieure à celle du fongicide de référence. Aussi, la phytotoxicité de ces biopesticides doit être évaluée avant leur utilisation.

Mots clés : antifongique, biopesticide, niébé, semence

## **Antifungal efficacy of three biopesticides on the main fungi associated with cowpea seeds in Burkina Faso**

Abstract :

Fungal diseases represent 70% of cultivated plant diseases (Jim, 2005). Their main means of struggle remain the use of synthetic products, toxic to humans and the environment (Zongo et al., 2015). In order to offer an alternative, the objective of this work is to evaluate the antifungal efficacy of biopesticides namely Chirane, Lirane and Ocirane, formulated from different essential oils, on the fungi of cowpea seeds. Blotting paper method (ISTA, 1999) has been used for seed health analysis. By formulation, 5g/kg and 10g/kg of seed were applied by coating, in the presence of a benchmark fungicide, an untreated control and hot water treatment. At 10 g/kg, Chirane reduced contamination with *C. dematium* and *Fusarium* spp. to 25% and 4% respectively against 52 and 13% for the control. Lirane at the same dose, caused a total inhibition of *M. phaseolina*, while Ocirane significantly reduced infections with *Cladosporium* sp. and *M. phaseolina* of 7% and 0,5%, respectively, versus 57,5% and 10% for the control. However, the effectiveness of these biopesticides remains lower than that of the benchmark fungicide. Also, the phytotoxicity of these biopesticides must be evaluated before their use.

Key words: antifungal, biopesticide, cowpea, seed

### **Introduction**

Le niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) est une importante denrée de base en Afrique subsaharienne, particulièrement dans les savanes arides de l'Afrique de l'Ouest (Saginga et Bergvinson, 2015). Au Burkina Faso, il représente la plus importante légumineuse avec une production en 2018 estimée à 683 174 tonnes (INSD, 2019). L'intérêt économique et alimentaire du niébé en a fait une spéculature cultivée dans toutes les zones agro-écologiques du pays (Ouedraogo, 2003). Sa richesse en protéines (22 à 24%) lui confère un rôle important dans l'équilibre nutritionnel des populations urbaines et rurales (Ouedraogo, 2003 ; Knoden et al., 2005). Les variétés extra-précoce et précoce du niébé représentent une alternative pour la sécurité alimentaire pendant les périodes de soudures. Aussi, grâce à sa capacité de fixer l'azote atmosphérique, cette culture représente une solution de substitution aux engrais synthétiques (Drinkwater et Snapp, 2008).

Des contraintes pèsent cependant encore sur la production de cette spéculature au Burkina Faso parmi lesquelles, les maladies fongiques qui représentent 70% des maladies des plantes cultivées (Jim, 2005). Au nombre de celles-ci il y a les fontes de semis, les pourritures des racines et du collet, les taches brunes, etc. L'infection peut atteindre les graines avant la récolte, ou après la récolte, pendant le séchage et le stockage. Les conséquences liées à ces maladies sont multiples et d'ordre économique, alimentaire et sanitaire. L'usage des produits chimiques demeure le principal moyen de lutte contre ces maladies. Leur utilisation abusive engendre des problèmes de santé tels que les intoxications alimentaires, les problèmes d'infertilités, les cancers, le déficit immunitaire, les perturbations du développement

neurologique et comportemental, les perturbations du métabolisme et le diabète (Idrissi et al., 2010 ; Zongo et al., 2015). Ainsi, une alternative de lutte respectueuse de la santé et de l'environnement doit être envisagée. L'étude du potentiel insecticide des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Ocimum americanum* et *Cymbopogon schoenanthus*, a permis de mettre au point des formulations solides à base de ces huiles pour la protection post récolte des graines d'arachide et de maïs en stock contre les insectes ravageurs (Sawadogo et al., 2018). Les huiles des trois citées plantes présentent par ailleurs des propriétés fongicides (Koffi et al., 2006 ; Koïta et al., 2012 ; Bonzi et al., 2013 ; Tiendrebeogo et al., 2017). La présente étude vise ainsi à évaluer l'efficacité des trois formulations bio-insecticides contre les champignons associés aux semences de niébé.

## **I. Matériel et méthodes**

### **1.1. Matériel végétal**

La variété de niébé KVx 61-1, produite pendant la campagne agricole 2018 à la station expérimentale de l'INERA sise à Kamboinsé, a été utilisée pour l'étude.

### **1.2. Biopesticides à base d'huiles essentielles**

Il s'agit de trois formulations solides prêtes à l'emploi à base d'huiles essentielles dénommées Lirane, Ocirane et Chirane. Lirane a été formulée à partir de l'huile essentielle de *Lippia multiflora*, Ocirane à partir de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* et Chirane formulée à partir de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus*.

### **1.3. Procédure de traitement des semences avec les pesticides**

Le traitement des semences avec les biopesticides ainsi qu'avec le fongicide chimique ont été faits par enrobage. Pour chaque formulation, deux doses de 5g/kg et de 10g/kg de semences ont été testées. Les tests ont été effectués en présence d'un traitement des semences avec l'eau chaude, d'un témoin non traité et d'un traitement avec un fongicide de référence, le Calthio MIX 485 WS (imidaclopride, thirame et metalaxyl) (CSP, 2019). Ainsi, cinq traitements par formulation ont été testés :

- semences non traitées ;
- semences traitées avec le Calthio MIX 485 WS à la dose de 5g/kg de semences ;
- semences traitées avec l'eau chaude ;
- semences traitées avec le biopesticide à la dose 1 (5g/kg de semences) ;
- semences traitées avec le biopesticide à la dose 2 (10g/kg de semences).

### **1.4. Procédure de traitement des semences avec l'eau chaude**

Cette méthode consiste à désinfecter les semences en utilisant l'eau chaude. La procédure est décrite comme suit :

- 100g de semences ont été placés dans un béccher en verre contenant 300 mL d'eau distillée et laissés en trempage pendant 30 min à la température ambiante (20-28°C) ;
- 300 mL d'eau distillée bouillante ont ensuite été ajoutés aux semences en trempage (ceci ramène la température à 55-62 °C) et laissés refroidir pendant 10 min ;
- les semences ont été enfin égouttées puis séchées à l'air sous une hotte pendant au moins 20 heures.

### **1.5. Analyse sanitaire des semences**

L'analyse sanitaire des semences a été réalisée selon la méthode du papier buvard (ISTA, 1999). Les semences ont été disposées à équidistance les unes des autres dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre (10 graines par boîte de Pétri) contenant 3 couches de papier buvard imbibé d'eau distillée stérile. Pour chaque traitement, 200 graines ont été utilisées en 4 répétitions de 50, suivant un dispositif expérimental bloc Fischer. Les boîtes ensemencées ont été maintenues en incubation dans une chambre à 22±3°C et éclairé par un cycle alternatif de 12 heures par jour d'obscurité et 12 heures de lumière proche ultra-violette, pendant sept jours (Mathur et Kongsdal, 2003). Les semences incubées ont été retirées puis inspectées individuellement au stéréo microscope pour l'identification des champignons grâce à leurs caractères macroscopiques (couleur du mycélium, pycnides, acervules, conidiophores, etc.). Puis un prélèvement du champignon observé est monté entre lame et lamelle et observé au microscope optique. L'identification du champignon est confirmée en examinant la forme des conidies, la structure du mycélium en se référant au manuel d'identification des champignons de Mathur et

Kongsdal (2003). Les espèces de champignons présentes sur chaque graine ont été notées et le pourcentage de graines infectées par un champignon donné a été calculé pour chaque traitement appliqué aux semences. L'effet de chaque traitement appliqué aux semences dans le contrôle des champignons a été évalué en comparaison avec les indices d'infection des champignons obtenus avec les semences non traitées ou celles traitées avec le fongicide de référence.

#### **1.6. Analyse statistique des données et expression des résultats**

Les données ont été soumises à une analyse de variance à l'aide du logiciel SAS (Statistical Analysis System), version 8. Pour chaque variable mesurée, le calcul et la séparation des moyennes des traitements ont été effectués selon le test de Duncan (Duncan Multiple Range Test) au seuil de 5%.

## **II. RESULTATS ET DISCUSSION**

### **2.1. Résultats**

#### **2.1.1. Effets des biopesticides sur les champignons transmis par les semences de niébé**

*Cladosporium* spp., *Colletotrichum dematium*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium* spp., *Aspergillus flavus* et *Choanephora cucurbitarum* ont été les principaux champignons détectés sur les semences de niébé.

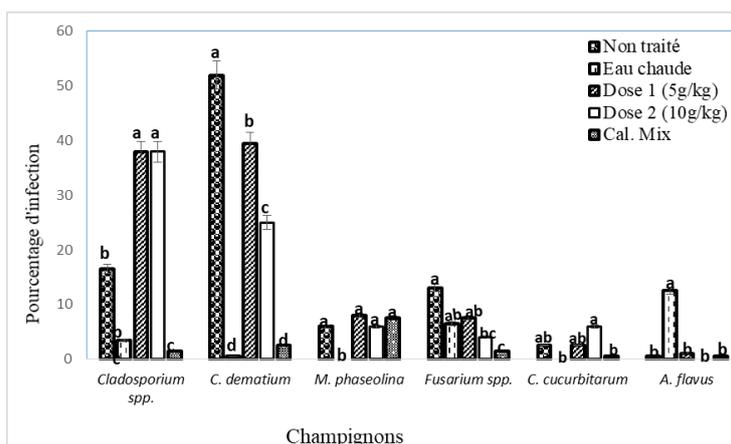
#### **Effets de chirane sur les champignons transmis par les semences de niébé**

L'analyse de variance (ANOVA) a montré que les différents traitements appliqués aux semences ont eu des effets significatifs sur l'infection des semences par les champignons considérés (Tableau 1). Les pourcentages de semences infectées par ces champignons ont varié de 0,5 à 52% pour les semences non traitées, de 0 à 12,5% pour celles traitées avec l'eau chaude, de 1 à 39,5% et de 0 à 38% pour celles traitées avec Chirane à la dose 1 et à la dose 2, respectivement, et enfin de 0,5 à 7,5% pour les semences traitées avec le fongicide (Figure 1). L'emploi du fongicide a permis une réduction importante de *Cladosporium* spp. (1,5% de taux d'infection) par rapport au témoin non traité (16,5%), pendant que Chirane, quel que soit la dose a plutôt favorisé le développement de ce champignon sur les graines (38%). Tous les traitements ont permis de réduire significativement *C. dematium*, le meilleur contrôle ayant été assuré par l'eau chaude et le fongicide. En effet, ces deux traitements ont permis de diminuer le taux d'attaque de *C. dematium* de 52%, à 2,5% et 0,5%, respectivement. Les résultats ont également montré que les semences traitées avec Chirane à la dose 2 ont été significativement moins infectées par *C. dematium* (25% de taux d'infection) que celles traitées avec la dose 1 (39,5%). Parmi les traitements, l'eau chaude a permis d'inhiber totalement le développement de *M. phaseolina* et *C. cucurbitarum* (0% de taux d'attaque) sur les semences, mais a plutôt stimulé celui de *A. flavus* (12,5%) par rapport au témoin non traité (0,5%). La meilleure protection contre *Fusarium* spp. a été obtenue avec le fongicide (1,5%) et Chirane à la dose 2 (4%) contre 13% de taux d'infection pour le témoin non traité.

**Tableau 1 :** Résultats d'analyse de variance des effets des formulations sur le taux d'infection des semences de niébé par différents champignons

Source de variation	D L	<i>Cladosporium</i> spp.			<i>Colletotrichum dematium</i>			<i>Macrophomina phaseolina</i>			<i>Aspergillus flavus</i>			<i>Fusarium</i> spp.			<i>Choanephora cucurbitarum</i>		
		%			%			%			%			%					
		CM	F	P	CM	F	P	CM	F	P	CM	F	P	CM	F	P	CM	F	P
<b>CHIRANE</b>																			
Traitements	4	931,5 9	16,5 4	<0.000 1	1471,3 8	82,4 2	<0.000 1	3,1 1	6,76 1	0,0026 1	5,1 8	12,2 8	<0.000 1	2,81 8	5,0 8	0,0086 8	1,9 4	3,9 4	0,022 1
<b>LIRANE</b>																			
Traitements	4	620,1 1	21,1 2	<0.000 1	542,86 3	25,3 3	<0.000 1	3,5 3	18,3 1	<0.000 1	0,6 4	2,13 4	0,1269 4	11,9 3	12, 7	<0.000 1	0,9 7	3,3 4	0,038 3
<b>OCIRANE</b>																			
Traitements	4	1538, 0	61,2 2	<0.000 1	1118,0 4	49,5 6	<0.000 1	4,9 2	30,8 3	<0.000 1	2,2 1	27,6 3	<0.000 1	2,34 7	7,7 7	0,0013 7	1,4 5	7,2 2	0,001 9

DL : degré de liberté ; CM : carré moyen ; F : rapport du carré moyen des traitements sur le carré moyen de l'erreur ; P : probabilité.

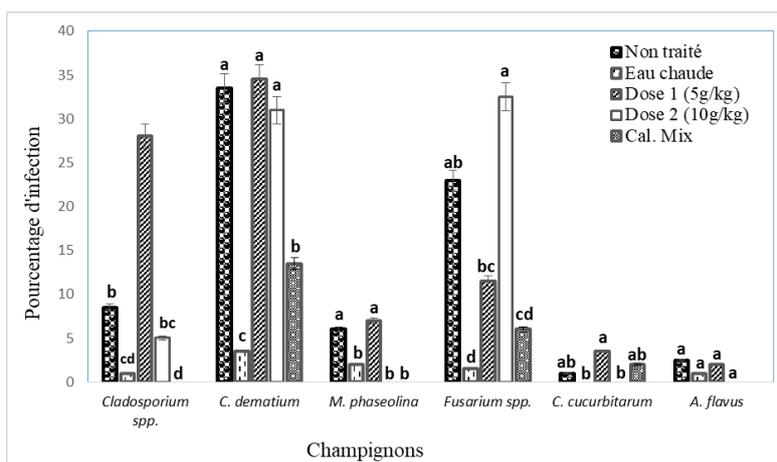


**Figure 1 :** Effet du traitement avec Chirane sur le taux d’infection des semences de niébé par les champignons

**Effets de Lirane sur les champignons transmis par les semences de niébé**

Les résultats de l’analyse de variance présentés dans le Tableau 1 ont révélé que les traitements des semences ont eu un effet significatif sur tous les champignons exception faite de *A. flavus* pour lequel aucune influence des traitements n’a été notée.

Les taux d’infection des semences par les différents champignons ont été représentés sur la Figure 2. Ces résultats ont montré un effet inhibiteur significatif des traitements des semences avec le fongicide et l’eau chaude sur *Cladosporium spp.*, *C. dematium*, *M. phaseolina* et *Fusarium spp.* par rapport au témoin non traité. En effet, les taux initiaux d’infection des semences par ces champignons qui étaient respectivement de 8,5%, 33,5%, 6% et 23%, ont été ramenés à 1%, 3,5%, 2% et 1,5%, respectivement, avec l’eau chaude, et à 0%, 13,5%, 0% et 6%, respectivement, avec le fongicide. Le traitement des semences avec Lirane à la dose 2 a permis d’inhiber totalement l’infection par *M. phaseolina* (0%) tout comme le fongicide. Par contre, Lirane, quel que soit la dose employée, n’a eu aucun effet sur le développement de *C. dematium* (31-34,5%). La dose 1 a stimulé la croissance de *Cladosporium spp.* (28% de taux d’infection) par rapport au témoin non traité (8,5%) pendant que la dose 2 a légèrement inhibé la croissance du champignon sur les semences (5%). A l’opposé, pendant que la dose 2 a légèrement stimulé le développement de *Fusarium spp.*, (32,5% de taux d’infection contre seulement 23% pour le témoin), la dose 1 a, relativement freiné la croissance du champignon (11,5%).



**Figure 2 :** Effet du traitement avec Lirane sur le taux d’infection des semences de niébé par les champignons

**Effets de Ocirane sur les champignons transmis par les semences de niébé**

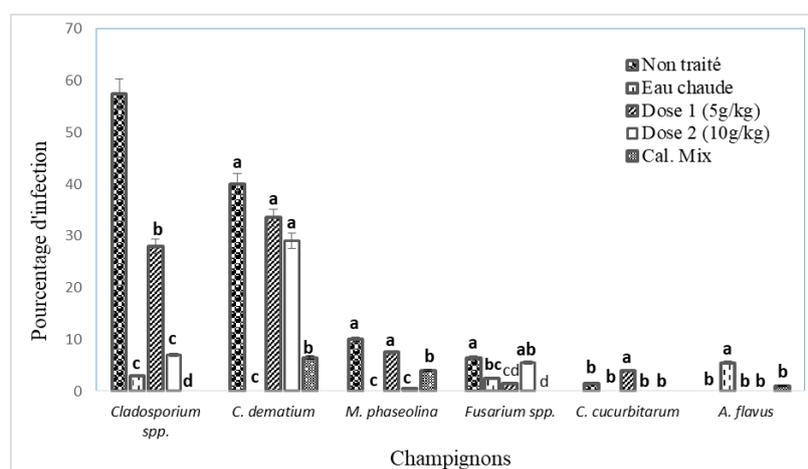
Une analyse de variance a mis en évidence une influence significative des traitements à base du bio-insecticide Ocirane appliqué aux semences sur les niveaux d’attaque des différents champignons (Tableau 1).

Pour la majorité des champignons, les taux d'infection les plus élevés ont été enregistrés sur les semences non traitées et les taux les plus faibles sur les semences traitées avec le fongicide ou avec l'eau chaude (Figure 3).

Le traitement des semences avec l'eau chaude a entraîné des baisses significatives d'infections des semences de 3 et 2,5% par *Cladosporium* spp. (3%), *Fusarium* spp. (2,5%) et une inhibition complète chez *C. dematium*, *M. phaseolina* (0%) par rapport aux semences non traitées qui enregistré des taux d'infection respectifs de 57,5%, 40%, 10% et 6,5%.

De même, l'utilisation du fongicide a permis de freiner le développement de *C. dematium* (6,5% de taux d'attaque) et de *M. phaseolina* (4%) par rapport au témoin non traité (40% et 10%, respectivement) et d'éliminer totalement *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp. et *C. cucurbitarum* sur les graines.

Le traitement des semences avec Ocirane aux deux doses, a également permis de réduire les infections par *Cladosporium* spp., l'effet observé étant plus élevé avec la dose 2 (7% de taux d'infection) qu'avec la dose 1 (28%). La dose 1 a en outre réduit *Fusarium* spp. (1,5% de taux d'infection contre 6,5% pour le témoin non traité) et inhibé complètement *A. flavus*, pendant que la dose 2 a contrôlé efficacement *M. phaseolina* (0,5% de semences infectées contre 10% pour le témoin non traité), tout en inhibant totalement la croissance de *C. cucurbitarum* et *A. flavus*. A l'opposé, les traitements semences avec l'eau chaude et Ocirane à la dose 1, ont favorisé l'infection par *A. flavus* (5,5%) et de *C. cucurbitarum* (4%), respectivement, en comparaison au témoin non traitée (0% et 1,5% respectivement). Ocirane, quel que soit la dose n'a eu aucun effet significatif sur *C. dematium*.



**Figure 3 :** Effet du traitement avec Ocirane sur le taux d'infection des semences de niébé par les champignon

## 2.2. Discussion

Six champignons majeurs ont été détectés sur les semences de niébé et pris en compte dans cette étude. L'application des bio-insecticides sur les semences naturellement contaminées par ces champignons a permis d'en inhiber au moins un d'entre eux, mettant ainsi en évidence l'effet antifongique de ces bio-insecticides.

Chirane aux doses de 5g/Kg de semences et 10g/Kg de semences, a entraîné une réduction de l'infection des semences par *C. dematium* et *Fusarium* spp. en comparaison aux semences non traitées, avec toutefois une efficacité plus grande obtenue avec la dose de 10g/Kg de semences. *M. phaseolina* a été le seul champignon inhibé par le bio-pesticide Lirane à la dose de 10g/Kg de semences. Ocirane a eu le plus large spectre d'action car ayant montré une efficacité contre *Cladosporium* spp., *M. phaseolina* et *Fusarium* spp. L'efficacité de ces traitements sur les champignons serait attribuée à la présence des molécules chimiques d'huiles essentielles encore actives dans les formulations. Plusieurs auteurs ont en effet, montré l'efficacité de ces huiles sur des espèces de champignons. Ainsi, une inhibition totale de *A. flavus*, *Fusarium oxysporum* et *Bipolaris maydis*, des champignons affectant la germination des semences de maïs et de niébé a été obtenue avec l'huile essentielle de *C. schoenanthus* (Koffi et al., 2006). Zida et al. (2008) ont également mis en évidence l'efficacité des huiles essentielles de *C. schoenanthus*, *C. giganteus* et *C. nardus* contre les champignons transmis par les semences de sorgho et de mil. Des effets similaires d'huiles essentielles d'autres plantes appartenant au genre *Cymbopogon*

ont aussi été rapportés. En effet, Dabiré et al. (2016) ont montré que l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* a inhibé la croissance mycélienne des champignons du genre *Fusarium* transmis par les semences d'oignon. Sun et al. (2007) ont rapporté une activité antifongique des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* sur *Cladosporium* sp., *A. niger* et *Mucor* à de faibles concentrations. Les mêmes auteurs ont aussi montré l'efficacité des huiles essentielles de *Cymbopogon martini* contre *Candida* sp., *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton rubrum*. Ces résultats sont confirmés par Vidyasagar et Nuzhat (2013) qui rapportent que l'huile essentielle des plantes de la famille des Poaceae constituerait une source importante de composés fongi-toxiques.

Par ailleurs, les travaux de Tiendrébéogo et al. (2017) ont indiqué l'effet antifongique de l'huile essentielle de *L. multiflora* à différentes doses sur la croissance mycélienne de *Fusarium moniliforme*, *Bipolaris oryzae* et *Pyricularia oryzae*, des champignons isolés sur le riz. De même, Bonzi et al. (2013) ont démontré une réduction significative de la contamination des semences de sorgho par *P. sorghina*. Koïta et al. (2012) ont également mis en évidence l'activité antifongique des extraits aqueux de *L. multiflora* sur *Puccinia arachidis* Speg., responsable de la rouille chez l'arachide.

Aussi, les travaux de Adjou et al. (2013) sur des champignons isolés sur l'arachide au Bénin, ont montré une activité antifongique des huiles essentielles et extraits aqueux de *O. americanum* sur plusieurs souches toxigènes du genre *Aspergillus* et *Fusarium oxysporum*. Une autre espèce du même genre notamment *Ocimum basilicum* a inhibé à des concentrations différentes des champignons influençant la germination du maïs et du niébé (Koffi et al., 2006). De même, Portillo et al. (2005) ont montré l'activité antifongique de l'huile essentielle des parties aériennes de *Salvia mirzayanii* Rech. F. et Esfand. une autre espèce de la même famille que *O. americanum* sur *Fusarium solani* et *Candida albicans*.

L'effet inhibiteur de ces huiles pourrait être attribué aux composés majoritaires des molécules chimiques comme le 1,8-cinéole pour l'huile essentielle de *O. americanum* (Andriole, 1994) ou encore à l'effet synergique ou additifs des composés chimiques (Ambindei et al., 2014). Le traitement des semences à l'eau chaude a donné une meilleure efficacité antifongique en comparaison aux biopesticides aussi bien en termes spectre d'action que de pourcentage de réduction des champignons. Ainsi, ce traitement a inhibé la contamination par *Cladosporium* spp., *C. dematium*, *M. phaseolina* et *Fusarium* spp. Bonzi et al., (2013) et Wident (2014) ont également mis en évidence l'efficacité antifongique de ce traitement sur diverses semences. Il est à considérer que le traitement à l'eau chaude tout comme celui des biopesticides pourraient constituer une alternative à l'utilisation des produits chimiques dans la lutte contre les nuisibles du niébé.

## Conclusion

Cette étude nous a permis de montrer l'efficacité antifongique des trois bio-pesticides en traitement des semences de niébé. Cette efficacité reste variable selon les doses et sur des cibles quelques fois différents. Toutefois, leur pouvoir fongicide en général, est inférieur à celui du fongicide chimique et au traitement thermique utilisant l'eau chaude. Ces biopesticides ainsi que le traitement à l'eau chaude pourraient être utilisés en protection du niébé contre certaines pathologies liées aux champignons. De ce fait, l'évaluation de l'effet de ces traitements sur le pouvoir germinatif des semences et la croissance des plantes devrait être envisagée afin de vérifier leur phytotoxicité vis-à-vis de cette culture.

## Références bibliographiques

- Ambindei W. A., Ngouné L. T., Sameza M. L., Sonwa E. T., Nguimatsia F., Dongmo P. M. J., 2014. Antifungal Activities against some *Aspergillus* species of the Essential oils of *Canarium schweinfurthii* and *Aucoumea klaineana* growing in Cameroon. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 3 (5): 691-701.
- Andriole V. T., 1994. Current and future antifungal therapy: New targets for antifungal agents. *J. Antimicrobial Chemo*, 44: 151-162.
- Avanço G. B., Ferreira F. D., Bonfim N. S., dos Santos P. A. D. S. R., Peralta R. M., Brugnari T., Mallmann C. A., de Abreu Filho B. A., Mikcha J. M. G., Machinski M. Jr., 2016. *Curcuma longa* L. essential oil composition, antioxidant effect, and effect on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production, *Food Control*, DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.09.032, 33p.
- Bonzi S., Somda I., Sérémé P., Adam T., 2013. Efficacy of essential oils of *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf, *Lippia multiflora* Moldenke and hot water in the control of seedborne fungi *Phoma sorghina* and their effects on *Sorghum bicolor* (L.) Moench seed germination and plants development in Burkina Faso. *Net Journal of Agricultural Science*, Vol. 1(4): 111-115.

- CSP, 2019. Comité Sahélien des Pesticides: Liste globale des pesticides autorisés par la 44e session du Comité Sahélien des Pesticides, Version de Mai 2019, 44 p.
- Dabiré T. G., Bonzi S., Somda I., Legreve A., 2016. Activité antifongique d'extraits aqueux de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf., *Eclipta alba* (L.) Hassk. et *Portulaca oleracea* (L.) contre les principaux champignons transmis par les semences d'oignon (*Allium cepa* L.) au Burkina Faso, *International Journal of Innovation and Applied Studies*. Vol. 17 (3) 804-812.
- Idrissi M., Aït D.N., Ouammi L., Rhalem N., Soulaymani A. et Soulaymani R. B., 2010. Intoxication aigüe par les pesticides : Données du Centre Anti Poison du Maroc (1989-2007). *Toxicologie Maroc*, 4 (1) : 5-7.
- INSD, 2019. Annuaire statistique 2018, 396p.
- ISTA, 1999. International Rules for Seed Testing. Seed Science and Technology, Zürich, Switzerland. 23: 269p.
- Jim D., 2005. Chapter 14: Fungi as plant pathogens, Blackwell Publishing. Consulté le 4 octobre 2014.
- Knoden J. L., Dufour L., Bindelle J., 2005. Fabrication de beurre de cacahuète. Collection "Manuels Techniques" ISF. Avenue du Marly, 48, 1120 Bruxelles-Belgique, BP : 343, 16 p.
- Koffi A. G., Komlan B., Kouassi A., Mireille P. D., Messanvi G., Philippe B., Koffi A., 2006. Activité antifongique des huiles essentielles de *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) et *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. (Poaceae) sur des micromycètes influençant la germination du maïs et du niébé. *Acta Botanica Gallica*, 153 (1) : 115-124.
- Koïta K., Neya B. F., Nana T. A., Sankara P., 2012. Activité antifongique d'extraits de plantes locales du Burkina Faso contre *Puccinia arachidis* Speg., agent pathogène de la rouille de l'arachide (*Arachis hypogaea* L.). *Journal of Applied Biosciences*, (57) : 4142– 4150.
- Mathur S. B., Kongsdal O., 2003. Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi. First edition, Kandrups Bogtrykkeri Publication. 425 p.
- MRSI, 2014. Catalogue national des espèces et variétés agricoles du Burkina Faso, 81 p.
- Ouédraogo S., 2003. Impact économique des variétés améliorées du niébé sur les revenus des exploitations agricoles du plateau central du Burkina Faso, *Tropicultura*, 21 (4) 204-210.
- Portillo M. C., Viramontes S., Muñoz L. N., Gastelum M. G., Nevarez G. V., 2005. Antifungal activity of Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Shauer.). *J Food Prot*; 68 (12) : 2713-7.
- Saginga N., Bergvinson D., 2015. Oléagineux et niébé. Document de référence, 30p.
- Sawadogo I., Ki H., Ouédraogo A. R., Ouédraogo I., Nébié R. C. H., 2018. Efficacité en milieu paysan de trois bio-insecticides à base d'huiles essentielles en protection post récolte du maïs. *Sciences et technique*, spécial hors série n°4, 243-250.
- Sun O. L., Gyung J. C., Kyoung S. J., He K. L., Kwang Y. C., Jin-Cheol K., 2007. Antifungal activity of five plant essential oils as fumigant against postharvest and soil borne plant pathogenic Fungi. *Plant Path J* ; 23 (2) : 97-102.
- Tiendrébéogo A., Ouédraogo I., Bonzi S., Kassankogno A. I., 2017. Etude de l'activité antifongique d'extraits de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, *Eclipta alba* L., *Lippia multiflora* M. et *Agave sisalana* P. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 11 (3): 1202-1211.
- Vidyasagar G. M., Nuzhat T., 2013. Antifungal investigations on plant essential oils. A review. *Int J Pharm. Sci.* Vol 5 (Suppl 2) : 19-28.
- Wident M., 2014. PPAM : la thermothérapie pour traiter les semences. [en ligne]. URL : <https://www.iteipmai.fr/nos-publications/articles-publies>. Consulté le 04/09/2019.
- Zongo S., Ilboudo Z., Waongo A., Gnankiné O., Doumma A., Sembène M., Sanon A., 2015. Risques liés à l'utilisation d'insecticides au cours du stockage du niébé (*vigna unguiculata* L. Walp.), dans la région centrale du Burkina-Faso, *Science de la vie, de la terre et agronomie*, 3 (1) : 24-31.

## Amélioration de la production de la cucurbité oléagineuse *Citrullus lanatus* (Matsum. & Nakai Thunb) par l'identification de la masse appropriée des semences

Gore bi boh Nestor<sup>1\*</sup>, Yao Kouakou Abessika Georges<sup>1</sup>, Yao Affoue Sonia Anabelle<sup>1</sup>, Akaffou Doffou selastique<sup>1</sup>

1- UFR Agroforesterie de l'Université Jean Lorougnon Guédé, BP 150 Daloa

\*Auteur correspondant : [bgorebi76@yahoo.fr](mailto:bgorebi76@yahoo.fr), [gorebibohnestor@gmail.com](mailto:gorebibohnestor@gmail.com)

### Resumé

La mise à la disposition en quantité et en qualité des aliments aux populations vulnérables est l'enjeu poursuivi par les dirigeants des pays en voie de développement. Pour atteindre cet objectif, les politiques agricoles orientées vers la diversification des cultures est fortement encouragées. Dans ce contexte la valorisation des cultures locales marginalisées pourrait constituer une voie à explorer. La cucurbité *Citrullus lanatus* est une plante d'importance économique, nutritionnelle et médicinale. Malgré le rôle joué par cette plante sa production reste très faible dans les zones de culture lié aux difficultés de germination des graines. Ainsi, pour booster la production de cette denrée, des investigations ont été entreprises. A cet effet, trois tailles ou masses de graines c'est-à-dire grosses graines T0 = [8-8,5 mg], moyennes graines T1 = [6-6,40 mg] et petites graines T2 = [3-4,3 mg] ont été testées dans un dispositif expérimental en bloc aléatoire complet avec trois répétitions. Il ressort des analyses statistiques que les grosses graines assurent une germination uniforme avec des plantules vigoureuses. Sur cette base, il a été recommandé aux producteurs de cette cucurbité notamment les femmes de faire un tri préalable des grosses graines avant de faire les semis.

**Mots clés :** *Citrullus lanatus* ; Masse de semences ; Sécurité alimentaire

### Abstract

Making food available in quantity and quality to vulnerable populations is the issue pursued by the leaders of developing countries. To achieve this objective, agricultural policies oriented towards crop diversification are strongly encouraged. In this context, the promotion of marginalized local cultures could constitute a path to be explored. The cucurbit *Citrullus lanatus* is a plant of economic, nutritional and medicinal importance. Despite the role played by this plant, its production remains very low in the cultivation areas due to the difficulties of germination of the seeds. Thus, to boost the production of this commodity, investigations have been undertaken. For this purpose, three sizes or masses of seeds, ie large seeds T0 = [8-8.5 mg], medium seeds T1 = [6-6.40 mg] and small seeds T2 = [3- 4.3 mg] were tested in a complete random block experimental set-up with three replicates. Statistical analyzes show that large seeds ensure uniform germination with vigorous seedlings. On this basis, it was recommended to producers of this cucurbit, especially women, to pre-sort large seeds before sowing.

**Key words:** *Citrullus lanatus*; Seed mass; Food security

### 1.INTRODUCTION

Le choix de la politique agricole des pays en voie de développement, axé sur les cultures de rentes a souvent été à la base de l'insécurité alimentaire. Dans ces conditions, pour subvenir aux besoins de la population en forte croissance, il faudra accroître suffisamment la production des cultures vivrières. C'est dans cette optique que la diversification des cultures ouvre des perspectives à la promotion de nouvelles ressources agricoles. L'exploitation des ressources locales particulièrement les cultures mineures ou négligées pourrait diversifier les activités du secteur agricole [1]. En Côte d'Ivoire, les cucurbites oléagineuses à graines comestibles notamment l'espèce *Citrullus lanatus* pourrait apporter de nouveaux revenus aux paysans. Cette cucurbité en plus de sa valeur culinaire, constitue une source de revenu pour les producteurs. En effet sur les différents marchés ivoiriens le prix du kilogramme des graines nettoyées et séchées est vendu à 1500 FCFA [2].

Malgré les avantages que présentent cette cucurbité, sa production demeure très faible du fait de l'utilisation des graines de taille variées au cours des semis sur les parcelles paysannes. Des observations similaires ont été faites par [3] travaillant sur le *Vicia faba* L. Ces auteurs ont expliqué ces résultats par une germination non uniforme des graines et une hétérogénéité de vigueur et de la taille des plantules. Ce qui implique que la réussite de toute culture est subordonnée à un tri préalable des graines en fonction de leurs tailles ou masse avant le semis. En effet, ce un paramètre permet de déterminer la qualité des graines semées qui affecte le développement et la production des cultures. Ainsi, les travaux de [4] sur le *Triticum aestivum* ont montré que les grosses graines engendrent un fort taux de germination et une meilleure vigueur des plantules. Aussi, [5] ont indiqué que ce sont les petites graines de la cucurbité *Telfairia occidentalis* qui favorisent un meilleur développement des plantules. Ces exemples révèlent que la taille idéale de la graine à semer varie d'une espèce végétale à l'autre. Dans ces conditions, pour optimiser la production de la cucurbité oléagineuse *Citrullus lanatus* il est impératif d'évaluer l'effet de la masse ou la taille des graines sur les paramètres de germination et de vigueur des plantules. De telle information permettra aux producteurs de cette cucurbité de faire un choix judicieux des graines ou de variétés (grosse, moyenne et petite graines) à semer pour garantir sa production.

## 2.MATERIELS ET METHODES

### Présentation de la zone d'étude

Les expérimentations ont été conduites dans l'enceinte de l'université Jean Lorougnon Guédé dans le département de Daloa. Les études antérieures relatives au sol de cette localité ont montré que le sol est très profond avec un dépôt actif d'humus [6]. Aussi les données climatiques ont indiqué deux saisons de durée inégales c'est-à-dire une saison pluvieuse et une saison sèche. La saison pluvieuse commence en mars pour prendre fin en novembre avec une moyenne annuelle estimée à 1159,33 mm. La seconde saison, débute en décembre et se termine dans le mois de février. La température moyenne est 27,48 °C.

### 2.2.Matérels

#### Matériel biologique

Le matériel biologique est constitué de 540 plants pour les deux périodes de l'expérimentation. Ces plants sont issus des grosses, petites et moyennes graines de la cucurbité *Citrullus lanatus* (Tableau I).

**Tableau XI: Caractéristiques des graines utilisées lors de l'expérimentation**

Types de graines	Caractéristiques des graines	
	Longueur (cm)	Masse des graines (mg)
Grosses graines	[12 ; 16]	[8-8,5]
Moyenne graines	[10 ; 11,4]	[6-6,40]
Petites graines	[8 ;9,4]	[3-4,3]

#### Matériel technique

La réalisation de cette étude a nécessité l'utilisation de plusieurs matériels techniques. Il s'agit notamment d'une machette, d'une daba d'une pioche, d'un mètre ruban, d'arrosiers, d'une balance de précision d'un pied à coulisse et d'un appareil photo numérique. Le désherbage de la parcelle et la confection des planches a été possible grâce à l'utilisation d'une machette, d'une daba, et d'une pioche. Une fois cette tâche terminée le mètre ruban a servi pour mesurer les dimensions du terrain, la longueur et la largeur des planches, ainsi que pour marquer les points de semis. Par ailleurs l'arrosage des parcelles et la prise de poids des plantules fraîche a nécessité l'utilisation d'un arrosoir et d'une balance de précision. Quant au pied à coulisse il a été utilisé pour mesurer les longueurs des tiges des plantules. Enfin, l'appareil photo numérique a permis de photographier, les graines, la parcelle, les plantules.

### 2.3 Méthode

#### Dispositif expérimental

Les essais ont été réalisés sur une superficie de 25 m<sup>2</sup> soit (5 x 5 m). La préparation de la parcelle a commencé par un défrichage manuel. Après cette phase, trois planches de 4 m de long et 1 m de large espacées les unes des autres de 0,5 m ont été réalisées. Sur chaque planche trois parcelles élémentaires de dimension (1 x 0,8 m) ont été mise en place. Pour marquer les points de semis sur les parcelles un piquetage a été nécessaire. Sur les lignes et entre les lignes, les semis ont été effectués en respectant une distance de 20 cm. Ainsi, un total de 30 points de semis a été réalisé. Une bordure de 0,5 m a été aménagée autour de l'ensemble de la parcelle.

#### Traitements et conduite des cultures

Dans le dispositif conçu, différents traitements ont été appliqué. Ces traitements ont consisté à la réalisation de semis selon trois tailles de graine c'est-à-dire grosses graines= T1, graines moyennes = Témoin (T0) et petites graines= T2. Après les semis, les parcelles ont été désherbées manuellement pour éviter la compétition avec les mauvaises herbes. Ayant mis en place les parcelles pendant une période sèche de l'année (décembre et janvier) des arrosages réguliers tous les quatre (4) jours ont été nécessaire. Aussi les plantules ont été protégées contre les insectes ravageurs en appliquant l'insecticide chimique le cypéral 50. Sur les différentes parcelles aucun engrais n'a été appliqué. Les poquets ayant reçu trois (3) graines après leur germination un démariage a été effectué pour ne laisser qu'une seule plante, la plus vigoureuse.

### 2.4.Collecte des données et analyses statistiques

#### 2.4.1. Collecte des données

Du semis jusqu'à la levée des plantules onze paramètres végétatifs ont été mesurés. Il s'agit de trois paramètres de viabilité des graines (Durée de germination (DGe/jr), taux de germination (TxGe / %) et la vitesse de germination (ViGe / graines/jr)) et huit paramètres de vigueur des plantules (Durée d'émergence (DEm/ jr), taux d'émergence (TxEm / %), vitesse d'émergence (ViEm/plantules/jr), longueur de la tigelle (mm), poids frais de la plantule (g), longueur des feuilles cotylédonaire (mm), largeur des feuilles cotylédonaire (mm) et l'envergure des feuilles cotylédonaire (mm)). Le choix de ces paramètres est basé sur les travaux antérieurs [7].

#### 2.4.2. Analyses statistiques

Une analyse de variance à un critère de classification a été réalisée pour tester l'effet de la masse des graines sur les paramètres de viabilité et de vigueur. Pour les variables qui ont été significativement influencées par ce facteur de production, des comparaisons multiples sont faites en réalisant le test de *ppds*. Ce test permet d'identifier le ou les paramètres qui diffèrent significativement des autres. Toutes ces analyses ont été effectuées grâce au logiciel STATISTICA version 7.1.

### 3. résultats et discussion

#### 3.1. Résultats

##### Influence de la taille des graines les paramètres de viabilité

L'examen du tableau II montre que les grosses graines germent plus vite que les moyennes et les petites. Ainsi, les meilleures valeurs de la date de germination ( $5,03 \pm 0,76$ ) et de la vitesse de germination ( $5,53 \pm 0,46$ ) ont été obtenues sur les parcelles à grosse graine. Aussi un fort taux de germination ( $95 \pm 0,05$ ) a été enregistré sur cette même parcelle.

**Tableau XII:** Influence de la masse des graines sur les paramètres de viabilité de *Citrullus lanatus*

Paramètres	Masse des graines			Statistiques	
	T1	T0	T2	F	P
DGe (jr)	$5,03 \pm 0,76^a$	$6,38 \pm 1,33^b$	$7,38 \pm 1,53^c$	60,88	0,000
Tx Ge (%)	$95 \pm 0,05^a$	$77 \pm 0,068^b$	$27 \pm 0,06^c$	93,95	0,000
ViGe (plantules/jour)	$5,53 \pm 0,46^a$	$4,10 \pm 0,92^b$	$1,55 \pm 0,29^c$	31,37	0,000

**DGe** : durée de la germination, **TxGe** : taux de germination et **ViGe** : Vitesse de germination, **F** : F-statistique de Fischer et **P** : probabilité associée au test. Pour chaque paramètre, les valeurs portant les mêmes lettres sont statistiquement égales ( $P \geq 0,05$ ).

**T1** : grosse graine, **T0** : moyenne graine et **T2** : petite graine

##### Influence de la taille des graines sur les paramètres de vigueur

L'analyse statistique montre que tous les paramètres de vigueur ont été influencés par la taille des graines. Les plantules issues des grosses graines mettent moins de temps à émerger ( $7,93 \pm 0,68$ ) comparativement aux moyennes et petites graines. De même, les grosses graines ont engendré beaucoup plus de plantules. Aussi, les plantules provenant des grosses graines ont émergés plus vite ( $3,54 \pm 0,10$ ) que celles de petites graines ( $3,10 \pm 0,10$ ). Ces plantules ont également enregistré les fortes valeurs du poids ( $1,78 \pm 0,32$ ), et de la longueur de la tigelle ( $78,20 \pm 9,34$ ). Concernant les paramètres mesurés sur les feuilles cotylédonaire les grosses graines ont des valeurs plus élevées que celles des deux autres. (Tableau III).

**Tableau III:** Influence de la masse des graines sur les paramètres de vigueur mesurées de *Citrullus lanatus*

Paramètres	Masse des graines			Statistiques	
	T1	T0	T2	F	P
DEm (jr)	$7,93 \pm 0,68^a$	$8,90 \pm 0,88^b$	$9,26 \pm 0,84^b$	42,83	0,000
TxEm	$0,95 \pm 0,05^a$	$0,77 \pm 0,06^b$	$0,26 \pm 0,09^c$	75,16	0,000

ViEm(plantules/jour)	3,55±0,25 <sup>a</sup>	2,36±0,13 <sup>b</sup>	0,93±0,26 <sup>c</sup>	101,11	0,000
LoTi (mm)	78,20±9,34 <sup>a</sup>	73,18±13,90 <sup>ab</sup>	74,07±11,20 <sup>b</sup>	3,79	0,024
PofrPI (g)	1,78±0,32 <sup>a</sup>	1,42±0,34 <sup>b</sup>	1,26±0,30 <sup>c</sup>	32,76	0,000
Lo (mm)	36,16±4,77 <sup>a</sup>	30,01±4,65 <sup>b</sup>	20,92±6,08 <sup>c</sup>	87,77	0,000
La (mm)	22,40±3,85 <sup>a</sup>	18,20±3,10 <sup>b</sup>	15,04±2,47 <sup>c</sup>	68,90	0,000
Eten (mm)	76,46±9,39 <sup>a</sup>	72,35±13,83 <sup>b</sup>	71,55±11,15 <sup>ab</sup>	3,71	0,026

**DEm** : durée de l'émergence, **TxE**m : taux d'émergence, **ViEm** : Vitesse d'émergence, **LoTi** : longueur de la tige et **PofrPI** : Poids frais de la plantule, **Lo** : longueur des feuilles cotylédonaire, **La** : largeur des feuilles cotylédonaire, **ENTEN** : envergure des feuilles cotylédonaire, **F** : F-statistique de Fischer et **P** : probabilité associée au test. Pour chaque paramètre, les valeurs portant les mêmes lettres sont statistiquement égales ( $P \geq 0,05$ ). **T1** : grosse graine, **T0** : moyenne graine et **T2** : petite graine

### 3.2. Discussion

La taille des graines est un indicateur physique très important qui détermine la qualité de la graine [8]. La maîtrise de ce facteur pourrait contribuer à la réussite de toute culture. Ainsi, l'étude de ce facteur de production a été entreprise pour améliorer la production de la cucurbité oléagineuse *Citrullus lanatus*. Il ressort des analyses statistiques que des trois masses des graines étudiées, ce sont les grosses graines qui permettent d'avoir les meilleures valeurs des paramètres de viabilité et de vigueur. En général, il y a une corrélation positive entre la taille de graines et la réserve nutritive de la graine [9]. Ce qui signifie que ce type de graines renferme suffisamment d'aliment pour la future plante avant son autonomisation par la réalisation de la photosynthèse. Ainsi, l'entière dépendance des plantules au stock nutritif contenu dans les graines pourrait d'une part expliquer un tel résultat. Des observations similaires ont été faites par [10] sur la cucurbité *Cucumis melo* et ils ont expliqué leur résultat par l'importance des réserves de la graine. Par ailleurs, ce résultat pourrait être lié aux conditions environnementales au cours des essais sur le terrain. Les expérimentations ont eu lieu pendant les mois secs de l'année c'est-à-dire décembre, janvier et février. En absence de pluie, les parcelles ont été arrosées régulièrement chaque quatre jours. Vingt-quatre litres d'eau étaient apportés aux graines ou aux plantules à chaque arrosage. Avec les fortes températures pendant les essais les eaux apportées aux plantes ont été probablement évaporées avant qu'elles n'atteignent les graines. Dans ces conditions, l'insuffisance d'eau peut justifier ce résultat. En effet, selon [11] en condition de stress hydrique les grosses graines grâce à leurs grandes surfaces peuvent maximiser le peu d'eau disponible dans le sol.

### 4. CONCLUSION

La qualité de la graine est un indicateur essentiel pour réussir la production de toute culture. Dans ce contexte, des investigations ont été entreprises sur le site expérimental de l'Université Jean Lorougnon Guède. Ces travaux visaient la détermination de la taille ou de la masse de graine optimale de la cucurbité *C. lanatus*. Les résultats issus des travaux indiquent que ce sont les grosses graines qui conviennent le mieux pour assurer une bonne germination et levée de cette plante. Ce qui implique la nécessité du paysan a trié préalablement les graines selon leurs masses avant d'entamer les semis.

### 5. BIBLIOGRAPHIES

- [1] Bannayan, M., Rezaei, E. E. & Alizadeh, A. (2011). Climatic suitability of growing summer squash (*Cucurbita pepo* L.) as a medicinal plant in Iran. *Notulae Scientia Biologicae* 3 (2): 39-46.
- [2] Zoro Bi, I. A., Koffi, K. K. & Djé, Y. (2003). Caractérisation botanique et agronomique de trois espèces de cucurbitées consommées en sauce en Afrique de l'ouest: *Citrullus sp.*, *Cucumeropsis mannii* Naudin et *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 7: 189-199.
- [3] Siddig, A. M. A. & Abdellatif, Y. I. (2015). Effect of seed size and sowing depth on germination and some growth parameters of faba bean (*Vicia faba* L.). *Agricultural and Biological Sciences Journal* 1: 1-5.
- [4] Hossein, A. F., Payam, M. & Kasra, M. (2011a). Effect of seed size on seedling production in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Advances in Environmental Biology* 5 (7): 1711-1715.
- [5] Umeoka, N. & Ogbonnaya, C. I. (2016). Effects of seed size and sowing depth on seed germination and seedling growth of *Telfairia occidentalis* (Hook F.). *International Journal of Advances in Chemical Engg, and Biological Sciences* 3 (2): 1507- 2349.
- [6] Koffie-Bikpo, C. Y. & KRA, K. S. (2013). *La région du Haut-Sassandra dans la distribution des produits vivriers agricoles en Côte d'Ivoire* Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody / Abidjan / Côte d'Ivoire
- [7] Al-Maskri, A. Y., Khan, M. M., Khan, I. A. & Al-Habsi, K. (2003). Effect of accelerated ageing on viability, vigor (RGR), lipid peroxidation and leakage in carrot (*Daucus carota* L.) seeds. *International Journal of Agriculture & Biology* 5 (4): 80-84.

- [8] Ambika, S., Manonmani, V. & Somasundaram, G. (2014). Review on effect of seed size on seedling vigour and seed yield. *Research Journal of Seed Science* 7 (2): 31-38.
- [9] Perry, D. (1980). Seed vigour and seedling establishment. . *Advances in Research and Technology of Seeds* 5 25-40.
- [10] Gelmond, C. & Peles, R. (1975). Size and weight of muskmelon seeds are predictable characters to seed vigor. *Hassadeh* 56: 47-50.
- [11] Lima, R. E., Santiago, S. A., Arújo, P. A. & Teixeira, G. M. (2005). Effects of the size of sown seed on growth and yield of common bean cultivars of different seed sizes. *Plant Physiol* 17 (3): 273-281.

## Nutritional Potential of Co-products of Two Species of Benin Cucurbits

Pélagie Yete <sup>1,2\*</sup>, Alexis Togbe <sup>1</sup>, Franck Yovo <sup>1</sup>, Honorat Wekpon <sup>1</sup>, Daniel Ahlonsou <sup>1</sup>, Valentin Wotto <sup>1,2</sup>, Dominique Sohounhloue <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Département de Chimie, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, Abomey-Calavi, Bénin.

<sup>2</sup> Département de Génies Chimiques Procédés, Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi, Abomey-Calavi, Bénin.

### RESUME

Dans l'optique du développement durable qui implique l'utilisation de toute la biomasse, deux oléagineux ont été sélectionnés: *Citrullus lanatus* et *Lagenaria siceraria*. La caractérisation physico-chimique a été faite. Les acides gras insaturés sont majoritaires avec la prédominance des acides oléique et linoléique (21,31 à 44,36 % et 16,20 à 70,35% respectivement) dans les huiles. Les fractions insaponifiables ont montré que : l'huile de *Citrullus lanatus* contient 134 mg/100g de stérols (dont 78,60% de  $\beta$ -sitostérol) et 83,9mg/100g de tocophérols (dont 73,7% de  $\alpha$ -tocophérol) et celle de *Lagenaria siceraria* contient 124mg/100 de stérols (dont 58,14% de  $\beta$ -sitostérol) et 76,4mg/100g de tocophérols (dont 66,9% de  $\alpha$ -tocophérol). Les phospholipides (0,39 et 0,40% respectivement pour *Lagenaria siceraria* et *Citrullus lanatus*) ont été quantifiés sur la base de la teneur en phosphore. Cette étude montre l'intérêt en nutrition des huiles de par leurs compositions en acides gras essentiels, phytostérols et en tocophérols d'une part et des voies de valorisation des coproduits résultant de l'extraction des graines sélectionnées d'autre part. Des recherches montrant l'influence des agents de stabilisation sur la qualité et la stabilité des huiles devront être effectuées pour rendre leurs utilisations plus faciles. Des essais d'utilisation de ces huiles dans d'autres domaines pourraient être effectués.

**Mots clés :** Biomasse, *Citrullus lanatus*, *Lagenaria siceraria*, caractérisation chimique.

### Abstract:

In the perspective of sustainable development which implies the use of all biomass, two oilseeds were selected: *Citrullus lanatus* and *Lagenaria siceraria*. The physico-chemical characterization has been done. Unsaturated fatty acids are in the majority with the predominance of oleic and linoleic acids (21.31 to 44.36% and 16.20 to 70.35% respectively) in the oils. The unsaponifiable fractions showed that: *Citrullus lanatus* oil contains 134mg/100g sterols (including 78.60%  $\beta$ -sitosterol) and 83.9mg/100g tocopherols (including 73.7%  $\alpha$ -tocopherol) and that of *Lagenaria siceraria* contains 124mg/100 sterols (including 58.14%  $\beta$ -sitosterol) and 76.4mg/100g tocopherols (including 66.9%  $\alpha$ -tocopherol). Phospholipids (0.39 and 0.40% respectively for *Lagenaria siceraria* and *Citrullus lanatus*) were quantified on the basis of phosphorus content. This study shows the interest in nutrition of oils due to their composition in essential fatty acids, phytosterols and tocopherols on the one hand and the ways of valorization of the coproducts resulting from the extraction of selected seeds on the other hand. Research showing the influence of stabilizing agents on the quality and stability of the oils should be carried out to make their use easier. Tests on the use of these oils in other fields could be carried out.

**Keywords:** Biomass, *Citrullus Lanatus*, *Lagenaria Siceraria*, Chemical Characterization

### 1. Introduction

Our human societies are facing challenges that are recognized as vital [1]. These issues are those of the availability of resources, particularly water and energy, health, particularly in its relationship to food and the environment, and socio-cultural traditions. Addressing these challenges requires a strong mobilization of innovation capacities, with a determination to propose viable and sustainable responses [2]. Agriculture, and particularly the cereal professions, can and should play a role in determining the best options for addressing these issues and their treatment [3]. The valorization of biomass for chemistry and energy is motivated by the need to develop new sectors based on the identification of plant species adapted to these uses.

As a result, food seeds known and appreciated by African populations such as Cucurbitaceae species, commonly known as squash in the Republic of Congo, "pistachios" in Côte d'Ivoire or "Egusi" in Benin and Nigeria [4], are vegetable sources rich in protein and can thus constitute a solution to protein-caloric malnutrition. Cucurbits (Egusi) containing a large number of species are oil plants unconventional. Their seeds are widely used throughout the world in association with other foods to meet human protein and lipid needs. Previous studies on the ecobotanical characteristics [5] and fruit or seed yield [6] of species grown in West Africa have been widely published.

Very few studies on the nutritional aspects of the seeds of the different cucurbit species have revealed that the species *Citrullus lanatus* and *Lagenaria siceraria* have more interesting nutritional potential [7-9].

The oils extracted from Cucurbits are rarely studied in the literature. To our knowledge, no studies on the nutritional properties of co-products of cucurbit species in particular: *Citrullus lanatus* and *Lagenaria siceraria* (species more appreciated in Benin) have been carried out as in the case of conventional oils and cakes (coconut, palm, palm kernel, soya and their cakes). Thus, it is appropriate that the oils and cakes of *Citrullus lanatus* and *Lageraria sceraria* be characterized in order to enhance the value of the seeds of these species. This work entitled "Nutritional potential of co-products of two species of cucurbits in Benin" therefore aims to fill this gap.

## **2. Materials and methods**

### **1.1. Materials**

#### **1.1.1. Seeds**

The collection of the seed lot analysed was carried out in the North (Savalou) of Benin (West Africa). They were properly dried in the sun until the seeds "sounded". The seeds were separated from the husks, properly sorted and cleared of all impurities, then shelled and finely ground. The almonds were finally packaged at 25°C in aluminium foil before the oil was extracted.

#### **1.1.2. Oil**

The non-conventional oils were obtained by extracting the seeds (finely ground) in Soxhlet for 6 hours at a temperature of 70°C. Traces of hexane were removed by rotavapor. The extracted oils were packaged in dark bottles and in an inert atmosphere of dinitrogen.

### **1.2. Methods**

#### **1.1.2. Physico-chemical Characterization of Oils**

The water and volatile matter contents are determined according to standard NF T 60-201 and hexane extractives (oil content) by standard NF V03-924. The acidity, peroxide value and saponification value are determined respectively according to the protocol of standards NF T60-204, NF T60- 220, NF ISO 3657.

#### **Determination of the Mineral Elements of the Oils**

The mineral elements (N, P, Ca, Mg, Mn, Zn, Cu, Na) were determined by ICP (Inductively Coupled Plasma) after mineralization of the sample. The principle of PCI is based on atomic emission and emission phenomena occurring in a plasma. The very high temperature of the plasma (7000 to 10000 K) compared to that of a flame (1000 K) allows a better dissociation of the chemical species. The samples are dissolved according to the dry digestion procedure. The Varian Vista spectrometer is equipped with a CCD (Coupled Charge Device) detector. The device (Jobin Yvon JY) was at the following wavelengths:  $\lambda = 214.914$  nm for phosphorus and  $\lambda = 589.592$  nm for sodium. The assays were carried out by performing a calibration that respects the conditions of the analyzed medium (matrix, acidity). The calculations were performed by interpolation with respect to the calibration range. The validation of analytical results is based on the analysis of internal reference samples (controls), the mineral content of which is known.

#### **Determination of Fatty Acid Composition by GPC**

##### **i. Preparation of Methyl Esters of Fatty Acids**

The methyl esters have been prepared according to the NF T60-233 standard protocol.

##### **ii. Mass Composition of Fatty Acids**

To determine the fatty acid composition, 1  $\mu$ L of a hexane methyl ester solution was injected into an Agilent 6890 HP series GC (Agilent, USA) equipped with an INNOWAX column (Agilent, USA), 30m long, 0.32mm internal diameter and a 0.25  $\mu$ m film thickness. The injector was in split mode, ratio 1/80 at 250°C. The carrier gas was helium at a flow rate of 1.5 mL/min. The flame ionization detector was at 270°C. The furnace temperature was programmed as follows: 150°C for 3 minutes followed by an increase of 3°C/min to 220°C (26.3mm) which was kept constant until the end of the acquisition (35.3mn).

Peak identification was done by comparing the retention times of methyl esters of fatty acids of vegetable oils such as olive oil, sunflower oil and palm oil, injected under the same operating conditions. In order to verify the reproducibility of the results, each injection was repeated three times under the same operating conditions.

#### **Determination of Total Oil Sterols**

iii. Determination of the unsaponifiable content Unsaponifiable contents were determined using the IUPAC method [10].

##### **iv. Preparation of the sterol fraction**

To determine the total sterols, 0.5 g of oil, 1mL of cholesterol and 5mL of alcoholic KOH were introduced into a flask with 2 grains of pumice stone and refluxed for 15 min. 5ml of ethanol are then introduced into the flask from the top of the refrigerant. 10mL of this solution are introduced into a chromatography column filled with aluminum oxide (0.063 < I < 0.2mm). Elutions were made successively with 5ml ethanol and 30 mL diethyl ether. The fraction obtained was after evaporation of the solvent, redissolved in 1mL of chloroform.

v. Preparative CCM of the sterol fraction

20  $\mu\text{L}$  of a cholesterol standard solution and 400  $\mu\text{L}$  of the unsaponifiable oil fraction were successively deposited using a Linomat IV-Y CAMAG applicator (Merck, Ref. 022-786) on a silica plate 60 (Alltech, 20 $\times$ 10 cm, 250 $\mu\text{m}$  thick). The elution was made by a chloroform/diethylether mixture (90/10, %v/v). The part containing the cholesterol deposit was revealed by nebulizing a  $\text{Cu}^{++}/\text{H}_3\text{PO}_4$  mixture (1/1, %v/v) and baking at 180°C for 10 min.

The sterol band corresponding to the cholesterol spot was scraped off and the sterols were desorbed in chloroform (10mL/g silica) at room temperature under magnetic agitation for 5 min. Once the silica became transparent, a Millipore filter filtration (0.45 $\mu\text{m}$ , Ref. SLFH 013 NL) allowed the total sterols to be recovered without solid contaminants.

vi. Sterol composition and content

1 $\mu\text{L}$  of this sterol fraction was injected with GPC to determine the sterol content of the oil. The sterol analysis was performed under isothermal conditions (285°C) in a GPC CG 8000 apparatus (Fisons Instruments) equipped with a SAC-5 column (Sigma-Aldrich, USA), (length 30m, 0.25mm internal diameter and 0.25 $\mu\text{m}$  film thickness). The temperature of the flame ionization detector is maintained at 300°C and that of the injector in split mode, ratio 1/100 at 300°C. The integration of the peaks was done using a Merck D2000 integrator. The carrier gas was helium (1.5 mL/min). To identify the peaks, we injected standards of cholesterol,  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol (Sigma quality products, concentration of 1mg/mL). In order to verify the reproducibility of the results, each injection was repeated three times under the same operating conditions.

### Determination of Tocopherol Composition and Content by HPLC UV

The analysis of oil tocopherols was performed by HPLC in the normal phase. A solution of 20mg oil per mL hexane and isopropanol (99: 1) was filtered through a millipore filter with a diameter of 0.45 $\mu\text{m}$ . The device and its accessories (pump, injector, detector) are products of Agilent 1100 Series (France), comprising a quaternary pump, a manual injector with a 20  $\mu\text{L}$  injection loop and a DAD detector (with diode strips). The column was of type Luna Si 60, 5 $\mu\text{m}$ , 4.6 x 250mm (Phenomenex, France). The solvent mixture under isocratic conditions was composed of hexane and isopropanol for HPLC (99: 1, % v: v). The column flow rate was 1 mL/min and the pressure 33 bar with a DAD detector at 295nm wavelength. The peaks were identified by injecting tocopherol standards (Sigma aldrich products). The calibration curves were plotted using a dilution range of 0.3 to 8  $\mu\text{L}/\text{mL}$ .

## 3. Results and discussion

### Physical and Chemical Characteristics of the Extracted Oils

The physico-chemical characteristics of the extracted oils are presented in Table 1. They are compared to other oils commonly used in Benin for various applications. The oil contents (51.20 and 53% respectively for *citrullus lanatus* and *lagenaria siceraria*) are higher than those of cotton and groundnut oils [11]. These values are consistent with those obtained by [12]. Compared to the standards and some parameters of these oils (Table 1), it appears that the extracted oils meet all the quality criteria that would give them a good application under less expensive conditions [13-15].

### The Refractive Index (IR) and Iodine Index (ID)

The refractive index shows a low dispersion of values for both oils. This table shows a difference between the iodine indices according to the oils. The two indices IR and ID are important criteria for identifying oils. According to Wolff cited in [16], there is a close relationship between the iodine index and the refractive index. For a non-polymerized, unoxidized oil, the two indices vary in the same direction. This allows oils to be classified as non-drying oils ( $\text{ID} < 100$  and  $1.467 < \text{IR} < 1.472$ ), semi-siccative oils ( $100 < \text{ID} < 130$  and  $1.470 < \text{IR} < 1.478$ ) and drying oils ( $\text{ID} > 130$  and  $1.481 < \text{IR} < 1.482$ ). The examination of Table 1 shows that this report is not always respected. But the results obtained show a clear distinction between *lagenaria siceraria* oils ( $\text{IR} = 1.23$ ;  $\text{ID} = 100.54$ ) and *citrullus lanatus* oils ( $\text{IR} = 1.36$ ;  $\text{ID} = 112.8$ ). The refraction indices obtained with the oils analysed comply with the standards of the codex alimentarius. These high iodine index values can be explained by low oxidation of unsaturated fatty acids.

### The Peroxide Value and the Acid Value

When an oil is not stored properly, its quality can deteriorate in various ways, but most often by hydrolysis or oxidation. In this case, it becomes unfit for consumption. Thus, the peroxide value which makes it possible to assess

the degree of oxidation of an oil and the acid value which measures the quantity of free fatty acids resulting from triglyceride hydrolysis reactions are two quality criteria for reporting on the condition of an oil. The values of the peroxide indices obtained for the different oils (Table 1) comply with the standards of the codex alimentarius, which sets the value below 10 mEq of peroxides/kg of oil. This means that the oils analysed are very poorly oxidised. This low oxidation would be due to the extraction conditions which can cause a low oxidation of unsaturated fatty acids leading to their increase. This would justify the high values of the iodine indices obtained. From an acidity point of view, the values of the acid indices obtained in Table 1 range from  $1.04 \pm 0.05$  (*Lagenaria siceraria*) to  $1.20 \pm 0.03$  (*Citrullus lanatus*). However, according to the codex alimentarius, an oil of good quality must have little or no acidity. However, no sample analysed has zero acidity, but the results obtained with the oils still comply with codex standards.

### The Saponification Index

The saponification index indicates the fatty acid content (esterified and free) of an oil. These values are  $197.29 \pm 0.32$  mg KOH/g (*Lagenaria siceraria*) and  $195 \pm 0.21$  mg KOH/g (*Citrullus lanatus*) and therefore compatible with a predominance of C18 fatty acids. These values are similar to those obtained for vegetable oils such as soybean (189-195 mg KOH/g-oil), peanut (187-196 mg KOH/g-oil) and cotton (189-195 mg KOH/g-oil [17]). These values are higher than those obtained by [18]. The strong saponification indices observed would justify a possible use of these oils in soap making.

### Content of Unsaponifiable Substances

The unsaponifiable contents are close (1.58) for *Lagenaria siceraria* oil and (1.65) for *Citrullus lanatus* oil. The study of their unsaponifiable fractions has shown that they have, in accordance with their high unsaponifiable content, high levels of sterols and especially tocopherols, which guarantee good resistance to oxidation. The exceptional phospholipid contents of the oils are comparable to that of rapeseed oil, one of the richest in phospholipids [19]. Consequently, the physical and chemical properties of the oils presented in Table 1 are generally in agreement with the bibliographic data for the results that can be compared.

**Table 1.** Chemical characteristics of the extracted oils.

Characteristics (g/100g-MS)	<i>C. l</i>	<i>LS</i>
Oil content (%-MS)	$51.20 \pm 0.22$	$53 \pm 0.20$
Acidity (%-oleic)	$1.20 \pm 0.30$	$1.04 \pm 0.50$
Acid value (mg KOH/g)	$1.98 \pm 0.01$	$2.56 \pm 0.01$
saponification index (mg de KOH/g-oil)	$195.29 \pm 0.21$	$197.29 \pm 0.32$
Refractive index	$1.36 \pm 0.32$	$1.23 \pm 0.32$
Iodine index (g iodine / 100g oil)	$112.8 \pm 0.45$	$100.54 \pm 0.50$
Peroxide value (meq d'O <sub>2</sub> /Kg oil)	$0.99 \pm 0.02$	$1.06 \pm 0.01$
unsaponifiable (%)	$1.65 \pm 0.00$	$1.58 \pm 0.00$
Total phospholipids	$0.53 \pm 0.15$	$0.35 \pm 0.25$

C. l: *Citrullus lanatus*; LS: *Lagenaria siceraria*

### Fatty Acid Composition of Oils

The levels of capric, lauric, myristic, palmitic, stearic, oleic, linoleic and in the analyzed oils are grouped in Table 2. The results obtained show profiles that are often specific to each type of oil. Gas chromatographic analysis of the total methyl esters of the fatty substances of the investigated seeds reveals the presence of three main fatty acids: palmitic acid (C16: 0), oleic acid (C18: 1) and linoleic acid (C18: 2). These oils have comparable profiles, although sometimes the percentages vary. However, we can see that these oils are very nutritious in view of their content of essential fatty acids (oleic and linoleic acid). The profile shows on the one hand the predominance of oleic, linoleic, palmitic acid and on the other hand a small percentage of myristic acid. In general, these results support the standards set by FAO. From the composition of the extracted oils, it appears that unsaturated fatty acids are strongly represented compared to saturated fatty acids which are practically only represented by palmitic acid. This high richness in unsaturated fatty acids could make oils of unsaturated types. Like olive, soybean, cotton, sunflower and groundnut oils, the oils studied are characterized by a majority presence of fatty acids with 18 carbon atoms. They could be used in various fields of food, cosmetics and soap-making due to their fatty acid composition and their physico-chemical characteristics.

**Table 2.** Fatty acid composition of extracted oils.

Fatty acids (%)	<i>C. l</i>	<i>L. s</i>
-----------------	-------------	-------------

Myristic acid (C14: 0)	2.53±0.38	3.76±0.33
Palmitic acid (C16: 0)	15.35±0.48	12.05±0.19
Stearic acid (C18: 0)	11.77±0.01	9.48±0.01
Oleic acid (C18: 1, n-9)	20.31±0.02	14.04±0.03
Linoleic acid (C18: 2, n-9, 12)	49.20±0.00	60.10±0.01
Linolenic acid (C18:3, n-9, 12, 15)	0.42±0.22	0.15±0.00
Arachidic acid (C20: 0)	0.14±0.01	0.39±0.01
Gadoleic acid (C20: 1, n-9)	0.28±0.02	0.03±0.00

## Sterol and Tocopherol Profile of Oils

**1.1.3. Sterol Content**

This family of compounds, especially  $\beta$ -sitosterol, helps to fight cardiovascular disease by reducing intestinal cholesterol adsorption [20].  $\beta$ -sitosterol is the majority sterol followed by stigmasterol (Table 3). The total sterol contents (124 to 134 mg/100g oil) are in the same order of magnitude as those of olive oil (119-268 mg/100g), groundnut and palm oil (127- 171 and 123-140 mg/100g respectively) [21]. However, based on the results obtained, several ways of recovering the oils are possible:

1. In oncology: some sterols are reported to have anti- cancer activities and inhibit colon, rectal and lung cancers.
2. In the diet, a phytosterol supplement would have a cholesterol-lowering effect and thus limit the risk of cardiovascular disease.
3. And in cosmetology: sterols are used in many products with anti-inflammatory activities, or to repair skin damage and shampoos.

**Tocopherol Content**

Tocopherols and tocotrienols (tocols) are aromatic compounds with a chromanol ring (the carbon atom 6 carries a hydroxyl group) substituted by a chain with 3 condensed isopentenyl units. Tocotrienols are rarely found in oils, except in the case of palm oil. Tocopherols, more present, although in minor fraction, are interesting because of their antioxidant and also vitaminic properties, mainly due to  $\alpha$  tocopherol (vitamin E) [22]. This vitamin, whose biological properties are numerous, is used in several fields, particularly in cosmetology, and in several fields related to medicine: cardiology, anti-inflammatory drugs, oncology. The results obtained are summarized in Table 4. Tocopherols, mainly  $\alpha$ - tocopherol are the main compounds. We can also note the presence of  $\delta$ -tocotrienol, rather rare in vegetable oils.  $\delta$ - tocopherol, the most effective antioxidant, is present in all the oils studied.

**Table 3.** Composition of the sterols fraction of extracted oils.

Constituents	<i>C. l</i>	<i>L. s</i>
Campesterol (%)	3.53±0.03	11.56±0.38
Lanosterol (%)	0.01±0.00	0.15±0.00
$\Delta^5$ -avenasterol (%)	5.35±0.22	7.14±0.19
Stigmasterol (%)	12.51±0.04	23.01±0.02
$\beta$ - sitosterol (%)	78.60±0.50	58.14±0.45
total Sterols (mg/100g)	134.00±0.32	124.00±0.45

**Table 4.** Composition of the tocopherols and tocotrienols in extracted oils.

Constituents	<i>C. l</i>	<i>L. s</i>
$\delta$ -tocotrienol (%)	0.70±0.01	0.66±0.01
( $\beta$ + $\gamma$ )- tocotrienol (%)	1.44±0.00	1.34±0.00
$\alpha$ - tocotrienol (%)	1.01±0.02	1.00±0.01
$\delta$ -tocopherol (%)	0.83±0.11	1.05±0.10
( $\beta$ + $\gamma$ )-tocopherol (%)	22.33±0.10	29.05±0.10
$\alpha$ -tocopherol (%)	73.70±0.22	66.90±0.33
total Tocopherols (mg/100g)	83.90±0.30	76.4±0.38

**Extraction Cakes****Mineral Element Content of Extraction Cakes**

Table 5 presents the mineral element composition of the extraction cakes in the seeds studied. The main minerals are phosphorus, nitrogen and potassium. The relatively high levels of N, P, K in *Citrullus lanatus* oilcake may favour its use in fertilizer formulations. In general, the mineral element composition of our extraction cakes is low compared to that of delipidated soybean, rapeseed, cotton, groundnut and palmtree cakes [23]. The proportions of N, P, K of *Citrullus lanatus* are higher than those of *Lagenaria siceraria*. This difference suggests the use of *Citrullus lanatus*

oilcake as a replacement for chemical fertilizers in agriculture. These results show that oilcake can be a potential source of major and minor mineral elements, and can therefore be used to partially fill food and/or feed.

**Table 5.** Minerals elements of oilcakes.

Constituents	<i>C. l</i>	<i>L. s</i>
totaux mineral	9.40±0.00	6.30±0.00
N (%)	6.18±0.01	3.36±0.02
P (%)	1.23±0.00	0.88±0.02
K (%)	1.28±0.00	0.85±0.01
Mg (%)	0.48±0.00	0.57±0.00
Ca (%)	0.13±0.01	0.41±0.01
Na (%)	0.03±0.00	0.12±0.00

### Organic Matter Content of the Oilcake

The organic matter content of the extracted oilcake presented in Table 6 reflects their digestive character and testifies to their possible use as second-generation biofuels. From the analysis of this table, it appears that the two seeds studied have a significant variation in their respective chemical composition. The humidity levels are all below 9% which should encourage their storage. Generally speaking, we can see on this table that proteins constitute the main component of the two meals while the proportions of the other components are variable. The total protein contents of *Citrullus lanatus* and *Lagenaria siceraria* are comparable to the data in the literature [24]. These values are lower than those of soybean meal (36-53% MS meal). The protein proportions of *Citrullus lanatus* are comparable to those of rapeseed and sunflower oilcake (20-25%MS). If we consider each meal individually, *Lagenaria siceraria* has the highest content of crude fibre (15.50%MS meal) and lignin (8.90%MS meal). The high proportions of starch and total sugars are indicative of the digestive character of the cakes studied and their use in animal feed [25]. Oilcake can be used as an energy source for some animals as long as it is not subject to rancidity. These exceptional levels could be explained by high proportions of polar lipids and/or a particular position of these lipids in the plant matrix. It is likely that polar lipids, especially phospholipids, are not extractable with hexane and require a prior acid attack to destroy cell walls. Nutrient-rich cakes could be used as livestock feed. However, they would constitute a lignocellulosic feedstock for second-generation bioethanol [26].

**Table 6.** Organic matter content of cakes.

characteristics (g/100g-MS)	<i>C. l</i>	<i>L. s</i>
Total organic matter	90.16±0.33	98.96±0.32
Total proteins	39.64±0.16	37.15±0.13
Cellulose Wende	12.50±0.50	15.50±0.45
Lignins	4.90±0.00	8.90±0.01
Lignocellulose	10.00±0.22	16.24±0.22
Hemicellulose	19.80±0.01	20.13±0.02
Starch starch	62.90±0.36	70.45±0.50
Total sugars	35.00±0.10	33.45±0.00

### Amino Acids from Extraction Cakes

Table 7 gives the amino acid composition of the extraction cakes. The levels of essential amino acids for humans (isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, treonine, tryptophan, valine and histidine), are in the range of 1.54 - 2.05% MS cakes for leucine. The contents for other essential amino acids are in the range of 0.90 - 1.72% MS- tourteau. However, the methionine contents are low (0.50 - 0.64% MS oilcake). The amino acid compositions of the seeds are comparable to that of groundnuts [27]. These data confirm the nutritional value of seeds and their nutritional uses.

**Table 7.** Amino acids composition of extraction cakes.

Amino acids (% MS - cakes)	<i>C. l</i>	<i>L. s</i>
Valine	1.11±0.00	2.33±0.01
Isoleucine	0.93±0.01	1.66±0.00
Leucine	1.54±0.00	2.05±0.03
Lysine	0.64±0.00	0.14±0.00
Tyrosine	0.72±0.02	1.02±0.03
Methionine	0.64±0.01	0.50±0.00

Phenylalanine	1.25±0.00	2.01±0.01
Arginine	2.20±0.15	1.75±0.01
Serine	0.99±0.00	nd
Histidine	0.49±0.01	1.40±0.03
Glycine	nd	3.04±0.00
Alanine	1.13±0.00	2.34±0.02
glutamic acid	3.73±0.02	1.16±0.01
Aspartic acid	1.37±0.00	2.33±0.03
Treonine	0.90±0.00	nd
Proline	1.33±0.01	nd

nd=not detected

#### 4. Conclusion

This work is a contribution to the characterization of co-products of *Citrullus lanatus* and *Lagenaria siceraria* from Benin. Fat contents and chemical characteristics are reported. The data obtained are also in compliance with standards and show their good qualities and possible uses in several areas such as food, soil amendment... etc. These species are of particular nutritional interest, given their chemical composition and nutritional potential.

The predominance of unsaturated fatty acids such as oleic acid and linoleic acid is compatible with the values obtained for iodine and saponification indices and justifies the liquid aspect of oils at ordinary temperature. This study has updated the data in the literature and should support the agri-food and socio-economic interest of the species studied, which would constitute an important source of organic substances (proteins and lipids) and mineral substances (phosphorus, calcium, potassium, sodium, magnesium).

The development of forest resources for industrial purposes can contribute to the protection of our threatened forests. Indeed, the preservation of standing species through diversification and greater valorisation of their by-products can promote their development.

It would be interesting to set up a complete seed fractionation process to produce certain functional ingredients. These ingredients must be tested in food formulations to assess their sensory, nutritional and economic added value. This idea of fractionation could also be applied to other seeds that are widely used and known for their nutritional potential.

#### Références

- [1] Adjanonhoun, E., Souza de, S., Sinsin, B. (2001). Rapport du Bénin. Compte rendu de la première réunion du Réseau "Espèces Ligneuses Médicinales", Station IITA Cotonou, Bénin. pp. 4-10.
- [2] Dacosta, Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. (Ed). Paris; 317p.
- [3] Mvoula Tsieri, M., Silou, T., Tremolieres, A. (2005). Nature et composition des classes de lipides de quatre espèces de cucurbitacées alimentaire du Congo Brazzaville. *Rivist Ital Sostanze Grasse*; 82: 140-144.
- [4] Zoro Bi, I., Koffi K. K., Dje Y. (2003). Caractérisation botanique et agronomique de trois espèces de cucurbits consommées en sauce en Afrique de l'ouest: *Citrullus* sp., *Cucumeropsis manii*, *Lagenaria siceraria*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 7, p. 187-199.
- [5] Vodouhe, R. S., Achigan Dako, G. E., Adjakidje, V. (2001). Observation de la diversité génétique des Egusi collectées au Bénin et au Togo. Actes 2 de l'Atelier Scientifique Sud et Centre, Niaouli. Institut National des Recherches Agricoles du Bénin, p. 53-61.
- [6] Adodo, K., Elolo, O., Idès, B., Ayélé, C., Yao, B., Courdjo, L. (2015). Caractérisations chimiques et physico-chimiques des graines de Cucurbitacées du Togo: concombre amer (*Cucumeropsis edulis* Hook. f.) et melon à pistache (*Citrullus lanatus* Var). *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*, 040: 1-7.
- [7] Akpambang, V. O. E., Amo, I. A., Izuagie, A. A. (2008). Comparative compositional analysis on two varieties of melon (*Colocynthis citrullus* and *Cucumeropsis edulis*) and a variety of almond (*Prunus amygdalus*). *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*; 4 (6): 639-642.
- [8] Djenontin, S. T. Etudes de graines oléagineuses du Bénin: Caractérisation chimique. Fractionnement et activité biocide; 2006. Thèse de doctorat.
- [9] De Oliveira Sousa, A. G., Fernandes, D. C., Alves, A. M., De Freitas, J. B., et Naves, M. M. V. (2011). Nutritional quality and protein value of exotic almonds and nut from the Brazilian savanna compared to peanut. *Food Research International*; 44 (7): 2319-2325. IUPAC Section 2: Oils and fats. In C. Paquot & A. Hautfenne (Eds.), *Standard Methods for the analysis of oilseeds, fats and derivatives* (7th revised and enlarged edition). Oxford: International Union of Pure and Applied Chemistry, Blackwell Scientific Publications., 1987.
- [10] Souci, S. W., Fachmann, W., Kraut H. (2000). La composition des aliments. Tableaux des Valeurs nutritionnelles. (6e édition) revue et complétée. Med pharm Scientific Publishers, CRC Press, Boca Raton.
- [11] Wotto, D. V., N'dayishimiye, V., Yété, P., Sessou, P., Agbangnan, P., Sohounhloué, D. (2015). Physico-chemical

- characterization of oil and defatted meal from *anacardium occidentale* acclimated to teval in northern benin. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Volume 4, Issue 11, 1912-1920.
- [12] Sidohoude, A., Nonviho, G., Djenontin, S. T., Agbangnan, P., Paris, C., & Sohounhloou, D. C. (2015). Physico-Chemical Characterization of Vegetable Oil and Defatted Meal from Two Varieties of *Cyperus esculentus* from Benin. *Chem J*, 4, 1-7.
- [13] Babatunde, O. A. & Bello, G. S. (2016). Comparative assessment of some Physicochemical Properties of Groundnut and Palm Oils Sold Within Kaduna Metropolis, Nigeria. *IOSR Journal of Applied Chemistry*. 9 (11), 2278-5736.
- [14] Benatti, P., Peluso, G., Nicolai, R., Calvani, M. (2004). Polyunsaturated fatty acids: Biochemical, nutritional and epigenetic properties. *Journal of the American College of Nutrition* 23, 281-302.
- [15] Kouwanou, C. S., Montcho, P. S., Agbangnan Dossa, C. P., Adjou, E., Wotto, V. D., Sohounhlooué, D. C. K. (2018). Physico-Chemical Characterizations and Fuel Potential Assessment of *Chrysophyllum albidum* Fruits from Benin. *American Journal of Physical Chemistry*. Vol. 7, No. 3, pp. 50-54. doi: 10.11648/j.ajpc.20180703.12.
- [16] Evans, J. C., Kodali, D. R., Addis, P. B. (2002). Optimal tocopherol concentrations to inhibit soybean oil oxidation. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 79: 47-51.
- [17] Bocar, K. M., Sidi, O. A., Baïdy, B. L., Emmanuel, B. (2011). Etude physico-chimique des huiles consommées en mauritanie. *Science lib*. Volume 4, N°120101 ISSN 2111-4706.
- [18] Akinhanmi, T. F., Atasie, V. N. (2008). Chemical composition and physicochemical properties of cashew nut (*Anacardium occidentale*) oil and cashew nut shell liquid. *Journal of agricultural. Food and Environment Sciences*; 2 (1).
- [19] Sidohoude, A., Agbangnan Dossa, C. P., Nonviho, G., Montcho, S. P., Sohounhloou, D. C. K. (2018). Transesterification Reaction and Comparative Study of the Fuel Properties of Biodiesels Produced from Vegetable Oils: A Review. *American Institute of Science: Chemistry Journal*. Vol. 4, No. 4, pp. 79-90.
- [20] Aremu, M. O., Olonisakin, A., Bako, D. A., Madu, P. C. (2006). Composition studies and physicochemical characteristics of cashew nut (*Anacardium occidentale*) flour. *Pakistan Journal of Nutrition*; 5 (4): 328-333.
- [21] Aletor, O., Agdebe, J. O., Adeyeye, S. A., Aletor, V. A. (2007). Chemical and physicochemical characterization of the flour and oils from whole and rejected cashew nuts cultivated in southwest Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition*; 6 (1): 89- 93.
- [22] Djenontin, S. T., Dangou, J., Wotto, D. V., Sohounhloou, K. C.D., Lozano, P., Pioch, D. (2006). Composition en acides gras, stérols et tocophérols de l'huile végétale non conventionnelle extraite des graines de *Jatropha curcas* (euphorbiaceae) du Benin. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*; 22: 59-67.
- [23] Omosuli, S. V., Ibrahim, T. A., Oloye, D., Agbaje, R., Jude- Ojei, B. (2009). Proximate and mineral composition of roasted and defatted cashew nut (*Anacardium occidentale*) flour. *Pakistan Journal of Nutrition*; 8 (10): 1649-1651.
- [24] Mehra, M., Pasricha, V. & Gupta, R. (2015). Estimation of nutritional, phytochemical and antioxidant activity of seeds of musk melon (*Cucumis melo*) and water melon (*Citrullus lanatus*) and nutritional analysis of their respective oils. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3 (6): 98-102.
- [25] Mian-Hao, H. & Yansong, A. (2007). Characteristics of some nutritional composition of melon (*Cucumis melo* hybrid "ChunLi") seeds. *International Journal of Food Science and Technology*, 42 (12): 1397-1401.
- [26] Lee, C. F. & Lin, J. Y. (1995). Amino acid sequences of trypsin inhibitors from the melon *Cucumis melo*. *Journal of Biochemistry*, 118 (1): 18-22.

## Etude de la variation des teneurs antioxydantes en fonction de la variété et de la position de la cueillette du fruit (mangue) sur la plante à partir de cinq variétés de mangue au Sénégal.

Ba Ibrahima<sup>1</sup>, Fofana Mohamadou, Diouf Elhadji Gorgui, Diop Moussoukhoye

Université Cheikh Anta Diop, Département de chimie, faculté des sciences et techniques, Dakar, Sénégal.  
baibrahima705@gmail.com

### Résumé :

Cette étude est réalisée sur cinq variétés de mangues exploitées au Sénégal (village de Kaguit) 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. Les objectifs visés dans cette étude étaient d'identifier les variétés les plus riches en antioxydants et comprendre si la position de la cueillette du fruit (mangue) a une influence sur ses teneurs en antioxydants. Pour réaliser cette étude, nous avons utilisé la méthode mise au point par (Georgé et al., 2005). pour le dosage des polyphénols et la méthode de Adaramola et al., (2016) pour évaluation l'activité antioxydante.

Les résultats sur la variation des teneurs en activité antioxydante, en polyphénols totaux et en flavonoïdes montrent une influence de la variété et de la position. Cependant la variation de ces teneurs est difficilement observable à première vue. A partir des analyses statistiques, on voit que les effets position et variété sont dépendants c'est-à-dire que ces teneurs varient en fonction des deux paramètres.

Par rapport à la teneur en activité antioxydante, les variétés SL (position supérieure) et Knt (position intermédiaire) sont respectivement les plus riches 50%inhibition et 40%inhibition. Pour la composition polyphénolique cette variation suivant la position n'a pas beaucoup d'effet, toutefois les variétés Dr et Bk restent les plus riches 0,6 mgéqAc/100g et 0,5 mgéqAc/100g. Les résultats sur la teneur en flavonoïdes montrent que la position Intermédiaire de la variété Dr (11 mgéqAc/100g) contient de loin le plus de flavonoïdes que les autres positions des autres variétés. Néanmoins sa teneur en flavonoïdes n'est pas statistiquement significative comparée à la position Intermédiaire de la variété SL.

Cette étude révèle que les variétés SL, Dr et Knt peuvent être la base d'une alimentation riche en antioxydants au Sénégal. Elles peuvent aussi être utilisées dans plusieurs domaines alimentaires.

**Mots Clés :** *Mangifera indica L., Teneurs, position, antioxydants, locale, et export.*

## Study of the variation of antioxidant contents according to the variety and the position of the fruit (mango) picking on the plant from five varieties of mango in Senegal.

### Abstract

This study is carried out on five varieties of mangoes exploited in Senegal (village of Kaguit), two of which are intended for export and the three for local consumption on the one hand and national marketing on the other. The objectives of this study were to identify the varieties richest in antioxidants and to understand whether the position of the fruit (mango) harvest has an influence on its antioxidant levels. To carry out this study, we used the method developed by (Georgé et al., 2005) for the determination of polyphenols and the method of Adaramola et al. (2016) for evaluation of antioxidant activity. The results on the variation in antioxidant activity, total polyphenols and flavonoids show an influence of variety and position. However, the variation of these contents is difficult to observe at first sight. From statistical analyses, we can see that the position and variety effects are dependent, i.e. that these levels vary according to the two parameters.

Compared to the antioxidant activity content, the SL (top position) and Knt (middle position) varieties are respectively the richest 50%inhibition and 40%inhibition. For the polyphenolic composition this variation according to position has not much effect, however the varieties Dr and Bk remain the richest 0.6 mgeqAc/100g and 0.5 mgeqAc/100g. The results on the flavonoid content show that the Intermediate position of the Dr variety (11 mgeqAc/100g) contains by far the most flavonoids than the other positions of the other varieties. However, its flavonoid content is not statistically significant compared to the Intermediate position of the variety SL.

This study reveals that the SL, Dr and Knt varieties can be the basis of an antioxidant-rich diet in Senegal. They can also be used in several food areas.

**Keywords:** *Mangifera indica L., Contents, position, antioxidants, local, and export.*

### 1. Introduction

Aujourd'hui plusieurs sources alimentaires sont utilisées pour la satisfaction des besoins du corps [1]. Parmi les aliments, les fruits et les légumes occupent une place importante de par leur composition nutritionnelle [2].

Cependant la mangue reste l'un des fruits les plus accessibles aux populations et les plus exploités au Sénégal. En effet, fruit remarquable, la mangue est connue pour sa richesse en antioxydants essentiellement en provitamine A et en vitamine C avec environ 27 mg /100 g matière fraîche [3]. Une

demi-mangue suffit pour couvrir la totalité des besoins quotidiens en provitamine A et plus de 66 % du total recommandé pour la vitamine C. De plus, avec un apport énergétique de 56 kilocalories pour 100 g de fruit, la mangue fait partie des fruits moyennement calorifiques [4].

Pourtant, la *spécificité nutritive* d'un fruit est liée à sa *composition* qui elle-même dépend de l'espèce, de la variété, du degré de maturité, des conditions de culture et d'entreposage et de conservation [5]. Au Sénégal, les variétés appréciées et exportées sont la Kent et la Keitt, bien que d'autres intéressantes pour l'exportation (Tommy Atkins, Zill, Palmer) et plusieurs variétés de mangue locales : *diorou*, *sierra-leone*, *papaye*, *boukodiékhal*, *balanta*, *passy*, *thias*... La Kent reste la variété la plus recherchée pour sa couleur, son goût et la faible présence de fibres, ce qui amène de plus en plus les producteurs à investir en plantations de cette variété et/ou à renouveler les vergers existants avec la technique du surgreffage [6].

L'objectif poursuivi dans ce travail est : l'étude de la variation de la composition en polyphénols totaux et en activité antioxydante en fonction de la *variété* et de la *position* où le fruit a été cueilli sur la plante. Cette étude permet dans un premier temps de connaître la ou les variété(s) de mangue la ou les plus riche(s) en activité antioxydante et/ou en polyphénols et/ou en flavonoïdes. Dans un second temps de voir si la variation de cette composition est significative par rapport à la position où le fruit a été récolté sur la plante. Pour réaliser cette étude, on a caractérisé cinq variétés de mangue dont deux sont destinées d'une part à l'export (Kent et Keitt) et d'autre part les trois à la consommation locale et à la commercialisation nationale.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1-Origine des échantillons

Les échantillons de mangues utilisés dans ce travail sont issus de deux zones du Sénégal : village de Kaguitt dans la région de Ziguinchor et Keur Mbir Ndao dans la région de Thiès.

Dans la zone sud, on a prélevé quatre variétés de mangue dont les deux sont destinées à l'export et deux variétés spécifiques à cette localité destinées à la commercialisation nationale très prisées par les consommateurs. Dans la zone des Niayes on a prélevé une variété destinée à la commercialisation nationale.

### 2.2- Techniques de prélèvement

Chaque variété est prélevée sur trois pieds de manguiers suivant trois niveaux par manguiers (niveau supérieur, niveau intermédiaire et niveau inférieur). Les variétés destinées à l'export prélevées dans la zone sud sont : Kent et Keitt, et les variétés locales Diourou et Sierra-leone sont prélevées dans la zone sud et la variété Boukodiekhall dans la zone des Niayes.



**Figure 1 :** *Mangifera indica* L. var. 1 Kent; 2. Keitt; 3. Diourou; 4. Sierra Leone and 5. Boukodiekhall

### 2.3.-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 pris 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 µl 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 ;

$\varepsilon$  : 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 (IC<sub>50</sub>) est déterminée graphiquement sur la courbe de l'activité antiradicalaire (AAR) en fonction de la concentration d'huile [7].

### 3. Résultats et discussion

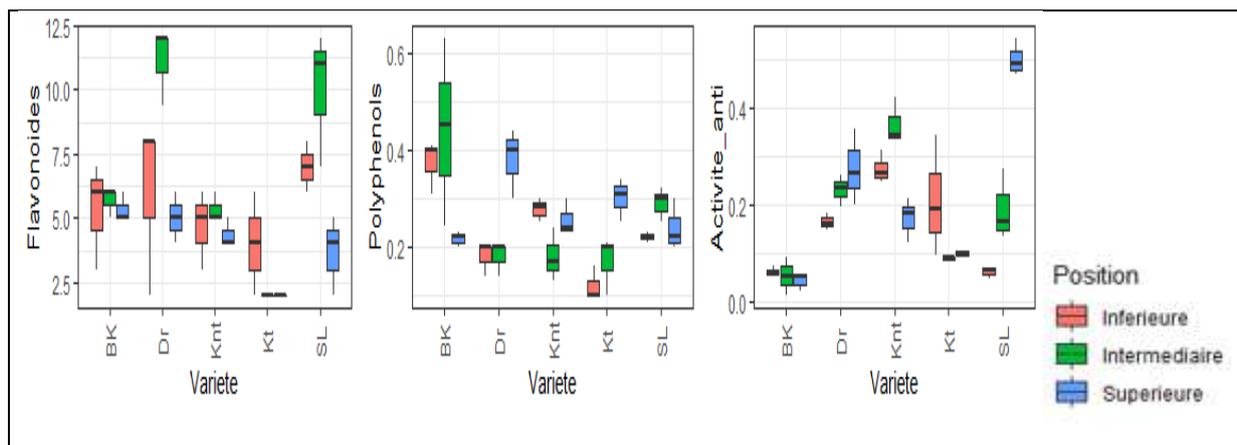
#### 3.1-Variables d'étude et variétés étudiées

Variables d'étude :

- Polyphénols (mgéqAc/100g)
- Flavonoïdes (mgéqAc/100g)
- Activité antioxydante (%inhibition)
- Variétés étudiées : Kent (Knt), Diourrou (Dr), Keitt (Kt) Boukodiékhal (BK) et Sierra-léon (SL).

#### 3.2-Analyses descriptives

Dans la figure ci-dessous, nous avons réalisé une analyse descriptive de la variation des teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en activité antioxydante suivant la variété et la position où le fruit a été récolté.



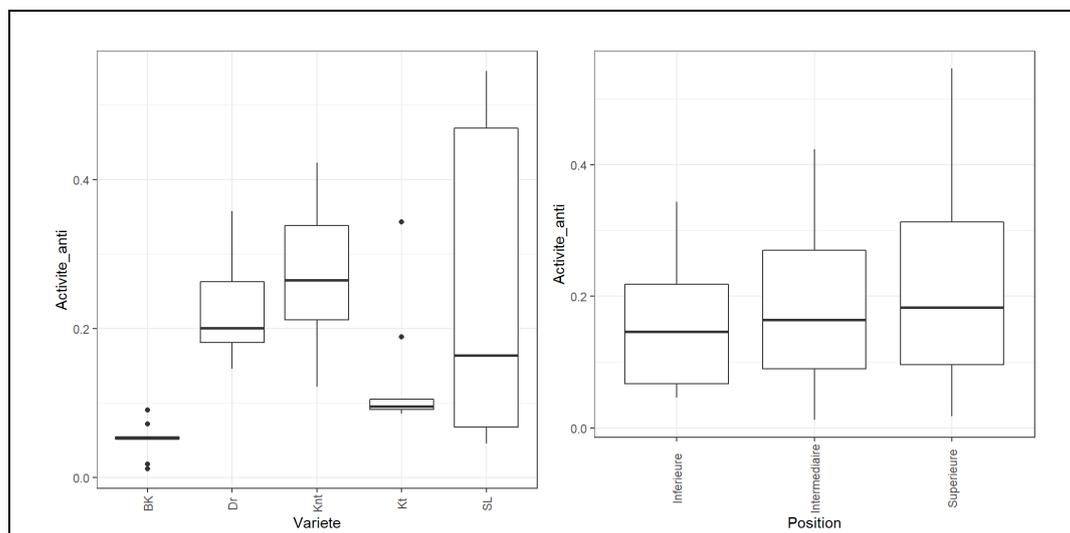
**Figure 2** : Description en fonction de la variété et de la position :

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) [3]. Les composés phénoliques se retrouvent dans les aliments d'origine végétale. Leur capacité antioxydante protégerait les cellules du corps des dommages causés par les radicaux libres. Ils diminueraient le risque d'apparition de plusieurs maladies [8]. Leur abondance et leur composition diffèrent selon les variétés [9, 10].

Dans cette figure 1, l'analyse montre des différences sur la composition entre les variétés et selon les positions. On peut poser comme hypothèse que les teneurs étudiées varient en fonction de la position et de la variété. Pour vérifier cette hypothèse à savoir s'il y a une variation de la composition biochimique selon la *variété* et de la *position*, il serait important de faire une analyse de chaque paramètre.

### 3.3- Etude de l'activité antioxydante en fonction de la variété et de la position

Tout d'abord, on souhaite expliquer l'activité antioxydante en fonction de la *variété* et de la *Position* où la mangue a été cueillie. Les variables explicatives sont qualitatives. Nous allons donc faire une analyse de variance à deux facteurs. On commence par vérifier cela dans le sens de regarder l'existence d'un lien.



**Figure 3** : analyse de variance à deux facteurs

D'après la figure 2, on voit que le facteur *Variété* a une influence probable sur la variable Activité antioxydante. L'influence du facteur *Position* est moins marquée. Pour confirmer l'influence de la variété sur la variation de l'activité antioxydante, nous avons réalisé le test **Kruskal Wallis**  $X^2$  ( $p = 0,0001$ ) dans le tableau suivant.

$$\text{Formule mathématique du test de Kruskal wallis } H = (N - 1) \cdot \frac{\sum_{k=1}^k n_k \cdot (\overline{R|Y=k} - \overline{R})^2}{\sum_{i=1}^N (R_i - \overline{R})^2}$$

A noter qu'en cas de présence de rangs ex-aequos sur l'échantillon total, un correctif doit être appliqué.

Et la valeur de **Z** est 
$$Z_j = \frac{\bar{R}_j - \bar{R}}{\sqrt{\frac{(N+1)(N-1)}{12n_j}}}$$

Où  $\bar{R}_j$  = rang moyen du groupe j,

$\bar{R}$  = rang moyen de toutes les observations,

$N$  = Nombre d'observations et

$n_j$  = nombre d'observations dans le j groupe.

**Tableau 1: Test de Kruskal Wallis**

	statistic	p.value	parameter	method	Test
1	23.0391988932077	0.000124363220747736	4	Kruskal-Wallis rank sum test	Variation de *l'activité antioxydant* ~ Variétés
2	1.14461646573118	0.564221579679631	2	Kruskal-Wallis rank sum test	Variation de *l'activité antioxydant* ~ Position

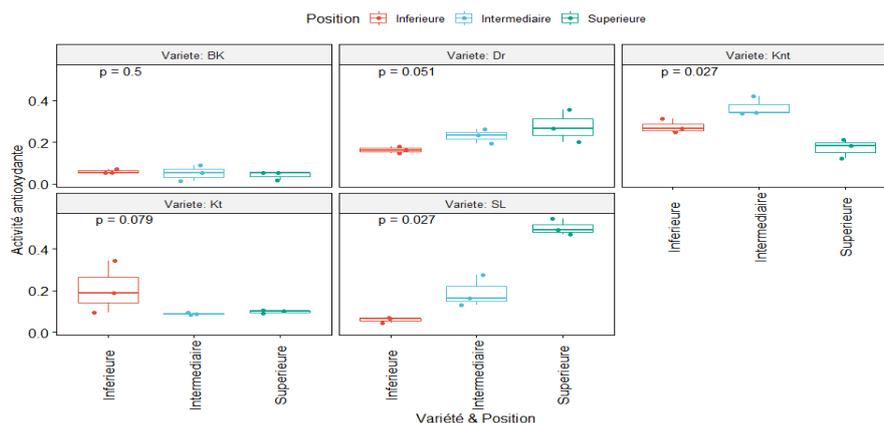
D'après les résultats du test de **Kruskal Wallis**  $X^2$  (**p = 0,0001**), il y a au moins, une variété dont l'activité antioxydante est significativement différente des autres variétés et que l'effet position n'a pas beaucoup d'influence (p.value=0,5> 0,0001).

Pour voir clairement cette différence nous avons réalisé le test de Wilcoxon dans le tableau 2. Ce test permet de comparer les variétés entre elles.

**Tableau 2 : Test de Wilcoxon**

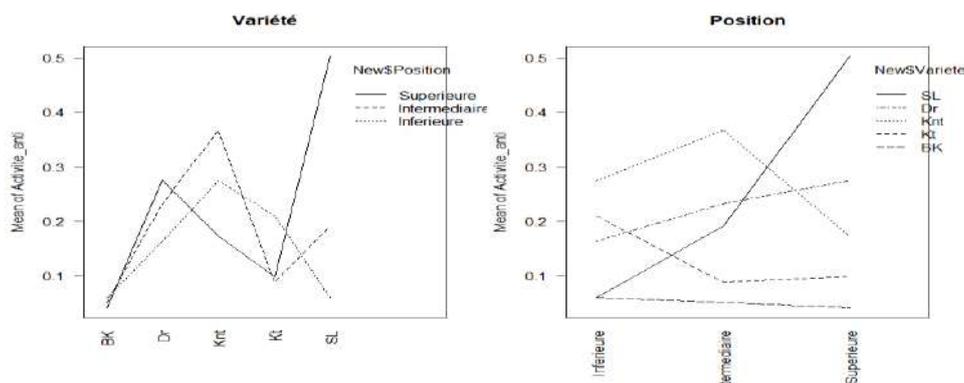
```
## # A tibble: 10 x 8
##   .y.      group1 group2  p  p.adj p.format p.signif method
##   <chr>    <chr> <chr>  <dbl> <dbl> <chr>   <chr>   <chr>
## 1 Activite_anti BK   Dr  0.000409 0.0041 0.00041 ***   Wilcoxon
## 2 Activite_anti BK   Knt 0.000409 0.0041 0.00041 ***   Wilcoxon
## 3 Activite_anti BK   Kt  0.000787 0.0063 0.00079 ***   Wilcoxon
## 4 Activite_anti BK   SL  0.0104  0.052 0.01040 *    Wilcoxon
## 5 Activite_anti Dr   Knt 0.258  1  0.25808 ns    Wilcoxon
## 6 Activite_anti Dr   Kt  0.00777 0.047 0.00777 **   Wilcoxon
## 7 Activite_anti Dr   SL  0.796  1  0.79617 ns    Wilcoxon
## 8 Activite_anti Knt  Kt  0.00564 0.039 0.00564 **   Wilcoxon
## 9 Activite_anti Knt  SL  0.605  1  0.60481 ns    Wilcoxon
## 10 Activite_anti Kt  SL  0.489  1  0.48943 ns    Wilcoxon
```

D'après le tableau, on observe une différence importante de l'activité antioxydante entre la variété fixée Bk et les variétés (Dr, Knt et Kt) d'une part et d'autre part, il n'y a pas de différence significative sur la teneur en activité antioxydante entre la variétés Dr comparée aux variétés Knt et SL. Entre la variété Bk et Sl on observe une légère différence. Cependant, on ne sait pas pour autant quelle est ou quelles sont la ou les variété(s) qui présente(nt) plus d'activité antioxydante. Pour comprendre cela, nous avons réalisé une comparaison des moyennes de l'activité antioxydante au sein de chaque variété et de ses positions.



**Figure 4:** Variation de l'activité antioxydante par variété

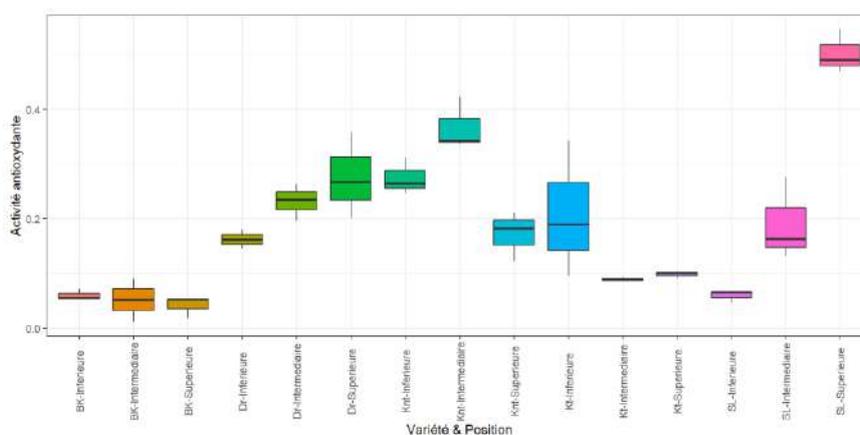
D'après la figure 3, on voit nettement que les variétés SL et Knt ont des teneurs importantes comparées aux autres variétés. Néanmoins, il semble d'après cette figure qu'il y a une variation de l'activité antioxydante selon les positions donc les deux facteurs (position et variété) ne sont pas indépendants. Pour prouver cette hypothèse, on a fait la visualisation des effets du couple (Variété, Position) sur la moyenne de la variable *Activité\_antioxydante* est la suivante sur la figure ci-après :



**Figure 5:** Visualisation couple position et variété suivant la variation de l'activité antioxydante

Les lignes n'étant pas parallèles dans cette figure 4, donc on suppose qu'il y a une influence soit de la position et de la variété sur la teneur en antioxydant.

Pour vérifier cette influence, nous envisageons un modèle et une analyse de variance avec interactions des facteurs (position et couple). Les résultats de ce modèle et l'analyse sont présentés dans la figure suivante:



**Figure 6:** Modèle et analyse de variance.

D'après la figure 5, la moyenne montre que les teneurs en activité antioxydante suivant les positions des variétés SL et Knt sont différentes et que les fruits (mangues) récoltés à la position *supérieure* de la

variété *Sl pour Serra Leone* semblent présenter plus d'activité antioxydante. Nous allons à présent utiliser un modèle pour confirmer ou infirmer cette hypothèse. Pour ce faire nous allons fixer le Statut Supérieure de la variété SL comme références 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. Il faut savoir avant tout que la position supérieure de la variété SL est fixée comme référence (0).

Les résultats du modèle sont rapportés dans le tableau suivant :

**Tableau 3 : Modèle linéaire Généralisé**

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
(Intercept)	-0.6891552	0.8148694	-0.8457247	0.3977063
Var_PositBK-Inférieure	-2.1242556	2.4939064	-0.8517784	0.3943371
Var_PositBK-Intermédiaire	-2.2737873	2.6675132	-0.8523997	0.3939923
Var_PositBK-Supérieure	-2.4888987	2.9434696	-0.8455663	0.3977947
Var_PositDr-Inférieure	-1.1248499	1.6459050	-0.6834234	0.4943394
Var_PositDr-Intermédiaire	-0.7747404	1.4508397	-0.5339945	0.5933453
Var_PositDr-Supérieure	-0.6006176	1.3691849	-0.4386680	0.6609021
Var_PositKnt-Inférieure	-0.6030419	1.3702576	-0.4400938	0.6598692
Var_PositKnt-Intermédiaire	-0.3105172	1.2529208	-0.2478346	0.8042624
Var_PositKnt-Supérieure	-1.0691695	1.6119087	-0.6632941	0.5071422
Var_PositKt-Inférieure	-0.8748315	1.5022063	-0.5823644	0.5603213
Var_PositKt-Intermédiaire	-1.7280928	2.0981733	-0.8236178	0.4101568
Var_PositKt-Supérieure	-1.6251652	2.0091528	-0.8088808	0.4185837
Var_PositSL-Inférieure	-2.1242556	2.4939064	-0.8517784	0.3943371
Var_PositSL-Intermédiaire	-0.9680734	1.5531469	-0.6232980	0.5330887

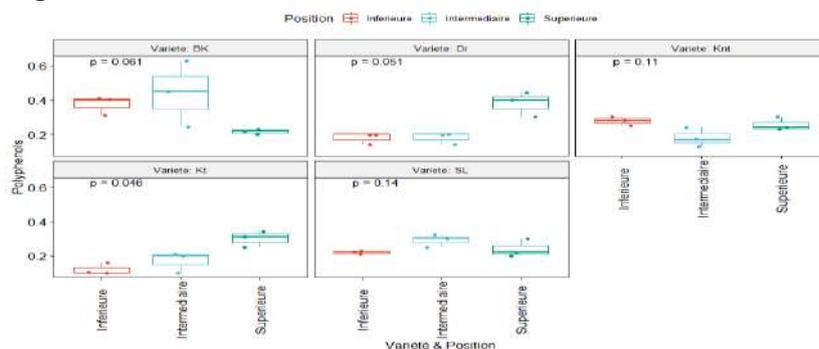
D'après les résultats de ce modèle, on observe que toutes les valeurs sont négatives donc cela confirme l'hypothèse que les facteurs activité et position ont une influence sur la variation de l'activité antioxydante. Au Sénégal pour consommer une mangue riche en activité antioxydante il faut choisir les variétés SL (*position supérieure*) et Knt (*position intermédiaire*).

Les antioxydants sont des substances qui sont présentes à de faibles concentrations par rapport à un substrat oxydable, capables d'inhiber ou de prévenir son oxydation en éliminant les radicaux libres et en diminuant le stress oxydatif [11].

### 3.4- Etude de la Teneur en Polyphénols en fonction de la variété et de la position

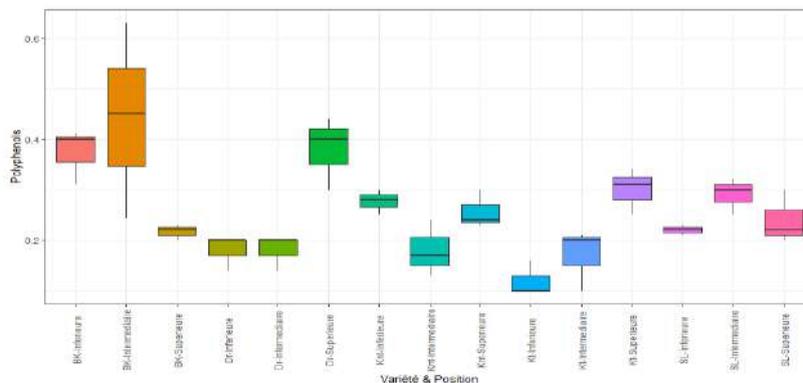
D'après différentes études, nous avons pu noter que l'on retrouve les composés phénoliques dans tout le règne végétal et que ce sont de bons *antioxydants* car ils peuvent donner facilement un atome d'hydrogène ou un électron ce qui permettrait de réduire le stress oxydant en formant des radicaux stables. Les polyphénols regroupent les acides phénoliques (acide gallique), les flavonoïdes (rutine), les tanins et les coumarines. Ce sont aussi des molécules biologiquement actives très recherchées pour leur capacité antioxydante et antiradicalaire entre autres [12].

En partant des analyses faites sur l'activité antioxydante, nous considérons que les facteurs *variété* et *position* ont une influence sur la composition polyphénolique. Pour comprendre cela, nous avons réalisé une comparaison des moyennes de la composition polyphénolique au sein de chaque variété et de ses positions dans la figure suivante:



**Figure 7:** Variation de la composition en polyphénols par variété

D'après cette figure 6, on n'observe pas une grande différence suivant la composition en polyphénols entre les variétés. Toute fois, il semble qu'une différence de cette composition existe entre positions. Pour vérifier cette hypothèse, on a fait une analyse de variance dans la figure suivante:



**Figure 8 :** Analyse de variance de la teneur en polyphénols

Par rapport aux valeurs sur la moyenne, on observe qu'au sein des variétés Knt et Dr, une différence de la composition polyphénolique entre leur position supérieure et les autres positions. D'après cette figure 7, les résultats montrent que la composition en polyphénols de la position *intermédiaire* de la variété Bk est différente de toutes les autres. Pour savoir si cette différence est significative, nous allons fixer le Statut Intermédiaire de la variété Bk 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.

**Tableau 4 : Modèle linéaire Généralisé**

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
(Intercept)	-0.8187104	0.8694013	-0.9416945	0.3463491
Var_PositBk-Inférieure	-0.1665732	1.2840235	-0.1297275	0.8967820
Var_PositBk-Supérieure	-0.7106848	1.5147015	-0.4691913	0.6389329
Var_PositDr-Inférieure	-0.8960880	1.6148409	-0.5549079	0.5789576
Var_PositDr-Intermédiaire	-0.8960880	1.6148409	-0.5549079	0.5789576
Var_PositDr-Supérieure	-0.1488736	1.2779093	-0.1164978	0.9072580
Var_PositKnt-Inférieure	-0.4662315	1.4002423	-0.3329648	0.7391608
Var_PositKnt-Intermédiaire	-0.8960880	1.6148409	-0.5549079	0.5789576
Var_PositKnt-Supérieure	-0.5412666	1.4333738	-0.3776172	0.7057150
Var_PositKt-Inférieure	-1.3015531	1.8797971	-0.6923902	0.4886923
Var_PositKt-Intermédiaire	-0.9532464	1.6482244	-0.5783475	0.5630295
Var_PositKt-Supérieure	-0.3852624	1.3663712	-0.2819603	0.7779740
Var_PositSL-Inférieure	-0.6954173	1.5069873	-0.4614620	0.6444672
Var_PositSL-Intermédiaire	-0.4191640	1.3803204	-0.3036715	0.7613782
Var_PositSL-Supérieure	-0.6084060	1.4644959	-0.4154371	0.6778219

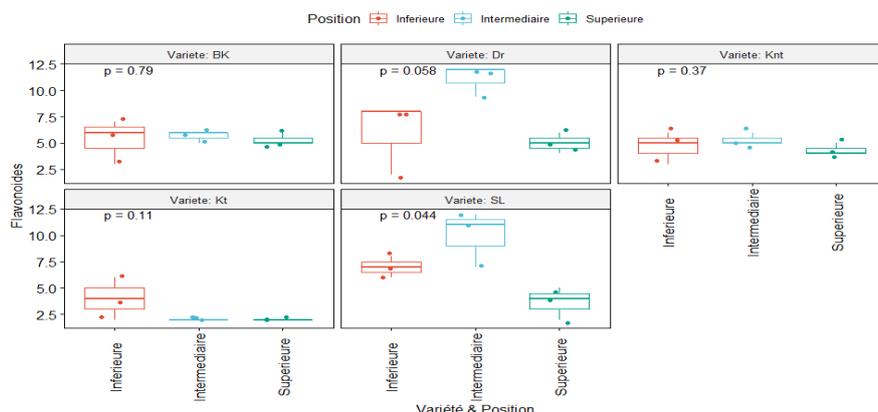
D'après les résultats de ce tableau 4, le modèle utilisé confirme que la composition polyphénolique de la *position intermédiaire* de la variété Bk est différente de celles de toutes les autres positions. On peut dire que la composition polyphénolique varie en fonction de la position mais pas en fonction de la variété. Cette différence sur la composition polyphénolique est observée à la position supérieure de la variété Dr. Ces deux variétés présentent les compositions polyphénoliques les plus importantes.

### 3.5- Etude Teneur en flavonoïdes en fonction de la variété et de la position

Les flavonoïdes sont naturellement présents dans les fruits et légumes couramment consommés dans l'alimentation humaine. On retrouve aussi ces [composés bioactifs](#) dans de nombreuses boissons : vin rouge, bière, lait de soja, thé et chocolat noir. Deux études de 2007 et 2010 évaluent l'apport quotidien à 182 mg au Royaume-Uni [13] et à 190 mg aux États-Unis [14].

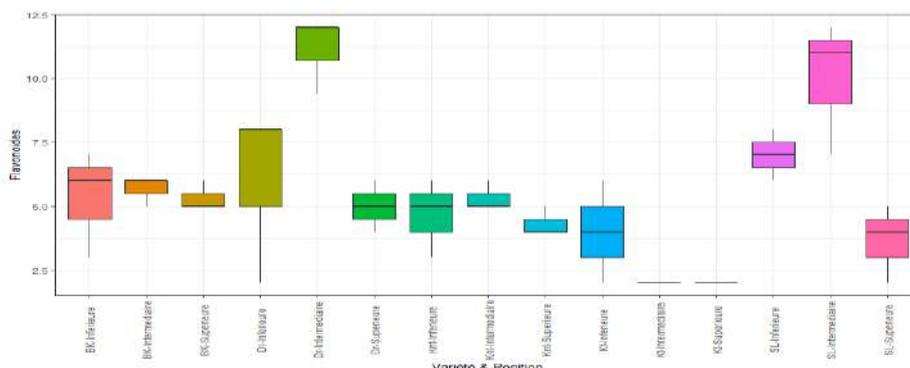
En partant des observations faites sur les teneurs en polyphénols totaux et en activité antioxydante, on considère que la teneur en flavonoïdes varie selon la variété et la position.

Pour comprendre si la position où le fruit a été cueilli et la variété ont un effet sur la teneur en flavonoïdes, on a étudié la moyenne au sein de chaque variété et les résultats sont représentés dans la figure suivante :



**Figure 9 :** variation de teneur en flavonoïdes par rapport à la variété à la position.

D’après les résultats représentés dans cette figure 8, il semble qu’il y a une variation de la teneur en flavonoïdes suivant les positions intermédiaires de la variété SL et Dr par rapport autres. Pour comprendre si cette différence est significative, on a réalisé une analyse de variance d’après la figure suivante :



**Figure 9 :** Analyse de variance de la teneur en flavonoïdes.

De l’analyse de ce graphe, il ressort que la position *Intermédiaire* des variétés *Dr* et *SL* semble contenir le plus de *flavonoïdes*; ce qui reste à prouver *via* des analyses statistiques tellesque:

**Tableau 5 :** Modèle linéaire Généralisé

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
(Intercept)	2.4099436	0.1730350	13.9274957	4.312114e-44
Var_PositBK-Inférieure	-0.7359672	0.3040429	-2.4206032	1.549478e-02
Var_PositBK-Intermédiaire	-0.6753426	0.2979356	-2.2667403	2.340609e-02
Var_PositBK-Supérieure	-0.7359672	0.3040429	-2.4206032	1.549478e-02
Var_PositDr-Inférieure	-0.6181841	0.2923998	-2.1141745	3.450037e-02
Var_PositDr-Supérieure	-0.8005057	0.3108195	-2.5754684	1.001044e-02
Var_PositKnt-Inférieure	-0.8694986	0.3183876	-2.7309438	6.315323e-03
Var_PositKnt-Intermédiaire	-0.7359672	0.3040429	-2.4206032	1.549478e-02
Var_PositKnt-Supérieure	-0.9436065	0.3269024	-2.8865089	3.895418e-03
Var_PositKt-Inférieure	-1.0236493	0.3365641	-3.0414688	2.354270e-03
Var_PositKt-Intermédiaire	-1.7167964	0.4434058	-3.8718399	1.080169e-04
Var_PositKt-Supérieure	-1.7167964	0.4434058	-3.8718399	1.080169e-04
Var_PositSL-Inférieure	-0.4640335	0.2784980	-1.6662005	9.567348e-02
Var_PositSL-Intermédiaire	-0.1073585	0.2515460	-0.4267947	6.695289e-01
Var_PositSL-Supérieure	-1.1106606	0.3476365	-3.1948904	1.398840e-03

Maintenant, on peut confirmer avec certitude que la position Intermédiaire de la variété *Dr* contient de loin le plus de flavonoïdes que les autres positions des autres variétés. Cependant sa teneur en **flavonoïdes** n'est pas statistiquement significative comparée à la position Intermédiaire de la variété *Sl* ce qui était prévisible sur le graphe 8. Consommer régulièrement des **aliments riches en flavonoïdes (antioxydants)**, tels que les pommes et le thé, et faire preuve de modération voire d'abstinence en matière d'alcool et de tabac. Voilà peut-être la clé d'une vie plus longue et en meilleure santé donc la variété *Sl* peut être une alternative au Sénégal [15].

#### 4. Conclusion

Le Sénégal produit beaucoup de variétés de mangue. Cette grande diversité de mangues exploitées fait de ce pays un des leaders en Afrique de l'ouest avec une période d'ouverture d'une durée de six mois [16]. Bien vrai que la mangue soit l'un des fruits les plus accessibles, les études sur la caractérisation biochimique sont quasi-inexistantes. D'après les résultats, la variété locale *Sl* est riche en antioxydants et sa consommation peut aider à lutter contre les maladies cardiovasculaires d'une part et de prévenir les risques liés au cancer d'autre part. Cette étude sur la composition biochimique en antioxydants a permis de révéler que la *variété* et la *position* où le fruit (mangue) a été cueilli ont une influence sur les teneurs en polyphénols totaux, en **flavonoïdes** et en activité antioxydante. D'après toutes les observations faites, la position inférieure n'a jamais été la meilleure. Donc, il serait nécessaire d'essayer à comprendre pourquoi la composition varie au sein d'une même variété selon la position où le fruit a été cueilli mais aussi si cette variation des teneurs dépend de la taille de plante?

#### 5. Bibliographie :

- [1]. Varoquaux P., 2002. Fruits frais prêts à l'emploi dits de 4<sup>ème</sup> gamme. Technologies de Transformation des Fruits, Tec et Doc Editions. 119-156.
- [2]. Serville Y., 1984. Valeur alimentaire des aliments du 5<sup>è</sup> et 6<sup>è</sup> groupes. Tremolieres J, Serville Y, Jacquot R, Dupin H, Manuel d'alimentation humaine, (2) 291-310.
- [3]. Gorinstein S, Zemser M, *et al.* 1999 June Comparative content of total polyphenols and dietary fiber in tropical fruits and persimmon. *J Nutr Biochem*;10(6):367-
- [4]. <https://www.lanutrition.fr/bien-dans-son-assiette/aliments/fruits/mangue/les-caracteristiques-de-la-mangue>
- [5]. Djioua T., 2010. Amélioration de la conservation des mangues 4<sup>ème</sup> gamme par application de traitements thermiques et utilisation d'une conservation sous atmosphère modifiée. Thèse de l'Université d'Avignon. 169.
- [6]. **Source** : report-filièremangue-africa-occ-October 24, 2012-original.
- [7]. <https://www.afterfp7.eu/content/download/4293/32686/version/1/file/D1233+SOPs+for+Sensory+Physical+and+textural+analysis+for+Group+3.pdf>
- [8]. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. 2004 Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr*; 44(4):275-95.
- [9]. Rocha Ribeiro SM, Queiroz JH, *et al.* 2007 Antioxidant in Mango (*Mangifera indica* L. Pulp). *Plant Foods Hum Nutr*.
- [10]. Singh UP, Singh DP, *et al.* 2004 Characterization of phenolic compounds in some Indian mango cultivars. *Int J Food Sci Nutr* 2004 March; 55(2):163-9.
- [11]. Northrop-Clewes C.A., & Thurnham D.I. 2007. Monitoring micronutrients in Nutrition, Roland A., Schneider R., Razungles A., Guernevé C., & Cavelier F. 2010. Straightforward synthesis of deuterated precursors to demonstrate the biogenesis of aromatic thiols in wine. *Agric. Food Chemistry*, (10) 1010-1996.
- [12]. Mohdaly A.A.A., Smetanska I., Ramadan M.F., Mo-hamed A., Mahmoud S.A. 2011. Antioxidant potential of sesame (*Sesamum indicum*) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils. *Industrial Crop and Products*, (34), 952–959.
- [13]. Beking K, Vieira A., « An assessment of dietary flavonoid intake in the UK and Ireland. 2010. *International journal of food sciences and nutrition*, 62 (1), 17-19
- [14]. Chun OK, Chung SJ, Song WO., Estimated dietary flavonoid intake and major food sources of U.S. adults. 2007. *The Journal of nutrition*, 137(5), 1244-1252
- [15]. <https://www.santemagazine.fr/actualites/actualites-alimentation/pomme-the-et-moderation-les-trois-ingredients-pour-une-longue-vie-426367>.
- [16]. <https://www.senegal-export.com/exportation-de-la-mangue.147.html>.

## Caractérisation et valorisation des graines de *Vitex doniana* en produits alimentaires

Anien Marcelle Ghislaine <sup>1</sup>, Kone Kisselmina Youssouf <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut National Polytechnique Houphouët-Boigny (INP-HB), Laboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse et de l'Environnement, BP 1313 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire  
marcelle.anien20@inphb.ci

### Résumé

Le prunier des savanes (*Vitex doniana*) est une ressource ligneuse forestière et sauvage dont les fruits sont très appréciés par les populations locales [1]. Les graines de la prune noire, fruits de *Vitex doniana* sont comestibles. Malheureusement, ces graines sont négligées, sous-utilisées (généralement rejetée après consommation de la pulpe comme un déchet) et ne sont pas valorisées [2], [3]. L'objectif de ce travail sera donc de valoriser les graines de la prune noire (*Vitex doniana*) en développant des méthodes de sa transformation en produits alimentaires. Ainsi, les fruits de *Vitex doniana* seront récoltés dans trois régions du Nord de la Côte d'Ivoire. Des méthodes classiques d'analyses biochimiques seront utilisées dans un premier temps pour établir un profil physico-chimique de ces graines. Ensuite, Il sera question de déterminer le mode de valorisation des graines de *Vitex doniana* en un produit alimentaire. Enfin, de formuler ce produit alimentaire. Au terme de ce travail, les graines de *Vitex doniana* seront caractérisées et le produit alimentaire à base de graines de *Vitex doniana* sera formulé. Toutefois, l'utilisation de ce produit alimentaire à haute valeur ajoutée pourrait constituer un gain économique pour les populations locales.

**Mots clés** : Caractérisation, valorisation, *Vitex doniana*, Produit alimentaire

### Characterization and valorization of *Vitex doniana* seeds in food products

#### Abstract

The savanna plum (*Vitex doniana*) is a forest and wild woody resource whose fruits are highly valued by local populations [1]. The seeds of the black plum, fruit of *Vitex doniana*, are edible. Unfortunately, these seeds are neglected, underutilized (generally rejected after consumption of the pulp as waste) and are not valued [2], [3]. The objective of this work will be to valorize the seeds of the black plum (*Vitex doniana*) by developing methods for its transformation into food products. The fruits of *Vitex doniana* will be harvested in three regions of northern Côte d'Ivoire. Classical methods of biochemical analysis will be used in a first step to establish a physicochemical profile of these seeds. Then, it will be a question of determining the mode of valorization of the seeds of *Vitex doniana* in a food product. Finally, to formulate this food product. At the end of this work, the seeds of *Vitex doniana* will be characterized and the food product based on the seeds of *Vitex doniana* will be formulated. However, the use of this food product with high added value could be an economic gain for the local populations.

**Keywords** : Characterization, Valorization, *Vitex doniana*, Food product

## 1. Introduction

Le prunier noir (*Vitex doniana*) est une espèce d'arbre à usages multiples (alimentaires, thérapeutiques, culturels). Cet arbre de la famille des Lamiaceae, est beaucoup prisé pour ses fruits comestibles [4]. En effet, le fruit du prunier noir (pulpe et graine) est très répandue en Afrique de l'Ouest tropicale, s'étendant vers l'Est jusqu'à l'Ouganda, la Tanzanie, au Kenya [5].

En Côte d'Ivoire, il se rencontre au centre dans le V-Baoulé, au Nord-Ouest (Séguéla) [6], au nord (Korhogo, Tengréla) [7] et au Nord-Est (Bondoukou) [8].

Du point de vue nutritionnel, la pulpe de *Vitex doniana* constitue une bonne source de glucides, de micronutriments tels que le calcium (320 mg / 100 g de MS), le magnésium (45,05 mg / 100 g de MS), le fer (5,20 mg / 100 g) et le phosphore (16,50 mg / 100 g de MS) et de vitamines [9]. La graine de *Vitex doniana*, constitue quant à elle, une bonne source de composés phénoliques, de lipides et d'acides aminés essentiels [10]. Malheureusement, en Côte d'Ivoire, les graines de *Vitex doniana* ne sont pas comestibles. Elles sont négligées et sous-utilisées (généralement rejetée après consommation de la pulpe comme un déchet). Pourtant, dans certains pays de l'Afrique tropicale, notamment le soudan, cette graine est valorisé traditionnellement en boissons. L'objectif de cette étude est de valoriser les graines de la prune noire (*Vitex doniana*) en développant des méthodes de sa transformation en produits alimentaire.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel

Les fruits mûrs de *Vitex doniana* seront récoltés, au nord de la Côte d'Ivoire, dans les zones de forte production de ces fruits. Ils seront ensuite acheminés au laboratoire, où ils seront lavés avec de l'eau de robinet puis stockés dans une chambre froide à -18°C jusqu'au moment des analyses.

### 2.2. Méthodes

Dans la suite de ce travail, les fruits seront sortis de la chambre froide et mis à dégivrer à température ambiante. Après dépulpage, les graines obtenues seront séchées à l'air libre et un échantillon composite de graines sera moulu pour la caractérisation physico-chimique des graines.

### 2.2.1. Caractérisation physico-chimique des graines de *Vitex doniana*

Afin d'effectuer un profil physico-chimique des graines de *Vitex doniana* les analyses suivantes seront effectuées :

- pH: pH mètre
- Acidité titrable : titration
- Acidité volatile : distillation
- Teneur en eau et matière sèche :
- Dosage des protéines (méthode de Kjeldahl)

Cette étape permettra de déterminer la teneur en protéines totaux contenu dans le broyat de graines de *Vitex doniana*, en multipliant la quantité d'azote protéique obtenue par un facteur de conversion correspondant.

- Détermination du profil des acides aminés essentiels (par chromatographie).
- Dosage des lipides (méthode de soxhlet).

La détermination de la teneur en lipides se fera par la méthode de soxhlet. Les matières grasses seront extraites à ébullition par de l'hexane pur. Le solvant est ensuite éliminé par évaporation et le résidu est séché et pesé.

- Quantification des acides gras essentiels (chromatographie)
- Dosage des glucides (méthode différentielle)
- Dosage des fibres
- Dosage des polyphénols totaux
- Dosage des flavonoïdes
- Teneur en cendres totaux (méthode thermogravimétrique)
- 

### 2.2. Voie de valorisation du produit alimentaire et formulation

La seconde partie de ce travail sera consacrée à la détermination du produit alimentaire. Le produit alimentaire sera déterminé en fonction des propriétés nutritives des graines obtenues. Pour conclure, le produit alimentaire déterminé sera formulé.

### 3. Résultats attendus

Au terme de cette étude,

- Les propriétés nutritives de la graine de *Vitex doniana* seront déterminées,
- Le produit alimentaire à base des graines de *Vitex doniana* sera déterminé et formulé.

### 4. Conclusion

Le Prunier des savanes (*Vitex doniana*) est une espèce naturelle. Les graines de *Vitex doniana* ont une valeur ajoutée et regorgent de nombreuses potentialités capitalisables au niveau nutritionnel. Par ailleurs aucune méthode de transformation de la graine n'existe. La transformation de la graine de *Vitex doniana* en produits alimentaires contribuera en revanche à sa valorisation. Toutefois, l'utilisation du produit alimentaire formulé pourrait constituer un gain économique pour les populations locales.

### 5. Bibliographie

- [1] K.-S. Haffiata, K. K. Youssouf, A. K. David, et S. Doudjo, « Effet du procédé de valorisation de la pulpe de prunes noires (*Vitex doniana*) en nectars sur les caractéristiques physicochimiques et nutritionnelles », *International Journal of Innovation and Applied Studies*, vol. 30, n° 3, p. 728-739, 2020.
- [2] O. Okogeri et U. J. Amah, « Chemical Properties of Indigenous Wild Black Plum (*Vitex doniana*) Seed », p. 4, 2019.
- [3] F. K. Traore, P. A. Ahi, Y. K. Kone, D. Soro, et E. N. Assidjo, « Profils des consommateurs et caractérisations physiques et chimiques des fruits de la prune noire (*Vitex doniana*) du Département de Bondoukou au Nord-Est de la Côte d'Ivoire », *International Journal of Innovation and Applied Studies*, vol. 25, n° 1, p. 121-130, 2018.
- [4] M. Larwanou, « Rapport du Niger », *éditeurs. 2002. Réseau «Espèces Ligneuses Alimentaires»*. *Compte rendu de la première réunion du Réseau tenue 11–13 décembre 2000 au CNSF Ouagadougou, Burkina Faso. Institut International des Ressources Phytogénétiques*, vol. 30677, p. 108, 2002.
- [5] M. Oumorou, T. Sinadouwirou, M. Kiki, R. G. Kakai, G. A. Mensah, et B. Sinsin, « Disturbance and population structure of *Vitex doniana* Sw. in northern Benin, West Africa », *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, vol. 4, n° 3, 2010.

- [6] G.-A. Ambé, « Les fruits sauvages comestibles des savanes guinéennes de Côte-d'Ivoire : état de la connaissance par une population locale, les Malinké. », *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, vol. 5 (1), p. 43-58, 2001.
- [7] D. Ouattara, D. Kouame, M.-S. Tiebre, Y. J.-C. Kouadio, et K. E. N'guessan, « Biodiversité végétale et valeur d'usage en zone soudanienne de la Côte d'Ivoire », *Int. J. Bio. Chem. Sci.*, vol. 10, n° 3, p. 1122, déc. 2016, doi: 10.4314/ijbcs.v10i3.18.
- [8] D. Ouattara, D. Kouame, M.-S. Tiebre, Y. J.-C. Kouadio, et K. E. N'guessan, « Biodiversité végétale et valeur d'usage en zone soudanienne de la Côte d'Ivoire », *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, vol. 10, n° 3, p. 1122-1138, 2016.
- [9] S. O. Ajenifujah-Solebo et J. O. Aina, « Physico-chemical properties and sensory evaluation of jam made from black-plum fruit (*Vitex doniana*) », *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, p. 4772-4784 p., 2011.
- [10] N. Salih et E. M. Yahia, « Phenolics and fatty acids compositions of vitex and baobab seeds used as coffee substitutes in Nuba Mountains, Sudan », *Agriculture and Biology Journal of North America*, vol. 6, p. 90-93, 2015.

## Diversité morphologique et génétique des géniteurs de *Oreochromis niloticus* de trois fermes piscicoles de la région du Haut Sassandra (Côte d'Ivoire)

Yoboue Ahou Nicole Epse Kouame<sup>1\*</sup>, Kouame Kouamé Martin<sup>1</sup>, Boussou Koffi Charles<sup>1</sup>, Adepo-Gourene Béatrice<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de BioEcotrop, UFR-Environnement, Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, BP 150 Daloa

<sup>2</sup> Laboratoire de Génétique, UFR-Sciences de la Nature, Université Nangui Abrogoua Abidjan, 02 BP 801 Abidjan 02

### Résumé :

La satisfaction des besoins en poissons reste encore difficile suite à l'épuisement des ressources naturelles. Afin de proposer les géniteurs les plus aptes pour la pisciculture, la caractérisation morphologique et génétique de géniteurs de *Oreochromis niloticus* a été réalisée dans trois fermes piscicoles : Kilomètre 12, APDRACI et Quartier Manioc.

Au niveau morphologique, 147 spécimens ont été analysés à partir de 16 caractères métriques. Pour la génétique, des extraits d'ADN ont été obtenus à partir des échantillons de muscles prélevés sur 70 individus en utilisant le protocole d'extraction de l'ADN de *Simulium damnosium* puis génotypés à partir de 4 marqueurs microsatellites.

Pour la variabilité morphologique, une différenciation est observée entre population ( $P < 0,001$ ). L'ACP a montré que les géniteurs de Guessabo et de Kilomètre 12 sont corrélés à treize caractères métriques de croissance. Les géniteurs de Kilomètre 12 sont morphologiquement identiques aux spécimens du milieu naturel (Guessabo).

Au niveau génétique, une forte diversité est observée chez les géniteurs de Kilomètre 12 ( $A = 4,25$  ;  $He = 0,68$  ;  $P(95\%) = 100$ ). Mais dans l'ensemble, une faible diversité est enregistrée. Un déficit en hétérozygotes ( $F > 0$ ) a été observée traduisant une consanguinité intra-élevage entraînant une régression des ressources génétiques.

**Mots clés :** *Oreochromis niloticus* ; fermes piscicoles ; variabilité morphologique ; diversité génétique.

## Morphological and genetic variability of *Oreochromis niloticus* genitors from three fish farms in Haut Sassandra region (Côte d'Ivoire)

### Abstract

Meeting fish needs is still difficult due to the depletion of natural resources. In order to provide the most suitable broodstock for fish farming, the morphological and genetic characterization of *Oreochromis niloticus* genitors in three fish farms (Kilometer 12, APDRACI and Cassava district) of Daloa was carried out. At the morphological level, 147 specimens were analyzed from 16 metric characters. For genetics, DNA extracts were obtained from muscle samples taken from 70 individuals using the *Simulium damnosium* DNA extraction protocol and then genotyped from 4 microsatellite markers. At the morphological variability, the differentiation is observed between populations ( $P < 0.001$ ). The PCA showed that the genitors of Guessabo and Kilometer 12 are correlated with thirteen metric growth traits. The genitors of Kilometer 12 are morphologically identical to specimens from the natural environment (Guessabo). At the genetic level, a strong genetic diversity is observed in the parents of Kilometer 12 ( $A = 4.25$ ;  $He = 0.68$ ;  $P(95\%) = 100$ ). But overall, low diversity is recorded. A deficit in heterozygotes ( $F > 0$ ) was observed, reflecting intra-breeding consanguinity leading to a regression of genetic resources.

**Keywords :** *Oreochromis niloticus* ; fish farms ; morphological variability ; genetic diversity

### 1. Introduction

Le poisson, très riche en protéines à valeur biologique élevée est la seule source de protéines accessibles dans certaines zones rurales et urbaines [1]. Toutefois, la satisfaction des besoins en poissons des populations humaines reste encore difficile suite à l'épuisement des stocks des ressources halieutiques naturelles [2]; [3]. En Côte d'Ivoire, la production piscicole ivoirienne en 2012 est estimée à seulement 3720 tonnes pour une production halieutique totale de 75 611 tonnes, avec une demande annuelle en ressources halieutiques estimée à environ 300 000 tonnes/an [4]. Pour satisfaire aux besoins de la population, la Côte d'Ivoire s'est dotée, récemment, d'un Plan stratégique de développement de l'élevage, de la pêche et de l'aquaculture 2014-2020 (Psdepa),

A cet effet le choix a été porté sur la pisciculture du tilapia *Oreochromis niloticus*. Ce poisson est intéressant pour la pisciculture en raison de ses caractéristiques biologiques et zootechniques (grande rusticité, reproduction spontanée en captivité, régime alimentaire peu exigeant en protéines, plasticité vis-à-vis des systèmes d'élevage) particulièrement adaptées à l'élevage [5].

Cependant, la production y demeure extrêmement limitée. En effet, le développement de l'aquaculture en Côte d'Ivoire [6] ; [7], fait face à de nombreuses contraintes, parmi lesquelles la disponibilité des ressources génétiques ainsi que leur conservation.

Dans le souci d'une recherche de solutions, notre étude se fixe donc pour objectif général de contribuer à l'amélioration de la production de cette espèce. De façon spécifique, il s'agira de : -déterminer les caractéristiques morphologiques des géniteurs de trois fermes piscicoles de la ville de Daloa ;

-caractériser la diversité génétique des géniteurs ;

- déterminer le taux de consanguinité de ces spécimens.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Présentation du site d'étude

Les sites d'échantillonnage sont constitués de trois fermes piscicoles. La ferme de l'Association Pisciculture et Développement Rural en Afrique tropicale humide en Côte d'Ivoire (APDRACI) est située au Sud-Ouest de la ville dans le quartier Orly extension sur l'axe Daloa-Issia 07°81'412''N ; 07°58'083''O. La ferme du quartier manioc est située au Sud de la ville 07°83'276''N ; 07°57'670''O et celle du village kilomètre 12 est située à l'Est de la ville entre les villages Zépréghé et kilomètre 12 sur l'axe Daloa-Abidjan 07°92'795''N ; 07°64'772''O.

### Matériel Biologique

Le matériel biologique est constitué de 147 spécimens de *Oreochromis niloticus* (Figure 1), dont 32 pour Kilomètre 12 ; 31 provenant de ADRAPCI ; 39 du fleuve Sassandra (Guéssabo) et 45 du quartier Manioc. Pour les analyses génétique 70 spécimens ont été analysés (30 Kilomètre 12, 30 quartier Manioc et 10 ADRAPCI).



Figure 1: Spécimen de *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)

## Méthodes

### Echantillonnage des spécimens

L'échantillonnage des spécimens a été fait à l'aide de filets maillants. Les échantillons de Guéssabo nous proviennent de pêche artisanale et ceux des fermes de pêches occasionnelles faite par les pisciculteurs.

### 2.3.2. Analyse morphologique

Pour l'acquisition des données, un ichtyomètre a permis de mesurer la longueur standard (LS) et la longueur totale (LT). 14 autres descripteurs métriques ont été choisis. Ce sont : la longueur de la tête (LT<sub>e</sub>), la longueur du museau (LM), largeur Inter-orbital (LIO), longueur prédorsale (LPrD), longueur preanale (LPrA), longueur prépectorale (LPrP), longueur prépelvienne (LPrPe), longueur de la base de nageoire dorsale (LD), longueur de la base de la nageoire anale (LA), longueur de la nageoire pectorale (LNP), longueur de la nageoire pelvienne (LNPe), haut du pédoncule caudal (HPC), longueur dorso-anale (LDA) et la hauteur du corps (HC). Ces 14 caractères ont été déterminés à travers un système de réseau en treillis construit à l'aide des points repères [8] grâce aux logiciels TPSdig2, TPSUtil et Past (version. 2.09). Ensuite les données morphométriques ont été standardisées afin d'éviter les variations de l'effet taille liées aux différences d'âge entre les individus [9].

### 2.3.3. Analyse génétique

L'extraction de l'ADN génomique a été réalisée à partir des tissus du poisson de *Oreochromis niloticus* selon le protocole modifié de NaCl. L'ADN a été amplifié par la technique de PCR à partir de quatre marqueurs microsatellites UNH178, UNH860, UNH874 et UNH1003 [10] et [11].

Les paramètres de diversité génétiques tels que le nombre moyen d'allèles (A), le taux de polymorphisme (P%), l'hétérozygotie observée (H<sub>o</sub>) et l'hétérozygotie attendue (H<sub>e</sub>) ont été déterminés.

Le taux de consanguinité a été évalué à partir du paramètre F<sub>IS</sub> de Wright. Il mesure l'excès ou le déficit d'hétérozygotie à l'intérieur de chaque population. La valeur du F<sub>IS</sub> varie entre -1 et 1. Si F<sub>IS</sub> > 0, les sous-populations présentent un déficit d'hétérozygotes, F<sub>IS</sub> < 0 un excès en hétérozygotes, F<sub>IS</sub> = 0, les sous-populations sont à l'équilibre de Hardy-Weinberg.

### 2.3.4. Analyse statistique

#### 2.3.4.1. Données morphologiques

##### Analyse univariée

L'analyse univariée a concerné la statistique descriptive (la moyenne, l'écart type), le coefficient de variation et l'analyse univariée (ANOVA).

Les statistiques descriptives permettent de faire ressortir les limites de variation des caractères. Ces limites sont utilisées pour déterminer les variations morphométriques au sein de chaque population [12].

Le coefficient de variation permet d'évaluer les variations des caractères métriques au sein de chaque groupe. L'ANOVA est utilisé pour mettre en évidence la répartition discriminatoire des différentes populations en indiquant les paramètres qui permettent de différencier les populations.

#### Analyse multivariée

L'analyse multivariée concerne l'analyse en composantes principales (ACP). L'ACP est utilisée pour mettre en évidence la répartition discriminatoire des différentes populations et les paramètres qui contribuent à leur séparation. Ces traitements ont été fait à l'aide du logiciel STATISTICA 7.1

#### 2.3.4.2. Données génétiques

Les paramètres de diversité et le taux de consanguinité ont été déterminés à partir des logiciels GENETIX et FSTAT.

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1 Résultats

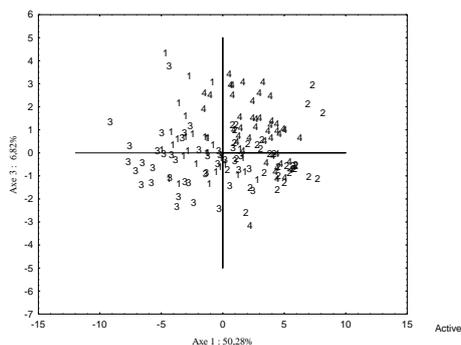
##### Analyse Morphologique

Pour tous les caractères métriques, la longueur standard a été retirée dans toutes les analyses parce qu'elle a servi à la standardisation des données métrique. Le coefficient de variation montre que tous les caractères métriques sont hétérogènes ( $CV > 10\%$ ) (Tableau I.) Ces valeurs élevées de CV révèlent une variabilité morphologique au sein des populations. L'analyse de l'ANOVA à un facteur montre une différence significativité des différentes variables métriques ( $P < 0,05$ ). Aussi la comparaison des moyennes entre les différentes populations montre que les fortes moyennes ont été obtenues dans les populations de Kilomètre 12 et de Guéssabo et les plus faibles au niveau des populations de ADRAPCI et Manioc (Tableau I).

L'examen de la matrice des poids factoriels a retenu le premier axe (50,28 %) et le troisième axe (6,81 %) qui expliquent 57,03 % de la variabilité totale observée pour l'Analyse en Composantes Principales (ACP). Le premier axe est défini par 13 variables métriques de croissance qui lui sont négativement corrélés (Tableau II). L'ACP repartit les spécimens en deux groupes distincts. Le premier groupe représenté par les polygones 1 et 3 (Kilomètre 12 et de Guéssabo), est réparti du côté négatif de l'axe 1 (Figure 2) aussi bien que les 13 paramètres métriques de croissance. Le deuxième groupe est représenté par les polygones de 2 et 4 correspondant aux populations de ADRAPCI et Quartier Manioc.

**Tableau I :** Données descriptives et test de l'Anova des caractères méristiques sur l'ensemble des populations

Population	Kilomètres	ADRAPCI	Guéssabo	Manioc	C V	P
LM	1,058	0,815	1,014	0,930	26,59	0.0003
Lte	4,379	3,410	4,347	3,692	20,11	<0,0001
LPrD	6,119	4,458	6,175	4,763	19,94	<0,0001
LPrA	11,873	7,941	11,870	8,472	23,94	<0,0001
LPrP	5,105	4,023	5,079	4,167	19,91	<0,0001
LPrPe	6,289	4,558	6,273	4,834	20,69	<0,0001
LIO	0,929	1,543	0,957	0,870	107,74	0.05
LND	9,168	5,670	9,093	6,226	27,28	<0,0001
LDA	9,485	6,102	9,467	6,255	26,80	<0,0001
HC	6,931	4,596	6,947	4,750	25,18	<0,0001
HPC	2,359	1,590	2,291	1,610	24,13	<0,0001
LNA	2,861	2,292	2,822	2,016	33,88	<0,0001
LNP	6,083	4,025	6,101	4,121	27,01	<0,0001
LNPe	4,729	2,786	4,706	3,231	28,74	<0,0001
LT	16,701	12,902	19,208	13,488	22,54	<0,0001



**Figure 2 ; Répartition des spécimens par l'Analyse factorielle de correspondance**  
**Tableau II: Contribution de l'axe factoriel et corrélation des variables à l'axe factoriel**

	Axis 1	Axis 2	Axis 3
Cumul Own value	14.07	16.54	18.45
% Total Variance	50.28	8.81	6.81
Cumul %	50.28	59.09	65.90
Lte	<b>-0.853</b>	0.142	0.263
LPrD	<b>-0.953</b>	0.078	0.124
LPrA	<b>-0.969</b>	0.061	-0.031
LPrP	<b>-0.872</b>	0.139	0.260
LPrPe	<b>-0.961</b>	0.109	-0.094
LND	<b>-0.941</b>	0.016	0.073
LDA	<b>-0.959</b>	0.160	-0.047
HC	<b>-0.945</b>	0.207	-0.051
HPC	<b>-0.921</b>	0.198	0.030
LNP	<b>-0.915</b>	0.173	-0.021
LNPe	<b>-0.919</b>	0.071	-0.037
LT	<b>-0.896</b>	-0.096	0.052
LS	<b>-0.908</b>	-0.052	0.007

### Analyse génétique

Une forte diversité a été observée au sein de la population de Kilomètre 12 ( $A = 4,25$  ;  $He = 0,68$  ;  $P (95\%) = 100$ ) comparativement aux deux autres fermes (Tableau III). Les valeurs du taux de consanguinité ( $F_{IS}$ ) est dans l'ensemble très élevé et proche de 1 au sein des populations analysées. Ceci sous-entend qu'il a un déficit en hétérozygote (tableau IV).

**Tableau III: Diversité génétique des populations de *Oreochromis niloticus***

Populations	P (%)	A	$H_0$	He
Kilomètre 12	100	4,25	0,25	0,68
Manioc	75	3,25	0,00	0,54
Moyenne	87,5	3,75	0,25	0,61

**Tableau IV : Valeurs du taux de consanguinité**

Kilomètre 12	Quartier Manioc	Adrapci	Ensemble des populations
--------------	-----------------	---------	--------------------------

	Fis			
<b>UNH178</b>	0,778	1,000	-	0,882
<b>UNH1003</b>	0,818	-	1,000	0,945
<b>UNH874</b>	0,700	1,000	-	0,864
<b>UNH860</b>	0,467	1,000	-	0,770
<b>Moyenne</b>	0,696	1,000	1,000	0,865

### 3.2 Discussion

L'objectif de cette étude a été de déterminer la diversité morphologique et génétique au sein des géniteurs de *Oreochromis niloticus* dans trois fermes piscicoles de Daloa.

Les résultats des statistiques univariées et multivariées réalisées sur les descripteurs métriques ont montré une variabilité morphométrique très remarquable entre les quatre populations étudiées. La statistique élémentaire révèle de fortes valeurs de coefficient de variation (CV) pour toutes les variables morphométriques au sein des populations. Ces valeurs, comprises entre 19,91 et 107,74 %, indiquent de fortes variations morphologiques à l'intérieur de ces populations. Cela pourrait attester de l'impact de l'environnement sur la mise en place des différents phénotypes. Cette hétérogénéité phénotypique observée est donc une réponse adaptative de certains individus aux variations environnementales comme l'ont rapporté [13]. Les résultats de l'ANOVA indiquent que tous les paramètres morphométriques varient d'une population à une autre. Cette variabilité morphologique se révèle aussi bien au niveau de la tête qu'au niveau du corps et des nageoires des différents spécimens. Ces descripteurs pourraient, par conséquence, être considérés comme des traits écologiques clés, liés aux habitats de ces populations de poissons. Toutes ces différences morphologiques témoignent de l'existence d'une plasticité phénotypique au niveau de l'espèce *Oreochromis niloticus*. En effet, les spécimens de ADRAPCI et quartier Manioc proviennent principalement de la zone urbaine de Daloa qui est une zone polluée. Les géniteurs de la ferme Kilomètre 12 et Guessabo sont corrélés aux 13 paramètres métriques de croissance. Les individus des fermes manioc et APDRA-CI sont morphologiquement similaires à ceux du quartier manioc.

Les paramètres de diversité génétique ( $A = 2,75$  et  $He = 0,46$ ) observés en général chez l'espèce *Oreochromis niloticus* dans cette étude sont très faibles par rapport à ceux obtenus par [14] ( $A = 9,1$  ;  $He = 0,54$ ) sur 13 spécimens de poissons d'eaux douces analysés et [15] sur 55 échantillons de *Sarotherodon melanotheron* du lac d'Ayamé ( $A = 5,4$  ;  $He = 0,52$ ). Cependant les plus fortes valeurs sont obtenues chez les géniteurs de Kilomètre 12.

Les valeurs de  $F_{IS}$  ont montré un écart à l'équilibre de Hardy-Weinberg dans le sens d'un déficit en hétérozygote pour l'ensemble des populations analysées et pour tous les marqueurs étudiés. Les renseignements obtenus avec les pisciculteurs confirment que ces déficits en hétérozygotes est dus à la pratique d'un régime de reproduction essentiellement endogamique dans les fermes prospectées. En effet les individus consanguins sont plus homozygotes sur l'ensemble des loci que les individus non consanguins [16].

### 4. Conclusion et Perspectives

Au terme de cette étude, nous retenons au niveau morphologique que les géniteurs de Kilomètre 12 ont révélé les meilleures caractéristiques de croissance car ils sont caractérisés par 13 caractères métriques de croissance. Du point de vue génétique, les paramètres de diversité génétique sont plus élevée à Kilomètre 12 mais faible dans l'ensemble des populations. Un déficit en hétérozygotes est observé dans toutes les fermes. Ceci révèle la pratique de croisement consanguin dans ces fermes piscicoles entraînant une régression des ressources génétiques. Dans l'avenir, il serait nécessaire de faire des essais de croisement entre des géniteurs de Kilomètre 12 et des géniteurs du milieu naturel puis suivre la descendance et d'étendre l'étude à l'échelle nationale afin de déceler les géniteurs les plus aptes à la pisciculture pour une meilleure performance.

### 5. Bibliographie

- [1] Gaye-siessegger J., Fockena U., Abel F. & Becker H.J.K. (2005). Improving estimates of trophic shift in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*(L.), using measurements of lipogenic enzyme activities in the liver. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 140 (1): 117-124
- [2] Tacon A.G.J. (2004). Use of fish meal and fish oil in aquaculture : a global perspective. *Aquatic Resources, Culture and Development*, 1 : 3-14
- [3] Marra J. (2005). When will we tame the oceans. *Nature*, 436 : 175-176.
- [4] FAO (2014). La Situation Mondiale des Pêches et de l'Aquaculture. Possibilité et Défis. FAO : Rome, Italie ; 275.
- [5] LAZARO J., 2009. La pisciculture des tilapias. *Cahiers Agricultures*. 18(2-3) : 174-182.

- [6] Amon Y.N., Yao K., Ouattara M., Kouman Y.C., & Atse B.C. (2013). Morphologie des hybrides issus du croisement intergénérique entre *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) et *Sarotherodon melanotheron* (Rüppel, 1852). *Journal of Applied Biosciences*, 69: 5475–5486.
- [7] Konan G.N., Yao S.S., Gouli G.B. & Ndouba V. (2015). Update of ichthyofaunadiversity and ecologicalstatus of a coastal River Nero (Côte d’Ivoire – West Africa). *Saudi Journal Biological Sciences*, 22(3): 265–273.
- [8] Bookstein F. L., (1982). Foundation of morphometrics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 13 : 451-470
- [9] Dumay O., Tari P.S., Tomasini J.A., et Mouillot D., (2004). Functional groups of lagoon fish species in Languedoc-Rousillon (South of France, Mediterranean Sea). *Journal of Fish Biology*, 64 (4), 970–983.
- [10] Carleton K.L., Streelman J.T., Lee B.Y., Garnhart N., Kidd M. & Kocher T.D. (2002). Rapid isolation of CA microsatellites from the tilapia genom. *International Society for Animal Genetics, Animal Genetics*, 33: 140-144
- [11] Ndiwa T.C., Nyingi D.W. & Agnese J.F. (2014). An Important Natural Genetic Resource of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) threatened by Aquaculture Activities in Lobo Drainage, Kenya. *Plos one*, 9: 1-15.
- [12] Tshibwabwa, (1997). Systématique des espèces africaines du genre *Labeo* (Teleostei, Cyprinidae) dans les régions ichthyogéographiques de Basse-Guinée et Congo. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences, Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix (Belgique) ,530p.
- [13] Grandjean F., Romain D., A vila-Zarza C., Bramard M., Souty-Grosset C., Mocquard J. P., (1997). Morphometry, sexual dimorphism and size at maturity of the white-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes pallipes* (Lereboullet) from a wild French population at Deux-Sèvres (Decapoda, Astacidae). *Crustaceana*, 70 (1) : 31-44.
- [14] Dewoody J.A. & Avise J.C. (2000). Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology*, 56: 461-373.
- [15] Yoboué A.N. (2013). Diversité, structure et réponse génétiques de *sarotherodon melanotheron* provenant des certains hydrosystèmes stressés du Sénégal et de la Côte d’Ivoire, UFR Sciences et Gestion de l’Environnement. Thèse de doctorat de l’Université Abobo Adjamé (Abidjan, Côte d’Ivoire), 155 p.
- [16] Castric V., Bernatchez L., Belkhir K. & Bonhomme F. (2002). Heterozygote deficiencies in small lacustrine populations of brook charr *Salvelinus fontinalis* Mitchill (Pisces, Salmonidae) : a test of alternative hypotheses. *Heredity*, 89: 27- 35.

**Groupe Thématique 4 (ReCMOA) :  
Modélisation en Chimie, Chimie Théorique**

## Développement de modèles QSPR pour la prédiction des valeurs de $pK_A$ de quelques acides carboxyliques dans les mélanges eau-éthanol à partir des descripteurs quantiques déterminés par la DFT

Assouma Dagri Cyrille<sup>1</sup>, Edith Kouassi Kwa-Koffi<sup>2</sup>, Niamien Paulin Marius<sup>2</sup>, Avo Bilé Ehui Bernadette<sup>2</sup> et Henri Aka Kouassi<sup>2</sup>

*1 UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, Korhogo, Côte d'Ivoire*

*2 Laboratoire de Constitution et de Réaction de la Matière, UFR SSMT, Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, Abidjan, Côte d'Ivoire.*

### Résumé :

La constante de dissociation ( $pK_A$ ) des acides est l'un des paramètres physicochimiques les plus utilisés, aussi bien dans l'industrie que dans la recherche fondamentale. Il joue un rôle fondamental dans plusieurs procédures analytiques [1-3]. A partir des valeurs de  $pK_A$  expérimentalement obtenues, cinq modèles QSPR (Quantitative Structure-Property Relationship) ont été développés pour prédire théoriquement les  $pK_A$  des acides benzoïque, salicylique, lactique. Les valeurs de  $pK_A$  de ces trois acides carboxyliques ont été déterminées dans les mélanges eau-éthanol par la méthode potentiométrique [4]. Les modèles ont été élaborés à partir des corrélations des valeurs expérimentales de  $pK_A$  avec trois descripteurs quantiques calculés par la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) utilisant la régression linéaire multiple. Les valeurs de  $pK_A$  des acides benzoïque, salicylique, lactique varient respectivement de 4,19 à 7,10 ; de 2,99 à 5,05 et de 3,85 à 6,85. Les modèles QSPR obtenus reproduisent de manière efficace et fiable les valeurs expérimentales de  $pK_A$ . Les différentes valeurs de  $pK_A$  montrent que les acides carboxyliques deviennent de moins en moins dissociés lors de l'ajout de l'éthanol dans l'eau. Nous utiliserons pour les prochains modèles QSPR, un grand nombre de molécules d'acides carboxyliques ayant la même structure de base.

**Mots clés :** Constantes de dissociation ; Mélanges eau-éthanol ; QSPR ; DFT

## Development of QSPR models for the prediction of $pK_A$ values of some carboxylic acids in water-ethanol mixtures from quantum descriptors determined by DFT

### Abstract:

The acids dissociation constant ( $pK_A$ ) is one of the most widely used physicochemical parameters, both in industry and in fundamental research. It plays a fundamental role in several analytical procedures [1-3]. From the  $pK_A$  values obtained experimentally, five QSPR (Quantitative Structure-Property Relationship) models were developed to theoretically predict the  $pK_A$  of benzoic, salicylic and lactic acids. The  $pK_A$  values of these three carboxylic acids were determined in water-ethanol mixtures by the potentiometric method [4]. The models were elaborated from the correlations of the experimental values of  $pK_A$  with three quantum descriptors calculated by density functional theory (DFT) using multiple linear regression. The  $pK_A$  values of benzoic, salicylic and lactic acids vary respectively from 4.19 to 7.10, from 2.99 to 5.05 and from 3.85 to 6.85. The QSPR models obtained reproduce efficiently and reliably the experimental values of  $pK_A$ . The different  $pK_A$  values show that the carboxylic acids become less and less dissociated when the ethanol is added to the water. For future QSPR models, we will use a large number of carboxylic acid molecules with the same basic structure.

**Keywords :** dissociation constants ; water-ethanol mixtures ; QSPR; DFT

### 1. Introduction

La propriété physico-chimique qui caractérise l'état de dissociation d'un composé chimique et/ou biochimique en solution est la constante de dissociation ( $K_A$  ou  $pK_A$ ). La prédiction et la détermination de  $pK_A$  de manière aussi fiable que possible des composés organiques jouent un rôle fondamental dans beaucoup de procédures analytiques telles que les titrages acido-basiques, les extractions et les purifications de solvants, la formation des complexes et le transport d'ions [1-4]. Il a été montré que le  $pK_A$  des composés permet d'évaluer les phénomènes chimiques et biologiques tels que l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'élimination, la toxicité, la solubilité des composés dans les cellules biologiques, le transport biologique et dans l'environnement [5].

De nombreuses techniques expérimentales telles que la potentiométrie, la spectrophotométrie, la chromatographie liquide (LC ou liquid chromatography), la chromatographie liquide à haute performance (HPLC ou High performance liquid chromatography), la conductimétrie, l'électrophorèse capillaire (CE ou capillary electrophoresis) [4, 6 -9, 10-22] sont employées pour atteindre les valeurs de  $pK_A$ . Cependant, la détermination expérimentale de  $pK_A$  n'est pas une tâche aisée [23]. En plus, les valeurs obtenues sont souvent associées à des incertitudes élevées. Même pour de petites molécules, les précisions sur les valeurs de  $pK_A$  sont affectées par le choix de la méthode expérimentale, le contrôle de la température, la composition du solvant et par la stabilité des produits chimiques utilisés [24].

Ainsi, de nos jours, les chimistes s'orientent, dans plusieurs cas, vers des méthodes de recherches qui consistent à prédire les propriétés physico-chimiques des molécules avant même que celles-ci ne soient synthétisées. Une discipline faisant partie de la chimie « computationnelle » a été alors développée. Il s'agit de la modélisation QSPR (Relation Quantité Structure à Propriété ou Quantitative Structure-Property Relationship) [25-27]. L'élaboration de modèles mathématiques QSPR reliant les propriétés physico-chimiques à la structure moléculaire permet de développer de nouvelles théories ou d'expliquer les phénomènes observés, de prédire les propriétés physico-chimiques de composés pour lesquelles les données expérimentales ne sont pas disponibles.

Ce travail est consacré à la détermination par potentiométrie et à la modélisation QSPR des constantes thermodynamiques de dissociation de trois petites molécules d'acides carboxyliques (acides benzoïque, salicylique, lactique) dans les mélanges eau-éthanol.

Le but de notre travail est dans un premier temps de déterminer expérimentalement les  $pK_A$  des acides benzoïque, salicylique, lactique dans les mélanges eau-éthanol afin d'élaborer une base de données. Dans un deuxième temps, d'utiliser la base de données de  $pK_A$  pour développer des modèles QSPR pour la prédiction théorique des valeurs de  $pK_A$  de ces trois acides carboxyliques. Les méthodes QSPR reposent sur la caractérisation des molécules par un ensemble de descripteurs mesurés ou calculés à partir des structures moléculaires.

## 2. Matériel et méthodes

Pour mener à bien notre étude, nous avons utilisé la méthode expérimentale potentiométrique pour déterminer les valeurs de  $pK_A$ . Nous nous servons des valeurs de  $pK_A$  obtenues par cette méthode expérimentale pour établir des modèles QSPR afin de prédire théoriquement ces mêmes valeurs à partir des descripteurs quantiques calculés par la théorie de la fonctionnelle de densité (DFT).

### 2.1 Solvants et produits chimiques

#### 2.1.1 Choix des solvants

Dans cette étude, nous avons utilisé les mélanges eau-éthanol à des teneurs de 0 ; 16,3 et 80 % en masse d'éthanol. L'eau utilisée est doublement distillée, sa conductivité est inférieure à  $10^{-6} \Omega^{-1} \text{cm}^{-1}$ . L'éthanol est doublement distillé en présence de l'acide picrique suivant la méthode de Weissberger et *al.* [28]. La teneur déterminée est d'environ 0,05% en masse d'eau. Cette proportion a été reprise en présence du sodium de manière à obtenir de l'éthanol absolu.

#### 2.1.2 Produits chimiques

Tous les produits chimiques issus utilisés de Merck sont de qualités analytiques. Leurs constantes physiques sont voisines à celles des valeurs trouvées dans les tables [29-32]. Le tableau 1 présente les acides et leurs sels de bases conjuguées.

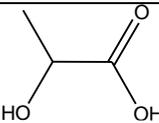
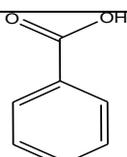
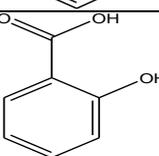
**Tableau 1 : Acides étudiés et leurs sels de bases conjugués**

Acides	Sels de base conjuguée
Acide lactique (pureté = 90 %)	Lactate de sodium (pureté = 50 %)
Acide benzoïque (pureté = 99,9 %)	Benzoate de sodium (pureté = 100 %)
Acide salicylique (pureté = 98 %)	Salicylate de sodium (pureté = 99,5 %)

Les acides benzoïque et salicylique ainsi que leurs sels sont des poudres blanches tandis que l'acide lactique et son sel sont liquides. Tous les acides et leurs sels sont stockés sous vide dessiccateur avant toute utilisation.

Ces produits chimiques sont soigneusement purifiés selon les méthodes conventionnelles [28, 29] avant toute utilisation. Les formules des acides carboxyliques sont contenues dans le Tableau 2. On constate que les structures de tous ces acides contiennent une seule fonction carboxyle (COOH). Ce sont donc des monoacides carboxyliques.

**Tableau 2 : Structures des acides carboxyliques étudiés**

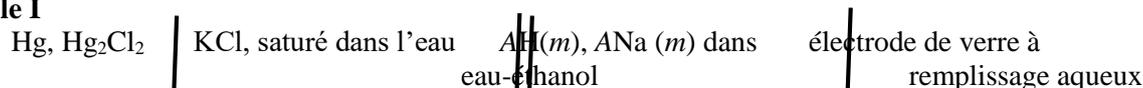
Nom des acides carboxyliques	Formules brutes et semi-développées	Formules développées
Acide lactique	$C_3H_6O_3$ $HO-C_2H_4-COOH$	
Acide benzoïque	$C_7H_6O_2$ $C_6H_5-COOH$	
Acide salicylique	$C_7H_6O_3$ $HO-C_6H_4-COOH$	

## 2.2 Méthode expérimentale potentiométrique

### 2.2.1 Appareillage

L'évaluation des constantes de dissociation des acides carboxyliques par la méthode potentiométrique nécessite un calibrage de l'électrode utilisé. Ce calibrage doit être effectué en termes de concentration en protons à force ionique constante tel que recommandé par IUPAC [33, 34]. La mesure du pH des monoacides carboxyliques est effectuée à l'aide de la pile I suivante :

#### Pile I



L'électrode de verre et l'électrode au calomel sont reliées à un pH-mètre Tacussel -Recherche permettant les mesures à 0,01 unité de pH près. Les solutions sont placées dans une cellule à double enveloppe où circule un courant d'eau maintenu à une température fixe par un thermostat à  $\pm 0,1$  K. La mesure de pH est effectuée à la température de 298 K.

### 2.2.2 Préparation des solutions et mesures

On prépare cinq solutions équimolales en acide et en sel alcalin de cet acide de concentrations variant de  $3 \cdot 10^{-3}$  M à  $16 \cdot 10^{-3}$  M de sorte à obtenir des mélanges tampons. Les concentrations de ces solutions sont exprimées en molalité par pesée des produits chimiques à  $10^{-4}$  près. Le pH de ces solutions est mesuré à l'aide des piles I. Trois mesures de pH sont réalisées pour chaque solution tampon formée dans chaque solvant mixte eau-éthanol. Les pH mesurés permettent de déterminer les valeurs de  $pK_A$  à partir des équations 1, 2, 3 et 4 :

$$pK_A = pH + \frac{S'Z_i^2\sqrt{I}}{1+A'a_i\sqrt{I}} \quad (1); \quad I = \frac{1}{2}\sum_i C_i Z_i^2 \quad (2); \quad S' = \frac{1,8245 \times 10^6}{(\epsilon T)^{3/2}} \quad (3); \quad A' = \frac{59,20}{(\epsilon T)^2} \quad (4)$$

Où I est la force ionique de la solution,  $C_i$  et  $Z_i$  sont respectivement la concentration et la charge de l'ion i,  $S'$  et  $A'$  sont des constantes qui dépendent de la température et de la constante diélectrique ( $\epsilon$ ) du solvant,  $a_i$  est le rayon de l'ion i. Il est généralement estimé à 5Å par de nombreux auteurs [35, 36].

## 2.3 méthode théorique

### 2.3.1 Méthode de calcium des descripteurs

Pour déterminer les descripteurs des structures moléculaires des acides lactique, benzoïque et salicylique, des calculs de chimie quantique ont été effectués. Ces calculs impliquent :

- Une présentation graphique de la géométrie des molécules à l'aide d'un logiciel infographique (**Gaussview**).

- L'application d'une méthode théorique (DFT) ; cette méthode est implantée dans le logiciel commercial (**Gaussian 03 W**) [37]. Nous pouvons ainsi accéder à un ensemble de grandeurs (**descripteurs des molécules**) qui aident à élucider la structure électronique du système chimique.

Dans le cadre de ce travail, la géométrie des différentes molécules a été optimisée en utilisant la théorie de la Fonctionnelle de la Densité (DFT), au niveau B3PW91 (fonctionnelle hybride) avec la base d'orbitales LANL2DZ (base à pseudo-potentiel). Tous les descripteurs moléculaires des acides sont calculés en phase gazeuse. Ces descripteurs sont les énergies des orbitales frontières ( $E_{\text{HOMO}}$  et  $E_{\text{LUMO}}$ ), le moment dipolaire ( $\mu$ ) et la charge ( $\delta$ ) de l'atome d'oxygène lié à l'hydrogène du groupe hydroxyle. Un descripteur supplémentaire a été obtenu en combinant les énergies des orbitales frontières précédemment mentionnées. Ce combiné est le gap d'énergie LUMO-HOMO ( $\Delta E = E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}}$ ).  $\Delta E$  est proportionnelle à la dureté  $\eta$  qui est un descripteur de la réactivité chimique.

### 2.3.2 Etude théorique du modèle QSPR

Dans cette étude, le modèle QSPR a été développé à partir de trois descripteurs moléculaires ( $D_i$ ) choisis parmi cinq. La forme générale du modèle est donnée par l'équation de régression linéaire multiple ci-dessous :

$$pK_A = AD_1 + BD_2 + CD_3 + E \quad (5)$$

Dans l'équation 5,  $D_i$  est le descripteur ( $i$  varie de 1 à 3). A, B, C et E sont les inconnues du modèle appelées coefficients de régression linéaire. Ainsi, en utilisant quatre valeurs expérimentales  $pK_A$ , nous avons obtenu un système de quatre équations avec quatre inconnues. Les solutions de ces systèmes ont été calculées en utilisant le programme Excel 2007.

## 3. Résultats et discussion

### 3.1 Résultats des mesures potentiométriques de $pK_A$

Nous avons préparé des solutions tampons d'acides dans trois solvants mixtes eau-éthanol dont la proportion en masse éthanol sont de 0 ; 16,3 et 80%. Les constantes physico-chimiques de ces solvants hydroorganiques sont contenues dans le tableau 3. Dans le tableau 3, la fraction molaire de l'éthanol ( $X_{\text{ETOH}}$ ) croit avec l'augmentation de la proportion en éthanol dans le mélange eau-éthanol. Cependant la contente diélectrique ( $\epsilon$ ) diminue. Les constantes  $S'$  et  $A'$  sont respectivement à partir des équation 3 et 4 à la température de 298 K.

**Tableau 3 :** Constantes physico-chimiques des solvants hydroorganiques

% en masse d'éthanol	0	16,3	80
$X_{\text{ETOH}}$	0	0,1	0,6
$\epsilon$	78,5	69,7	35,3
$S'$	0.5099	0.6095	1.6911
$A'$	0.3288	0.3489	0.4903

Les différentes valeurs expérimentales potentiométriques de  $pK_A$  des acides benzoïque, salicylique et lactique ainsi leurs précisions à la température de 298 K sont rassemblées dans le tableau 4.

Les précisions sur les valeurs de  $pK_A$  sont calculées à partir de la relation 6 :

$$\Delta pK_A = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_i (pK_{A_i} - \overline{pK_A})^2} \quad (6)$$

Où N est le nombre de solutions préparées pour un solvant donné. Dans notre travail N est égal à 5,  $pK_{A_i}$  est la constante thermodynamique de dissociation dans la solution  $i$  de force ionique I.  $\overline{pK_A}$  est la valeur moyenne du  $pK_A$ . A la température de 298 K, les valeurs expérimentales de  $pK_A$  des acides benzoïque, salicylique et lactique évoluent respectivement de ( $4,19 \pm 0,02$  ;  $2,98 \pm 0,02$  ;  $3,86 \pm 0,01$ ) dans l'eau à ( $7,10 \pm 0,01$  ;  $5,05 \pm 0,01$  ;  $6,06 \pm 0,02$ ) dans le mélange à 80% en masse d'éthanol. Les valeurs de  $pK_A$  de ces trois acides croissent avec l'augmentation de la teneur en éthanol dans les mélanges eau-éthanol. Les acides benzoïque, salicylique et lactique deviennent donc moins dissociés avec l'augmentation de la teneur en éthanol dans les solvants mixtes eau-éthanol.

Pour comprendre du point de vue quantique, les phénomènes chimiques liés à la réaction de dissociation des acides carboxyliques, nous avons par la suite développé des modèles théoriques pour la prédiction des valeurs de  $pK_A$

**Tableau 4 :** Valeurs expérimentales potentiométriques de  $pK_A$  des acides

Noms des acides	% en masse d'éthanol	0	16,3	80
	$X_{\text{ETOH}}$	0	0,1	0,6
	$\epsilon$	78,5	69,7	35,3
Acide benzoïque	$pK_A$	$4,19 \pm 0,02$	$4,70 \pm 0,02$	$7,10 \pm 0,01$
Acide salicylique	$pK_A$	$2,98 \pm 0,02$	$3,18 \pm 0,02$	$5,05 \pm 0,01$
Acide lactique	$pK_A$	$3,86 \pm 0,01$	$3,98 \pm 0,02$	$6,06 \pm 0,02$

### 3.2 Développements des modèles QSPR

#### 3.2.1 Calcul des descripteurs

Les descripteurs moléculaires intervenant dans l'étude QSPR ont été choisis sur la base d'informations recueillies dans la littérature. Ces descripteurs sont :

- $E_{\text{HOMO}}$  : énergie de l'orbitale moléculaire occupée la plus haute. Elle est directement liée au potentiel d'ionisation. Elle indique que la molécule est susceptible aux attaques électrophiles.
- $E_{\text{LUMO}}$  : énergie de l'orbitale moléculaire vacante la plus basse. Elle est liée à l'affinité électronique Elle indique que la molécule est susceptible aux attaques nucléophiles.
- $\mu$  : moment dipolaire (D). Il caractérise la polarité de la molécule.
- $\Delta E = E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}}$  : le gap d'énergie LUMO-HOMO. Il est proportionnel à la dureté  $\eta$  qui est un descripteur de la réactivité chimique. Il est aussi un important indice de stabilité de la molécule.
- $\delta$  : la charge portée par l'atome d'oxygène lié à l'hydrogène du groupe hydroxyle.

Les valeurs des différents descripteurs des acides carboxyliques sont rassemblées dans le tableau 5.

Les valeurs des énergies HOMO et LUMO de tous les acides étudiés sont toutes négatives. Ces énergies représentent les énergies des états électroniques des structures géométriques les plus stables des molécules. Les valeurs positives du moment dipolaires indiquent que les molécules des acides carboxyliques étudiés sont polarisées.

**Tableau 5 :** Valeurs des descripteurs quantiques des acides carboxyliques.

	$E_{\text{HOMO}}$ (e)	$E_{\text{LUMO}}$ (eV)	$\mu$ (D)	$\delta$ (e)	$\Delta E$ (eV)
Acide lactique	-7,7996	-0,9185	2,7625	-0,4572	6,881
Acide benzoïque	-7,4604	-1,8768	2,2513	-0,4933	5,583
Acide salicylique	-6,7780	-1,7495	3,4987	-0,5111	5,028

#### 3.2.2 Elaboration des modèles QSPR

Une série de jeux de trois descripteurs parmi cinq a été utilisée pour développer un modèle. Nous avons pu établir cinq modèles QSPR à partir des valeurs expérimentales potentiométriques de  $pK_A$  des acides lactique, benzoïque et salicylique et d'une série de combinaison de valeurs de trois descripteurs du tableau 5. Les cinq modèles QSPR développés dans trois solvants eau-éthanol (0, 16,3 et 80% en masse d'éthanol) sont représentés par les équations ci-après :

$$\begin{aligned}
 \text{modèle 1 } (\Delta E, \mu, \delta) & : pK_A = A\Delta E + B\mu + C\delta + E ; \\
 \text{modèle 2 } (E_{\text{LUMO}}, E_{\text{HOMO}}, \Delta E) & : pK_A = AE_{\text{LUMO}} + BE_{\text{HOMO}} + C\Delta E + E ; \\
 \text{modèle 3 } (E_{\text{LUMO}}, E_{\text{HOMO}}, \mu) & : pK_A = AE_{\text{LUMO}} + BE_{\text{HOMO}} + C\mu + E ; \quad (7) \\
 \text{modèle 4 } (E_{\text{LUMO}}, \Delta E, \mu) & : pK_A = AE_{\text{LUMO}} + B\Delta E + C\mu + E \\
 \text{modèle 5 } (E_{\text{HOMO}}, \Delta E, \mu) & : pK_A = AE_{\text{HOMO}} + B\Delta E + C\mu + E
 \end{aligned}$$

Où  $A$ ,  $B$ ,  $C$  et  $E$  sont les inconnues du modèle ou coefficients de régression

Afin de déterminer la qualité d'un modèle, différents indicateurs statistiques sont employés. Le plus répandu d'entre eux est le coefficient de corrélation  $R^2$  qui évalue la part de la variance expliquée par le modèle.

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (pK_{\text{expi}} - pK_{\text{acati}})^2}{\sum_{i=1}^n (pK_{\text{Aexp}i} - \overline{pK_{\text{Aexp}}})^2} \quad (8)$$

Avec  $i$  l'indice de la molécule,  $n$  le nombre de molécules concernées par l'étude,  $pK_{Acal}$  est le  $pK_A$  calculé par le modèle de régression,  $pK_{Aexp}$  la valeur expérimentale de  $pK_A$  et  $\overline{pK_{Aexp}}$  la valeur moyenne des valeurs expérimentales. Plus la valeur de  $R^2$  sera proche de 1 (cas idéal) et plus les valeurs calculées et observées (expérimentales) seront fortement corrélées. Une faible valeur de  $R^2$  signifie que le modèle a un faible pouvoir explicatif et les descripteurs sont sans effet sur la réponse. Un autre indicateur est l'erreur absolue moyenne (MAE, pour mean absolute error), à laquelle est parfois préférée la déviation standard (SD pour standard deviation). Ces paramètres estiment la dispersion des propriétés calculées par rapport aux propriétés expérimentales (observées).

$$MAE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |pK_{Acali} - pK_{Aexp_i}| \quad (9) \quad SD = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (pK_{Acali} - pK_{Aexp_i})^2} \quad (10)$$

Les coefficients de régression (A, B, C et E) ainsi que les valeurs des coefficients de corrélation ( $R^2$ ) et des déviations standards (SD) des différents modèles sont rassemblées dans le tableau 6.

**Tableau 6 :** Les valeurs des coefficients (A, B, C, D et E) et ( $R^2$ , SD) des différents modèles

	Masse de l'éthanol	A	B	C	E	$R^2$	SD
modèle 1 ( $\Delta E$ , $\mu$ , $\delta$ )	0	2,06	-1,03	-69,19	-39,15	0,999	0,033
	16,3	2,24	-1,35	-80,97	-44,73	0,999	0,010
	80	3,04	-1,88	-111,83	-111,83	0,999	0,017
modèle 2 ( $E_{LUMO}$ , $E_{HOMO}$ , $\Delta E$ )	0	4332,52	-4331,00	-4330,74	-3,54	0,999	0,032
	16,3	5083,90	-5083,50	-5082,15	-5,44	0,956	0,235
	80	7022,84	-7022,37	-7020,50	-5,83	0,996	0,092
modèle 3 ( $E_{LUMO}$ , $E_{HOMO}$ , $\mu$ )	0	50,37	73,50	-46,31	751,31	0,999	0,019
	16,3	58,77	86,16	-54,35	880,36	0,999	0,013
	80	81,11	119,09	-75,08	1216,84	0,999	0,021
modèle 4 ( $E_{LUMO}$ , $\Delta E$ , $\mu$ )	0	121,81	-72,25	-45,50	738,71	0,991	0,09
	16,3	42,55	-84,73	-53,44	865,60	0,996	0,062
	80	196,87	-117,08	-73,82	119,43	0,999	0,012
modèle 5 ( $E_{HOMO}$ , $\Delta E$ , $\mu$ )	0	125,15	50,87	-46,079	759,16	0,998	0,04
	16,3	146,65	59,44	-54,98	890,72	0,997	0,052
	80	202,53	82,03	-75,95	1231,13	0,999	0,005

Dans le tableau 6, Chacun des modèles a un coefficient de régression qui tend vers l'unité ( $R^2 = 0,99$ ) avec une faible valeur de déviation standard ( $SD < 0,5$ ). Au vu de ce qui précède, nous pouvons dire que dans les cinq modèles, il existe une forte corrélation entre les valeurs de  $pK_A$  des trois acides carboxyliques et chacun des jeux de trois descripteurs moléculaires calculés en phase gazeuse au niveau B3PW91/LANL2DZ. Ces modèles sont statistiquement significatifs. Par ailleurs, les valeurs de  $pK_A$  obtenues avec ces différents modèles sont identiques aux valeurs expérimentales de  $pK_A$  comme le montre la figure 1. En plus, ces modèles sont robustes avec de bonnes corrélations ( $R^2 > 0,99$  ;  $SD < 0,1$ ). Ces modèles QSPR, avec trois descripteurs quantiques, tels que conçus pourraient donc être utilisables pour la prédiction théorique des valeurs de  $pK_A$  des acides carboxyliques aussi bien en milieu aqueux qu'en milieu eau-éthanol, de manière fiable.

Dans tous les modèles QSPR, les coefficients de régression du moment dipolaire  $\mu$  sont négatifs. Ces valeurs négatives indiquent que le  $pK_A$  et le moment dipolaire ( $\mu$ ) évoluent en sens contraire. Le moment dipolaire contribue à tout moment et de façon efficace à la dissociation des acides carboxyliques. L'importance du moment dipolaire dans la prédiction des valeurs de  $pK_A$  des acides carboxyliques peut être due à la présence de groupe d'hydroxyle (O-H) où la polarisation permanente est liée à la différence d'électronégativité entre les deux atomes. L'atome d'hydrogène du groupe hydroxyle des acides carboxyliques participe à la formation des liaisons hydrogène avec les molécules de solvant. Cependant, les valeurs négatives du coefficient de la charge atomique ( $\delta$ ) dans le modèle 1 pourraient traduire le fait que la participation de l'atome d'oxygène du groupement hydroxyle à la formation des liaisons hydrogène avec les molécules de solvant reste faible. Ainsi du point de vue chimique, la charge atomique  $\delta$  étant faiblement et négativement corrélée au  $pK_A$ , le doublet non liant de l'atome d'oxygène du groupement hydroxyle pourrait avoir un effet antagoniste sur la dissociation des acides carboxyliques.

Ces modèles QSPR montrent que la dissociation des acides carboxyliques pourrait être considérablement influencée par les valeurs des énergies des orbitales LUMO. Cette tendance se traduirait par les grands coefficients positifs de  $E_{LUMO}$  dans les différentes équations des modèles (2, 3 et 4) dans les prédictions de  $pK_A$ . En effet, les valeurs négatives

des énergies des orbitales LUMO (tableau 5) entraînent une diminution des valeurs de  $pK_A$ . Les énergies des orbitales LUMO contribuent à la dissociation des acides carboxyliques.

Dans la prédiction du  $pK_A$  par le modèle 2, la contribution des énergies des orbitales LUMO à la dissociation des acides carboxyliques est atténuée par la présence simultanée des énergies des orbitales HOMO et de  $\Delta E$ . Ces trois descripteurs étant liés, le potentiel d'ionisation ou la dureté peut être considérée comme redondante dans l'établissement du modèle 2. Ce modèle 2 bien qu'ayant un bon pouvoir prédictif de valeurs théoriques de  $pK_A$  des acides carboxyliques, ne permet pas d'expliquer les phénomènes chimiques liée aux réactions de dissociation.

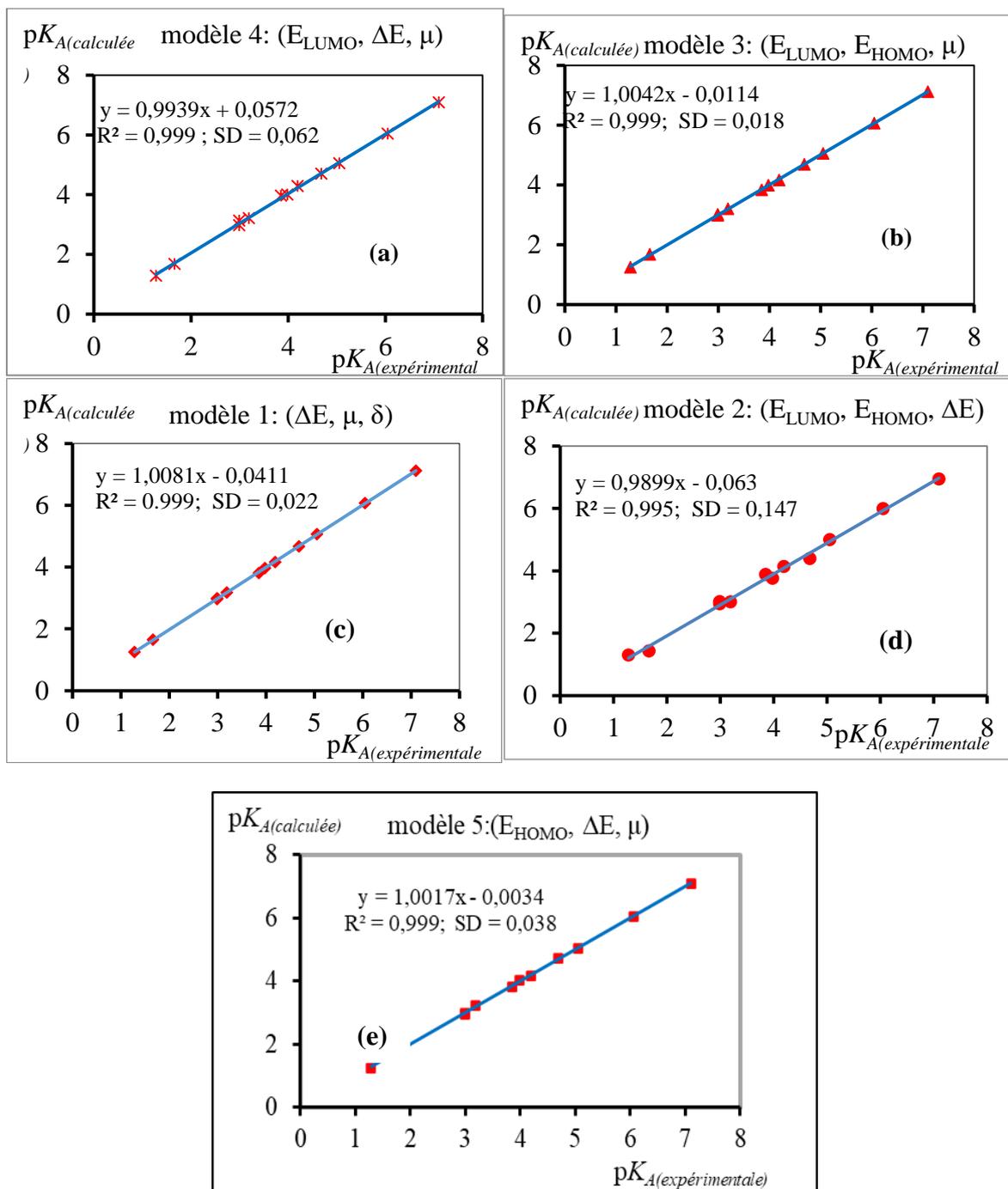
La substitution du descripteur  $\Delta E$  dans les équations du modèle 2 par  $\mu$  conduit au modèle 3 dans lequel la contribution des énergies des orbitales HOMO et LUMO à la dissociation des acides carboxyliques est importante. Les valeurs négatives des énergies des orbitales HOMO et LUMO des acides (tableau 5) entraînent une diminution des valeurs de  $pK_A$  facilitant ainsi la dissociation. Le modèle 3 permet de mieux expliquer les phénomènes chimiques liés à la dissociation lors de la prédiction théorique de  $pK_A$ .

Dans la prédiction de  $pK_A$  par le modèle 4, la contribution des énergies des orbitales LUMO à la dissociation est modulée par la présence simultanée du moment dipolaire ( $\mu$ ) et de  $\Delta E$ . La présence de ces deux descripteurs engendre une augmentation notable de la dissociation. Les équations du modèle 5 sont des combinaisons linéaires de  $E_{HOMO}$ ,  $\Delta E$  et de  $\mu$ . Dans ce modèle 5, les énergies des orbitales HOMO et le moment dipolaire entraînant une diminution des valeurs de  $pK_A$  facilitent la dissociation des acides.

Enfin dans la prédiction théorique des valeurs de  $pK_A$  par les équations de ces cinq différents modèles, les coefficients des descripteurs dans les corrélations évoluent avec l'augmentation de la teneur en éthanol dans les mélanges eau-éthanol. La dissociation des acides carboxyliques dans le mélange eau-éthanol est fortement influencée par la teneur en éthanol : elle se fait plus difficilement quand cette teneur augmente.

Ainsi, nous avons développé cinq modèles QSPR qui pourraient permettre de prédire de façon efficace et fiable les valeurs théoriques de  $pK_A$  des acides carboxyliques dans l'eau et les mélanges eau-éthanol. Ces modèles ont été élaborés à partir des valeurs expérimentales de  $pK_A$  d'une série de trois acides carboxyliques avec trois descripteurs quantiques calculés à l'état gazeux au niveau B3PW91 avec la base LANL2DZ. L'outil mathématique utilisé est la régression linéaire multiple.

Cette étude reste cependant limitée à cause du nombre insuffisant de molécules, de la grande différence de structure des acides carboxyliques utilisés pour l'établissement des modèles. Nous nous proposerons pour la suite d'étendre la détermination et la modélisation à un grand nombre de molécules d'acides carboxyliques ayant la même structure de base et de prendre en compte le solvant dans le calcul des descripteurs quantiques. Nous effectuerons aussi les calculs en utilisant différentes fonctionnelles d'échange corrélation (B3LYP, B3PW91,...) et différentes bases d'orbitales afin d'améliorer les modèles QSPR de prédiction.



**Figure 1** : Corrélations entre valeurs de  $pK_A$  calculées et valeurs de  $pK_A$  expérimentales : modèle 1 (a), modèle 2 (b), modèle 3 (c), modèle 4 (d) et modèle 5 (e)

#### 4. Conclusion

Nous avons déterminé par la technique potentiométrique à la température de 298 K, les valeurs de  $pK_A$  des acides benzoïque, salicylique et lactique dans les mélanges eau-éthanol de 0 ; 16,3 et 80% en masse d'éthanol.

L'observation des résultats expérimentaux des  $pK_A$  confirme la tendance selon laquelle plus la constante diélectrique du solvant diminue (caractérisé par l'augmentation de la teneur en éthanol dans les mélanges), plus le  $pK_A$  augmente. Les acides carboxyliques deviennent moins dissociés lors de l'ajout de l'éthanol dans l'eau.

A partir des valeurs de  $pK_A$  des acides benzoïque, salicylique et lactique déterminées par la méthode potentiométrique dans les mélanges eau-éthanol, nous avons développé cinq modèles QSPR fiables, efficaces et robustes pour la prédiction théorique des valeurs de  $pK_A$  de ces trois acides carboxyliques dans les mélanges eau-éthanol. Chaque modèle a été élaboré à partir d'une série de jeux de trois descripteurs quantiques calculés à l'état gazeux au niveau

B3PW91 avec la base LANL2DZ en utilisant la régression linéaire multiple. Ces modèles offrent en plus de leur pouvoir prédictif élevé des valeurs théoriques de  $pK_A$  des acides carboxyliques, la possibilité d'expliquer les phénomènes chimiques qui accompagnent la réaction de dissociation de ces acides dans laquelle le solvant joue un rôle important.

Cette étude reste cependant limitée à cause du nombre insuffisant de molécules, de la grande différence de structure des acides carboxyliques utilisés pour l'établissement des modèles. Nous nous proposerons pour la suite d'étendre la détermination et la modélisation à un grand nombre de molécules d'acides carboxyliques ayant la même structure de base.

## 5. Bibliographie :

- [1] Mihichuk L. M., Driver G. W., K. Johnson E., *Chem Phys Chem.* 12, 1622-1632 (2011).
- [2] Lazrak F., Essassi E. M., Kandri Rodi Y., Bellan J., *Scientific Study & Research VIII* (1), 61-68 (2007).
- [3] Mchedlov-Petrosyan N. O., *Pure Appl. Chem.* 80 (7), 1459-1510 (2008).
- [4] Masoud M. S., Shaker M. A., Ali A. E., Elasal G. S., *Spectrochimica Acta Part A* 79, 538-547 (2011).
- [5] Martell A. E., Motekaitis R. J., *Determination and Use of Stability Constants, 2nd Ed.*, VCH Publishers. New York, U.S.A, 75-85 (1992).
- [6] Aka K. H., Assouma C. D., Kouassi Kwa-Koffi E., Niamien P. M., Bokra Y., *Phys. Chem. News* 15, 112-119 (2004).
- [7] Hashem E. Y., Seleim M. M., EL-Zohry A. M., *Journal of AOAC International* 93 (3) 833-841(2010).
- [8] Kelen M., Sanli N., *J. Braz. Chem. Soc.* 20 (1), 1-11 (2009).
- [9] Scherrer R. A., Donovan S. F., *Anal Chem.* 81(7), 2768–2778 (2009).
- [10] Şanlı S., Altun Y., Alsancak G., *Journal of Solution Chemistry* 41 (8), 1352-1363 (2012).
- [11] Sanli N., Sanli S., Sızır U., Gumustas M., Ozkan S. A., *Chromatographia* 73, 1171-1176 (2011).
- [12] Lin C.-E., Deng Y.-Jr, Liao W.-S., Sun S.-W., Lin W.-Y., Chen C.-C., *Journal of Chromatography A* 1051, 283-290 (2004).
- [13] Huo H., Zhang T. Li, L., *Springer Plus* 2, 1-5 (2013).
- [14] Demiralay E. Ç., Koç D., Daldal Y. D., Çakır C., *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 71, 139-143 (2012).
- [15] Şanlı S., Şanlı N., Alsancak G., *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20 (5), 1-11 (2009).
- [16] Şanlı N., Şanlı S., Özkan G., Denizli A., *Journal of the Brazilian Chemical Society* 2(10), 1952-1960 (2010).
- [17] Subirats X., Bosch E., Rosés M., *J. of Chromatogr. A* 1059, 33-42 (2004).
- [18] Subirats X., Bosch E., Roses M., *J. of Chromatogr. A* 1121, 170-177 (2006).
- [19] Subirats X., Porrás S. P., Rosés M., Kenndler E., *Journal of Chromatography A* 1079, 246-253 (2005).
- [20] Subirats X., Reinstadler S., Porrás S. P., Raggi M. A., Kenndler E., *Electrophoresis* 26, 3315-3324 (2005).
- [21] Canbay H. S., Demiralay E. C., Alsancak G., Ozkan S. A., *J. Chem. Eng. Data*, 56 (5), 2071-2076 (2011).
- [22] Chan J., Vogel S. M., Wen J., Alany R. G., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 50(1), 86-89 (2009).
- [23] Namazian M., Halvani S., *J.Chem.Thermodynamics* 38, 1495-1502 (2006).
- [24] Pranker D. D., *In Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology. Elsevier Academic Press: San Diego, CA, Vol. 1.* (2007)
- [25] Jover J., Bosque R., Sales J., *QSAR Comb. Sci.* 27(5), 563-581(2008).
- [26] Habibi-Yangjeh A., Danandeh-Jenagharad M., Nooshyar M., *Bull. Korean Chem. Soc.* 12 (26) 2007-2016 (2005).
- [27] Habibi-Yangjeh A., Danandeh-Janagharad M., *Indian Journal of Chemistry* 46, 476-487 (2007).
- [28] a) Weissberger A., Proskauer E. S., Riddick J. A., Toops E. E., *Organic Solvents. Physical properties and Methods of Purification (Russ. Transl.) Mir Moscow.*518 (1985); b) Weissberger A., Proskauer E. S., Riddick J. A., Toops E. E., *Organic Solvents. Physical (Interscience, New York, 1955, Inostrannaya. Literatura, Moscow,* (1958).
- [29] Armarego W. L. E., Li Lin Chai C., *Purification of laboratory chemicals, 3<sup>th</sup> Ed.*, Amsterdam, Boston, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo, (2003).
- [30] Weast R. C., *Handbook of Chemistry and Physics, 65<sup>th</sup> ed.*, Florida: CRC Press, (1985).
- [31] Lide D. R., *Handbook of Chemistry and Physics, 88<sup>th</sup> ed.* CRC, (2007-2008).
- [32] Riemenschneider W., Anifuji M. T., *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 7<sup>th</sup> ed.*, Release (2004).
- [33] Bates R. G., *International Union of Pure and Applied Chemistry*, 420-425 (1969).
- [34] a) Buck R. P., Rondinini S., Covington A. K., Baucke F. G. K., Brett C. M. A., Camões M. F., Milton M. J. T., Mussini T., Naumann R., Pratt K. W., Spitzer P., Wilson G. S., *Pure Appl. Chem.* 74, 2169-2200 (2002); b) Rondinini S., Mussini P. R., Mussini T., Vertova A., *Pure and Appl. Chem.*, 70 (7), 1419-1422 (1998) ; c) Mussini T., Covington A. K., Longhi P., Rondinini S., *Pure and App. Chem.*, 57(6), 865-876 (1985).
- [35] Farajtabar A., Naderi F., Gharib F., *J. Serb. Chem. Soc* 78, 1-11 (2013).
- [36] Canals I., Portal J. A., Bosch E., *J. Chromatogr. Anal. Chem.* 72, 1802-1809 (2000).
- [37] Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Montgomery J. A. Jr., Vreven T., Kudin K. N., Burant J. C., Millam J. M., Iyengar S. S., Tomasi J., Barone V., Mennucci B., Cossi M., Scalmani G., Rega N., Petersson G. A., Nakatsuji H., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Klene M., Li X., Knox J. E., Hratchian H. P., Cross J. B., Bakken V., Adamo Jaramillo C., Gomperts J., R.,

Stratmann R. E., Yazyev O., Austin A. J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J. W., Ayala P. Y., Morokuma K., Voth G. A., Salvador P., Dannenberg J. J., Zakrzewski V. G., Dapprich S., Daniels A. D., Strain M. C., O. Farkas, Malick D. K., Rabuck A. D., Raghavachari K., Foresman J. B., Ortiz J. V., Cui Q., Baboul A. G., Clifford S., Cioslowski J., Stefanov B. B., Liu G., Liashenko A., Piskorz P., Komaromi I., Martin R. L., Fox D. J., Keith T., Al-Laham M. A., Peng C. Y., Nanayakkara A., Challacombe M., Gill P. M. W., Johnson B., Chen W., Wong M. W., Gonzalez C., Pople J. A., *Gaussian 03, revision E.01; Gaussian, Inc.: Wallingford CT (2004).*

## Simulation du traitement par boues actives des effluents industriels en milieu anaérobie

Konan Lopez Kouame<sup>(1)</sup>, Nogbou Emmanuel Assidjo<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Ecole Doctorale Polytechnique (EDP) de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire).

Laboratoire de Procédés Industriels, de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN) de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny (INP-HB) de Yamoussoukro. E-mail : [kouamekonanlopez@gmail.com](mailto:kouamekonanlopez@gmail.com)  
<sup>(2)</sup>Institut National Polytechnique Houphouët-Boigny (INP-HB) de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire). Laboratoire : Responsable du Groupe de Nutrition et de Technologies Alimentaires (GNTA) de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny (INP-HB) de Yamoussoukro. E-mail: [assidjo@yahoo.fr](mailto:assidjo@yahoo.fr)

### Resume

L'industrialisation du monde a occasionnée une augmentation de la production des eaux usées industrielles. Ce qui constitue un danger pour l'environnement. Toutefois, ces effluents doivent être traités avant leur rejet dans l'environnement.

Ce travail a fait l'objet de la conception d'un modèle multiphysique de traitement des effluents industriels.

Nous avons présenté dans ce document une modélisation du traitement des effluents industriels par boues activées en milieu anaérobie. Les phénomènes de ce traitement sont décrits par des équations de conservation de masse, de diffusion, et les équations du modèle ASM, permettant ainsi de simuler le fonctionnement du système par le logiciel Comsol.

La première phase a consisté à la caractérisation des effluents traités dans la station de traitement des eaux usées d'une huilerie située dans la ville d'Abidjan précisément dans la zone industrielle de Vridi, rue du textile. La seconde phase a été la modélisation et les simulations.

Pour valider le modèle, les paramètres des effluents ont été déterminés expérimentalement. Ces valeurs expérimentales ont été utilisées pour concevoir le modèle. Par ailleurs, les valeurs expérimentales de la DCO ont été confrontées à celles du modèle afin de valider les résultats du modèle.

Les résultats expérimentaux et simulés sont quasi identiques d'où la validation du modèle avec un coefficient de performance de  $\gamma = 97\%$ . Cette étude a également montré que la plage optimale de DCO pour le traitement anaérobie des effluents de cette huilerie est [1,7 ; 1,9] (kg/m<sup>3</sup>).

**Mots clefs :** boues activées, simulation, anaérobie, effluents industriels.

## Simulation of activated sludge treatment of industrial effluents in an anaerobic environment.

### Abstract

The industrialization of the world has led to an increase in the production of industrial wastewater. This constitutes a danger for the environment. However, these effluents must be treated before being released into the environment. This paper was the purpose of the design of a multiphysical model for the treatment of industrial effluents.

In this paper, we presented a modeling of the treatment of industrial effluents by activated sludge in anaerobic environment. The phenomena of this processing are described by mass conservation equations, diffusion, and equations of the ASM model, thus making it possible to simulate the operation of the Comsol software system.

The first phase consisted of the characterization of treated effluents in the factory of an oil mill and the second phase consisted of modeling and simulations.

To validate the model, effluent parameters were determined experimentally. These experimental values were used to design the model. Besides, the experimental values of the chemical oxygen need (COD) were compared with those of the model in order to validate the results of the model.

The experimental and simulated results are almost identical, hence the validation of the model with a coefficient of performance of  $\gamma = 97\%$ . This study also showed that the optimal range of COD for the anaerobic treatment of the effluents of this oil mill is [1,7 ; 1,9] (kg/m<sup>3</sup>).

### I.introduction

La gestion des déchets liquides constitue une problématique pour toutes les industries [1].

La société SANIA\_cie, située dans la ville d'Abidjan précisément dans la zone industrielle de Vridi, rue du textile, industrie agro-alimentaire spécialisée dans le raffinage et la commercialisation de l'huile de palme n'échappe pas à cette règle. En effet les activités de l'industrie (raffinage, fabrication de fûts métalliques et emballages) engendrent des rejets liquides avec une forte biodégradabilité [2].

Il convient donc de traiter ces rejets liquides (eaux polluées) afin de les rendre conformes aux spécifications de rejets en Côte d'Ivoire.

Dans cette usine, l'accent est mis sur le traitement biologique en raison de la grande biodégradabilité des effluents traités.

Les traitements biologiques reposent sur l'utilisation des microorganismes qui dégradent les polluants organiques. Ces traitements sont généralement réalisés dans des bioréacteurs avec des conditions aérobies ou anaérobies [3].

Le traitement est dit en anaérobie lorsqu'il se fait en l'absence d'oxygène. Afin de comprendre le comportement des microorganismes anaérobie et de déterminer la performance des procédés anaérobie, une simulation multiphysique s'impose.

C'est dans cette optique que s'inscrit ce projet de modélisation du traitement biologique (en milieu anaérobie) des eaux usées afin de suivre les paramètres et d'avoir une connaissance plus approfondie des traitements anaérobie.

## II. METHODOLOGIE

### Matériel

Plusieurs matériels ont été utilisés dans la réalisation de ce projet. Ce sont entre autre les rapports de suivi, les fiches techniques, des logiciels, des réactifs chimiques et appareillages.

Ces équipements nous ont permis d'effectuer des analyses des différents paramètres recherchés.

Ainsi le mixeur (WARING PRODUCTS DIVISION) a permis d'obtenir des échantillons homogènes. La balance Sartorius pour la pesée des réactifs chimique. Pour les analyses le spectrophotomètre HACH DR 2800 a permis de déterminer, les MES, la turbidité et le chlore total. Le pH-mètre pour le potentiel en hydrogène; L'oxitop® (WTW) pour la DBO et le spectromètre HACH DRB 200 pour la DCO. Pour les dosages la verrerie classique de laboratoire a été utilisée [4]. Ainsi, Les caractéristiques et les paramètres du traitement de la station de traitement des effluents de SANIA-cie sont consignés dans le tableau 1 ci-après :

**Tableau 1:** Composition moyenne des eaux usées de la station de traitement de SANIA

Paramètres	pH	DCO (mg/L)	DBO <sub>5</sub> (mg/L)	MES (mg/L)	Débit (m <sup>3</sup> /j)
Valeurs	8,5-10,7	900 - 3000	635	2000- 4000	80

pH : potentiel d'hydrogène

MES : matières en suspension

DCO : Demande

Chimique en oxygène.

DBO<sub>5</sub>: Demande Biochimique en Oxygène.

Par ailleurs, le logiciel Comsol multiphysics a été utilisé pour la simulation.

### II-2. Définition des phénomènes à modéliser

Cette étude consiste d'abord à modéliser puis à simuler la sédimentation des particules en suspension dans l'eau, la croissance de la biomasse épuratrice et la digestion des substrats en milieu anaérobie [5].

Les physiques qui interviennent dans les traitements anaérobies des eaux usées sont:

- ✓ L'écoulement laminaire ;
- ✓ Le transport d'espèces diluées ;

### II-3. Choix du modèle

La difficulté de ce travail réside dans le fait que le logiciel COMSOL utilisé ne dispose pas de système multiphysique préétablie adapté au phénomène de traitement biologique de l'eau. Il nous convient donc de rechercher les équations pouvant décrire les phénomènes et les réactions qui ont lieu lors de la digestion anaérobie des substrats biodégradables contenu dans les effluents à traiter [6]. Ainsi nous avons cherché certains modèles empiriques qui pourraient décrire au mieux le phénomène dans la littérature.

Il est ressorti après analyse des modèles empiriques disponibles à ce jour que le modèle de boues activées (Activated Sludge Model : ASM) est le modèle qui décrit au mieux les phénomènes de traitement biologique des eaux usées notamment les traitements par les boues activées. Les modèles ASM fournissent les équations des phénomènes tels que l'oxydation du carbone, la nitrification et la dénitrification en quantifiant la cinétique et la stœchiométrie de chaque réaction. Le modèle dénombre au total : 13 variables d'état (variables liées aux phénomènes biologiques), 8 processus et 19 paramètres cinétiques et stœchiométriques [7].

Les principales transformations traduites en équations mathématiques dans notre modèle multiphysique sont :

- ✓ Croissance anoxie des bactéries hétérotrophes :
- ✓ Mortalité des bactéries :
- ✓ Hydrolyse de la matière organique particulière :
- ✓ L'ammonification de l'azote organique :

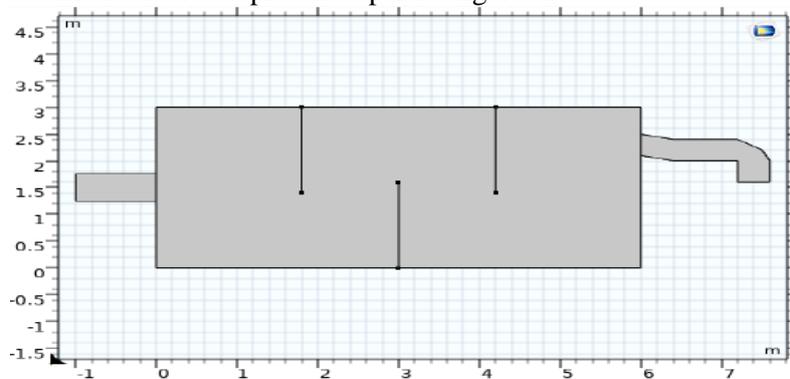
Les équations décrivant la digestion des substrats sont regroupées dans le tableau 2.

**Tableau 2:** Les équations de la dégradation des matières organiques dans ASM1

Composante Processus	S <sub>I</sub>	S <sub>S</sub>	X <sub>I</sub>	X <sub>S</sub>	X <sub>NH</sub>	X <sub>BA</sub>	X <sub>P</sub>	S <sub>O</sub>	S <sub>NO</sub>	S <sub>NH</sub>	S <sub>ND</sub>	X <sub>ND</sub>	Cinétiques $\rho_3$ [ML <sup>-3</sup> T <sup>-1</sup> ]
Croissance aérobie des hétérotrophes		$-\frac{1}{Y_H}$			1			$-\frac{1 - Y_H}{Y_H}$		$-iX_B$			$\mu_H \frac{S_S}{S_S + K_S} X_B$
Croissance hétérotrophe anaérobie		$-\frac{1}{Y_H}$			1			$-\frac{1 - Y_H}{2.26Y_H}$		$-iX_B$			$\mu_H \frac{S_S}{S_S + K_S} \frac{S_{NO}}{S_{NO} + K_{NO}} \eta_B X_B$
Croissance autotrophes						1		$-\frac{4.57 - Y_A}{Y_A}$	$-\frac{1}{Y_A}$	$-iX_B - \frac{1}{Y_H}$			$\mu_A \frac{S_S}{S_S + K_S} X_{BA}$
Mortalités des hétérotrophes				$(1 - f_p)$	-1		$f_p$						$iX_B - f_p iX_P$
Mortalités des autotrophes				$(1 - f_p)$		-1	$f_p$						$iX_B - f_p iX_P$
Ammonification											-1		$k_a S_{ND} X_{BH}$
Hydrolyse de la MCP	1			-1						1			$k_H \frac{X_B}{K_X + X_B} X_{BH}$
Hydrolyse de l'azote organique											1	-1	$\rho_2 (X_{ND} / X_S)$

### II-4. Dessin de la géométrie du bassin anaérobie

La géométrie du bassin anaérobie est présentée par les figures 1.



**Figure 1 :** Géométrie du bassin anaérobie

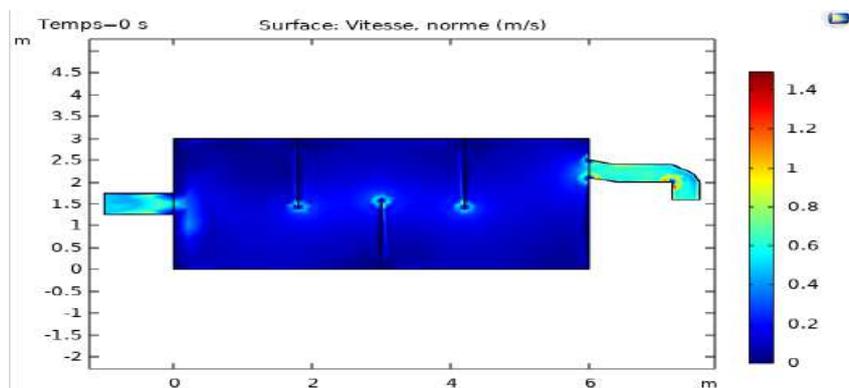
### III. RESULTATS

Les paramètres utilisés dans cette simulation sont : la vitesse de l'effluent, la pression, la concentration, la DCO et le taux d'azote.

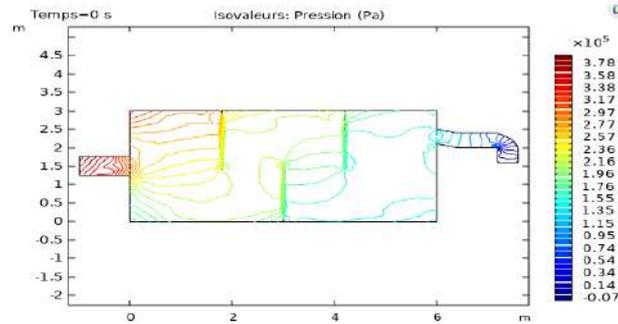
Plusieurs simulations ont été effectuées à partir de différentes valeurs cependant nous présenterons quelques simulations et les résultats obtenus puis les interprétations et discussions qui en découlent.

#### III-1. Profil de vitesse et de pression

Les profils de vitesse et de pression du bassin anaérobie sont donnés par les figures 2 et 3.



**Figure 238:** Variation de vitesse dans le bassin

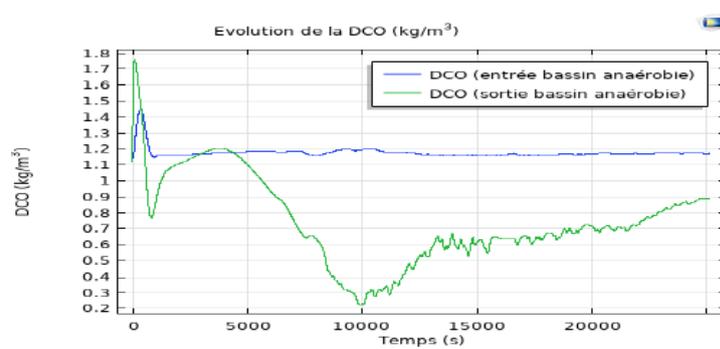


**Figure 3:** variation de pression

L'analyse des figures 2 et 3 montre qu'il y a une légère augmentation de la vitesse à la sortie du bassin anaérobie. La vitesse passe de 0,6 m/s à 0,8m/s. Par ailleurs, il y a une baisse de la pression le long du bassin. Cette baisse de pression s'explique par la formation et la décantation de boues du fait de l'activité de la biomasse épuratrice.

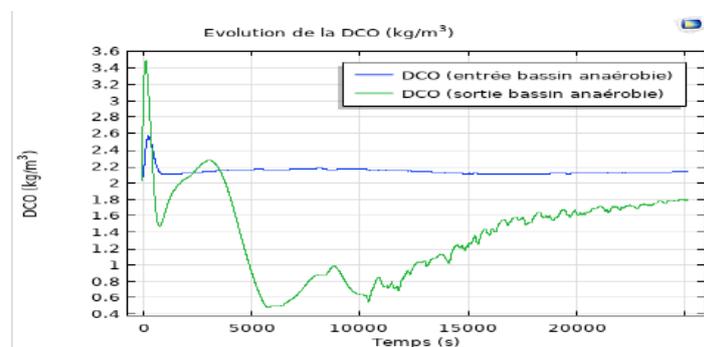
### III-2. Evolution de la DCO au cours du traitement anaérobie

Plusieurs simulations ont été effectuées afin de visualiser la variation de la DCO en fonction du temps et au cours du traitement anaérobie. Les résultats des simulations effectuées sur l'évolution de la DCO sont présentés par les figures 4, 5 et 6. Ces simulations ont été effectuées pour sur une durée de traitement de 7h. Ce qui correspond à la durée réelle de traitement de l'usine. En effet, le traitement complet se déroule en 24h comme indiqué [8], cependant la phase anaérobie dure 7h.



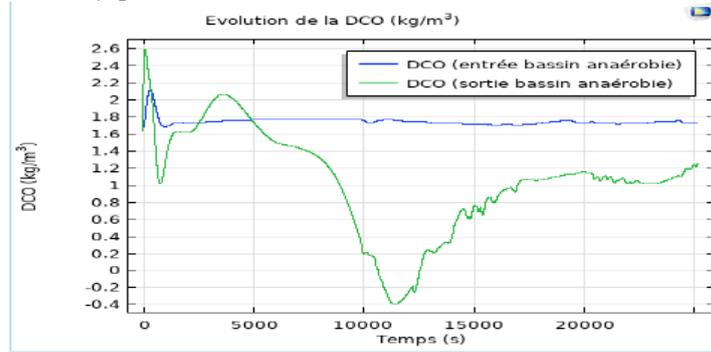
**Figure 4:** Variation de la DCO au cours du traitement anaérobie ( $DCO_{entrée} = 1.12 \text{ kg/m}^3$ )

La figure 4 met en exergue la variation de la DCO en fonction du temps et en deux points du bassin anaérobie (à l'entrée et à la sortie). Un effluent qui entre dans le bassin anaérobie avec une DCO initiale de 1120 mg/L soit  $1.12 \text{ kg/m}^3$ , sort du bassin avec une DCO de  $0.9 \text{ kg/m}^3$  soit un rendement de  $\tau = \frac{DCO_{extraite}}{DCO_{entrée}} = \frac{1.12-0.9}{1.12} = 19,6 \%$  au niveau du traitement anaérobie.



**Figure 5:** Variation de la DCO au cours du traitement anaérobie ( $DCO_{entrée} = 2.1 \text{ kg/m}^3$ )

Pour cette simulation, la DCO d'entrée est  $2.1 \text{ kg/m}^3$  et la DCO de l'effluent sortant est  $1.8 \text{ kg/m}^3$ . Soit un rendement de  $\tau = \frac{DCO_{extraite}}{DCO_{entrée}} = \frac{2.1-1.8}{2.1} = 14,3 \%$ .



**Figure 6:** Variation de la DCO au cours du traitement anaérobie ( $DCO_{\text{entrée}} = 1.7 \text{ kg/m}^3$ )

Pour cette simulation, la DCO d'entrée est  $1.7 \text{ kg/m}^3$  et la DCO de l'effluent sortant est  $1.2 \text{ kg/m}^3$ . Soit un rendement de  $\tau = \frac{DCO_{\text{extraite}}}{DCO_{\text{entrée}}} = \frac{1.7-1.2}{1.7} = 29,4 \%$ .

Pour chaque valeur d'entrée, les rendements ont été calculés puis regroupés dans le tableau 3.

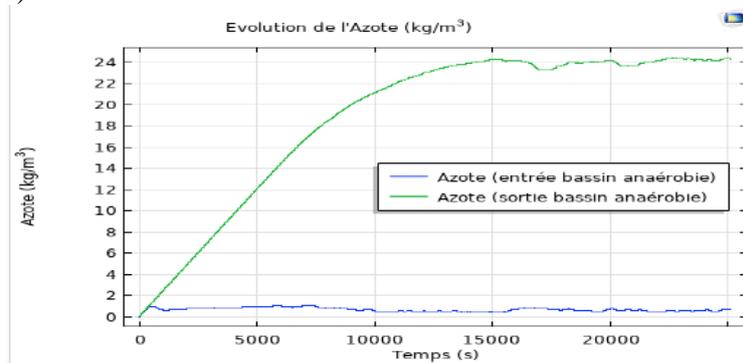
**Tableau 3:** Rendement du traitement en fonction de la charge d'entrée

Entrée du modèle	Sortie du modèle	
COD ( $\text{kg/m}^3$ )	COD ( $\text{kg/m}^3$ )	Rendement
1,12	<b>0,9</b>	<b>19,6%</b>
1,7	<b>1,2</b>	<b>29,4%</b>
2,1	<b>1,8</b>	<b>14,3%</b>

Le rendement global du modèle est donné par :  $\tau_G = \frac{\sum \tau_i}{3}$ . Ainsi le rendement réel du terrain est  $\tau_G = 21,1\%$ .

### II.3. Evolution du taux d'azote au cours du traitement anaérobie

La figure 7 montre l'évolution du taux d'azote en fonction du temps et en deux points du bassin (à l'entrée et à la sortie).



**Figure 7:** Variation du taux d'azote au cours du traitement anaérobie

Il ressort de l'analyse de ces graphes qu'un effluent qui entre dans le bassin anaérobie avec une teneur en azote dissous quasi nulle ( $0,1 \text{ kg/m}^3$ ), suite à l'activité de la biomasse épuratrice hétérotrophes anaérobies conduisant à la dénitrification des molécules de nitrate contenues dans l'effluent à traiter, environ  $24 \text{ kg/m}^3$  d'azote gazeux est généré. Cette quantité d'azote est dégagée à la sortie du bassin anaérobie dans un bassin appelé zone de dégazage et de clarification avant d'entamer le traitement aérobie.



**Figure 8:** Variation du taux d'azote au cours du traitement anaérobie

Pour cette simulation, la quantité de gaz azote produite à la sortie du bassin est d'environ 25 kg/m<sup>3</sup>.



**Figure 9:** Variation du taux d'azote au cours du traitement anaérobie

Pour cette simulation, la quantité d'azote produite à la sortie du bassin est d'environ 25 kg/m<sup>3</sup>.

#### III.4. Validation du modèle

Les valeurs de DCO des effluents de SANIA avant et après traitements sont consignées dans le tableau 4.

**Tableau 4:** Quelques valeurs de DCO des effluents de SANIA avant et après traitement

CAF2	Anaérobie Tank	Clarifier
<b>COD (mg/L)</b>		<b>COD (mg/L)</b>
<b>1985</b>		<b>1605</b>
<b>1180</b>		<b>980</b>
<b>1740</b>		<b>1230</b>
<b>2140</b>		<b>1780</b>

Pour un effluent dont la charge à l'entrée du système de traitement est 1130 mg/L, la DCO à la sortie du procédé de traitement anaérobie de SANIA est 980 mg/L soit un rendement de

$\alpha_i = \frac{DCO_{extraite}}{DCO_{entrée}} = \frac{1985-1605}{1985} = 19,14 \%$ . Soit  $\alpha = 19,2 \%$ . Pour chaque valeur d'entrée, les rendements ont été calculés puis regroupés dans le tableau 5.

**Tableau 5:** Rendement du traitement en fonction de la charge d'entrée.

CAF2	Bassin anaérobie	
<b>COD (mg/L)</b>	<b>COD (mg/L)</b>	<b>Rendement</b>
<b>1985</b>	<b>1605</b>	<b>19,2%</b>
<b>1740</b>	<b>1230</b>	<b>29,3%</b>
<b>1180</b>	<b>980</b>	<b>17%</b>

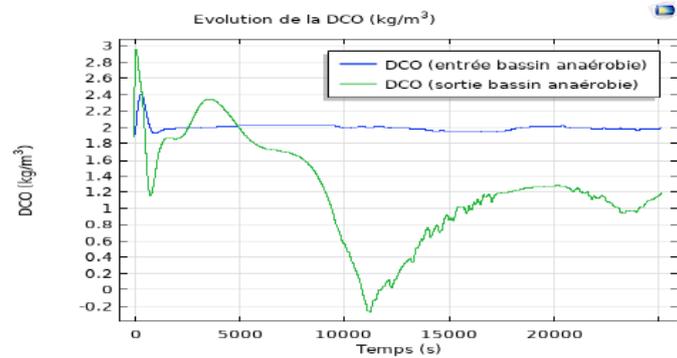
Le rendement réel obtenu sur le terrain est donné par :  $\alpha = \frac{\sum \alpha_i}{3}$ . Ainsi le rendement réel du terrain est  $\alpha = 21,8\%$ .

Le rendement du modèle obtenu ( $\tau_G = 21,1 \%$ ) est près qu'identique à celui obtenu sur le terrain qui est  $\alpha = 21,8 \%$ . Ce qui permet de calculer le coefficient de performance  $\gamma$  du modèle établi.

$\gamma = \frac{\tau_G}{\alpha}$  . On obtient ainsi  $\gamma = \frac{21,1\%}{21,8\%} = 96,8\%$  Soit  $\gamma = 97\%$  . Le modèle ainsi établi est jugé performant relativement à la DCO puisqu'il fournit un coefficient de performance ( $\gamma = 97\%$  ) très proche de 100%. Le modèle ainsi établi être jugé performant.

### III.5. Valeurs optimales de la DCO

Il s'agit de déterminer les valeurs de la DCO pour lesquelles le rendement est meilleur. La simulation suivante (Figure 10) est faite sur la base des résultats des simulations effectuées ci-avant.



**Figure 10:** Variation de la DCO au cours du traitement anaérobie ( $DCO_{\text{entrée}} = 1.9 \text{ kg/m}^3$ )

Pour cette simulation, la DCO d'entrée est  $1.9 \text{ kg/m}^3$  et la DCO de l'effluent sortant est  $1.2 \text{ kg/m}^3$ . Soit un rendement de  $\tau = \frac{DCO_{\text{extraite}}}{DCO_{\text{entrée}}} = \frac{1.9-1.2}{1.9} = 36,8 \%$ .

Les résultats des simulations effectuées sont consignés dans le tableau 6 ci-après :

**Tableau 6:** Rendement du traitement en fonction de la charge d'entrée.

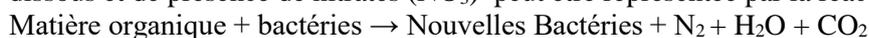
Entrée du modèle COD ( $\text{kg/m}^3$ )	Sortie du modèle COD ( $\text{kg/m}^3$ )	Rendement
1,12	0,9	19,6%
1,7	1,2	29,4%
1,9	1,2	36,8%
2,1	1,8	14,3%

L'analyse du tableau montre que le rendement du procédé augmente pour des valeurs de DCO variant de  $1.12 \text{ kg/m}^3$  (19,6%) jusqu'à  $1.9 \text{ kg/m}^3$  (36,8%). Au-delà de cette valeur, le rendement chute jusqu'à 14,3% pour une valeur de DCO égale à  $2,1 \text{ kg/m}^3$ . Les valeurs de DCO fournissant les meilleurs rendements sont  $1.7 \text{ kg/m}^3$  avec un rendement de 29,4% et  $1.9 \text{ kg/m}^3$  avec un rendement de 36,8%. Il ressort donc de cette analyse que la plage optimale de DCO pour le traitement anaérobie des effluents de SANI\_cie est [1,7 ; 1,9] ( $\text{kg/m}^3$ ).

### IV. Discussion

La présente étude a permis de montrer que les paramètres qui permettent d'évaluer l'efficacité du traitement anaérobie sont : la DCO et le temps de séjour. Le traitement est d'autant efficace que lorsque le temps de séjour pour la gestion des substrats et le temps faire sédimenter la quasi-totalité des suspensions est petit [10-13]. Une digestion bien effectuée conduit à un bon rendement du procédé de traitement biologique (boue activée). Pour ce faire, l'effluent d'entrée dans le réacteur doit être en écoulement laminaire. C'est ainsi que [14] NIDHAL B. (2012) a affirmé que la dégradation photocatalytique d'un polluant dans un réacteur est plus importante à faible débit. Toutefois, une légère augmentation de vitesse et de pression est constatée à la sortie du bassin. Ceci s'explique par la formation et l'accumulation de boue au fond du bassin. Le rendement du digesteur anaérobie est assez faible. En effet, le bassin anaérobie n'étant pas oxygéné, l'activité des microorganismes anaérobie est fonction de la charge en matière organique azotée [15-16]. Le traitement anaérobie est d'autant plus efficace que lorsque la pollution azotée est importante dans l'effluent à traiter. Puis inversement un effluent peu chargé en composés azoté biodégradable fourni un faible rendement [17-18].

La réaction d'assimilation de matière organique par les bactéries hétérotrophes en l'absence d'oxygène dissous et de présence de nitrates ( $\text{NO}_3$ ) peut être représentée par la réaction suivante:



Cette réaction est dite « de dénitrification » car elle se traduit par la réduction des nitrates en azote moléculaire (N<sub>2</sub>), gaz qui retourne à l'atmosphère. Cette transformation est également appelée réduction dissimilative [19].

Le coefficient de performance du modèle étant  $\gamma = 97\%$  le modèle peut être jugé performant car il reflète le cas réel. C'est ainsi que Vaxelaire., (1994) [20] a affirmé que : malgré les divergences existant entre l'expérience et la théorie, les résultats de la simulation peuvent donner une bonne idée de la durée des séquences d'aération à appliquer pour diminuer le coût énergétique tout en évoluant en phase aérobie.

## V. Conclusion

Ce travail a fait l'objet de la conception et de la validation d'un modèle numérique.

Nous avons présenté dans ce document une modélisation du traitement des eaux usées industrielles par boues activées plus précisément le traitement anaérobie. Ces modèles sont décrits par des équations de conservation de masse, les équations de diffusion, et les équations du modèle ASM (Modèle de boues activées), permettant ainsi de simuler le fonctionnement du système de traitement sous le logiciel Comsol.

La première phase de cette étude a consisté à la caractérisation des effluents traités dans l'usine de traitement de Sania-cie. La seconde phase de cette étude a été la modélisation et les simulations numériques du réacteur anaérobie.

Pour la validation du modèle, une étude expérimentale a été effectuée. Dans cette étude, les paramètres des effluents (DCO) ont été déterminés expérimentalement à la sortie du bassin anaérobie. Ces valeurs expérimentales ont été confrontées à celles du modèle numérique en vue de valider les résultats prédits par la simulation numérique.

On observe une bonne concordance entre les résultats expérimentaux et les résultats simulés ; ce qui permet une validation du modèle numérique du traitement anaérobie avec un coefficient de performance de  $\gamma = 97\%$ . Cette étude a également montré que la plage optimale de DCO pour le traitement anaérobie des effluents de cette huilerie est [1,7 ; 1,9] (kg/m<sup>3</sup>).

## References

- [1]- R. GHEZLI, N. BELARIF, Contribution à l'évaluation de la qualité des effluents industriels et déchets solides au niveau de l'entreprise nationale des industries de l'électroménager ENIEM de tizi ousou, Université Mouloud Mammeri, (2017).
- [2]- M. BERTE, C. ADOU, Importance de la modélisation dans l'industrie chimique : cas pratique de la modélisation du traitement biologique des eaux usées, Rapport de projet interne, École Supérieure d'Industrie, (2017) 52p.
- [3]- A. BOUKERROUCHA, Modélisation des stations d'épuration à boues activées cas de la station de Baraki (Alger). Thèse de l'École Supérieure d'Agronomie EL HARRACH ALGER (2011).
- [4]- B. J. KONE, Optimisation du processus de traitement des effluents de SANIACIE, mémoire de fin d'étude, École Supérieure d'Industrie, (2015) 94p.
- [5]- A. EL. GHAMMAT, K. TEMSAMANI RIFFI, M. HASSANI ZERROUK, A study of the performance of a sequential bioreactor plant for the treatment of dairy effluents, LARHYSS journal P-ISSN 1112- 3680/E- ISSN 2602-7828, (2019) 7-21.
- [6]- B. GIL-PULIDO, E. TARPEY, E. ALMEIDA, W. FINNEGAN, evaluation of dairy processing wastewater biotreatment in an IASBR system: Aeration rate impact on performance and microbial ecology, Biotechnology reports 19, e00263, (2018).
- [7]- S. HEDDAM, Contribution à la modélisation de la qualité des eaux. Thèse de doctorat, École Nationale Polytechnique d'Alger, (2012) 210 P.
- [8]- M. BENNEOUALA, Y. BAREHA, E. MENGELLE, M. BOUNOUBA, Hydrolysis of particulate settleable solids (PSS) in activated sludge is determined by the bacteria initially adsorbed in the sewage, revue water research, (2017) 400-409.
- [9]- B. IMEN, Caractérisation de la taille des particules et de leur vitesse de chute en décantation primaire, Maîtrise en génie des eaux, Université de Laval, (2013) 249p.
- [10]- M. ABOUZLAM, Optimisation d'un procédé de traitement des eaux par ozonation catalytique (2014).
- [11]- J. BENSALIM, Contribution à la dépollution des eaux usées par électrocoagulations et par adsorption sur des hydroxydes d'aluminium. Thèse de doctorat d'état, Université Mohammed v - Agdal faculté des sciences rabat. (2009) P 6-43.
- [12]- M. MACHKOR, Modélisation et optimisation du taux du sulfate d'aluminium dans la station de traitement des eaux de barrage BAB LOUTA par la méthodologie du plan surface de réponse, Mémoire de fin d'études, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, (2013) 59p.

- [13]- A. ZALAGHI, F. LAMCHOURI, M. MERZOUKI, Traitement par le procédé SBR (Sequencing Batch Reactor) des lixiviats de la décharge publique non contrôlée de la ville de Taza (Maroc), *International journal of invention and applied studies* 23 (3), (2018) 299-309.
- [14]- B. NIDHAL, Modélisation et simulation numérique de la dégradation photocatalytique d'un polluant modèle dans un microréacteur. Thèse de doctorat, Université de Lorraine, (2012) 169p.
- [15]- L. AMEL, Amélioration des procédés de clarification des eaux de la station Hamadi-Kroma de Skikda. Mémoire de Magister, Université de Skikda Faculté des Sciences, Département des Sciences Fondamentales, Spécialité : Chimie ; Option : Pollutions Chimiques & Environnement, (2009) 120p.
- [16]- S. MOULIN, Traitement des eaux usées. Centre d'Enseignement et de Recherches sur l'Environnement et la Société Environmental Research and Teaching Institute, (2013).
- [17]- M. ALLAOUI, E. MOHATI, M. SAADALLAH, A. HARFI, Performance épuratoire de STEP de Dar El Gueddari (Lagunage naturel)/[STEP purifying performance of Dar El Gueddari (natural lagoons), *International journal of innovation and Applied studies* 16 (4) (2016) 704-717.
- [18]- D. OUMAR, P. DROGUI, R. DUBE, G. BUELNA, Utilisation des procédés électrochimiques et leurs combinaisons avec les procédés biologiques pour le traitement des lixiviats de sites d'enfouissement sanitaires, *Revue des sciences de l'eau/ Journal of water science* 29 (1), (2016) 63-89.
- [19]- V. ROCHER, C. JOIN, S. MOTTELET, J. BERNIER, la production de nitrites lors de la dénitrification des eaux usées par biofiltration-stratégie de contrôle et de réduction des concentrations résiduelles, *Revue des sciences de l'eau/Journal of water science* 31 (1), 5 (2018) 61-73.
- [20]- J. VAXELAIRE, Étude et modélisation de l'aération des stations d'épuration des eaux usées urbaines par agitation mécanique de surface, Thèse de Doctorat à l'Institut National Polytechnique de Lorraine, (1994) 193p.

## Etude DFT de la coordination de la phenformine et du proguanil avec le fer(II).

Aidote François<sup>(1)</sup>, Kuevi Urbain Amah<sup>(1)</sup>, Kpotin Assongba Gaston<sup>(1)</sup>, Kpota-Houngue Tata Alice<sup>(1)</sup>, Atohoun Guy Sylvain Yacolé<sup>(1)</sup>, Mensah Jean-Baptiste<sup>(1)</sup>, Badawi Michaël<sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup>Laboratoire de Chimie Théorique et de Spectroscopie Moléculaire (LACTHESMO), Université d'Abomey-Calavi(UAC) 03 BP : 3409 Cotonou – Bénin Tel : (+229) 95 06 99 02, e-mail : [urviama@gmail.com](mailto:urviama@gmail.com)<sup>(2)</sup>

### Resume:

Les biguanides [HN=C(NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>)-NH-C(NR<sub>3</sub>R<sub>4</sub>)=NH] constituent une importante famille de molécules utilisées comme médicaments dans le traitement du diabète. Plusieurs travaux expérimentaux publiés dans la littérature, montrent non seulement que les cinq atomes d'azotes sont de potentiels sites de coordination, mais aussi qu'à l'état complexe, les propriétés thérapeutiques des molécules actives, augmentent considérablement. En réalité, l'association oligo-éléments.biologands améliore l'activité des deux constituants. De récentes expérimentations de complexes biologands.oligo-éléments sur des animaux diabétiques ont été de véritables succès.

Dans les présents travaux une étude DFT de la coordination de la phenformine et du proguanil avec le fer(II) a été réalisée. L'objectif est de déterminer le site le plus favorable à la coordination de ces ligands en se basant sur quelques indicateurs de coordination.

Les calculs ont été effectués par la méthode DFT/B3LYP dans la base 6-31G(d, p) avec le logiciel Gaussian09 et le programme DCENT-QSAR. Les résultats des différents calculs ont révélés les atomes d'azote imidiques comme les sites de coordination les plus favorables. Des complexes de ces ligands avec le Fer(II) ont été modélisés. Les travaux prendront en compte d'autres molécules de la classe des biguanides et d'autres bioéléments.

**Mots clés:** Coordination; biguanides; Fer(II) ; antidiabétiques ; DFT.

### 1- Introduction

Le traitement du diabète non insulino-dépendant et l'accompagnement médical de celui insulino-dépendant nécessitent, au regard de l'ampleur de plus en plus inquiétante de cette maladie, des médicaments plus performants et financièrement accessibles à tous. A ce jour, l'un des médicaments de premier choix et plus efficaces utilisés dans ce traitement a pour principe actif la molécule de metformine (STAGID ou GLUCOPHAGE à la pharmacie) qui est de la famille des biguanides [1]. Dans le squelette carboné des BIGUANIDES, nous avons la présence de cinq atomes d'azote, potentiels donneurs de doublets électroniques.

D'un autre côté, la coordination des bio-ligands modifie profondément aussi bien les propriétés physiologiques des métaux que celles des ligands avec une amélioration globale de l'activité du ligand pris isolément à l'état pur ou du sel du métal complexant [2-6].

De récentes expérimentations des complexes de Zinc sur des animaux souffrant du diabète, ont été de véritables succès [7]. Des complexes de Fer avec les Biguanides devraient améliorer le traitement de cette maladie vue le rôle déterminant que jouent déjà le fer et les biguanides dans la prise en charge thérapeutique du diabète de type 2 [8-12].

Dans le présent travail, a été réalisée l'ETUDE DFT DE LA COORDINATION DE LA PHENFORMINE ET DU PROGUANIL AVEC LE FER(II). Notre objectif général est de déterminer parmi les cinq atomes d'azote, celui qui constitue le site de coordination le plus favorable dans lesdites molécules.

### 2- Matériel et méthodes

Comme matériel nous disposons principalement des versions 09 et 03 du logiciel Gaussian [13] et du programme DCENT-QSAR [14] pour les calculs. Pour les dessins, GaussView 5.08 et Chemdraw ont été utilisés. La méthode principale utilisée dans nos travaux est la DFT/B3LYP/6-31G (d, p). L'ensemble des travaux a été réalisé à la pression atmosphérique et à T=25°C. Les présents travaux ont porté sur huit (08) conformères de la phenformine et du proguanil, deux molécules de la classe des biguanides. Dans la suite seules quelques unes sont présentées.

### 3- Resultats et discussions

#### 3.1- Présentation des ligands optimisés

L'optimisation des huit ligands objets de notre étude a été faite. La géométrie, calculée en B3LYP/6-31G (d, p), de chacune des molécules étudiées est représentée (figures 1 et 2).

- **Cis-1** : Le conformère de biguanide dans lequel les deux liaisons N sont en position cis l'une par rapport à l'autre et par rapport à l'atome d'hydrogène porté par l'atome d'azote numéro 7.
- **Cis-2** : Le conformère de biguanide dans lequel les deux liaisons N sont en position cis l'une par rapport à l'autre mais toutes deux trans par rapport à l'atome d'hydrogène porté par l'atome d'azote numéro 7.
- **t** : Le conformère de biguanide dans lequel les deux liaisons N sont en position trans l'une par rapport à l'autre.
- **N-déprotonné**: N-dep

- \* phnfne = phenformine, prgnil = proguanil, t = trans.

### 3.1-1- La phenformine

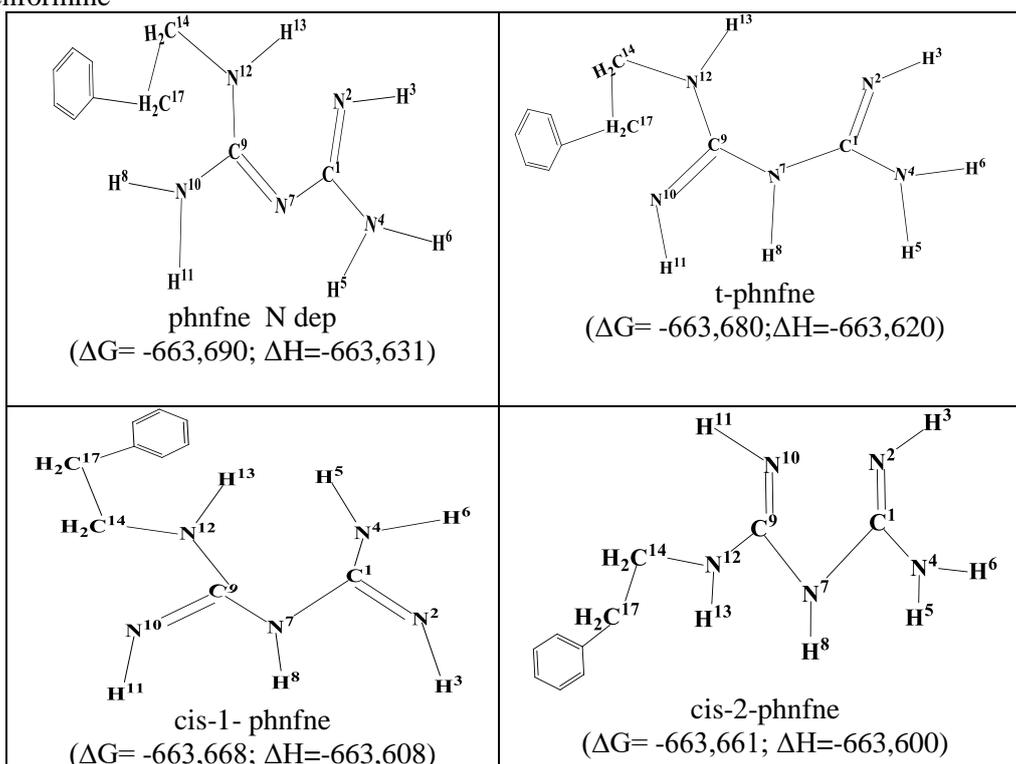


Figure 1: Les différentes formes étudiées de la phenformine avec leurs enthalpies libres en hartrees

### Le proguanil

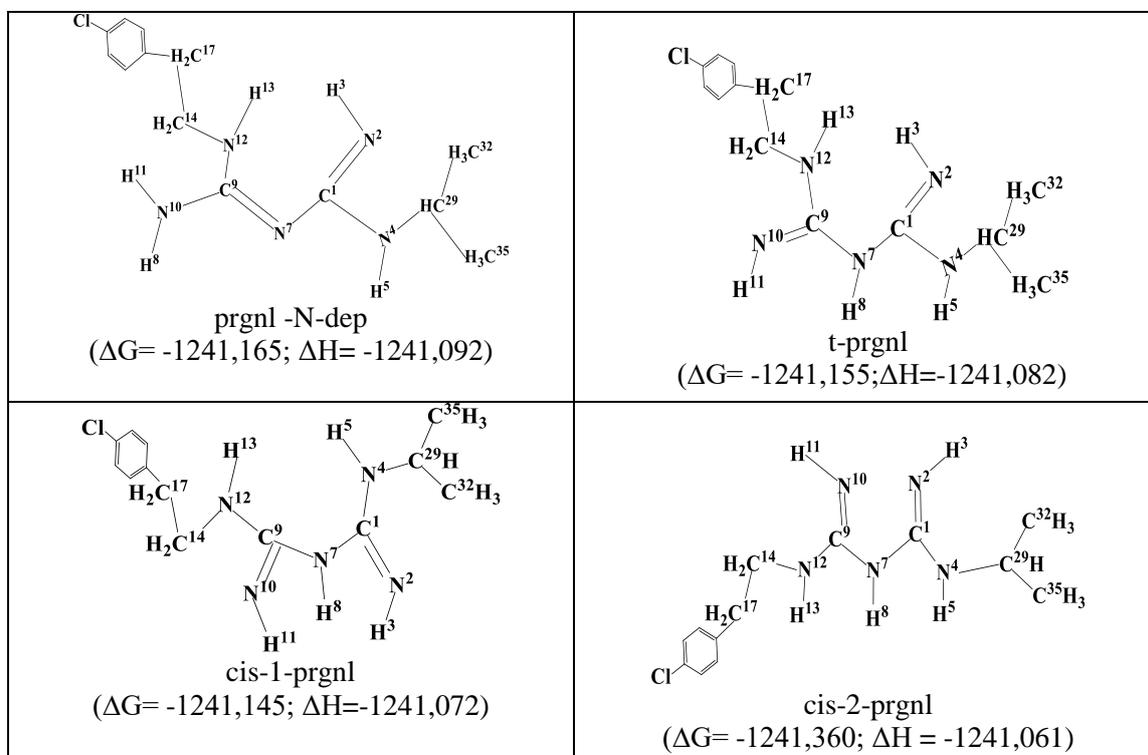


Figure 2: Les différentes formes étudiées du proguanil avec leurs enthalpies libres en hartrees

Les conformères cis-2 ( $\Delta G = -663,661$  et  $\Delta G = -1241,360$  hartrees), relativement de moindre stabilité sont les plus fréquemment retrouvés dans les composés complexes obtenus expérimentalement [15]. Toutes ces raisons ont conduit au choix de ces quatre catégories de molécules pour la présente étude ; ces catégories sont les formes  $\pi$ -trans, cis1, cis2 et les tautomères N-déprotonnés.

Il s'ensuit que les tautomères N-déprotonnés sont les plus stables, ce qui est conforme aux données de la littérature ; les moins stables sont les tautomères cis-1, cis-2 et  $\pi$ -trans qui sont les plus rencontrés dans la littérature [15]. Parmi eux, les conformères t-phenformine et t-proguanil, témoignent de la plus grande stabilité.

### 3-2- Etude des ligands

#### 3-2-1 Analyse des paramètres géométriques de quelques ligands

**Tableau N° 1 :** Les paramètres géométriques des formes N-déprotonnés étudiées de la phenformine et du proguanil

\* Phnfne = Phenformine, Prgnl = Proguanil, N-dep=N<sup>7</sup>-déprotonné.

Paramètres	phnfne N-dep	prgnl-N- dep	Val. Stand.
Distances (Å)	-	-	-
C <sup>1</sup> =N <sup>2</sup>	1,303	1,304	1,270
C <sup>1</sup> -N <sup>4</sup>	1,392	1,385	1,470
C <sup>1</sup> -N <sup>7</sup>	1,378	1,384	1,470
N <sup>7</sup> =C <sup>9</sup>	1,318	1,314	1,270
C <sup>9</sup> -N <sup>10</sup>	1,383	1,354	1,470
C <sup>9</sup> -N <sup>12</sup>	1,348	1,379	1,470
N <sup>12</sup> -C <sup>13</sup>	1,451	1,455	1,470

**Tableau 2:** Paramètres géométriques des formes non déprotonnées de la phenformine, et du proguanil

Paramètres	Cis-1- phnfne	Cis-2- phnfne	t- phnfne	Cis-1- prgnl	Cis-2- prgnl	t- prgnl	Val. Stand. (Å)
Distances (Å)	-	-	-	-	-	-	-
C <sup>1</sup> =N <sup>2</sup>	1,283	<b>1,277</b>	1,288	1,283	<b>1,279</b>	1,291	<b>1,270 [16]</b>
C <sup>1</sup> -N <sup>4</sup>	1,407	<b>1,403</b>	1,397	1,403	<b>1,394</b>	1,391	<b>1,470 [16]</b>
C <sup>1</sup> -N <sup>7</sup>	1,392	<b>1,400</b>	1,381	1,398	<b>1,408</b>	1,386	1,470
N <sup>7</sup> -C <sup>9</sup>	1,397	<b>1,408</b>	1,415	1,407	<b>1,407</b>	1,413	1,470
C <sup>9</sup> =N <sup>10</sup>	1,282	<b>1,276</b>	1,287	1,284	<b>1,277</b>	1,288	<b>1,270</b>
C <sup>9</sup> -N <sup>12</sup>	1,404	<b>1,398</b>	1,366	1,388	<b>1,400</b>	1,368	1,470
N <sup>12</sup> -C <sup>14</sup>	1,461	<b>1,456</b>	1,450	1,454	<b>1,455</b>	1,449	1,470

L'analyse des longueurs de liaison dans les quatre conformères de la phenformine et du proguanil N-protonnés,  $\pi$ -trans, cis1- et cis2, a révélé que les liaisons C<sup>1</sup>-N<sup>4</sup>, C<sup>1</sup>-N<sup>7</sup>, N<sup>7</sup>-C<sup>9</sup> et C<sup>9</sup>-N<sup>12</sup> sont d'environ 1,40 Å ; ces longueurs sont comprises entre celles d'une liaison simple (1,470 Å) et une liaison double (1,270 Å). Cette observation indique que les doublets électroniques libres des atomes N<sup>4</sup>, N<sup>7</sup>, N<sup>9</sup> et N<sup>12</sup> conjuguent avec la liaison  $\pi$  de C<sup>9</sup>N<sup>10</sup> (N<sup>7</sup> et N<sup>12</sup>) ou de C<sup>1</sup>N<sup>2</sup> (N<sup>7</sup> et N<sup>4</sup>). Ces doublets étant ainsi délocalisés, ils sont peu disponibles pour la coordination avec un métal. Cette analyse est donc favorable à la coordination par l'intermédiaire des atomes d'azote des doubles liaisons C<sup>1</sup>=N<sup>2</sup> et C<sup>9</sup>=N<sup>10</sup> ; la longueur de ces liaisons est de l'ordre de 1,270 Å, valeur standard des liaisons C=N.

Dans les tautomères N-déprotonnés, tous les doublets électroniques libres des atomes N sauf l'atome N<sup>2</sup>, conjuguent avec les liaisons de CN. Ceci est conforme aux données de la littérature [16]. Ils ne sont donc pas favorables, pour cette raison, à la liaison de coordination ; la coordination par l'intermédiaire de N<sup>2</sup> est alors la plus favorable.

#### 3-2-2 Analyse des charges atomiques des atomes

Les tableaux 3 et 4 montrent les charges NBO des différents conformères étudiés de la phenformine et du proguanil.

Dans le cas des conformères protonnés de la Phenformine et du Proguanil, on constate que la plus grande densité électronique se trouve au niveau des atomes N<sup>2</sup>, N<sup>4</sup>, N<sup>10</sup> et N<sup>12</sup> respectivement **-0.827**ua, **-0.886** ua, **-0.808** ua et **-0.690**ua dans le cas du  $\pi$ -trans-phenformine par exemple. Il faudra noter cependant la présence de deux protons que

porte l'atome d'azote N<sup>4</sup> et l'encombrement alkylique de l'environnement de N<sup>12</sup> ne sont pas de nature à favoriser la capture d'un ion positif qui se retrouverait dans les environs de ces potentiels sites donneurs.

Les atomes N<sup>2</sup> et N<sup>10</sup> de charges un peu moindre (**-0.827 u.a** et **-0.808 u.a.**) et ne portant qu'un seul proton (positivement chargé) paraissent alors plus aptes à capter un ion complexant dans les conformères N-protonnés de la phenformine et du proguanil. Dans le Proguanil, N<sup>4</sup> porte un groupe isopropyle en plus d'un H chargé positivement ; les charges de N<sup>12</sup> dans les deux molécule sont assez faibles (**-0.690** ua pour la trans-Phenformine et **-0.693** ua pour le trans-Proguanil par exemple).

**Tableau 3: Charges NBO de la phenformine et du proguanil**

\*t =trans (ou  $\pi$ -trans ) \* phfne = phenformine, prgnl = proguanil

Atomes	Phenformine			Proguanil		
	$\pi$ -t-phfne	$\Pi$ -cis-1 phfne	$\pi$ -cis-2 phfne	$\pi$ -trans prgnl	$\pi$ -cis-1 prgnl	$\pi$ -cis-2 prgnl
C <sup>1</sup>	0,621	0,602	0,581	0,633	0,609	0,586
N <sup>2</sup>	<b>-0,827</b>	<b>-0,768</b>	-0,685	<b>-0,838</b>	<b>-0,764</b>	<b>-0,691</b>
N <sup>4</sup>	<b>-0,886</b>	<b>-0,916</b>	<b>-0,881</b>	-0,687	<b>-0,737</b>	-0,684
N <sup>7</sup>	-0,668	-0,665	<b>-0,755</b>	-0,669	-0,665	<b>-0,751</b>
C <sup>9</sup>	0,618	0,608	0,585	0,620	0,609	0,586
N <sup>10</sup>	<b>-0,808</b>	-0,767	-0,681	<b>-0,804</b>	<b>-0,773</b>	-0,681
N <sup>12</sup>	-0,690	-0,722	-0,692	-0,693	<b>-0,712</b>	<b>-0,693</b>
H <sup>3</sup>	0,370	0,354	0,361	0,375	0,363	0,367
H <sup>5</sup>	0,409	0,419	0,387	0,410	0,420	0,390
H <sup>7</sup>	0,410	0,410	0,398	0,437	0,459	0,426
H <sup>11</sup>	0,441	0,459	0,427	0,363	0,363	0,367
H <sup>13</sup>	0,364	0,363	0,368	0,451	0,421	0,395
H <sup>14</sup>	0,453	0,422	0,395	0,221	0,222	0,224

**Tableau 4: Charges NBO des tautomères N-déprotonnés (= N-dep.) de la phenformine et du proguanil**

Atomes	phfne N-dep	prgnl N-dep
N <sup>2</sup>	<b>-0,867</b>	<b>-0,811</b>
N <sup>4</sup>	<b>-0,871</b>	<b>-0,677</b>
N <sup>7</sup>	<b>-0,683</b>	<b>-0,579</b>
N <sup>10</sup>	<b>-0,864</b>	<b>-0,874</b>
N <sup>12</sup>	<b>-0,666</b>	-0,699
C <sup>1</sup>	0,612	0,633
C <sup>9</sup>	0,667	0,643

A la lecture du tableau 4, l'on constate que le tautomère N-déprotonné de la phenformine présente le plus grand nuage électronique au niveau de l'atome N<sup>4</sup>, N<sup>2</sup> et N<sup>10</sup> dans cet ordre. Le site N<sup>4</sup> devrait être le plus favorable à la coordination si l'on ne tient pas compte du signe très positif de ses voisins immédiats H<sup>5</sup> et H<sup>6</sup>. Par ailleurs N<sup>4</sup> et N<sup>10</sup> ont des environnements semblables à celui de N<sup>12</sup>. Du coup N<sup>2</sup> qui ne porte qu'un atome d'hydrogène est pressenti pour servir de site de coordination pour la phenformine N-déprotonné. Il est probablement le plus favorable à la coordination.

Dans le Proguanil N-déprotonné, les atomes N<sup>2</sup> et N<sup>10</sup> ont la plus grande densité électronique. Mais tout comme dans la phenformine N-déprotonnée, si l'on tient compte de la présence de deux atomes H positivement chargés sur les atomes N<sup>10</sup> et N<sup>12</sup>, on sera amené à admettre là encore que N<sup>2</sup> est le site de coordination le plus probable.

Il n'est pas superflu de remarquer que dans ces deux molécules N-déprotonnés, N<sup>7</sup> porte lui aussi un nuage électronique non moins négligeable à l'instar de N<sup>4</sup>, N<sup>10</sup> et de N<sup>12</sup> permettant, du fait qu'il ne porte aucun atome d'hydrogène chargé positivement, d'être soupçonné potentiel site de coordination.

### 3-2-3 Analyse des potentiels électrostatiques des atomes

Le tableau 5 rassemble les valeurs des potentiels électrostatiques moléculaires autour de quelques atomes. Il montre que, concernant le tautomère N-déprotonné de la phenformine, le plus grand PES est enregistré au niveau de N<sup>2</sup> (-18,42). Il est immédiatement suivi de N<sup>7</sup> (-18,41 u.a.) et N<sup>4</sup> (-18,36 u.a.). N<sup>2</sup> et N<sup>7</sup> semblent alors les sites les plus favorables à la coordination prenant en compte l'environnement de N<sup>4</sup>. Il en est de même pour les tautomères N-déprotonnés du Proguanil (-18.42 et -18.41 u.a.).

Dans les conformères N-protonnés de la phenformine et du proguanil, les plus forts potentiels électroniques négatifs (environ -18,42 u.a) s'observent au niveau des atomes N<sup>2</sup> et N<sup>10</sup>, tous deux liés par une double liaison à un atome de carbone. Ces deux atomes sont donc les plus favorables à la coordination de ces molécules avec des métaux.

**Tableau 5: PESM (ua) des atomes de la Phenformine et du Proguanil**

Atomes	Phenformine				Proguanil			
	$\pi$ -t phfne	$\Pi$ -cis-1- phfne	$\pi$ -Cis-2- phfne	phfne N-dep.	$\pi$ -t-prgnl	$\pi$ -Cis-1- prgnl	$\pi$ -cis-2- prgnl	Prgnl N-dep.
N <sup>2</sup>	<b>-18,392</b>	<b>-18,405</b>	<b>-18,413</b>	<b>-18,419</b>	<b>-18,394</b>	<b>-18,402</b>	<b>-18,414</b>	<b>-18,421</b>
N <sup>4</sup>	-18,319	-18,327	-18,336	-18,357	-18,320	-18,319	-18,336	-18,355
N <sup>7</sup>	-18,319	-18,320	-18,330	<b>-18,409</b>	-18,321	-18,326	-18,332	<b>-18,409</b>
N <sup>10</sup>	<b>-18,422</b>	<b>-18,404</b>	<b>-18,414</b>	-18,336	<b>-18,421</b>	<b>-18,411</b>	<b>-18,413</b>	-18,348
N <sup>12</sup>	-18,350	-18,322	-18,333	-18,344	-18,350	-18,327	-18,331	-18,332
C <sup>1</sup>	-14,623	-14,631	<b>-14,644</b>	-14,665	-14,626	-14,633	-14,646	-14,666
C <sup>9</sup>	-14,649	-14,633	-14,648	-14,640	-14,649	-14,638	-14,648	-14,640
Cl <sup>30</sup>	-	-	-	-	<b>-64,379</b>	<b>-64,373</b>	<b>-64,376</b>	<b>-64,377</b>

Il convient néanmoins de faire remarquer que, dans le proguanil, l'atome de chlore en position para du groupe phényle porte la valeur la plus négative du potentiel électrostatique à peu près -64,38 u.a contre -18,42 u.a pour N<sup>2</sup> et N<sup>10</sup> soit presque 3,5 fois plus élevé.

### 3-2-4 Analyse des indices atomiques de superdelocalisabilité d'électrophile

L'indice atomique de superdélocalisabilité d'électrophile exprime la capacité de l'atome à attirer un centre électrophile. Le tableau N<sup>9</sup> résume les différentes valeurs atomiques.

**Tableau 6: Indices de superdélocalisabilité d'électrophile des atomes dans la phenformine et le proguanil**

Atomes	Indices de superdélocalisabilité des atomes des ligands							
	Phenformine				Proguanil			
	phnfne N-dep.	Cis-1- phnfne	Cis-2- phnfne	t- phnfne	prgnl N-dep.	Cis-1- prgnl	Cis-2- prgnl	t- prgnl
N <sup>2</sup>	<b>-16,710</b>	<b>-15,641</b>	<b>-15,928</b>	<b>-15,103</b>	<b>-16,877</b>	<b>-15,461</b>	<b>-16,036</b>	<b>-15,255</b>
N <sup>4</sup>	-13,536	-12,401	-12,778	-12,272	-13,500	-12,215	-12,820	-12,347
N <sup>7</sup>	<b>-16,009</b>	-12,049	-12,640	-12,071	<b>-16,039</b>	-12,245	-12,748	-12,188
N <sup>10</sup>	-12,723	<b>-15,610</b>	<b>-15,961</b>	<b>-16,708</b>	-13,036	<b>-16,035</b>	<b>-15,901</b>	<b>-16,664</b>
N <sup>12</sup>	-12,893	-12,354	-12,778	-13,281	-12,627	-12,536	-12,703	-13,250
C <sup>1</sup>	-7,496	-7,186	-7,358	-6,785	-7,464	-7,179	-7,329	-6,746
C <sup>9</sup>	-6,985	-7,156	-7,375	-7,341	-6,934	-7,213	-7,370	-7,336
Cl <sup>29</sup>	-	-	-	-	<b>-18,345</b>	<b>-18,306</b>	<b>-18,456</b>	<b>-18,636</b>

Il est facile de remarquer que toutes les valeurs des indices sont négatives. La coordination est sensée être plus probable au niveau de l'atome ayant l'indice de superdélocalisabilité le plus élevé dans la phenformine et le proguanil. L'indice de superdélocalisabilité le plus élevé est portée par les atomes d'azote N<sup>2</sup> et N<sup>10</sup> dans les conformères cis-1, cis-2 et trans de la phenformine et du proguanil. En effet, dans ces conformères, ce sont les atomes d'azote trigonaux qui portent la plus grande densité électronique. Par contre dans leurs tautomères N-déprotonnés, l'indice de superdélocalisabilité le plus élevé est portée par les atomes d'azote N<sup>2</sup> et N<sup>7</sup>, les deux atomes N trigonaux du système.

Il est à remarquer que l'atome de chlore situé hors du squelette commun des biguanides et qui se trouve en position para sur le cycle benzénique porte un indice allant de -18,34539 u.a à -18,63590 u.a, valeurs la plus négatives.

Ce tableau montre que les atomes N<sup>2</sup> et N<sup>10</sup> portent les indices de superdélocalisabilité d'électrophile les plus négatifs dans les molécules non déprotonnées ; quant aux molécules N-déprotonnées, il s'agit de N<sup>2</sup> et N<sup>7</sup> avec prééminence de N<sup>2</sup>.

### 3-2-5 Analyse des orbitales frontières

Le tableau 7 présente les orbitales frontières des ligands. Ces orbitales sont en général, celles qui participent aux réactions chimiques. Il s'agit notamment de la plus haute occupée (HOMO) et de la basse vacante (LUMO).

L'analyse qui a été faite ne concerne que des coefficients de valeurs au moins égales à 0,40 et se trouvant dans ces deux orbitales.

**Tableau N° 7 : HOMO et HOMO-1 des ligands étudiés**

Orbitales	$\pi$ -trans-phnfne		$\pi$ -trans- prgnl		$\pi$ -cis-1-phnfne		$\pi$ -cis-1-prgnl	
	Orbitales atomiques dominantes	Coefficients	Orbitales atomiques dominantes	Coefficients	Orbitales atomiques dominantes	Coefficients	Orbitales atomiques dominantes	Coefficients
HOMO-1	N <sup>2</sup> (pz); N <sup>7</sup> (py); N <sup>12</sup> (pz)	0,56; 0,57; 0,52;	N <sup>2</sup> (pz); N <sup>7</sup> (pz); N <sup>12</sup> (pz)	0,64; 0,49; 0,48;	N <sup>2</sup> (pz); N <sup>4</sup> (pz); N <sup>10</sup> (pz); N <sup>12</sup> (py,pz)	0,39; 0,40; 0,44; (0,35; 0,63)	N <sup>2</sup> (pz); N <sup>12</sup> (pz)	0,48; 0,66
HOMO	N <sup>10</sup> (pz); N <sup>12</sup> (pz)	0,74; 0,66;	N <sup>10</sup> (pz); N <sup>12</sup> (pz)	0,79; 0,64;	N <sup>2</sup> (pz); N <sup>7</sup> (pz); N <sup>10</sup> (pz)	0,64; 0,69; 0,61	N <sup>2</sup> (pz); N <sup>7</sup> (pz); N <sup>10</sup> (pz); N <sup>12</sup> (py,pz)	0,43; 0,60; 0,72;
Site favorable	N <sup>10</sup> ; N <sup>12</sup>		N <sup>10</sup> ; N <sup>12</sup>		N <sup>2</sup> ; N <sup>7</sup> ; N <sup>10</sup>		N <sup>2</sup> ; N <sup>7</sup> ; N <sup>10</sup>	

Orbitales	$\pi$ -cis-2-phnfne		$\pi$ -cis-2- prgnl		Phnfne N-dep		Pgnl N-dep	
	Orbitales atomiques dominantes	Coefficients	Orbitales atomiques dominantes	Coefficients	Orbitales atomiques dominantes	Coefficients	Orbitales atomiques dominantes	Coefficients
HOMO-1	N <sup>2</sup> (pz); N <sup>12</sup> (py); N <sup>10</sup> (pz)	0,40; 0,61;	N <sup>4</sup> (pz); N <sup>10</sup> (pz); N <sup>12</sup> (pz)	0,54; 0,48; 0,46;	N <sup>2</sup> (pz); N <sup>4</sup> (pz); N <sup>12</sup> (pz)	0,40; 0,80; 0,51	N <sup>4</sup> (py, pz); N <sup>7</sup> (pz)	(0,40; 0,75); 0,45;
HOMO	N <sup>2</sup> (pz); N <sup>7</sup> (py, pz); N <sup>10</sup> (py)	0,55; (0,43; 0,40); 0,59;	N <sup>2</sup> (pz); N <sup>7</sup> (pz); N <sup>10</sup> (pz)	0,50; 0,51; 0,40;	N <sup>2</sup> (pz); N <sup>7</sup> (pz); N <sup>12</sup> (pz)	0,70; 0,67; 0,41	N <sup>2</sup> (pz); N <sup>7</sup> (pz)	0,73; 0,53;
Site favorable	N <sup>2</sup> ; N <sup>7</sup> ; N <sup>10</sup>		N <sup>2</sup> ; N <sup>7</sup> ; N <sup>10</sup>		N <sup>2</sup> ; N <sup>7</sup>		N <sup>2</sup> ; N <sup>7</sup>	

La lecture de ce tableau révèle que, dans les différents conformères N-protonnés de la Phenformine et du Proguanil, la plus haute orbitale moléculaire occupée (HOMO) est dominée par l'atome d'azote N<sup>2</sup>, N<sup>7</sup> et N<sup>10</sup> pour ce qui concerne les formes cis-1 et cis-2. Les formes trans sont favorables à la coordination, selon cet indicateur de coordination, par l'intermédiaire de N<sup>10</sup> et N<sup>12</sup>.

S'agissant des conformères N-déprotonnés, l'HOMO est dominée par l'atome d'azote N<sup>2</sup>, et N<sup>7</sup> avec une prédominance des orbitales pz totalisant un coefficient d'occupation de 0,70, 0,67 et de 0,73, 0,53 respectivement pour la Phenformine N-déprotonnée et le Proguanil N-déprotonnée. Ainsi, les orbitales frontières rendent les atomes d'azote N<sup>2</sup>, et N<sup>7</sup> plus favorables à la coordination si l'on doit tenir compte des coefficients les plus élevés dans la HOMO.

Une étude statistique du tableau 8 révèle que 100% des indices de coordination sont favorables à la coordination des tautomères N-déprotonnés par l'intermédiaire de N<sup>2</sup> et 60% par N<sup>7</sup>. De même, dans les conformères N-protonnés en l'occurrence les Cis-1, Cis-2 et le Trans 100% des IC sont favorables à la coordination par l'intermédiaire de N<sup>2</sup> et N<sup>10</sup>. Les atomes N<sup>12</sup> et N<sup>7</sup> sont favorisés dans le meilleur des cas par 40% des indices calculés dans la présente investigation.

L'étude des ligands ainsi réalisée, il convient de simuler des complexes correspondants dans le but de vérifier les résultats de cette étude. Ceci constitue la seconde partie des présents travaux d'investigation.

## 3-2-6 Analyse recapitulative

Tableau N° 8 : Récapitulation

Espèces	PHENFORMINE				PROGUANIL			
	N-dep.	$\pi$ -Trans	$\pi$ -cis1	$\pi$ -cis2	N-dep.	$\pi$ -Trans	$\pi$ -cis1	$\pi$ -cis2
Indices de coordination	N <sup>2</sup> ;	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ;	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> ;	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,
Longueurs de liaisons	N <sup>2</sup> ;	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> ;	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,
Charges atomiques	N <sup>2</sup> ;	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> ;	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,
PES	N <sup>2</sup> , N <sup>7</sup>	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> , N <sup>7</sup>	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ;	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ;	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ;
Indices de superdélocalisabilité	N <sup>2</sup> , N <sup>7</sup>	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup>	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ;	N <sup>2</sup> , N <sup>7</sup> ; N <sup>10</sup> ;	N <sup>2</sup> , N <sup>7</sup>	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ;	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ;	N <sup>2</sup> , N <sup>12</sup> ; N <sup>10</sup> , N <sup>10</sup> ;
HOMO et HOMO-1	N <sup>2</sup> , N <sup>7</sup>	N <sup>2</sup> ; N <sup>10</sup> ;	N <sup>2</sup> , N <sup>7</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> , N <sup>7</sup> ; N <sup>10</sup> ;N <sup>1</sup> 2	N <sup>2</sup> , N <sup>7</sup>	N <sup>2</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> , N <sup>7</sup> , N <sup>10</sup> ,	N <sup>2</sup> , N <sup>7</sup> , N <sup>10</sup> , N <sup>12</sup>
% des IC favorables	N <sup>2</sup> N <sup>4</sup> N <sup>7</sup> N <sup>10</sup> N <sup>12</sup>	<b>100</b> - <b>60</b> - -	<b>100</b> - <b>20</b> <b>100</b> -	<b>100</b> - <b>40</b> <b>100</b> <b>20</b>	<b>100</b> - <b>60</b> - -	<b>100</b> - <b>100</b> <b>100</b> -	<b>100</b> - <b>20</b> <b>100</b> -	<b>100</b> - <b>20</b> <b>100</b> <b>20</b>

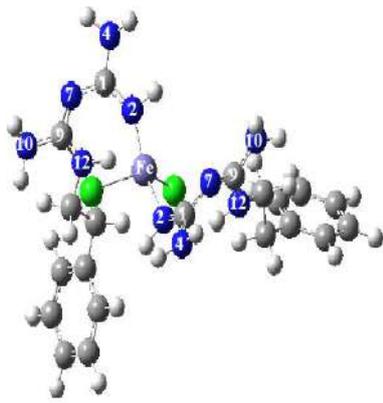
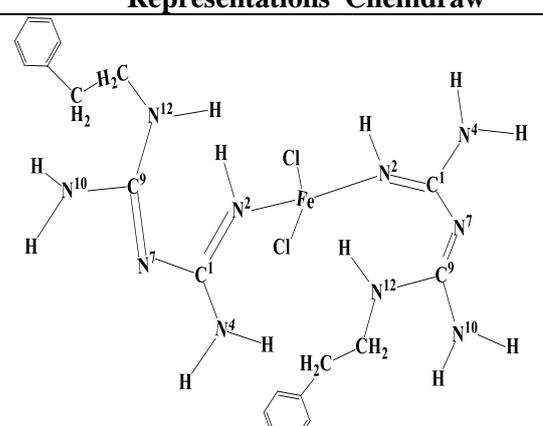
## 3-3 - MODELISATION DE LA COMPLEXATION

## 3-3-1 MODELISATION

La modélisation du complexe de chaque ligand avec le fer (II) a été envisagée. Cet élément a été apporté par le chlorure de fer. Le FeCl<sub>2</sub> a été disposé à une distance d'environ 2,5Å de chaque type d'atome. L'ensemble a été optimisé et des complexes ont été formés conformément aux structures représentées aux figures N° 3 et 4. Les tableaux N° 9 et 10 rassemblent les distances interatomiques Fe-N calculés des complexes.

3-3-2 LES COMPLEXES LIGAND-FeCl<sub>2</sub> DE LA PHENFORMINE ET DU PROGUANIL MODELISES

Les figures N°3 et 4 montrent les huit (08) complexes modélisés correspondant aux huit ligands étudiés.

N°.	Les complexes	
	Représentations Gaussview	Représentations Chemdraw
1	 <p>FeCl<sub>2</sub>.(Phne N-dep)<sub>2</sub></p>	 <p>FeCl<sub>2</sub>.(Phne N-dep)<sub>2</sub></p>

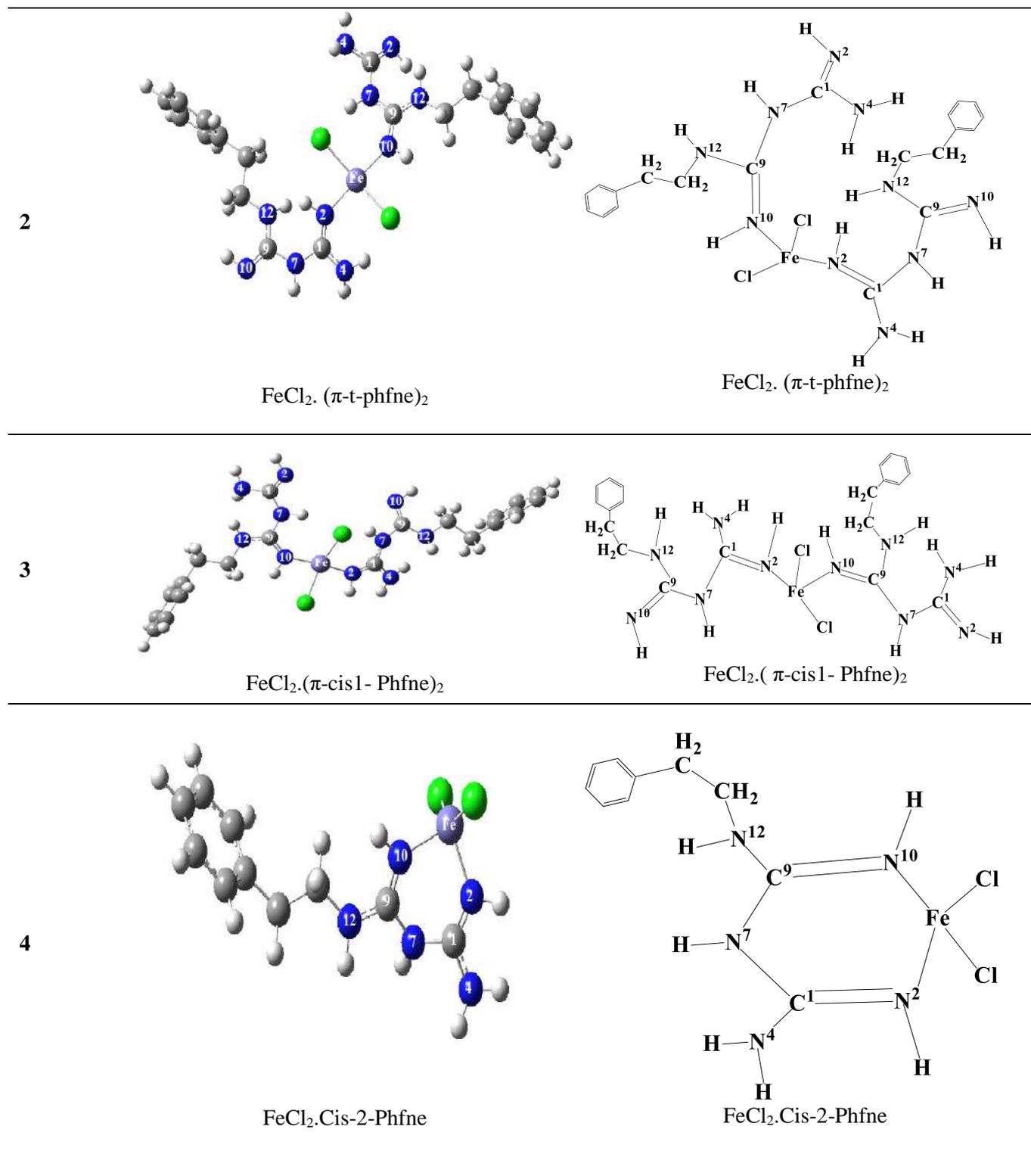
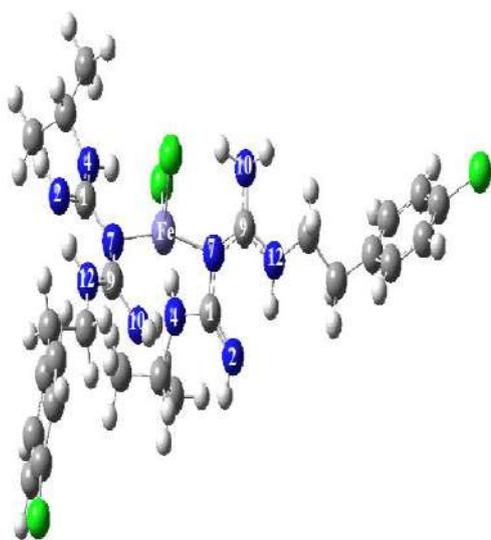


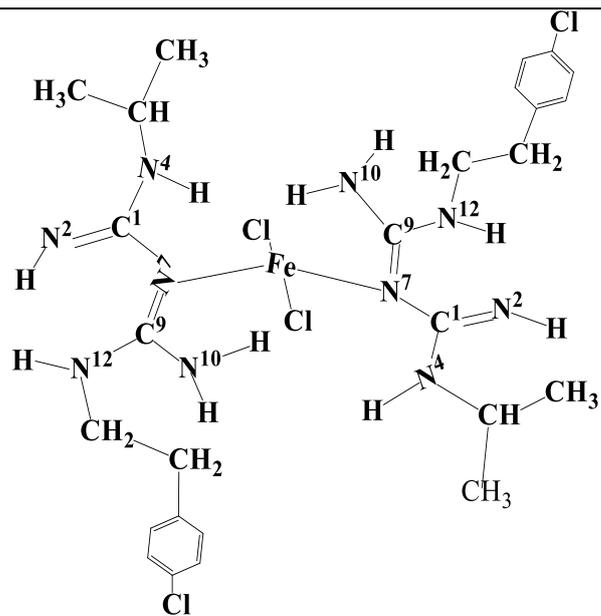
Figure 3: Les quatre complexes de la phenformine avec le Fer(II) obtenus

N <sub>0</sub> .	Les complexes	Représentations Chemdraw
	Représentations Gaussview	

5

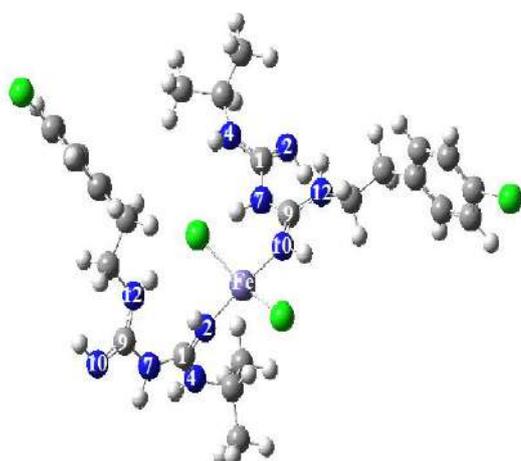


$\text{FeCl}_2 \cdot (\text{Prgnl N-depr})_2$

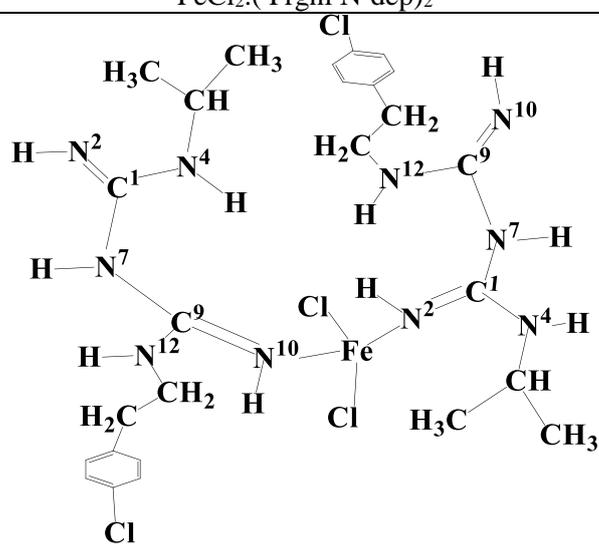


$\text{FeCl}_2 \cdot (\text{Prgnl N-dep})_2$

6

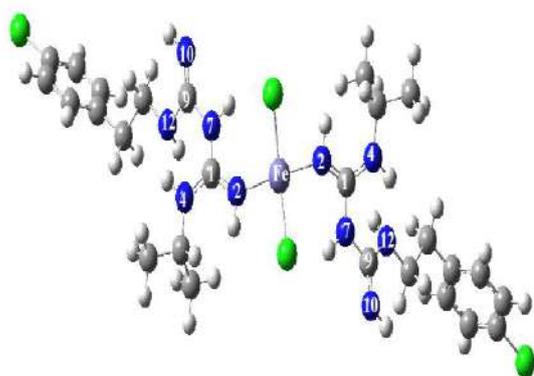


$\text{FeCl}_2 \cdot (\pi\text{-t-Prgnl})_2$

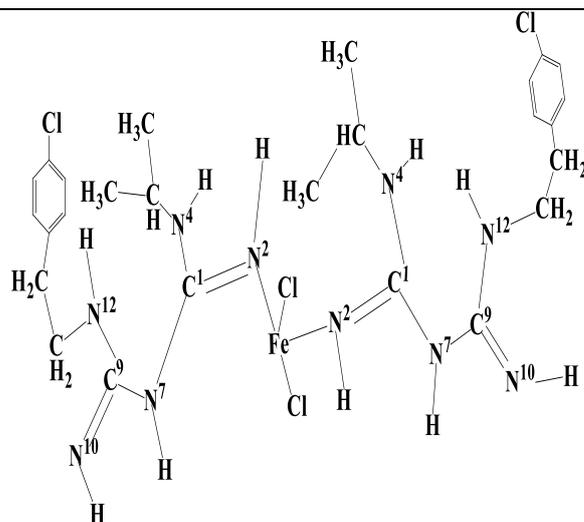


$\text{FeCl}_2 \cdot (\pi\text{-t-Prgnl})_2$

7



$\text{FeCl}_2 \cdot (\pi\text{-cis1-Prgnl})_2$



$\text{FeCl}_2 \cdot (\pi\text{-cis1-Prgnl})_2$

8

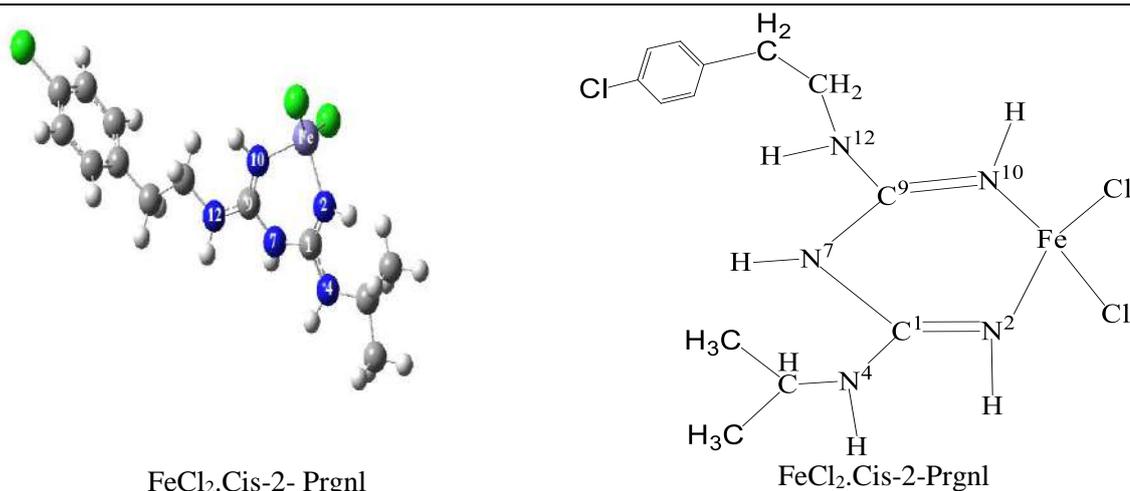


Figure 4: Les quatre complexes du Proguanil avec le Fer(II) obtenus

Les tableaux 9 et 10 rassemblent les longueurs des liaisons interatomiques Fe-N dans les complexes.

Tableau 9: Distances interatomiques Fe-N (en Å) des complexes à deux ligands de la Phenformine et du Proguanil obtenus.

Les complexes Biligands	Ligand 1					Ligand 2				
	FeN <sup>2</sup>	FeN <sup>4</sup>	FeN <sup>7</sup>	FeN <sup>10</sup>	FeN <sup>12</sup>	FeN <sup>2</sup>	FeN <sup>4</sup>	FeN <sup>7</sup>	FeN <sup>10</sup>	FeN <sup>12</sup>
(Phfne N-dep) <sub>2</sub> .FeCl <sub>2</sub> (n°1)	<b>1,968</b>	4,268	3,698	4,806	3,383	<b>1,975</b>	4,167	3,434	4,633	3,762
(π -Trans- Phfne) <sub>2</sub> .FeCl <sub>2</sub> (n°2)	<b>1,964</b>	3,511	4,305	6,121	4,504	5,799	5,389	3,455	<b>1,967</b>	4,298
(π -Cis-1- Phfne) <sub>2</sub> . FeCl <sub>2</sub> (n°3)	5,472	5,695	3,483	<b>1,963</b>	4,285	<b>1,962</b>	4,290	3,530	5,348	5,832
(Prgnl -N-dep) <sub>2</sub> . FeCl <sub>2</sub> (n°5)	3,851	2,230	<b>2,004</b>	3,470	5,093	4,294	3,321	<b>2,065</b>	2,808	4,061
(π -Trans- Prgnl) <sub>2</sub> . FeCl <sub>2</sub> (n°6)	<b>1,963</b>	3,438	4,211	6,066	3,438	4,393	4,460	3,482	<b>1,969</b>	5,324
(Cis-1- Prgnl) <sub>2</sub> . FeCl <sub>2</sub> (n°7)	<b>1,960</b>	4,292	3,454	5,466	5,652	<b>1,960</b>	4,292	3,454	5,466	5,652

Tableau 10: Distances interatomiques Fe-N (en Å) des complexes chélates à un ligand de la Phenformine et du Proguanil obtenus.

Les complexes chélates	Fe-N <sup>2</sup>	Fe-N <sup>4</sup>	Fe-N <sup>7</sup>	Fe-N <sup>10</sup>	Fe-N <sup>12</sup>
Cis-2-phnfne. FeCl <sub>2</sub> (n°4)	<b>1,885</b>	4,146	3,165	<b>1,893</b>	4,146
Cis-2- prgnl. FeCl <sub>2</sub> (n°8)	<b>1,901</b>	4,150	3,178	<b>1,883</b>	4,154

Dans les conformères non déprotonnés de la phenformine et du proguanil le Fer est entré en coordination par l'intermédiaire des atomes d'azotes N<sup>2</sup> et N<sup>10</sup>. Quant aux conformères N<sup>7</sup>-déprotonnés, le Fer est entré en coordination par l'intermédiaire des atomes d'azotes N<sup>2</sup> ou N<sup>7</sup>.

### 3-3-3 ETUDE ENERGETIQUE DES COMPLEXES DE LA PHENFORMINE ET DU PROGUANIL MODELISES

Les valeurs des énergies de Gibbs et des enthalpies de coordination rassemblées dans le tableau N°11 sont toutes négatives, ce qui suggère que la coordination de la phenformine et du proguanil et leurs dérivés étudiés dans les présents travaux avec le chlorure de fer est un processus spontané et exothermique. Ceci suppose donc que les réactifs de départ sont susceptibles de réagir spontanément entre eux-mêmes pour donner les complexes attendus.

Tableau 11: Etude énergétique du processus de complexation

\* Spont. , exot.= Spontané, exothermique

Molécules	Type de coordination	$\Delta G$ , eV	$\Delta G_{\text{coord}}$ , eV	$\Delta H$ , eV	$\Delta H_{\text{coord}}$ , eV	Type de processus
Phfne N-dep	-	-18059,481	-	-18057,859	-	-
Prgnl N-dep	-	-33772,977	-	-33770,978	-	-
$\pi$ -Trans- Phfne	-	-18059,198	-	-18057,558	-	-
$\pi$ -Trans-Prgnl	-	-33772,701	-	-33770,700	-	-
$\pi$ -Cis-1- Phfne	-	-18058,872	-	-18057,228	-	-
$\pi$ -Cis-1- Prgnl	-	-33772,413	-	-33770,425	-	-
Cis-2- Phfne	-	-18058,687	-	-18057,013	-	-
Cis-2- Prgnl	-	-33772,183	-	-33770,148	-	-
FeCl <sub>2</sub>	-	-59427,640	-	-59426,830	-	-
FeCl <sub>2</sub> .(Phfne N-dep) <sub>2</sub> (n°1)	N <sup>2</sup> -Fe-N <sup>2</sup>	-95549,286	-2,685	-95546,160	-3,611	Spont. , exot.
FeCl <sub>2</sub> .( $\pi$ -Trans- Phfne) <sub>2</sub> (n°2)	N <sup>2</sup> -Fe-N <sup>10</sup>	-95549,071	-3,036	-95545,937	-3,991	Spont., exot.
FeCl <sub>2</sub> .( $\pi$ -Cis-1- Phfne) <sub>2</sub> (n°3)	N <sup>10</sup> -Fe-N <sup>2</sup>	-95548,779	-3,394	-95545,637	-4,351	Spont. , exot.
FeCl <sub>2</sub> .Cis-2- Phfne(n°4)	N <sup>2</sup> -Fe-N <sup>10</sup>	-77489,750	-3,423	-77487,726	-3,883	Spont., exot.
FeCl <sub>2</sub> .(Prgnl -N-dep) <sub>2</sub> (n°5)	N <sup>7</sup> -Fe-N <sup>7</sup>	-126976,448	-2,854	-126972,659	-3,872	Spont., exot.
FeCl <sub>2</sub> .( $\pi$ -Trans- Prgnl) <sub>2</sub> (n°6)	N <sup>2</sup> -Fe-N <sup>10</sup>	-126975,938	-2,895	-126972,062	-3,832	Spont., exot.
FeCl <sub>2</sub> .( $\pi$ -Cis-1- Prgnl) <sub>2</sub> (n°7)	N <sup>2</sup> -Fe-N <sup>2</sup>	-126975,726	-3,259	-126971,895	-4,215	Spont. , exot.
FeCl <sub>2</sub> .Cis-2- Prgnl(n°8)	N <sup>2</sup> -Fe-N <sup>10</sup>	-93203,261	-3,438	-93200,880	-3,902	Spont., exot.

$\Delta G$ =Enthalpie libre des espèces;  $\Delta G_{\text{coord}}$  = Enthalpie libre de coordination;  $\Delta G_{\text{coord}} = \Delta G_{\text{complexe}} - (2x\Delta G_{\text{ligand}} + \Delta G_{\text{FeCl}_2})$ ;  $\Delta H_{\text{coord}} = \Delta H_{\text{complexe}} - (2x\Delta H_{\text{ligand}} + \Delta H_{\text{FeCl}_2})$ .

Notons que les complexes des conformères  $\pi$ -Cis-2 sont des chélates formant chacun un cycle hexagonal. Les valeurs absolues des enthalpies de coordination sont 3,42 eV ou 330,00 kJ. mol<sup>-1</sup> pour le  $\pi$ -Cis-2-Phenformine, 3,44 eV ou 331,69 kJ. mol<sup>-1</sup> pour le  $\pi$ -Cis-2-Proguanil.

Qu'il soit permis de remarquer que, bien que les isomères N-déprotonnés des ligands étudiés soient les plus stables [15], leurs complexes ne sont pas les plus stables ; les plus stables sont les complexes correspondant aux conformères cis-2, ce qui confirme leur forte prépondérance dans les produits de réactions au cours des synthèses expérimentales [17-19].

### Conclusion

Les présents travaux ont porté sur l'étude DFT de la coordination de la phenformine et du proguanil avec le fer(II). L'analyse des indicateurs de coordination nous ont permis de montrer que la coordination de ces biguanides se fait par les atomes d'azote dans l'état d'hybridation sp<sup>2</sup>.

Huit (08) complexes des de la phenformine et du proguanil avec le Fe(II) ont été théoriquement obtenus. Les conformères cis -2 ont donné des chélates, complexes relativement plus stables. Dans ces complexes, le Fe(II) a la structure tétraédrique où deux des sommets sont occupés par deux atomes de chlore et les deux autres par les atomes d'azote. Tous les processus de complexation se sont révélés spontanés et exothermiques.

### References bibliographiques

- [1] Campbell, R. K.; White, J. R.; Saulie, B. A. Metformin: A New Oral Biguanide. *Clin. Ther.* 1996, 18, 360-371.
- [2] Azizov M.A., O Komplekxnihoédinieniahnekotorihmicroélémentov s bioaktivnimivechestvami, éd. Médétsina, Tachkent, 1969.
- [3] Büchel K. H., Moretto H. H. et al., *Industrial inorganic chemistry*, Weinheim, Wiley-VCH, 2000, 2<sup>e</sup> éd., 667 p. (ISBN 9783527298495 et 9783527613328, DOI 10.1002/9783527613328).
- [4] Bäuerlein E., Arias J. L. et al., *Handbook of biomineralization: biological aspects and structure formation*, vol. 1 : Biological aspects and structure formation, Weinheim, Germany, Wiley-VCH, 2007, p. 309-327 (ISBN 9783527316410, DOI 10.1002/9783527619443.ch18).
- [5] Bäuerlein E., Kawasaki K. et al., *Handbook of biomineralization: biological aspects and structure formation*, vol. 1 : Biological aspects and structure formation, Weinheim, Germany, Wiley-VCH, 2007 (ISBN 9783527316410, DOI 10.1002/9783527619443.ch19, présentation en ligne), chap. 19, p. 331-347.
- [6] Bäuerlein E., Frankel R.B. et al., *Handbook of biomineralization: biological aspects and structure formation*, vol. 1 : Biological aspects and structure formation, Weinheim, Germany, Wiley-VCH, 2007 (ISBN 9783527316410, DOI 10.1002/9783527619443.ch8, chap. 8, p. 127-144).
- [7] Andersen O., « Principles and recent developments in chelation treatment of metal intoxication », *Chem. Rev.*, vol. 99, n° 9, août 1999, p. 2683–2710 (ISSN 0009-2665, DOI 10.1021/cr980453a).
- [8] Sakurai H., Adachi Y., The pharmacology of the insulinomimetic effect of zinc complexes, *Biomaterials*, 2005, 18, 319-323

- [9] Adachi Y., Yoshida J., Koderia Y., Kato A., Yoshikawa Y., Kojima Y., et al., A new insulin-mimetic bis(allixinato)zinc(II) complex: structure–activity relationship of zinc(II) complexes, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2004, 9, 885-893.
- [10] Yamaguchi M., Wakasugi K., Saito R., Adachi Y., Yoshikawa Y., Sakurai H., Syntheses of vanadyl and zinc(II) complexes of 1-hydroxy-4,5,6-substituted 2(1H)-pyrimidinones and their insulin-mimetic activities, *J. Inorg. Biochem.*, 2006, 100, 260-269.
- [11] Yoshikawa Y., Ueda E., Miyake H., Sakurai H., Kojima Y., *Metallomics: Recent Analytical Techniques and Applications*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2001, 281, 1190-1193.
- [12] Yoshikawa Y., Ueda E., Kawabe K., Miyake H., Takino T., Sakurai H., et al., Development of new insulinomimetic zinc(II) picolinate complexes with a Zn(N2O2) coordination mode: structure characterization, in vitro, and in vivo studies, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2002, 7, 68-73.
- [13] Gaussian 09, Revision D.01, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, et al., Gaussian, Inc. , Wallingford Ct, 2009.
- [14] Klopman-Perade Jordi-Gomez, *Polyelectr. Pertub. Treat. of Chem. Reacti.* 1967; 8:165-174.
- [15] Prasad V. Bharatam, \* Dhilon S. Patel, And Pansy Iqbal *Pharmacophoric Features OF Biguanide Derivatives: An Electronic And Structural Analysis*, *Department Of Medicinal Chemistry, National Institute Of Pharmaceutical Education And Research (Nipper), S.A.S. Nagar (Mohali) - 160 062, Punjab, India, 24 juin 2005;48,7615-7622.*
- [16] R. Mason *Acta Crystallogr.* , 1961, Vol.14, P. 720.
- [17] J. A. Mcmillan, *Chern. Rev.*, 1962, 62, 65.
- [18] *J. Chem. Soc. (A)*, 1969, By Debabrata Sen, Indian Association for the Cultivation of Science Calculatta 32.
- [19] Meenu Puri (2012): *Metformin and Biguanide Complexes of Isothiocyanatosilane, Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 187:9, 1026-1031.

## Etude quanto-chimique des propriétés antioxydantes de l'urée, du thiourée et de certains de leurs dérivées

R. Chabi Doco<sup>1</sup>, Wilfried G. Kanhounon<sup>1</sup>, Simplicie Koudjina<sup>1</sup>, M. T. A. Kpota Houngue<sup>1</sup>, Michael Badawi<sup>2</sup> et Y. G. S. Atohoun<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Chimie Théorique et de Spectroscopie Moléculaire (LACTHESMO), Université d'Abomey-Calavi, 03 BP 3409 Cotonou-Bénin

<sup>2</sup>Laboratoire Physique et Chimie Théoriques, UMR 7019, CNRS - Université de Lorraine, F-54000 Nancy, France

### Résumé

L'urée est un composé organique de formule chimique  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ . Elle est similaire à la thiourée de formule  $\text{SC}(\text{NH}_2)_2$ , sauf que l'atome d'oxygène est remplacé par un atome de soufre [1]. Il a été démontré que l'urée et la thiourée, possèdent des dérivées tels que : EnolUrée, l'HydroxyUrée, HydroxyThiourée, EnolThiourée [2].

En effet, depuis la découverte de ces différents composés, des résultats des tests in vitro ont montré la capacité de chacun d'eux à participer à la défense antioxydante de l'organisme par piégeage des radicaux libres. Ces derniers étant responsables des maladies dégénératives chez l'Homme [3]. Toute fois très peu de littératures ont été consacrées à l'étude théorique et à la comparaison des pouvoirs antioxydants de chacun des composés [4].

Dans les présents travaux, une étude comparative des propriétés antioxydantes de l'urée, de la thiourée et de certains de leurs dérivées a été réalisée par la méthode M06-2X/6-311++G (d, p) de la DFT.

Les résultats des différents calculs ont permis de :

- Dégager la thiourée comme la plus antioxydante d'entre les molécules,
- Constater que le mécanisme passant par l'élimination d'hydrogène atomique par rupture homolytique de liaison comme le plus probable pour le piégeage d'un radical par chacune des molécules.

**Mots clés :** DFT, antioxydant, urée, thiourée

## Quantochemical study of the antioxidant properties of urea, thiourea and some of their derivatives

### Abstract

Urea is an organic compound with the chemical formula  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ . It is similar to thiourea of formula  $\text{SC}(\text{NH}_2)_2$ , except that the oxygen atom is replaced by a sulfur atom [1]. Urea and thiourea have been shown to have derivatives such as: EnolUrée, HydroxyUrée, HydroxyThiourée, EnolThiourée [2].

Indeed, since the discovery of these different compounds, results of in vitro tests have shown the ability of each of them to participate in the antioxidant defense of the organism by trapping free radicals. The latter being responsible for degenerative diseases in humans [3]. However, very few literatures have been devoted to theoretical study and to comparison of the antioxidant powers of each of the compounds [4].

In the present work, a comparative study of the antioxidant properties of urea, thiourea and some of their derivatives was carried out by method M06-2X / 6-311 ++ G (d, p) of DFT.

The results of various calculations made it possible to:

- Identify thiourea as the most antioxidant among molecules,
- Note that the mechanism passing through the elimination of atomic hydrogen by homolytic bond breaking is most likely for the trapping of radical by each of the molecules.

**Key words:** DFT, antioxidant, urea, thiourea.

### Introduction :

L'urée est un composé organique de formule chimique  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ . C'est une petite molécule polaire qui présente trois structures de résonance. Elle est généralement synthétisée dans le foie puis transportée par le sang vers les reins. Des travaux, expérimentaux publiés dans la littérature ont montré que l'urée est également obtenue par conversion de l'ammoniac [1].

La cinétique de la production, de l'excrétion et de l'hydrolyse de l'urée a été largement étudiée chez l'homme [2]. Cependant, très peu de recherches ont été consacrées aux rôles de l'urée dans l'organisme [3]. En effet, traditionnellement, l'urée joue un rôle passif dans l'organisme. L'une de ses fonctions est reliée au fait qu'elle est une substance osmotiquement active. Ainsi, les changements dans sa concentration peuvent contribuer à l'osmorégulation au niveau des reins [4]. D'autres études ont montré qu'elle stimule également la transcription et l'expression des gènes précoces immédiats [5]. Elle est utilisée dans de nombreux domaines, tels que les industries agricoles, pharmaceutiques, chimiques et médicales [6].

Sur le plan expérimental, la capacité de l'urée à piéger des espèces radicalaires a été rapportée dans la littérature. En effet, les résultats des tests *in vitro* ont montré la capacité de l'urée à piéger les radicaux libres prouvant ainsi sa participation dans la défense antioxydante de l'organisme. Par ailleurs, une augmentation de la capacité antioxydante du sérum a été observée chez les patients souffrant de maladies rénales. Cette augmentation serait entièrement due à l'urée sérique relativement élevée présente chez les patients examinés. Inversement, après l'hémodialyse quand la concentration d'urée sérique a sensiblement diminué, la capacité antioxydante du sérum était considérablement réduite [7]. Certains travaux ont également montré qu'en raison de son faible poids moléculaire, l'urée semble plus mobile par rapport aux antioxydants macromoléculaires tels que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CA T) et la céruloplasmine (CP), dont la capacité antioxydante totale semble confinée par leur mobilité limitée et pour certains, leur distribution compartimentée [8].

Sur le plan théorique, plusieurs travaux publiés dans la littérature ont montré que l'urée possède des propriétés antioxydantes, par exemple, par des méthodes DFT / BHLYP et DFT/ $\omega$ B97X-D, il a été montré que le mécanisme d'abstraction directe des atomes H est cinétiquement préféré à la réaction d'addition du radical OH [9]. Au cours de la même année, une étude menée par la méthode M06-2X/6-311++G (d, p) a permis de constater que l'anion radicalaire superoxyde peut extraire efficacement un atome d'hydrogène de l'un des groupes amino de l'urée et de la thiourée en milieu aqueux. Ils concluent donc que ces deux composés serviraient, toutes deux, d'épurateurs très efficaces d'anion radicalaire superoxyde [10].

Par ailleurs, il a été montré expérimentalement dans la littérature, que l'urée possède des dérivées tels que ÷ l'énolurée, la thiourée, l'hydroxyurée, hydroxythiourée, énothiourée. Ces derniers sont reconnus comme antioxydant dû à leur capacité de piégeage des espèces radicalaires et de réduire le peroxyde d'hydrogène. Ils interviennent dans la protection du rythme cardiaque et du flux coronaire [11].

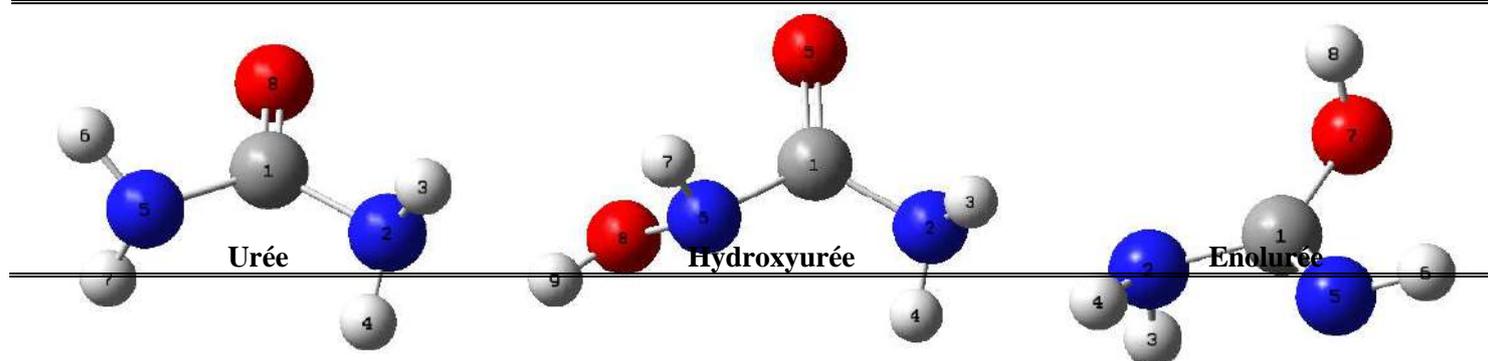
La thiourée est un dérivé soufré de l'urée de formule  $CS(NH_2)_2$ . Il est similaire à l'urée, à la seule différence que l'atome d'oxygène est remplacé par un atome de soufre. Ils présentent tous deux (02) formes tautomères. Les propriétés de l'urée et de la thiourée diffèrent considérablement en raison des électronégativités relatives du soufre et de l'oxygène [12]. Différentes études expérimentales publiées dans la littérature ont montré que la thiourée possède des propriétés antivirales [13] et antifongiques [14]. L'hydroxyurée ( $CH_4N_2O_2$ ) diffère de l'urée par la présence d'un groupe hydroxyle sur l'un des atomes d'azote [15]. Cette molécule est reconnue comme un agent antinéoplasique et antiviral non alkylant utilisé dans l'hématologie, l'oncologie, les maladies infectieuses et la dermatologie [16].

De tout ce qui précède, il est à noter qu'à notre connaissance, aucun travail théorique ni expérimental n'auraient comparés les pouvoirs antioxydants de l'urée, de l'énolurée, de la thiourée, de l'hydroxyurée et de l'hydroxythiourée. L'objectif des présents travaux est de déterminer le meilleur antioxydant d'entre ces composés par les méthodes de la chimie théorique. Les réactivités des différents composés seront comparées entre eux, afin d'en déduire la plus antioxydante de cette molécules.

Pour atteindre cet objectif, différents paramètres électroniques et spectroscopiques ont été calculés et les résultats ont permis de déduire un ordre de classement des pouvoirs antioxydants de chacun des composés.

## 1.1 Matériels

Les systèmes chimiques objet de notre étude ont été l'urée, énolurée, de la thiourée, de l'hydroxyurée, de l'hydroxythiourée et de l'énothiourée (figure1)



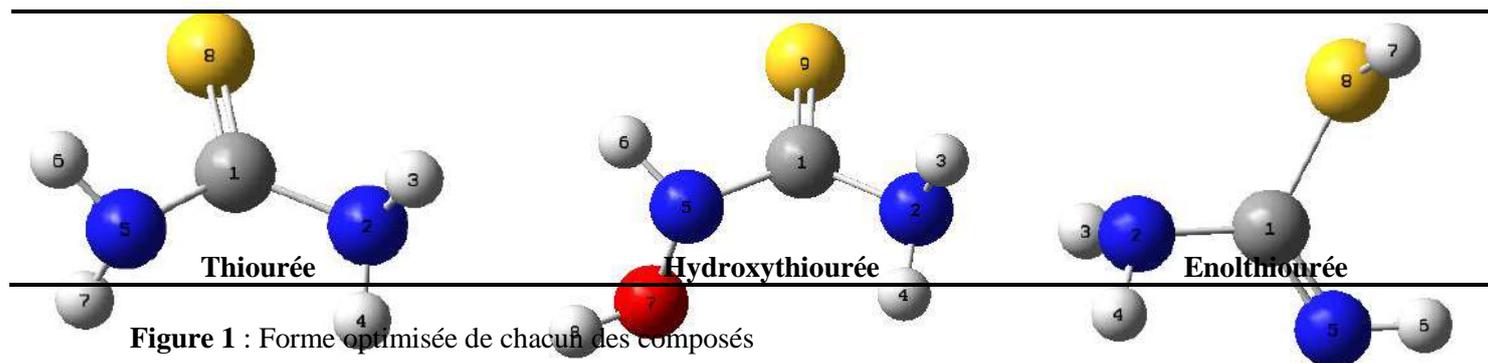


Figure 1 : Forme optimisée de chacun des composés

## 1.2 Méthodologie :

Pour l'urée, énolurée, la thiourée, l'hydroxyurée, l'hydroxythiourée et l'énolthiourée, les paramètres calculés ont été :

### ➤ Les paramètres électroniques

- l'Énergie *Gap* (*HOMO-LUMO*) =  $E_{LUMO} - E_{HOMO}$  qui est d'autant plus faible que la molécule possède un pouvoir antioxydant élevé
- l'Affinité électronique (*AE*) :  $AE = -E_{LUMO}$  ; l'énergie d'ionisation  $EI = -E_{HOMO}$  [17].
- Le moment dipolaire (*M*) qui rend compte de la plus ou moins grande polarité d'une molécule
- La dureté ( $\eta$ ) qui exprime la résistance d'une molécule au changement de son nombre d'électrons ou au transfert de charge [18]. Plus la dureté est forte, moins la molécule est réactive:  $\eta = \frac{(E_{LUMO} - E_{HOMO})}{2}$
- L'électronégativité ( $\chi$ ) qui mesure la tendance d'une espèce chimique à attirer les électrons [18] :  $\chi = -\frac{(E_{LUMO} + E_{HOMO})}{2}$  soit  $\chi = \frac{AE + EI}{2}$
- L'indice électrophile ( $\omega$ ) qui est l'énergie de stabilisation d'une molécule saturée par des électrons provenant de son entourage [18]:  $\omega = \frac{\chi^2}{2\eta}$
- le Potentiel d'oxydoréduction  $E^0$  des molécules, donnée par la relation de Nerst

$$E^0 = -\frac{\Delta G^0}{nF}$$

avec  $\Delta G^0$  l'énergie de Gibbs liée à la réaction  $Ox \rightarrow Red + nH^+ + ne$  ; n le nombre d'électron transféré et *F* la constante de Faraday.

Plus le potentiel d'oxydoréduction d'une molécule est bas plus elle possède une forte activité antioxydante [19]. Puisque le potentiel d'oxydoréduction se mesure en phase aqueuse, le calcul de  $\Delta G^0$  nécessite l'utilisation du cycle de Born-Haber.

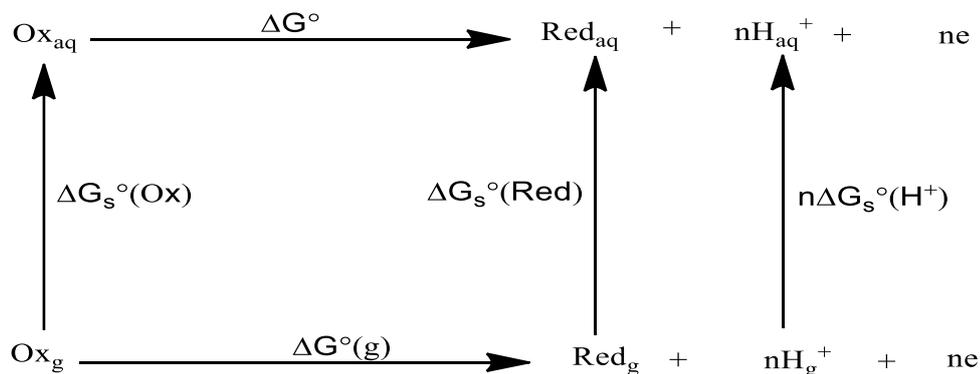


Schéma 1 : Cycle de Born-Haber pour l'obtention de  $\Delta G^0$  à partir  $\Delta G^0(g)$ .

$$\Delta G_s^0(H^+) = -1104.6 \text{ kJ.mol}^{-1}$$

Sur la base de ce cycle on peut établir :

$$\Delta G^0 = \Delta G_s^0(Red) + \Delta G^0(g) + n \Delta G_s^0(H^+) - \Delta G_s^0(Ox)$$

### ➤ Etudes des mécanismes de manifestation d'activité antioxydante des molécules

Dans les présents travaux, Il a été envisagé de déterminer les plus probables parcours des réactions qui ont lieu entre les molécules étudiées. Pour ce faire, trois différents types de voies de manifestation de l'activité antiradicalaire des molécules ont été examinés.

- L'élimination d'un électron ( $ArOH \rightarrow ArOH^{\circ+} + e^-$ ), suivie de celle d'un proton ( $ArOH^{\circ+} \rightarrow ArO^{\circ} + H^+$ ), (Single-Electron Transfer – Proton Transfer (SET-PT)). A cet effet, la formule :  $SETPT = \Delta H(ArO^{\circ}) + \Delta H(H^+) - \Delta H(ArOH)$
- L'élimination d'un proton ( $ArOH \rightarrow ArO^- + H^+$ ), suivie de celle d'un électron ( $ArO^- \rightarrow ArO^{\circ} + e^-$ ), (Sequential Proton Loss Electron Transfer (SPLET)) ; puis piégeage des radicaux libres. A cet effet l'affinité la formule :

$$SPLET = \Delta H(ArO^{\circ}) + \Delta H(H^+) + \Delta H(e) - \Delta H(ArOH) [20].$$

- L'élimination d'un atome d'hydrogène par rupture homolytique de liaison OH ( $ArOH \rightarrow ArO^{\circ} + H^{\circ}$ ) puis piégeage des radicaux libres. A cet effet la BDE (Bond Dissociation Energie) a été calculée :

$$BDE = \Delta H(ArO^{\circ}) + \Delta H(H^{\circ}) - \Delta H(ArOH) [20];$$

Pour chacune de ces trois voies de réactions, un bilan énergétique a été fait. Plus l'énergie totale dégagée sur un parcours de réactions est faible, plus probable sera ce parcours. Sur la base d'un tel bilan énergétique, on pourra alors proposer le mécanisme le plus probable, de manifestation de l'activité antiradicalaire des molécules étudiées, et déterminer les sites hydroxyles les plus favorables à cette manifestation.

### ➤ Représentation des potentiels électrostatiques moléculaires à trois dimensions (3D)

Le potentiel électrostatique donne des informations sur la distribution de charge nucléaire et électronique des molécules. Elle est un outil indispensable pour l'interprétation et la prédiction de la réactivité chimique. Elle est largement utilisée comme carte de réactivité moléculaire car elle affiche les sites les plus probables pour les attaques nucléophiles et électrophiles. En effet, dans la surface d'énergie potentielle, la couleur rouge fait référence à une région riche en électrons (négative), la couleur bleue se réfère à une région pauvre en électrons (positive) et la couleur verte signifie un potentiel électrostatique nul. Dans la majorité des surfaces d'énergie, la région négative est le site préféré pour l'attaque électrophile et la région positive est préférée pour l'attaque nucléophile [22].

## 2. Résultats et discussions

### 2.1. Analyse des paramètres électroniques de l'urée, énolurée, de la thiourée, de l'hydroxyurée, de l'hydroxythiourée et de l'énolthiourée

Les valeurs calculées des paramètres électroniques, au niveau d'approximation M06-2X de chacune des six molécules sont consignées dans le tableau 1:

**Tableau 1** : Valeurs calculées (kJ/mol) des paramètres électroniques de l'urée, énolurée, de la thiourée, de l'hydroxyurée, de l'hydroxythiourée et de l'énolthiourée

	$E_{Gap}$	$AE$	$EI$	$\mu$	$\omega$	$\eta$	$\chi$
Urée	204.54	8.15	212.72	3.79	59.62	102.27	110.43
Enolurée	193.9	8.78	202.68	3.01	57.65	96.95	105.73
Hydroxyurée	203.94	8.15	212.09	3.94	59.49	101.97	110.12
Thiourée	156.87	11.92	168.79	5.07	52.04	78.43	90.35
Enolthiourée	191.39	5.64	197.03	2.28	53.65	95.69	101.33
Hydroxythiourée	161.27	11.92	173.19	4.61	53.11	80.63	92.55

Les résultats du tableau 1 montrent que :

- Des six molécules, la thiourée a donné la valeur du Gap (HOMO-LUMO) la plus faible suivie de l'hydroxythiourée. Ce résultat en accord avec les données expérimentales publiées dans la littérature, signifient que la thiourée et l'hydroxythiourée sont beaucoup moins stables et donc plus antioxydants que l'urée, l'énolurée, l'hydroxyurée et l'énolthiourée [23].

Globalement, l'ordre de classement des Gaps des six molécules serait :

$$\text{thiourée} < \text{hydroxythiourée} < \text{énolthiourée} < \text{énolurée} < \text{hydroxyurée} < \text{urée}$$

par ordre décroissant de l'activité antioxydante. La thiourée serait donc la plus antioxydante des six molécules.

- Des six composés, les plus faibles valeurs de la durété ( $\eta$ ), de l'électronégativité ( $\chi$ ) et de l'indice électrophile ( $\omega$ ) d'une part, la valeur la plus élevée du moment dipolaire ( $\mu$ ) d'autre part ont été obtenus respectivement par la thiourée et l'hydroxythiourée. Ces séries de résultats montrent davantage que la thiourée suivie l'hydroxythiourée sont les plus antioxydantes d'entre les molécules. Aussi, les valeurs obtenues du moment dipolaire révèlent que la thiourée et l'hydroxythiourée sont plus polaires que l'énolthiourée, de l'énolurée de l'hydroxyurée et de l'urée

Il ressort de ces analyses que la thiourée et l'hydroxythiourée sont plus antioxydantes que l'énolthiourée, l'énolurée l'hydroxyurée et l'urée

## 2.2. Calcul des potentiels redox des molécules

Les potentiels redox ( $E^0$ ) des six molécules, calculés par la méthode de la fonctionnelle M06-2X dans les bases 6-311++G (d, p) sont consignés dans le tableau 2.

De l'analyse des résultats du tableau 2, il ressort que les plus faibles valeurs de potentiels redox obtenues dans l'ordre :

thiourée < hydroxythiourée < énolthiourée < énolurée < hydroxyurée < urée

Ce résultat indique davantage que la thiourée suivie de hydroxythiourée sont les plus antioxydantes d'entre les six (06).

**Tableau 2:** Valeurs calculées (en volt) du potentiel redox de l'urée, de l'énolurée, de la thiourée, de l'hydroxyurée, de l'hydroxythiourée et de l'énolthiourée

	M06-2X / 6-311++G (d,p)
<b>Urée</b>	-0.47
<b>Enolurée</b>	-0.61
<b>Hydroxyurée</b>	-0.49
<b>Thiourée</b>	-0.83
<b>Enolthiourée</b>	-0.67
<b>Hydroxythiourée</b>	-0.75

## 2.3 Détermination des sites hydroxyles probables de manifestation de l'activité antioxydante des molécules

Pour les différentes liaisons O-H se trouvant dans les molécules d'urée, d'énolurée, de la thiourée, de l'hydroxyurée, de l'hydroxythiourée et de l'énolthiourée, les valeurs des enthalpies de rupture de liaison (BDE) ont été calculées aux niveaux d'approximation M06-2X. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 3 :

**Tableau 3 :** Valeurs (en kcal/mol) des enthalpies de rupture des liaisons O-H (BDE) calculées aux niveaux d'approximation M06-2X pour l'urée, l'énolurée, la thiourée, l'hydroxyurée, l'hydroxythiourée et de l'énolthiourée

	Liaisons	M06-2X/6-311++G (d,p)
Urée	N-H <sup>4</sup>	116.08
	N-H <sup>6</sup>	109.18
Enolurée	N-H <sup>4</sup>	106.675
	O-H <sup>8</sup>	97.26
Thiourée	N-H <sup>4</sup>	46.43
	O-H <sup>9</sup>	84.71
Hydroxyurée	N-H <sup>7</sup>	90.98
	N-H <sup>4</sup>	116.71
	O-H <sup>8</sup>	79.06
Hydroxythiourée	N-H <sup>6</sup>	94.75
	N-H <sup>4</sup>	109.185
	N-H <sup>6</sup>	104.16
Enolthiourée	N-H <sup>4</sup>	109.81
	S-H <sup>7</sup>	89.105

Les résultats du tableau 3 montrent que :

- Des six molécules, les plus faibles valeurs d'enthalpie de dissociation par rupture homolytique de liaison (BDE) a été obtenue dans le cas de la thiourée. Ce résultat confirme davantage que la thiourée est la plus antioxydante des six molécules.
- En ce qui concerne l'hydroxythiourée, hydroxyurée, l'énolthiourée et l'énolurée, les plus faibles valeurs d'enthalpie sont principalement obtenues pour les liaisons O-H<sup>8</sup>, O-H<sup>9</sup>, S-H<sup>7</sup> et O-H<sup>8</sup> respectivement. Ces résultats indiquent que les atomes d'hydrogène H<sup>8</sup>, H<sup>9</sup>, H<sup>7</sup> et H<sup>8</sup> peuvent plus facilement se dissocier de chacune des quatre molécules pour libérer des radicaux susceptibles de piéger les radicaux libres. Ainsi, les sites O-H<sup>8</sup>, O-H<sup>9</sup>, O-H<sup>7</sup> et O-H<sup>8</sup> apparaissent comme les plus importants pour la manifestation de l'activité antioxydante du l'hydroxythiourée, hydroxyurée, l'énolthiourée et l'énolurée respectivement.
- Globalement, les valeurs de BDE données pour chacune des molécules sont rangées dans l'ordre : thiourée < hydroxythiourée < énolthiourée < hydroxyurée < énolurée < urée  
L'activité antioxydante de la thiourée serait donc plus importante.

#### 2.4. Mécanismes et sites de manifestation d'activité antiradicalaire des molécules

Pour les différentes liaisons O-H se trouvant dans chacune des molécules, les valeurs calculées des différents paramètres énergétiques (HAT SETPT et SPLET), relatifs aux trois chemins de réaction envisagés, sont consignées dans le tableau 5.

Les résultats obtenus pour l'urée, l'énolurée, de la thiourée, de l'hydroxyurée, de l'hydroxythiourée et de l'énolthiourée montrent que le chemin de réaction passant par l'élimination d'un atome d'hydrogène par rupture homolytique de la liaison O-H a nécessité les énergies de plus faibles valeurs. Cela signifie que la manifestation de l'activité antiradicalaire de chacune des six molécules, passerait probablement par ce dernier chemin de réactions (élimination d'un atome d'hydrogène par rupture homolytique de liaison OH puis piégeage des radicaux libres).

**Tableau 5:** Valeurs calculées (en kcal/mol) des paramètres énergétiques de l'urée, de l'énolurée, de la thiourée, de l'hydroxyurée, de l'hydroxythiourée et de l'énolthiourée

	Urée	Enolurée	Thiourée	Enolthiourée	Hydroxyurée	Hydroxythiourée
<b>HAT</b>	116.08	97.26	46.43	89.105	84.71	79.06
<b>SETPT</b>	430.06	411.23	360.41	403.08	404.96	393.04
<b>SPLET</b>	430.81	411.98	361.16	403.83	405.71	393.79

#### 2.4. Potentielles électrostatiques moléculaires de chacune des molécules

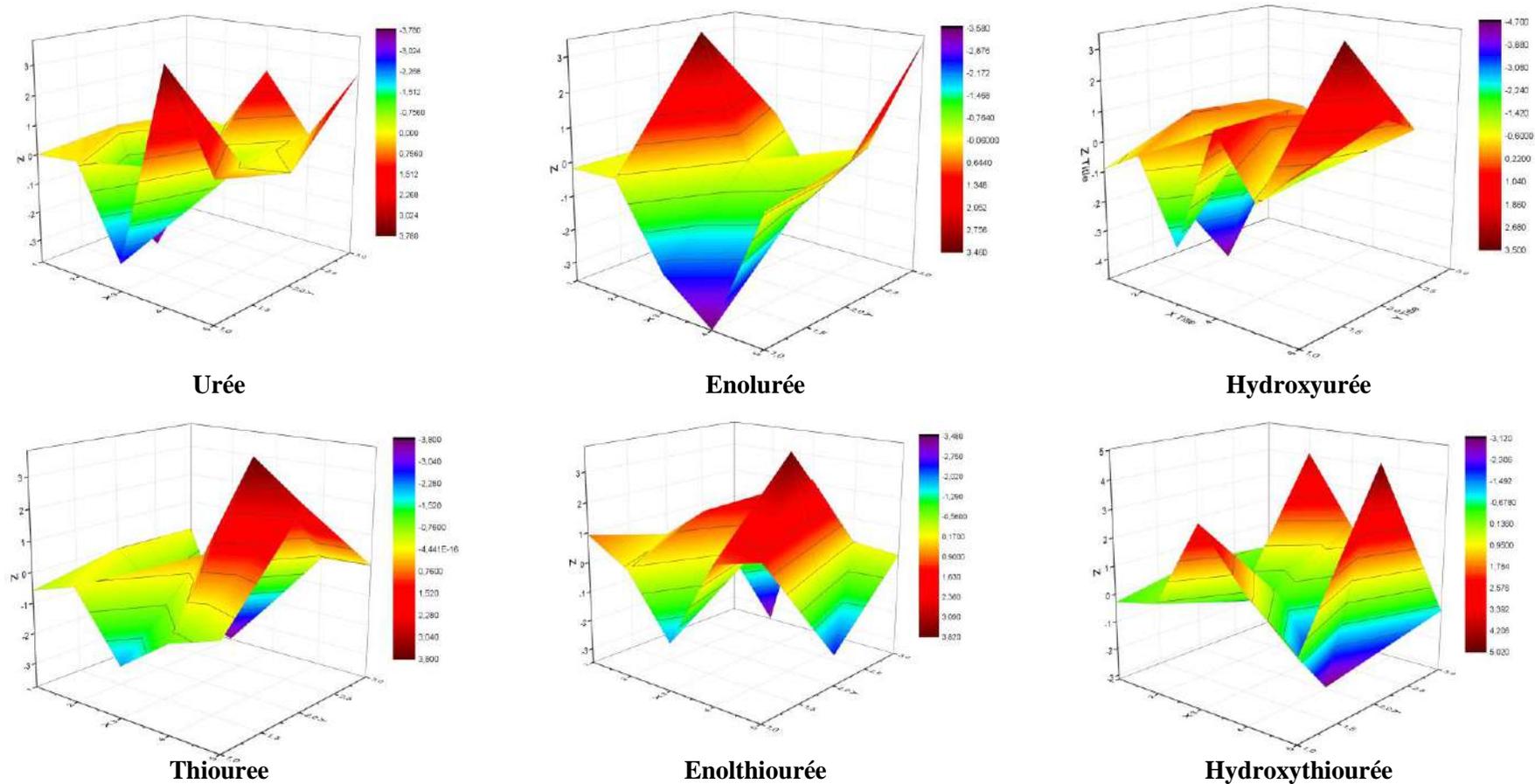
Les populations d'électrons à la surface d'énergie potentielle sont indiquées par différentes couleurs. La représentation 3D des surfaces d'énergie potentielle de l'urée, l'énolurée, la thiourée, l'hydroxyurée, l'hydroxythiourée et l'énolthiourée ont été représentées (figure 4). L'analyse des différentes surfaces a permis de constater globalement que les valeurs de densité électronique augmentent dans l'ordre suivant : Rouge > Orange > Jaune > Noire > Bleue

Pour l'urée, l'énolurée, l'hydroxyurée, la densité d'électronique se trouve dans les régions comprises entre [-3.780 ua ; 3.780 ua], [-3.560 ua ; 3.460 ua] et [-4.700 ua ; 3.500 ua] respectivement. L'analyse des potentielles électrostatiques moléculaires (MEP) de chacune ces trois molécules montre qu'elles possèdent plus de charge négatives partielles riches en électrons (site électrophile) que de charge déficientes en électrons (site nucléophile); ce qui signifie donc que ces trois molécules sont de bons candidats antioxydants. De plus, des trois molécules, l'énolthiourée présente une plus forte délocalisation électronique; cette molécule paraît donc la plus antioxydante d'entre les trois molécules.

En ce qui concerne la thiourée, l'hydroxythiourée et l'énolthiourée, la densité d'électronique se trouve dans les régions comprises respectivement entre [-3.800 ua ; 3.800 ua], [-3.820 ua ; 3.450 ua] et [-5.020 ua ; 3.120 ua]. L'analyse des potentielles électrostatiques moléculaires (MEP) de chacune ces trois molécules montre qu'il y a plus de site électrophile que de site nucléophile ; ce qui signifie donc que ces trois molécules sont de bons candidats antioxydants. De plus la thiourée, et l'hydroxythiourée ont présenté plus de sites électrophiles. Ce résultat indique ces deux molécules sont les plus antioxydantes.

Une étude comparative des surfaces isoélectriques permet de constater que parmi les six molécules (l'urée, l'énolurée, la thiourée, l'hydroxyurée, l'hydroxythiourée et l'énolthiourée), la

thiourée et l'hydroxythiourée ont présentées les plus fortes populations électroniques. De cette analyse, il ressort que la thiourée et l'hydroxythiourée sont les plus antioxydantes d'entre les six molécules.



**Figure 4** : représentation des potentiels électrostatiques moléculaires au niveau 3D de l'urée, l'énolurée, la thiourée, l'hydroxyurée, l'hydroxythiourée et l'énolthiourée

## Conclusion

Une étude théorique des réactivités chimiques de l'urée, l'énolurée, la thiourée, l'hydroxyurée, l'hydroxythiourée et l'énolthiourée, par la méthode M06-2X/6-311++G (d, p). La comparaison entre les valeurs calculées des différents paramètres électroniques, thermodynamiques et spectroscopiques a permis :

- de dégager les atomes d'oxygène des groupes O-H<sup>8</sup>, O-H<sup>9</sup>, O-H<sup>7</sup> et O-H<sup>8</sup>, comme les plus importants sites pour la manifestation de l'activité antioxydante de l'hydroxythiourée, hydroxyurée, l'énolthiourée et l'énolurée respectivement.
- de constater que la thiourée et l'hydroxythiourée sont les plus antioxydantes des d'entre les six molécules.
- de constater que le remplacement de l'atome d'oxygène par celui du soufre modifie considérablement les propriétés antioxydantes de la molécule d'urée
- constater que le mécanisme passant par l'élimination d'hydrogène atomique par rupture homolytique de liaison (HAT), comme le plus probable pour le piégeage d'un radical par chacune des molécules.

Pour ce qui concerne la prédiction des propriétés antioxydantes de la molécule et des complexes étudiés, les résultats théoriques sont en accord avec les données expérimentales publiées dans la littérature.

## Références

- [1] Apak, R., Ozyürek, M., Güçlü, K., Çapanoglu, E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement. 2. Hydrogen atom transfer (HAT)-based, mixed-mode (electron transfer (ET)/HAT), and lipid peroxidation assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64, 1028-1045
- [2] A DFT study on the addition and abstraction; Mwacham. M. Kabanda & Kemoabetswe R. N. reactions of thiourea with hydroxyl radical Serobatse, *JOURNAL OF SULFUR CHEMISTRY*, 2017 <https://doi.org/10.1080/17415993.2017.1359269>
- [3] S. K. Saha, R. C. Chandrakanth, H. R. Krishnamurthy, *Phys Rev B* 80, 15541 (2009).
- [4] Bao, B. Y., Ting, H. J., Hsu, J. W., Lee, Y. F. (2008). Protective role of 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D3 against oxidative stress in nonmalignant human prostate epithelial cells. *International Journal of Cancer*, 122, 2699-2706.
- [5] J.W. Li, Y.Y. Liu, L.H. Xie, J.Z. Shang, Y. Qian, M.D. Yi, W. Huang, *Phys Chem* 17, 491 (2015).
- [6] Chan B, Gilbert ATB, Gill PMW, et al. Performance of density functional theory procedures for the calculation of proton-exchange barriers: unusual behavior of M06-type functionals. *J Chem Theory Comput.* 2014;10:3777–3783.
- [7] Hameed SA, Alrouby SK, Hilal R. Design of molecular switching and signaling based on proton transfer in 2-hydroxy Schiff bases: a computational study. *J Mol Model.* 2013;19:559–569.
- [8] Vandeputte AG, Sabbe MK, Reyniers M-F, et al. Theoretical study of the thermodynamics and kinetics of hydrogen abstractions from hydrocarbons. *J Phys Chem A.* 2007; 111:11771–11786.
- [9] Carocho, M., Ferrerira, I. C. (2013). A review on antioxidants, pro-oxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25.
- [10] Aquilano, K., Baldelli, S., Ciriolo, M. R. (2014). Glutathione: new roles in redox signaling for an old antioxidant. *Frontiers in pharmacology*, 5.
- [11] Battault, S., Whiting, S. J., Peltier, S. L., Sadrin, S., Gerber, G., Maixent, J. M. (2013). Vitamin D metabolism, functions and needs: from science to health claims. *European journal of nutrition*, 52, 429-441.
- [12] Caillet, S., Côté, J., Doyon, G., Sylvain, J. F., Lacroix, M. (2011). Antioxidant and antiradical properties of cranberry juice and extracts. *Food Research International*, 44, 1408-1413
- [13] Ke, Y. & Qian, Z. M. (2003), Iron misregulation in the brain: a primary cause of neurodegenerative disorders. *The Lancet Neurology*, 2, 246-253.
- [14]. Leopoldini, N. Russo, S. Chiodo and M. Toscano, *J. Agric. Food Chem.*, 2006, 54, 6343-6351
- [15]. Morrel, W. Cohen and Adam, *Journal of Statistical Physics, Hardness and Electronegativity Equalization in Chemical Reactivity Theory* ; H (2006).
- [16] Kabanda MM, Mammino L. The conformational preferences of acylphloroglucinols – a promising class of biologically active compounds. *Int J Quantum Chem.* 2012;112:3691–3702
- [17] Kabanda MM, Ebenso EE. Structures, stabilization energies, and binding energies of quinoxaline... $(\text{H}_2\text{O})_n$ , quinoxaline dimer, and quinoxaline...Cu complexes: a theoretical study. *J Phys Chem A.* 2013;117:1583–1595.
- [18] Kim S, Kuroki S, Ando I, Di@usional behavior of n-para±ns with various chain lengths in urea adduct channels by pulsed  $\tau$ -eld-gradient spin-echo NMR spectroscopy, *Chem Phys* 323:545–552, 2006
- [19]. Accelrys Software Inc, *Materials Studio 7.0*, Accelrys Software Inc, San Diego, 2014.
- [20] Carocho, M., Ferrerira, I. C. (2013). A review on antioxidants, pro-oxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25.

- [21] Lee S, Kariuki BM, Harris KDM, Hydrogen-bonded chains of -diaminoalkane and ,!-dihydroxyalkane guest molecules lead to disrupted tunnel structures in urea inclusion compounds, *New J Chem* 29:1266–1271, 2005.
- [22] Lu Tian, Feiwu Chen, *Journal of Computational Chemistry* 580 (2012).
- [23] M. Reinboth, S. Wolfram, G. Abraham, F.R. Ungemach, 198 (2010).
- [24] Y. Hara S. V. Jovanovic, S. Steenken, and M. G. Simic, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 2001, 2497-2504.

## Etude DFT de l'adsorption de quelques résidus médicamenteux des eaux usées hospitalières sur les surfaces de kaolinite

Jean Wilfried Hounfodji<sup>1</sup>, Wilfried G. Kanhounon<sup>1</sup>, Gaston Kpotin<sup>1</sup>, U.A. Kuevi<sup>1</sup>, Michael Badawi<sup>2</sup>, Guy Sylvain Atohoun<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Chimie théorique et de spectroscopie moléculaire (LACTHESMO) Université d'Abomey-Calavi, 03 BP 3409 Cotonou-Bénin

<sup>2</sup>Laboratoire de Chimie et Physique- Approche Multi Echelle des Milieux Complexes (LCP-A2MC) - EA 4362, Institut Jean-Barriol FR2843 CNRS. Université de Lorraine, France

### Résumé

Ces dernières années, l'accumulation de résidus pharmaceutiques/médicamenteux provenant des eaux usées hospitalières dans l'environnement continue d'être un sujet de grande préoccupation. De grandes quantités d'effluents générés par les activités hospitalières renferment potentiellement des composés organiques ainsi que de micropolluants pathogènes qui perturbent les métabolismes normaux des organismes et peuvent induire la prolifération de souches bactériennes [1,2]. Ainsi les effluents hospitaliers mal ou non traités représentent une grave menace pour l'environnement. Dans la présente étude, il s'agira de proposer des structures d'argiles et des conditions optimales d'élimination des micropolluants par adsorption. Par les méthodes de la DFT périodique [3], l'adsorption, du phénol, de l'aspirine, du paracétamol, de l'ibuprofène, de diazépam, du diclofénac et de carbamazépine a été effectuée sur les surfaces de kaolinite. Les résultats montrent que les composés s'adsorbent sélectivement par rapport à l'eau sur les surfaces aluminol et siloxanes de la kaolinite. Les adsorptions sont exothermiques, les énergies obtenues dépendent de la nature de la surface de l'adsorbant et de la position relative du polluant par rapport à cette dernière, avec possibilité de régénération. L'ibuprofène est la molécule la plus adsorbée suivi successivement du paracétamol, du carbamazépine, du phénol, de l'aspirine, du diclofénac et du diazépam sur la kaolinite.

**Mots clés :** DFT périodique, adsorption, effluents hospitalières, kaolinite.

## DFT study of adsorption of some medicinal residues from hospital wastewater on kaolinite surfaces

### Abstract

In recent years, the accumulation of pharmaceutical / medicinal residues from hospital wastewater in the environment continues to be of great concern. Large quantities of effluents generated by hospital activities potentially contain organic compounds as well as pathogenic micropollutants (bacteria, protozoa, viruses, fungi) that disrupt the normal metabolism of organisms and can induce the proliferation of bacterial strains [1,2]. Thus poor or untreated hospital effluents pose a serious problem to the environment. This present study, aimed question to propose clay structures and optimal conditions for the removal of micropollutants by adsorption. By the periodic DFT methods[3], the adsorption of phenol, aspirin, paracetamol, ibuprofen, diazepam, diclofenac and carbamazepine was carried out on natural kaolinite surfaces. Analysis of the results shows that the compounds adsorb selectively to water on the aluminol and siloxane surfaces of kaolinite. The adsorptions are exothermic, the energies depend on the surface and the relative position of the pollutant with respect to the latter, with possibility to regenerability. Ibuprofen is the most adsorbed molecule followed by paracetamol, then carbamazepine, phenol, aspirin, then diclofenac and finally diazepam on kaolinite.

**Keywords:** Periodic DFT, adsorption, hospital effluents, kaolinite.

### 1. Introduction

De nos jours, la gestion des déchets solides et liquides est un sujet de grande préoccupation et d'envergure mondiale, surtout dans les pays du sud comme le Bénin. En effet, les stations de traitement et d'épuration des eaux polluées (STEP) y sont rares et leurs capacités de traitement sont limitées ou d'efficacité douteuses. Les quelques STEP dont dispose le département du Littoral du Bénin doivent faire face aux eaux usées produites par plus d'un million d'habitants [4] et le mode de traitement des eaux dans ces STEP ne serait pas vraiment adapté pour l'élimination des résidus médicamenteux présents dans les effluents hospitaliers. Dans ces conditions, les déchets liquides hospitaliers sont déversés sans traitement adéquat dans les réserves naturelles (lacs et lagunes) et les polluants qui y sont contenus affectent la vie aquatique et entrent par la suite dans la chaîne alimentaire humaine par le biais des produits halieutiques. Cette situation présente donc des risques écotoxicologiques et des menaces pour la santé humaine. De manière générale, divers procédés physiques, chimiques et biologiques de traitement des eaux usées ont été développées et ont démontré différents degrés d'efficacité d'assainissement [5], mais aussi des limites qui se rapportent surtout aux coûts élevés des processus et à la génération des sous-produits toxiques. Parmi ces procédés de traitement, l'adsorption semble être la méthode la plus efficace pour l'élimination des polluants des eaux usées [6]. Un des matériaux adsorbants les plus utilisés est le charbon actif dont la préparation et la régénération présentent l'inconvénient d'être coûteuses, réduisant ainsi son accessibilité [7]. Actuellement, plusieurs études ont été réalisées sur l'utilisation des argiles comme adsorbant [8]. Les avantages significatifs qui militent en faveur de ce type de matériau pour cet usage sont : son abondance naturelle, sa grande surface spécifique, sa capacité d'échange d'ions élevée, ses excellentes propriétés d'adsorption et surtout son caractère non toxique. Tous ces avantages confèrent un

caractère économique et protecteur de l'environnement à l'utilisation des argiles pour le traitement des eaux usées, et concourent bien à l'atteinte des Objectifs des nations unies pour le Développement Durable (ODD)[9].

Dans ce travail, nous avons réalisé une étude théorique de l'adsorption sélective, par rapport à l'eau, de quelques composés médicamenteux réfractaires aux processus de dépollution des eaux usées hospitalières, sur de la kaolinite connue pour ses bonnes propriétés adsorbantes.

## 2. Matériels et méthodologie

### 2.1 Matériels

La kaolinite, de formule générale  $\text{Si}_2\text{Al}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ , est une argile constituée de feuillets comprenant une couche tétraédrique ( $\text{SiO}_4$ ) occupée par le silicium Si, accolée à une couche octaédrique ( $\text{AlO}_6$ ) occupée par l'aluminium, avec une épaisseur d'environ 7 Å (Figure 1) [10]. De ce fait, la kaolinite présente deux types de surfaces : les surfaces hydroxylées ou aluminol et les surfaces siloxane (Figure 2). Normalement, la charge nette de couche de la kaolinite est nulle. Cependant, il y apparaît une charge négative résultant des bords cassés des cristaux de l'argile.

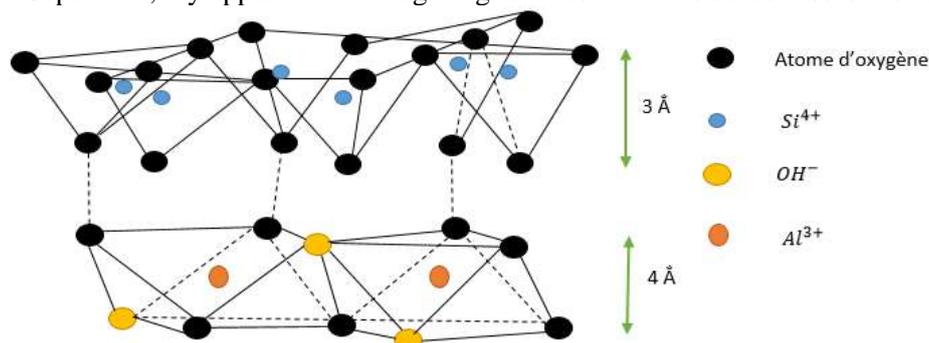


Figure 39 : Structure de base de la kaolinite

A cause de la taille des molécules à adsorber, nous avons modélisé l'argile par une supercellule 2x2x1 construite à partir d'une maille élémentaire de paramètres  $\alpha = 91,93^\circ$ ,  $\beta = 105,04^\circ$ ,  $\gamma = 89,79^\circ$ ,  $a = 5,15 \text{ \AA}$ ,  $b = 8,93 \text{ \AA}$  et  $c = 28,95 \text{ \AA}$ . Pour éviter des interactions stériques entre les molécules adsorbées et les couches supérieures de la cellule, un vide de 20 Å a été insérer suivant la direction c (Figure 2).

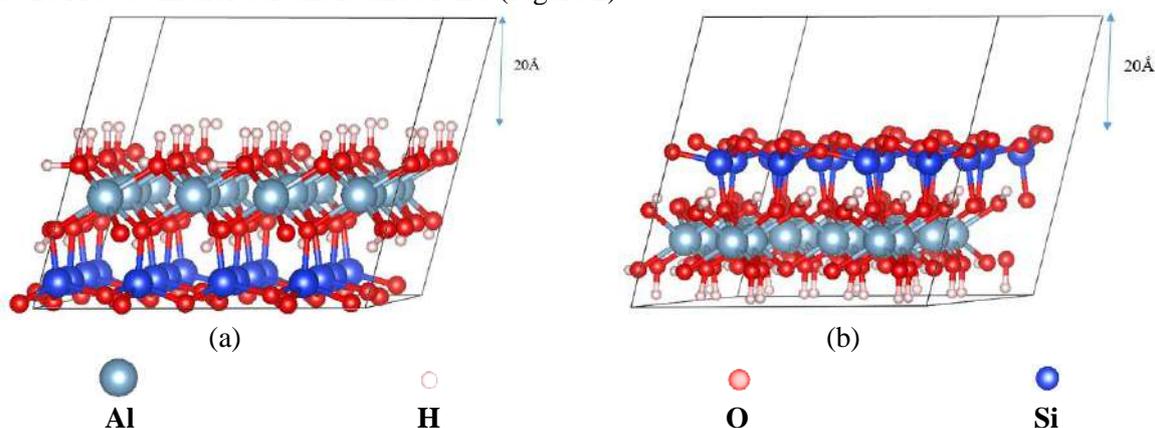
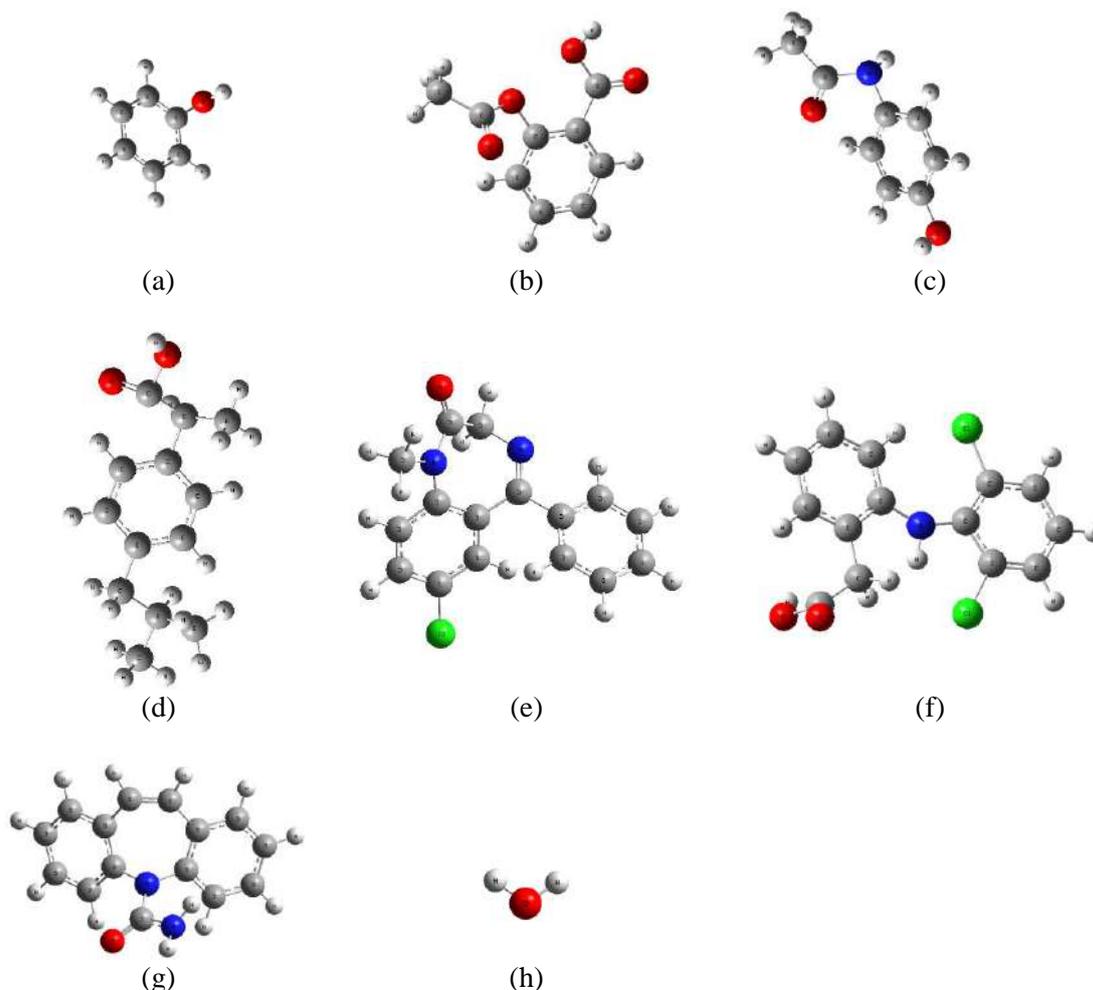


Figure 2: (a) Surface hydroxylée ou aluminol de la kaolinite ;  
(b) Surface siloxane de la kaolinite

Les molécules adsorbées sur les surfaces la kaolinite sont représentées par figure 3.



**Figure 3** : Molécules de (a) :Phénol, (b) : Aspirine, (c) : Paracétamol, (d) : Ibuprofène, (e) : Diazépam, (f) : Diclofénac, (g) : Carbamazépine, (h) : Eau

## 2.2 Modes d'adsorption des molécules

Pour chacune des molécules, sur les deux surfaces de la kaolinite, différentes configurations d'adsorption ont été examinées : les configurations verticale et horizontale où des hétéroatomes d'oxygène, d'azote et ou de chlore sont coplanaires avec les noyaux aromatiques des molécules. Pour la molécule d'eau, deux configurations d'adsorption Top (les deux hydrogènes sont orientés vers le haut) et Down (les deux hydrogènes sont orientés vers la surface) ont été considérées.

## 2.3 Méthode de calcul

### 2.3.1 Détails computationnels

Les calculs périodiques de la théorie de fonctionnelle de densité (DFT) ont été effectués avec le code de simulation Vienna Ab initio Simulation Package (VASP) [11] [12]. La fonctionnelle d'échange-corrélation de Perdew Burke Ernzerhof (PBE) avec l'approximation du gradient généralisé (GGA) proposée par Perdew et *al.* a été utilisée [13]. Les interactions électron-ion ont été décrites à l'aide de la méthode d'onde plane PAW (Projected Augmented Wave) [14], et les équations de Kohn-Sham ont été résolues avec un critère de convergence de  $10^{-6}$  eV. Une énergie de coupure a été déterminée et fixée à 450 eV. Et le seuil des forces exercées sur chaque atome au cours de la relaxation est de 0,02 eV. L'intégration de la zone de Brillouin a été faite au  $\Gamma$ -point seulement. Afin de décrire avec une bonne précision le processus d'adsorption des différentes molécules, les interactions de Van Der Waals (VDW) ont été évaluées par la méthode de Grimme (DFT- D2) [15,16]. Sur la base des calculs l'énergie de la kaolinite pure  $E_{(kao, DFT)}$ , des molécules isolées en phase gazeuse  $E_{(X, DFT)}$  et des complexes Molécule-Kaolinite dans diverses configurations, les énergies d'adsorption  $\Delta E_{(ads, DFT)}$  et de dispersion  $\Delta E_{(disp, DFT)}$  des molécules sur les surfaces de la kaolinite ont été calculées comme selon les formules :

$$\Delta E_{(ads, DFT)} = E_{(kao-X, DFT)} - E_{(kao, DFT)} - E_{(X, DFT)}$$

$$\Delta E_{(disp, DFT)} = E_{(kao-X, DFT)} - E_{(kao, DFT)} - E_{(X, DFT)}$$

Les pourcentages de contribution des forces de dispersion à l'énergie d'adsorption ont également été calculés pour apprécier la nature des interactions intervenant dans le processus d'adsorption des molécules : % dispersion =  $\frac{\Delta E_{dis}}{\Delta E_{ads}} \times 100$

Aussi, des densités d'états (DOS) pour mieux apprécier les interactions interatomiques dans le complexe Molécule-Kaolinite ont été calculées [17–20].

### 2.3.2 Calculs thermodynamiques

Pour apprécier l'effet de la température sur l'adsorption des molécules, les énergies libres des réactions d'adsorption  $\Delta_r G^\circ$  peuvent être calculées à différentes températures, avec le programme gaussian 09 :

$$\Delta_r G^\circ(T) = \Delta E_{ads} + \Delta ZPE + \Delta E_{vib} + \Delta E_{trans} + \Delta E_{rot} - T(\Delta S_{vib} + \Delta S_{trans} + \Delta S_{rot})$$

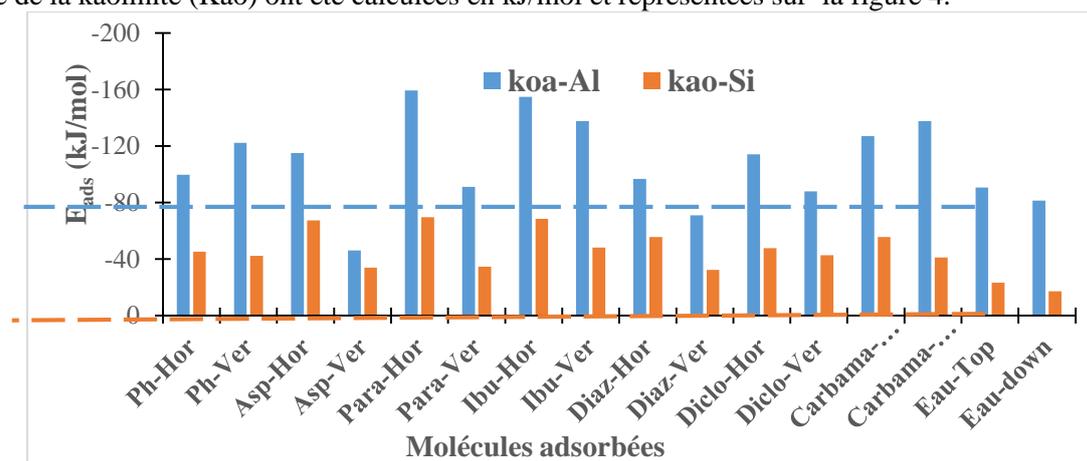
avec  $\Delta E_{ads}$  l'énergie d'adsorption,  $\Delta ZPE$  l'énergie du zéro point,  $\Delta E_{vib}$  l'énergie de vibration,  $\Delta E_{trans}$  l'énergie de translation,  $\Delta E_{rot}$  l'énergie de rotation,  $\Delta S_{vib}$  l'entropie de vibration,  $\Delta S_{trans}$  l'entropie de translation et  $\Delta S_{rot}$  l'entropie de rotation. En considérant les molécules adsorbées comme impliquées dans un complexe immobile, tous les composants de translation et rotation sont négligés. Par ailleurs, les termes de vibration sont supposés se compenser avant et après l'adsorption. Dans ces conditions

$$\Delta ZPE = ZPE_X \text{ et } \Delta_r G^\circ(T) = \Delta E_{ads} + ZPE_X - [E_{trans}(X) + E_{rot}(X)] - T[S_{trans}(X) + S_{rot}(X)]$$

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Energie d'adsorption

Les énergies d'adsorption ( $E_{ads}$ ) du phénol (Ph), de l'aspirine (Asp), du paracétamol (Para), de l'ibuprofène (Ibu), de diazépam (Diaz), du diclofénac (Diclo), de la carbamazépine (Carbama), suivant les configurations horizontale et verticale, et celles de la molécule d'eau dans la configuration top et down, sur les surfaces aluminole et siloxane de la kaolinite (Kao) ont été calculées en kJ/mol et représentées sur la figure 4.



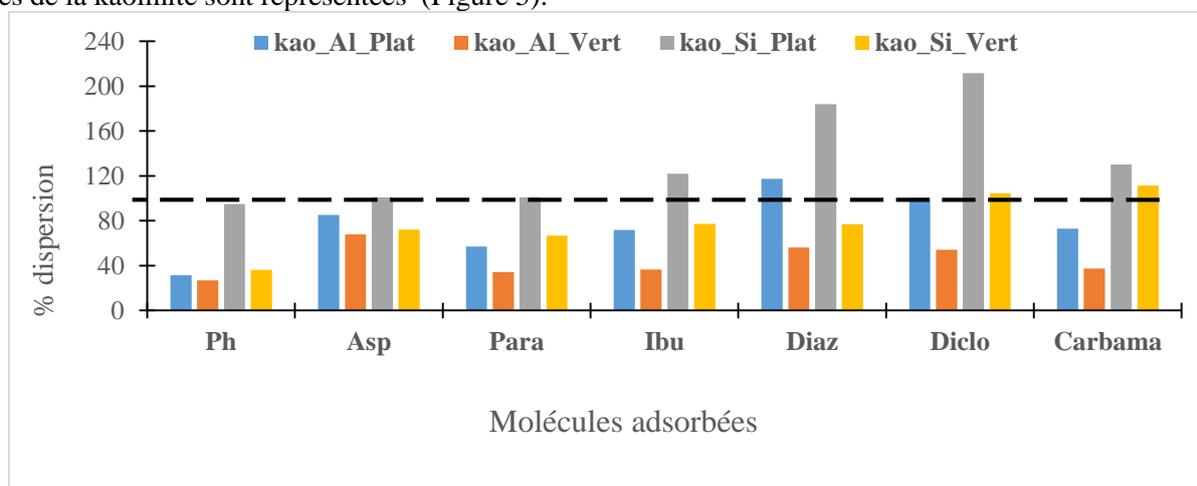
**Figure 4** : Energies d'adsorption des molécules sur les surfaces de la kaolinite suivant les configurations horizontale et verticale, et de la molécule d'eau dans la configuration top et down

L'analyse de ce diagramme montre que les adsorptions des molécules sont toutes exothermiques ( $E_{ads} < 0$ ). Les molécules sont plus adsorbées sur la surface aluminole que sur la surface siloxane ( $|E_{ads/Kao-Si}| < |E_{ads/Kao-Al}|$ ). De plus, les ordres de grandeur des énergies calculées suggère que l'adsorption des molécules sur la surface siloxane serait une physisorption ( $|E_{ads/Kao-Si}| \approx 40$  kJ/mol), tant que sur la surface aluminole, il s'agirait plutôt d'une chimisorption ( $|E_{ads/Kao-Al}| > 40$  kJ/mol). Ainsi, la surface aluminole de la kaolinite éliminerait les molécules étudiées mieux que la surface siloxane. La présence d'orbitales d, favorables à la formation de liaison hydrogène au niveau des atomes d'aluminium, justifie bien cette observation [21]. Sur la surface siloxane, dans le mode d'adsorption horizontale comme verticale, toutes les molécules étudiées sont plus adsorbées que la molécule d'eau ( $|E_{ads/Kao-Si}(H_2O)| < |E_{ads/Kao-Si}(Molécule)|$ ). Cela signifie que les molécules d'eau du milieu aqueux que constituent les effluents hospitaliers n'inhiberont pas l'adsorption des molécules médicamenteuses étudiées sur cette surface de l'argile. Par contre sur la surface aluminole, seule l'adsorption de la molécule de diazépam sera vraiment inhibée par la présence de l'eau dans le milieu ( $|E_{ads/Kao-Al}(H_2O)| > |E_{ads/Kao-Al}(diazépam)|$ ). Sur les deux surfaces de la kaolinite la molécule d'eau est plus adsorbée dans la configuration top ( $|E_{eau-down}| < |E_{eau-top}|$ ). Ainsi, dans la suite de nos analyses, l'effet inhibiteur de l'eau sera évalué par rapport à l'énergie

d'adsorption obtenue dans la configuration top. Sur la surface siloxane, toutes les molécules sont plus adsorbées dans la configuration horizontale ( $|E_{\text{molécule-V/Kao-Si}}| < |E_{\text{molécule-H/Kao-Si}}|$ ). Sur la surface aluminol, les mêmes tendances s'observent sauf que la molécule de phénol a été plus adsorbée verticalement qu'horizontalement ( $|E_{\text{phénol-H/Kao-Al}}| < |E_{\text{phénol-V/Kao-Al}}|$ ). Il faut noter globalement, de toutes les molécules étudiées, l'ibuprofène serait la plus adsorbée, suivie de la carbamazépine, du phénol, du paracétamol, du diclofénac, de l'aspirine et enfin du diazépam. Par ailleurs, les valeurs expérimentales et théoriques d'énergies d'adsorption de la molécule d'eau sur les surfaces de la kaolinite, publiées dans la littérature, sont dans le même ordre de grandeur que celles obtenues par nos calculs. En effet, Costanzo P.M. et *al.* ont expérimentalement établi que l'énergies d'adsorption de la molécule d'eau sur la kaolinite est comprise entre -16.7 et -46 kJ/mol [22]. Par simulation, sur la surface aluminol, d'une part, la valeur théorique de l'énergie d'adsorption de la molécule d'eau trouvée par Tunega et *al.* est comprise entre -7 et -22 kcal/mol [23], tandis que celle obtenue Seung Geol Lee et *al.* est de -46 kJ/mol [21]. Sur la surface siloxane, d'autre part, la valeur théorique de cette énergie obtenue par Yonghua Han et *al.* est de 19,55 kJ/mol.[3].

### 3.2. Contribution des forces de dispersion

Les pourcentages de contribution des forces de dispersion à l'énergie d'adsorption des molécules sur les surfaces de la kaolinite sont représentées (Figure 5).



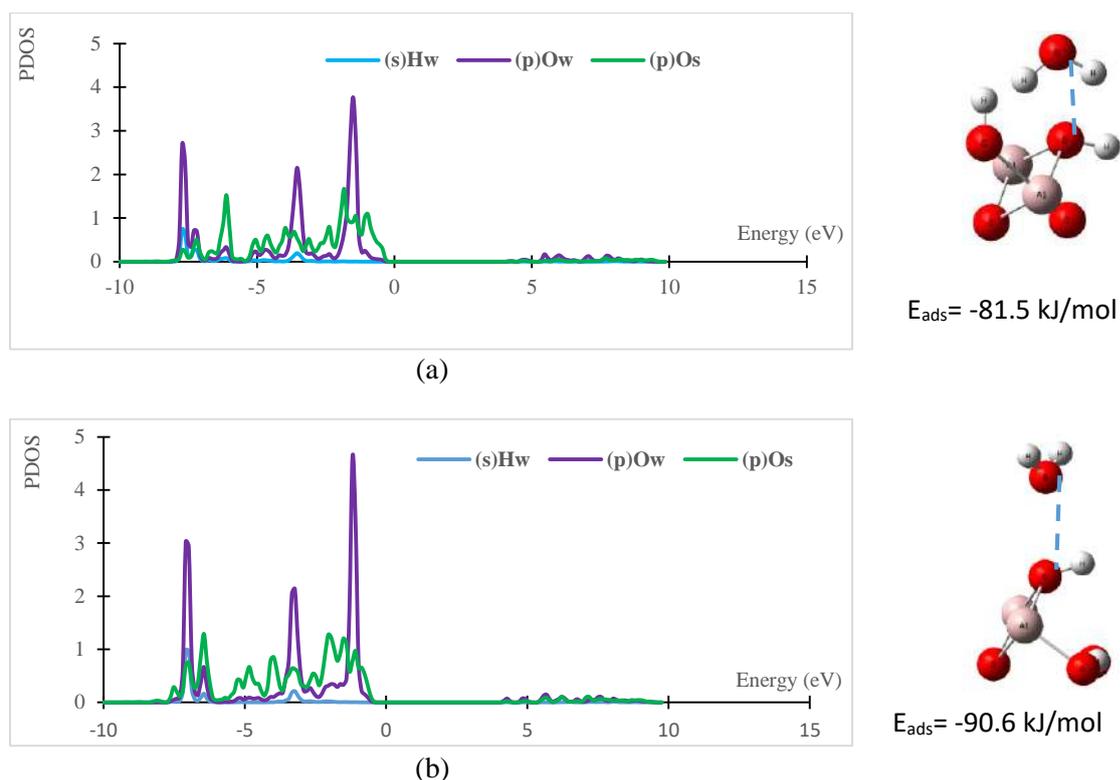
**Figure 5:** Contributions des forces de dispersion sur les interactions Surface-Molécule

Les énergies de dispersions obtenues sont toutes négatives, indiquant que les interactions de Van der Waal intervenant dans le processus d'adsorption des molécules sont de type attractif. Les pourcentages de contribution des forces de dispersion ont même atteint 100% sur la surface siloxane en mode horizontal. Cela indique que les interactions à longue portée sont dominantes dans le processus d'adsorption des molécules sur la surface siloxane de la kaolinite. Ceci confirme le fait que les molécules soient moins adsorbées sur la surface siloxane que sur la surface aluminol.

Aussi, on peut constater que l'adsorption du phénol en mode verticale sur la surface aluminol a été la plus dominée par des interactions de courte portée, avec un taux de dispersion d'environ 30%.

### 3.3. Calculs de densité d'état partiel (PDOS) et total (TDOS)

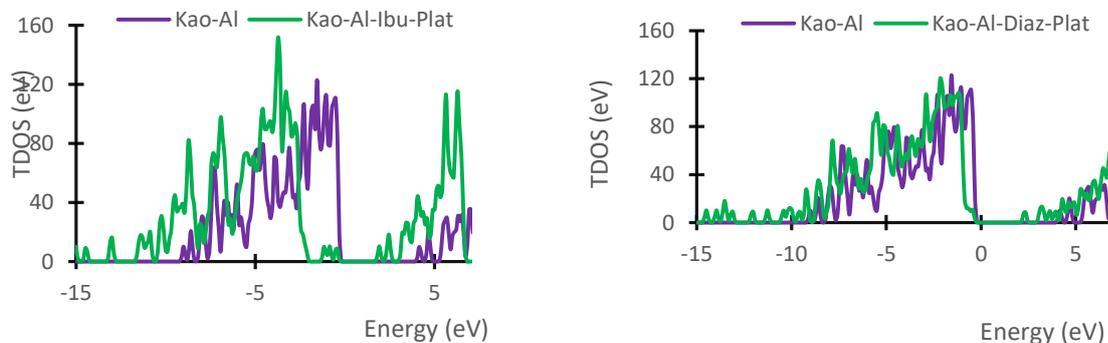
La figure 6 représente la densité d'état partiel (PDOS) de la molécule d'eau à l'adsorption, en modes down et top respectivement, sur la surface aluminol de la kaolinite.



**Figure 6 :** Densité d'état partiel (PDOS) de la molécule d'eau sur la surface Aluminol ; (a) mode down; (b) mode top

L'analyse de la figure 7 nous montre qu'au cours de l'adsorption sur la surface aluminol de la kaolinite, les états électroniques de la molécule d'eau apparaissent plutôt dans la bande de valence de -7 eV à 0 eV (bande des orbitales liantes), tandis que la présence d'électron dans la bande de conduction (bande des orbitales anti-liantes) est pratiquement négligeable. Il ressort alors que l'interaction entre la molécule d'eau et la surface Aluminol de la kaolinite n'implique pas vraiment ses orbitales anti-liantes. La comparaison des intensités des pics de densité d'état partielle de la molécule d'eau dans les configurations down et top, a révélé que les pics des orbitales s des atomes d'hydrogène et ceux de l'orbitale p de l'atome d'oxygène sont plus intenses dans la configuration top. De plus, dans les deux configurations, les pics de l'orbitale p de l'atome d'oxygène plus intenses que ceux des orbitales s des atomes d'hydrogène. Cela signifie que l'interaction entre la molécule d'eau et la surface aluminol de la kaolinite a plutôt lieu à travers les orbitales p de son atome d'oxygène. En définitive, l'adsorption de la molécule d'eau sur la surface aluminol de la kaolinite se réaliserait préférentiellement en mode top.

Aussi, pour apprécier les interactions entre les atomes des molécules adsorbées et celle de la surface de la kaolinite (plus adsorbante), les densités d'état totales (TDOS) du système [Molécule–Kaolinite] ont été calculées avant et après l'adsorption, pour la molécule la plus adsorbée (Ibuprofène) et la moins adsorbée (Diazépam) (Figure7). Seules les configurations d'adsorption horizontale où les molécules sont plus adsorbées ont été considérées pour les deux molécules.



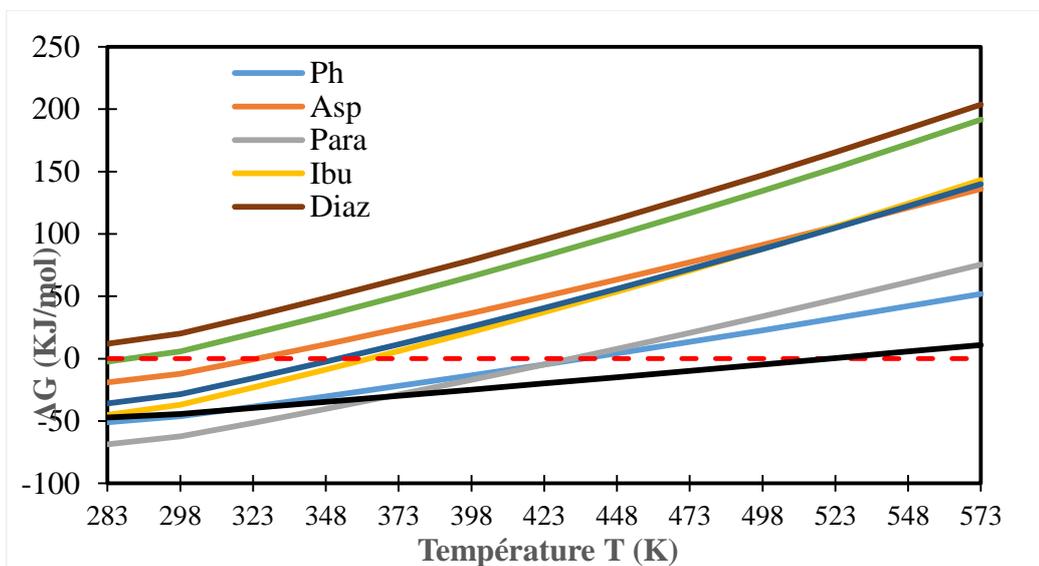
**Figure 7** : Densités d'état totales (TDOS) de l'ibuprofène (a) et du diazépam (b) sur la surface aluminol de la kaolinite à l'adsorption.

La comparaison des densités d'état totales (TDOS) du système [Kaolinite] avant l'adsorption (courbe Kao-Al) et après l'adsorption (courbe Kao-Al-Ibu-Plat), montre qu'à l'adsorption, de nouveaux pics apparaissent entre -15 eV et -10 eV (courbe Kao-Al-Mol-Plat). De plus, en dehors de ces nouveaux pics, tous les autres pics se recouvrent bien avec ceux obtenus avant l'adsorption (courbe Kao-Al). Ces deux observations indiquent que l'interaction entre les molécules et la surface aluminol de la kaolinite est forte [24,25].

Par ailleurs, les pics obtenus à l'adsorption de l'ibuprofène sont bien plus intenses que ceux observés dans le cas du diazépam ; ceci justifie que l'ibuprofène soit plus adsorbé que le diazépam.

### 3.4. Régénérabilité du matériau

Le problème auquel on est souvent confronté est la réutilisation du matériau adsorbant après qu'il soit regorgé de polluants. Ainsi nous avons calculé les enthalpies libres d'adsorption pour différentes températures. La température à partir de laquelle l'enthalpie libre du système s'annule est la température d'inversion de la réaction (désorption).



**Figure 8** : Variation d'enthalpie des molécules adsorbée sur la kaolinite en fonction de la température

Les valeurs d'enthalpies libres d'adsorption calculées sont en accord avec les données expérimentales publiées dans la littérature. Particulièrement pour le phénol, la valeur calculée de l'enthalpie libre d'adsorption à 323K est de -38,39 kJ/mol ; une valeur très proche de celle expérimentale (-34,43 kJ/mol) publiée par Bouazza et al en 2018 [26]. L'analyse des courbes de la figure 12 a montré que la désorption des molécules s'amorce à partir de la température de 448 K pour le phénol et le paracétamol, de 323 K pour l'aspirine, de 360 K pour l'ibuprofène et de 350 K pour la carbamazépine. Pour ce qui concerne les molécules de Diazépam et de diclofénac, les courbes d'enthalpie libre s'annulent à une température absolument inférieure à 298 K. Cette observation signifie qu'à la température ambiante (298K) ces dernières molécules sont peu fixées sur le matériau et cela justifie qu'elles soient également les moins adsorbées parmi toutes les molécules étudiées. Particulièrement dans le cas de la molécule de diazépam, son adsorption était déjà inhibée par la présence du milieu aqueux.

Ainsi, par une agitation thermique portant la température du milieu à 448 K environ, Il serait possible de désengorger la kaolinite de ces polluants. Certes, à cette température, les molécules d'eau seront encore fixées sur le matériau ( $T(\Delta G_{eau}=0) = 523$  K), mais ceci n'est pas gênant dans la mesure où l'argile hydratée devra être remise au contact de l'effluent aqueux pour un usage ultérieur.

### 4- Conclusion

L'étude théorique de l'adsorption de polluants organiques tels que le phénol, l'aspirine, le paracétamol, l'ibuprofène, le diazépam, le diclofénac et la carbamazépine sur la kaolinite a été réalisée à l'aide de calculs DFT. En particulier, nous avons démontré que :

- Les adsorptions de ces composants sont exothermiques.

- L'adsorption de molécules sur la surface aluminol (001) de la kaolinite est plus favorisée que sur la surface siloxane et se produit préférentiellement avec une configuration plate pour la plupart des molécules.
  - L'adsorption d'eau sur la surface aluminol de la kaolinite est favorisée dans sa position top et ne doit inhiber que l'adsorption du diazépam compte tenu des énergies d'adsorption.
  - Enfin, en chauffant la kaolinite à 440 K, elle peut rejeter les six polluants étudiés et être réactivée pour d'autres utilisations, ce qui fait de la kaolinite un excellent candidat pour la dépollution de l'eau.
- Cette étude théorique a mis en lumière les mécanismes d'adsorption des six molécules considérées et a démontré que la kaolinite peut être utilisée pour l'élimination des molécules de polluants pharmaceutiques des eaux usées. Il constitue un résultat encourageant car il pourrait améliorer l'efficacité des installations de traitement des eaux en utilisant la kaolinite dans le processus de dépollution.

## Bibliographie

1. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 218*; Whitacre, D.M., Ed.; Springer US: Boston, MA, 2012; Vol. 218; ISBN 978-1-4614-3136-7.
2. Schreurs, R.H.M.M. Interaction of Polycyclic Musks and UV Filters with the Estrogen Receptor (ER), Androgen Receptor (AR), and Progesterone Receptor (PR) in Reporter Gene Bioassays. *Toxicological Sciences* **2004**, *83*, 264–272, doi:10.1093/toxsci/kfi035.
3. Han, Y.; Liu, W.; Chen, J. DFT Simulation of the Adsorption of Sodium Silicate Species on Kaolinite Surfaces. *Applied Surface Science* **2016**, *370*, 403–409, doi:10.1016/j.apsusc.2016.02.179.
4. Suanon, F.; Tométin, L.A.S.; Dimon, B.; Agani, I.C.; Mama, D.; Azandegbe, E.C. Utilization of Sewage Sludge in Agricultural Soil as Fertilizer in the Republic of Benin (West Africa): What Are the Risks of Heavy Metals Contamination and Spreading? *American Journal of Environmental Sciences* **2016**, *12*, 8–15, doi:10.3844/ajessp.2016.8.15.
5. Zhu, R.; Chen, Q.; Zhou, Q.; Xi, Y.; Zhu, J.; He, H. Adsorbents Based on Montmorillonite for Contaminant Removal from Water: A Review. *Applied Clay Science* **2016**, *123*, 239–258, doi:10.1016/j.clay.2015.12.024.
6. Bhatnagar, A. *Application of Adsorbents for Water Pollution Control*; Bentham Science Publishers: Oak Park, Ill., 2013;
7. Crini, G.; Badot, P.-M. *Sorption Processes and Pollution: Conventional and Non-Conventional Sorbents for Pollutant Removal from Wastewaters*; Presses universitaires de Franche-Comté: Besançon Cedex, 2010; ISBN 978-2-84867-304-2.
8. Srinivasan, R. Advances in Application of Natural Clay and Its Composites in Removal of Biological, Organic, and Inorganic Contaminants from Drinking Water. *Advances in Materials Science and Engineering* **2011**, *2011*, 1–17, doi:10.1155/2011/872531.
9. Vereinte Nationen *The Sustainable Development Goals Report 2016*; 2016; ISBN 978-92-1-101340-5.
10. Deng Y., White G. N. et Dixon J.B. Effect of Structural Stress on the Intercalation Rate of Kaolinite. *Journal of Colloid and Interface Science* **2002**, *250*, 379–393.
11. Kresse, G.; Hafner, J. *Ab Initio* Molecular Dynamics for Liquid Metals. *Phys. Rev. B* **1993**, *47*, 558–561, doi:10.1103/PhysRevB.47.558.
12. Kresse G, Hafner J *Ab Initio* Molecular Dynamics for Liquid Metals. *Phys Rev B* *47:558–561* **1993**, *B 47*, 558–561.
13. Perdew, J.P., Burke, K., and Ernzerhof, M. Generalized Gradient Approximation Made Simple. *Physical Review Letters*, **1996**, *77*, 3865-3868.
14. Kresse, G.; Joubert, D. From Ultrasoft Pseudopotentials to the Projector Augmented-Wave Method. *Physical Review B* **1999**, *59*, 1758–1775, doi:10.1103/PhysRevB.59.1758.
15. Grimme, S. Semiempirical GGA-Type Density Functional Constructed with a Long-Range Dispersion Correction. *Journal of Computational Chemistry* **2006**, *27*, 1787–1799, doi:10.1002/jcc.20495.
16. Grimme, S. Accurate Description of van Der Waals Complexes by Density Functional Theory Including Empirical Corrections. *Journal of Computational Chemistry* **2004**, *25*, 1463–1473, doi:10.1002/jcc.20078.
17. Bader, R.F Oxford University Press. *International series of monographs on chemistry* 1990, 22.
18. Tang, W.; Sanville, E.; Henkelman, G A Grid-Based Bader Analysis Algorithm without Lattice Bias. *J. Phys. Condens. Matter* **2009**, *21*.
19. Henkelman, G.; Arnaldsson, A.; Jónsson, H. A Fast and Robust Algorithm for Bader Decomposition of Charge Density. *Comput. Mater. Sci.* **2006**, *36*, 354–360.
20. Sanville, E.; Kenny, S.D.; Smith, R.; Henkelman, G. Improved Grid-Based Algorithm for Bader Charge Allocation. *J. Comput. Chem* **2007**, *28*, 899–908.
21. Lee, S.G.; Choi, J.I.; Koh, W.; Jang, S.S. Adsorption of  $\beta$ -D-Glucose and Cellobiose on Kaolinite Surfaces: Density Functional Theory (DFT) Approach. *Applied Clay Science* **2013**, *71*, 73–81, doi:10.1016/j.clay.2012.11.002.
22. Costanzo, P.M. Static and Dynamic Structure of Water in Hydrated Kaolinites. I. The Static Structure. *Clays and Clay Minerals* **1984**, *32*, 419–428, doi:10.1346/CCMN.1984.0320511.
23. Tunega, D.; Haberhauer, G.; Gerzabek, M.H.; Lischka, H. Theoretical Study of Adsorption Sites on the (001) Surfaces of 1:1 Clay Minerals. *Langmuir* **2002**, *18*, 139–147, doi:10.1021/la010914e.

24. Grau, E.N.; Román, G.; Compañy, A.D.; Brizuela, G.; Juan, A.; Simonetti, S. Relevance of Silica Surface Morphology in Ampyra Adsorption. Insights from Quantum Chemical Calculations. *RSC Advances* **2019**, *9*, 4415–4421, doi:10.1039/C8RA08792J.
25. Wei, H.; Gui, Y.; Kang, J.; Wang, W.; Tang, C. A DFT Study on the Adsorption of H<sub>2</sub>S and SO<sub>2</sub> on Ni Doped MoS<sub>2</sub> Monolayer. *Nanomaterials* **2018**, *8*, 646, doi:10.3390/nano8090646.
26. Bouazza, Faiza, et al Elimination of Pesticides by Natural and Modified Clays. *Canadian Journal of Chemistry* **2018**, *96*, 975+.

## Empreintes digitales de nanostructures chirales/hélicoïdales des helicenes fonctionnalisés pour des guides d'ondes chiraux.

Simplice Koudjina<sup>1,2</sup>, Wilfried G. Kanhounon<sup>1</sup>, Gaston A. Kpotin<sup>1</sup>, David Beljonne<sup>2</sup>, Guy Y. S. Atohoun<sup>1</sup>

Laboratoire de Chimie Théorique et de Spectroscopie Moléculaire (LACTHESMO)  
Université d'Abomey-Calavi, 03 BP 3409 COTONOU (BENIN).

Laboratoire de Chimie des Matériaux Nouveaux & Centre d'Innovation et de Recherche en Matériaux Polymères (CIRMAP)  
Université de Mons, Place du Parc, 20, B-7000 MONS (BELGIQUE)

### Résumé

Le transfert de l'énergie et des ondes radars sont effectives grâce à des matériaux à propriétés optoélectroniques. Dans la récente technologie, les Hélicènes, constitués d'éponges marines et de molécules hélicoïdales, sont des candidats idéaux pour la réalisation des guides d'ondes circulaires [1]. Une conception des empreintes de quatre nanostructures chirales/hélicoïdales du groupe des Hélicènes a été menée par des modélisations quantiques [2]. Les empreintes Infrarouge et Raman ont été élucidées sur les molécules Hélicène-4N, Hélicène-4O, Hélicène-4S et Hexa-Hélicène, sous la roulette des méthodes ab initio HF, TDHF et DFT sous la longueur d'onde de 532 nm [3]. L'analyse des empreintes a montré que les modes normaux identiques et non-équivalents entre deux méthodes de calcul d'une même molécule sont différemment représentés entre deux fonctionnelles d'échange-corrélation (XC) GGA et Hybrides GGA de par leur indice de recouvrement par rapport à l'expérience et sous l'influence de la modification de géométrie et des intensités vibrationnelles [4]. Cette modélisation quantique illustre ces Hélicènes candidats de synthèse des guides d'ondes chirales.

**Mots clés** : Empreintes Digitales, Helicenes, Infrared, Raman.

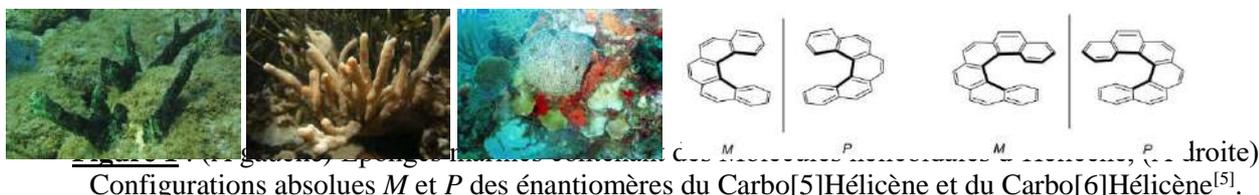
### Abstract

The energy transfer and radar waves are effective thanks to optoelectronic materials. In recent technology, Helicenes, marine sponge components and helical molecules are ideal candidates for the realization of circular waveguides. A fingerprint design of four chiral/helical nanostructures of the Helicenes group has been implemented by quantum modeling. The Infrared and Raman fingerprints were elucidated on the Helicene-4N, Helicene-4O, Helicene-4S and Hexa-Helicene molecules, under the wheel of ab initio methods HF, TDHF and DFT under the wavelength of 532 nm. Fingerprint analysis showed that identical and non-equivalent normal modes between two calculating methods of the same molecule are differently represented between two GGA exchange-correlation functional units and GGA hybrids by their overlaps sign with respect to experience and under the influence of geometry modification and vibrational intensities. This quantum modeling illustrates these Helicenes synthesis candidates of chiral waveguides.

**Key words**: Fingerprints, Helicenes, B3LYP/cc-pVTZ, Infrared, Raman.

### 1. Introduction

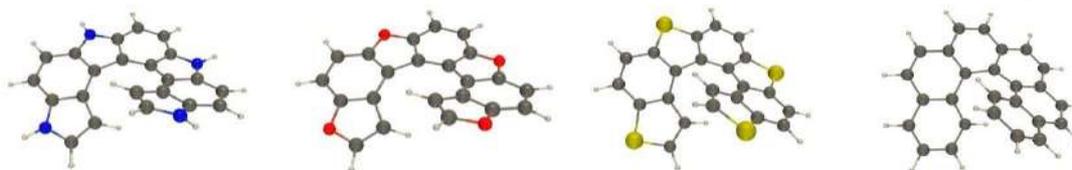
La manipulation, le transport et la transmission de l'énergie en champs électromagnétique sont plus performants par des matériaux électroluminescents organiques optoélectroniques à propriétés intrinsèques. Les guides d'onde sont des matériaux à propriétés de polarisation et de propagation circulaire et se présentent comme des candidats potentiels à une transmission sans perte d'énergie<sup>[1]</sup>. Les Hélicènes, molécules de squelette hélicoïdal issues des éponges marines se prêtent mieux à cette exigence de transport d'énergie de par leurs empreintes digitales et leurs propriétés chiroptiques extrêmement élevées<sup>[2]</sup>. Cela pourrait permettre de développer des matériaux moléculaires aux propriétés inédites (métamatériaux, guides d'ondes chiraux)<sup>[3]</sup>. De plus, le système-conjugué étendu des hélicènes laisse envisager le développement de diode électroluminescente organique chirale susceptible d'être utilisé dans la réalisation de dispositifs électroluminescents 3D<sup>[4]</sup>.



Les Hélicènes sont des molécules non-planaires polyaromatiques ortho-fusionnées avec une unique forme hélicoïdale combinant les délocalisations  $\pi$ -conjuguées<sup>[6,7]</sup>. Ces composés dans lesquels les cycles benzéniques ou autres aromatiques sont angulairement annulés, pour donner des molécules formant une charpente hélicoïdale, possèdent notamment un centre chiral en absence d'un carbone asymétrique<sup>[8]</sup>. Cette structure leur confère des propriétés chirales, optiques et optoélectroniques spécifiques telles que : large rotation optique<sup>[9]</sup>, non-centrosymétrie, mixtes hyperpolarisabilités électromagnétiques, large réponse EFISH/HRS (Electric-Field Induced Second Harmonic

Generation/Hyper-Rayleigh Scattering)<sup>[10]</sup> en optique non-linéaire (NLO). De part leurs réponses électroniques et leur chiralité, les Hélicènes présentent aussi des propriétés vibrationnelles remarquables, qui, en particulier, peuvent être sondées en utilisant les spectroscopies Raman et Infrarouge, le Dichroïsme Circulaire Vibrationnel (VCD). De ce fait, les Hélicènes constituent des candidats idéaux pour la réalisation des guides d'ondes chiraux<sup>[11]</sup> supportant des modes de propagation à polarisation circulaire<sup>[12]</sup>.

Ces quatre molécules d'Hélicènes fonctionnalisés sont : i) Hexa-Hélicène qui est l'Hélicène de référence, ii) Hélicène-4N ou Tétraaza-Hélicène qui présente une alternance du cycle benzénique et pyrrole en position ortho, iii) Hélicène-4O ou Tétraoxo-Hélicène avec l'alternance d'un cycle benzénique et furane, iiiii) Hélicène-4S ou Tétrathia-Hélicène avec également l'accolement des cycles benzéniques et thiophéniques en position ortho, donnant des structures optimisées avec la méthode de calcul B3LYP/cc-pVTZ et schématisées sur la Figure 2.



**Figure 2** : Géométries optimisées des Hélicènes Fonctionnalisés avec la méthode B3LYP/cc-pVTZ.

## 2. Méthodes de Simulation des Empreintes Digitales Moléculaires

La procédure rigoureuse de simulation des empreintes digitales utilisée dans ce travail pour la simulation des spectres via le calcul des modes, fréquences et intensités de vibration est en combinaison avec les codes du programme Python installé sur le Consortium des Equipements de Calculs Intensifs (CECI). La simulation des spectres IR et Raman nécessite de déterminer la matrice Hessienne pondérée en masse à la géométrie d'équilibre ainsi que les dérivées du moment dipolaire et de la polarisabilité par rapport aux coordonnées cartésiennes. Ces deux types de quantités que sont d'une part la matrice Hessienne et d'autre part les dérivées des propriétés électriques constituent deux étapes bien distinctes.

Dès lors, dans une première étape, les calculs des géométries optimisées des molécules ainsi que les fréquences et modes normaux de vibration (obtenus par la diagonalisation de la matrice Hessienne pondérée en masse) ont été réalisés avec différentes fonctionnelles d'échange-corrélation (XC) et les bases d'orbitales atomiques 6-31G\*<sup>[13,14]</sup>, cc-pVDZ<sup>[15,16]</sup> et cc-pVTZ<sup>[15,16]</sup>. A ce niveau des approximations, plusieurs bases d'orbitales atomiques comprenant plus ou moins de fonctions diffuses et des fonctions de polarisation ont été utilisées: aug-cc-pVDZ<sup>[15]</sup>, 6-31G\*<sup>[13,14]</sup>, 6-31++G\*<sup>[13,14]</sup>, cc-pVDZ<sup>[15,16]</sup>, cc-pVTZ<sup>[15,16]</sup>, la base de Sadlej<sup>[17]</sup> ainsi que la base moins large rDPS:3-21G développée par Hug<sup>[18]</sup> pour la simulation des spectres Raman et d'activité optique Raman vibrationnel. Tous ces calculs ont été réalisés via le programme Gaussian09-D01<sup>[19]</sup>. Pour la diffusion Raman, la longueur d'onde de la lumière incidente a été considérée à 532 nm.

La **Figure 3** montre un bloc d'une matrice de recouvrement de l'Hélicène-4N. Afin d'analyser facilement cette matrice, il est intéressant d'introduire la notion de modes identiques et de modes non-équivalents. Dès lors, nous avons défini un mode identique comme étant un mode dont le recouvrement avec un mode provenant d'une autre méthode est plus grand ou égal à une valeur seuil fixée à **0.950** tout le long de ce travail. En reprenant l'exemple donné à la Figure 3, on observe alors que parmi les **11 modes normaux** de vibrations, **9 modes** ont un recouvrement supérieur à la valeur seuil avec un mode de l'autre méthode et sont donc dits identiques. Les **deux modes** restants sont dits non-équivalents et correspondent à une combinaison. Ainsi, les modes 73 et 75 obtenus par la méthode B3P86 se combinent pour donner les modes 73 et 75 obtenus par la méthode B3LYP.

Freq/B3LYP	1127.626	1148.88	1151.658	1166.187	1183.952	1217.197	1230.031	1242.918	1265.216	1265.662	1268.111
	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
1127.434	65	0.973	0.000	0.000	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
1147.381	66	0.000	0.992	0.000	0.002	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000
1150.529	67	0.000	0.000	0.992	0.000	0.003	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000
1169.559	68	0.007	0.001	0.000	0.982	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
1191.51	69	0.000	0.000	0.003	0.000	0.984	0.000	0.001	0.000	0.000	0.001
1224.75	70	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.964	0.000	0.027	0.000	0.002
1230.179	71	0.000	0.000	0.001	0.000	0.001	0.000	0.995	0.000	0.000	0.000
1246.042	72	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.024	0.000	0.959	0.000	0.009
1271.469	73	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.734	0.000	0.249
1272.22	74	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.004	0.000	0.000	0.976	0.000
1278.491	75	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.252	0.000	0.734

**Figure 3** : Matrice de recouvrement des modes normaux de vibration de l'Hélicène-4N entre une fonctionnelle d'échange-corrélation, ici B3P86 et la fonctionnelle de référence B3LYP.

### 3. Résultats et Discussion

#### 3.1. Impacts des Fonctionnelles XC-DFT sur les Modes Normaux de Vibration

L'analyse est portée sur l'impact des fonctionnelles d'échange-corrélation (XC) sur les modes normaux de vibration et des spectres Infrarouge et Raman en adoptant une procédure classique Coupled-Perturbed Kohn-Sham (CPKS)<sup>[20]</sup>. En effet, pour ce niveau d'investigation, nous avons calculé les géométries d'équilibre de ces Hélicènes par chacune des fonctionnelles-XC B3P86<sup>[21]</sup>, BP86<sup>[22]</sup>, LC-BLYP<sup>[23]</sup>, M06<sup>[24]</sup>, M06-2X<sup>[24]</sup>, PBE0<sup>[25]</sup>,  $\omega$ B97X<sup>[26]</sup> et  $\omega$ B97X-D<sup>[26]</sup> dans une même base d'orbitale atomique cc-pVTZ. Les recouvrements des modes normaux de vibration dans chaque fonctionnelle avec ceux évalués en utilisant la méthode B3LYP/cc-pVTZ comme référence sont analysés en terme de modes identiques (IM) et de modes non-identiques (NIM). Nous observons à travers nos résultats consignés dans le tableau 1 que les fonctionnelles B3P86, BP86 et PBE0 ont donné des modes normaux qui sont en accord avec la référence avec 81%, 78% et 73% de IM respectivement pour l'Hélicène-4N. Dans le même temps, nous notons avec ces mêmes fonctionnelles, 88%, 78% et 79% de IM pour l'Hélicène-4O respectivement. Pour l'Hexa-Hélicène, ces mêmes fonctionnelles donnent des modes normaux qui sont en bonne corrélation avec la référence de 89%, 77% et 82% de IM respectivement. Mais pour l'Hélicène-4S, nous observons que ce sont les fonctionnelles-XC B3P86, PBE0 et  $\omega$ B97X-D qui ont donné une bonne corrélation par rapport à la fonctionnelle de référence avec 81%, 71% et 73% de IM respectivement.

Hélicène-4O					Hélicène-4N				
Fonctionnelles	vs B3LYP/cc-pVTZ				Fonctionnelles	vs B3LYP/cc-pVTZ			
	Modes Normaux	Modes Identiques	Modes Permutés	Modes Non-équivalents		Modes Normaux	Modes Identiques	Modes Permutés	Modes Non-équivalents
B3P86	102	90	4	12	B3P86	114	92	7	22
BP86	102	80	4	22	BP86	114	89	7	25
LC-BLYP	102	57	13	45	LC-BLYP	114	59	13	55
M06	102	76	2	26	M06	114	78	14	36
M06-2X	102	56	8	46	M06-2X	114	63	13	51
PBE0	102	81	5	21	PBE0	114	83	8	31
$\omega$ B97X	102	63	10	39	$\omega$ B97X	114	65	9	49
$\omega$ B97X-D	102	68	6	34	$\omega$ B97X-D	114	67	11	47

Hexa-Hélicène					Hélicène-4S				
Fonctionnelles	vs B3LYP/cc-pVTZ				Fonctionnelles	vs B3LYP/cc-pVTZ			
	Modes Normaux	Modes Identiques	Modes Permutés	Modes Non-équivalents		Modes Normaux	Modes Identiques	Modes Permutés	Modes Non-équivalents
B3P86	120	107	8	13	B3P86	102	83	6	19
BP86	120	92	13	28	BP86	102	72	5	30
LC-BLYP	120	64	9	56	LC-BLYP	102	61	3	41
M06	120	71	7	49	M06	102	63	8	39
M06-2X	120	69	9	51	M06-2X	102	57	4	45
PBE0	120	98	11	22	PBE0	102	79	5	23
$\omega$ B97X	120	69	11	51	$\omega$ B97X	102	67	5	35
$\omega$ B97X-D	120	75	9	45	$\omega$ B97X-D	102	74	6	28

**Table 1** : Impact des fonctionnelles d'échange-corrélation sur les modes normaux de vibration relevés sur les quatre molécules d'Hélicène. Les chiffres du tableau représentent le nombre de type de modes sélectionnés par la fonctionnelle d'échange-corrélation.

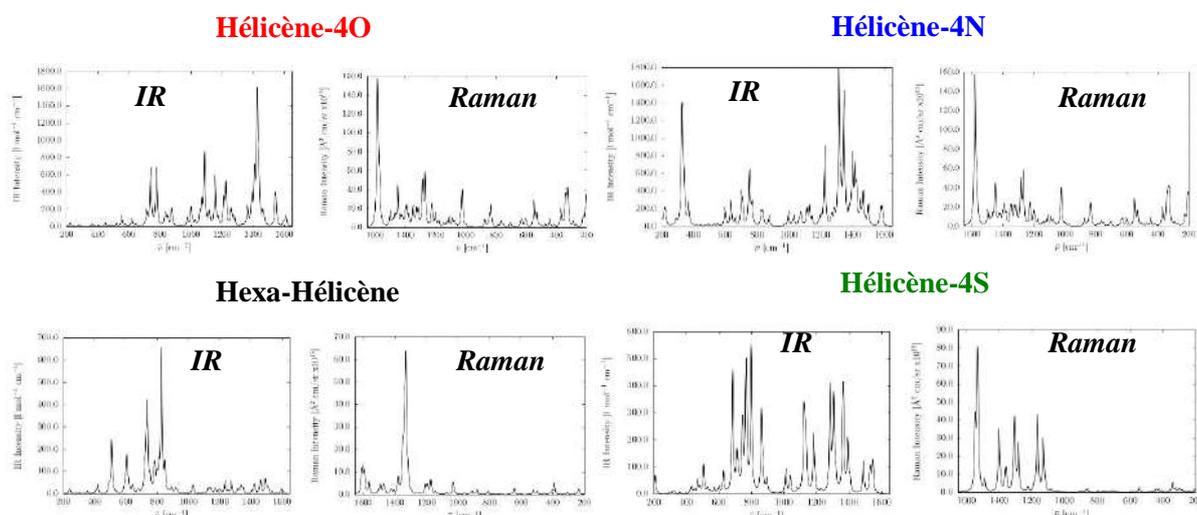
#### 3.2. Impacts des Fonctionnelles XC-DFT sur les Spectres de Vibration

Afin de simuler les spectres Infrarouge et Raman, les fréquences de vibrations ont été corrigées par un facteur d'échelle. A ce niveau également, la fonctionnelle B3LYP est prise comme référence, de facteur d'échelle de 0.9600 selon Scott et Radom<sup>[27,28]</sup>. Pour les autres fonctionnelles, le facteur d'échelle est corrigé en prenant le produit du facteur d'échelle de la fonctionnelle de référence par la pente de la corrélation linéaire calculée de chacune des fonctionnelles utilisées. Pour une fonctionnelle quelconque XC, le facteur pour corriger les fréquences prend la forme :  $\lambda^{XC} = \lambda^{B3LYP} \cdot \text{Slope}_{B3LYP/XC}$

Ces différents facteurs d'échelle corrigés pour chacune des molécules d'Hélicènes sont regroupés dans le tableau 2 ci-après. Chaque spectre de vibration de chaque molécule pour les différentes fonctionnelles, est simulé en utilisant des facteurs d'échelles corrigés.

Niveau d'approximation	Type d'Exchange-Corrélation (XC)	Facteur d'échelle à Hélicène-4N	Facteur d'échelle à Hélicène-4O	Facteur d'échelle à Hélicène-4S	Facteur d'échelle à Hexa-Hélicène
B3LYP	HGGA	0.9600	0.9600	0.9600	0.9600
B3P86	GGA	0.9534	0.9526	0.9533	0.9554
BP86	HGGA	0.9908	0.9932	0.9922	0.9935
LC-BLYP	LRC-HGGA	0.9225	0.9144	0.9072	0.9175
M06	HMGGA	0.9605	0.9534	0.9591	0.9566
M062X	HMGGA	0.9494	0.9444	0.9454	0.9476
PBE0	HGGA	0.9486	0.9473	0.9491	0.9528
$\omega$ B97x	HMGGA-RS	0.9433	0.9386	0.9329	0.9422
$\omega$ B97xD	HMGGA-D	0.9439	0.9408	0.9401	0.9459

**Tableau 2** : Facteurs d'échelles corrigés des différentes fonctionnelles-XC sur l'Hélicène-4N, l'Hélicène-4O, l'Hélicène-4S et l'Hexa-Hélicène à partir de la corrélation linéaire des fréquences de vibration avec la méthode B3LYP/cc-pVTZ de référence. Les types de fonctionnelles sont désignés comme : GGA (Generalized Gradient Approximation), H (Hybrid), HM (Hybrid Meta), LRC (Long Range Correction), RS (Range-Separated), D (Dispersion).



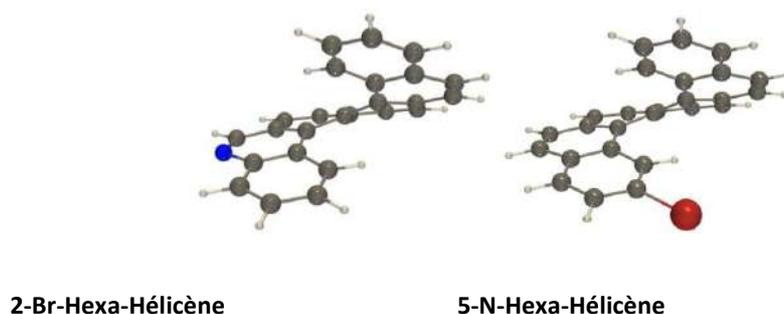
**Figure 4** : Spectres Infrarouge et Raman simulés des Hélicène-4N, Hélicène-4O, Hélicène-4S et Hexa-Hélicène. Les coordonnées normales de vibration ont été évaluées avec B3LYP/cc-pVTZ tandis que les polarisabilités et les dérivés géométriques sont calculés avec TDHF/aug-cc-pVDZ avec la longueur d'onde optique du visible de 532 nm. Chaque transition spectrale est représentée par une fonction de Lorentz avec FWHM (Full Width at Half Maximum) de  $10 \text{ cm}^{-1}$ . Un facteur multiplicatif de 0.960 est utilisé pour l'échelle des fréquences de vibrations pour la représentation des spectres.

Les géométries et fréquences de vibrations sont calculées avec chaque fonctionnelle-XC et la base quantique cc-pVTZ alors que les dérivés cartésien du moment dipolaire et de la polarisabilité ont été évaluées avec la méthode TDHF/aug-cc-pVDZ. Nous notons à ce niveau que, pour ces molécules Hélicène-4N, Hélicène-4O et Hexa-Hélicène, un bon recouvrement est observé sur les spectres Raman dans l'ordre de 0.853 à 0.977 pour les fonctionnelles B3P86, BP86, M06, PBE0 et  $\omega$ B97X-D.

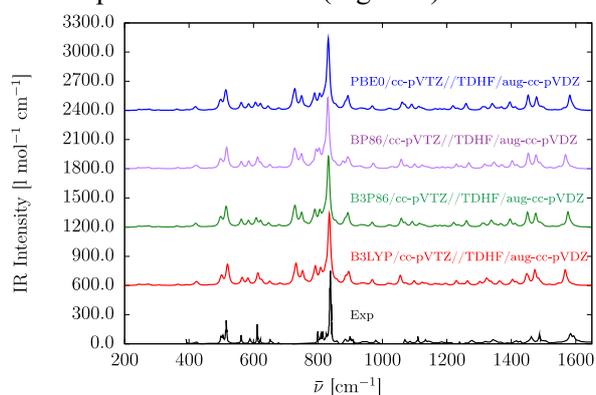
Pour l'Hélicène-4S, le recouvrement des spectres Raman a donné des valeurs moins bonnes dans l'intervalle de 0.709 à 0.887 avec les fonctionnelles B3P86, M06 et  $\omega$ B97X-D. Nous constatons que les valeurs du recouvrement des spectres Infrarouge des Hélicène-4N, Hélicène-4O et Hélicène-4S sont inférieures à celles obtenues avec l'Hexa-Hélicène. Le recouvrement des spectres Raman a donné aussi une bonne corrélation avec B3P86, BP86, PBE0 et  $\omega$ B97X-D sur tous les quatre systèmes moléculaires dans l'intervalle de 0.809 à 0.992. Les pics des intensités des spectres Infrarouge sont étalés sur toute la bande de fréquence  $200 \text{ à } 1600 \text{ cm}^{-1}$ , tandis que ceux des intensités Raman sont localisés dans la bande de fréquence de  $1000 \text{ à } 1650 \text{ cm}^{-1}$  observées sur la Figure 4.

### 3.3. Comparaison des Empreintes Digitales Calculées et Expérimentales

Nous avons comparé nos résultats de calculs avec les spectres expérimentaux. Les empreintes digitales calculées sont comparées à celles obtenues expérimentalement sur les molécules de 2-Br-Hexa-Hélicène et 5-N-Hexa-Hélicène représentées Figure 5.

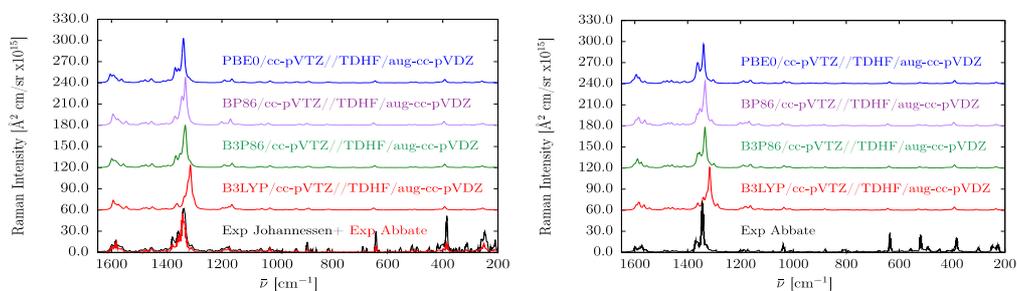


**Figure 5 :** Géométries calculées en B3LYP/cc-pVTZ des molécules 2-Br-Hexa-Hélicène et 5-N-Hexa-Hélicène. Les géométries d'équilibre et les fréquences des modes normaux de vibration sont calculées avec les fonctionnelles GGA et Hybrides GGA B3LYP, B3P86, BP86 et PBE0 dans la base d'orbitale atomique cc-pVTZ, tandis que les dérivés  $\partial\mu/\partial R$  et  $\partial\alpha/\partial R$  sont évaluées avec la méthode TDHF/aug-cc-pVDZ. Les spectres simulés sont superposés aux spectres expérimentaux afin d'en exposer la similitude (Figure 6).



**Figure 6 :** Spectres expérimentaux<sup>[29]</sup> (noir) et simulés (rouge, vert, violet, bleu) des absorptions Infrarouge de 2-Br-Hexa-Hélicène. Les fréquences sont calculées avec les fonctionnelles B3LYP, B3P86, BP86 et PBE0 dans la base de calcul cc-pVTZ et les propriétés sont évaluées avec la méthode d'approximation TDHF/aug-cc-pVDZ. Toutes les transitions sont représentées par une fonction Lorentzienne avec une largeur à mi-hauteur FWHM de 10  $\text{cm}^{-1}$ . La signature du solvant a été soustraite du spectre expérimental.

Nous observons que les simulations ont reproduit les données expérimentales et toutes les quatre fonctionnelles d'échange-corrélations (B3LYP, B3P86, BP86 et PBE0) utilisées à cet effet ont donné une bonne corrélation avec les résultats expérimentaux<sup>[29]</sup>. Cependant, des résultats légèrement meilleurs sont obtenus avec les fonctionnelles B3LYP et B3P86 par rapport à l'expérience. Pour les spectres de diffusion Raman Polarisés (RP) calculés, les approches théoriques sont comparées avec l'expérience<sup>[30]</sup> en utilisant les spectres Raman polarisés simulés avec les mêmes méthodes de calcul ci-dessus (Figure 7).

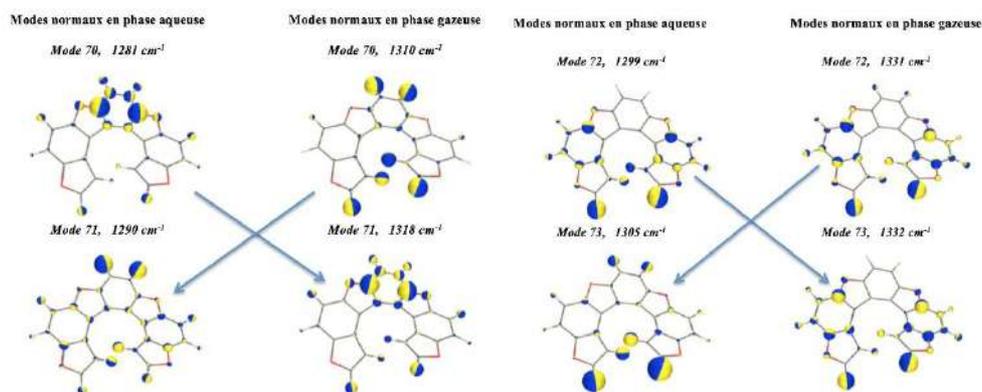


**Figure 7 :** Spectres de diffusion Raman calculés sur les molécules du 2-Br-Hexa-Hélicène et du 5-N-Hexa-Hélicène. Les fréquences sont calculées avec les fonctionnelles-XC B3LYP, B3P86, BP86 et PBE0 dans la base de calcul cc-pVTZ et les propriétés sont évaluées avec la méthode d'approximation TDHF/aug-cc-pVDZ.

### 3.4. Effets des Solvants sur les Empreintes Digitales des Hélicènes

Afin d'identifier les modes normaux de vibration affectés par l'influence de solvants (eau, CHCl<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et THF), une série de comparaison *mode par mode* est faite sur le recouvrement des modes normaux de vibration en phase aqueuse et gazeuse sur toute la gamme des bandes de fréquences illustrées. Cette analyse nous amène à constater que les deux modes 70 et 72 en phase aqueuse sont conformes en deux modes 71 et 73 en phase gazeuse pour l'Hélicène-4O sur les fréquences de vibration relativement à la déformation de géométrie et à la perturbation des empreintes digitales observées dans la bande de fréquence 1300-1650 cm<sup>-1</sup>.

Cette analyse nous amène à constater que le mode 70 en phase aqueuse se combine au mode 71 en phase gazeuse, le mode 71 en phase aqueuse se combine au mode 70 en phase gazeuse, le mode 72 en phase aqueuse se combine au mode 73 en phase gazeuse et le mode 73 en phase aqueuse se combine au mode 72 en phase gazeuse dans le recouvrement des modes normaux de vibration.



**Figure 8** : Les différents modes normaux de vibration combinée de l'Hélicène-4O en phase aqueuse et gazeuse influençant les empreintes digitales. La direction du déplacement des atomes est perpendiculaire à la jonction plane entre deux hémisphères de couleurs distinctes, lorsque leurs amplitudes sont proportionnelles au rayon de la sphère.

## 4. Conclusion

Dans ce travail, nous avons investigué des empreintes digitales de quatre Hélicènes fonctionnalisés de structure chirale et hélicoïdale, en utilisant les méthodes de chimie quantique et plus particulièrement la procédure de simulation des modes normaux de vibration et des spectres Infrarouge et Raman. Nous avons élucidé l'impact des fonctionnelles d'échange-corrélation et des solvants organiques sur les signatures vibrationnelles de quatre molécules Hélicène-4N, Hélicène-4O, Hélicène-4S et Hexa-Hélicène. Nos investigations ont montré que les fonctionnelles d'échanges corrélations B3P86, BP86 et PBE0 ont donné des résultats en accord avec ceux obtenus avec la fonctionnelle de référence B3LYP et tous ces résultats sont en concordance avec ceux expérimentaux. Les recouvrements des modes normaux de vibration de l'Hélicène-4O en phase aqueuse et gazeuse nous ont permis d'identifier les modes normaux 70, 71, 72 et 73 qui sont fortement perturbés.

## Perspectives

A la poursuite de ces travaux, le calcul des fréquences et intensités Infrarouge et Raman des modèles simples aux longues chaînes d'Hélicènes doit être approfondie en prenant en compte la corrélation électronique et l'anharmonicité des vibrations moléculaires. Ceci permettrait de distinguer les différents conformères chiraux/hélicoïdaux et d'évaluer l'influence de leur taille sur les empreintes digitales dans la synthèse des guides d'onde lumineuse.

## Remerciements

Toutes mes considérations et gratitude au Professeur David Beljonne, Directeur de Recherche FNRS à l'Université de Mons en Belgique pour son apport à la mise à disposition des ressources du CECI via le Serveur de Calcul JESSE et au Professeur Titulaire Guy Y. S. Atohoun à l'Université d'Abomey-Calavi au Bénin pour son apport aux Systèmes de Calcul du LACTHESMO.

## Références Bibliographiques

1. Chen, N. C., Yu, C. F., Yuan, C. P., & Chang, T. H., A mode-selective circuit for TE<sub>01</sub> gyrotron backward-wave oscillator with wide-tuning range. *Applied Physics Letters*, **2009**, 94 (10), 101501.

2. Newman, M. S., Lednicer, D., The Synthesis and Resolution of Hexahelicene. *Journal of the American Chemical Society*, **1956**, 78 (18), 4765–4770.
3. Ashish Agarwal, George D. Lilly, Alexander O. Govorov, Nicholas A. Kotov., Optical Emission and Energy Transfer in Nanoparticle-Nanorod Assemblies: Potential Energy Pump System for Negative Refractive Index Materials., *J. Phys. Chem. C*, **2008**, 112, 18314–18320.
4. Grell, M., Bradley, D. D. C., Polarized Luminescence from Oriented Molecular Materials. *Advanced Materials*, **1999**, 11 (11), 895–905.
5. Gingras, M. One hundred years of helicene chemistry. Part 3: applications and properties of carbohelicenes. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 1051–1095.
6. G. W. Chan, T. Francis, D. R. Thureen, P. H. Offen et al, *J. Org. Chim*, **1993**, 58, 2544.
7. A. Bossi, E. Licandro, S. Maiorana, C. Rigamonti, E. Righetto, et al, *J Phys Chem C*, **2008**, 112, 7900.
8. V. Minkine, B. Simkine, R. Minaev, «Théorie de la structure moléculaire» *Edition Mir, Moscou*, **1982**.
9. K. Nakamoto «Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds», *5th. Edition, Part A, Wiley*, **1997**.
10. Y. Nakai, T. Mori, Y. Inoue, *J. Phys. Chem. A*, **2012**, 116, 7372–7385.
11. W. N. Herman, Y. Kim, W. L. Cao, J. Goldhar et al, *Journ. of Macromolecular Science*, 40, **2003**, 1369.
12. T. Verbiest, S. Sioncke, A. Persoons, L. Vyklicky, T. J. Katz, *Angew Chem Int Ed*, **2002**, 41, 3882.
13. V. A. Rassolov, J. A. Pople, M. A. Ratner, T. L. Windus, *J. Chem. Phys.*, **1998**, 109, 1223.
14. W. J. Hehre, R. Ditchfield, J. A. Pople, *J Chem Phys*, **1972**, 56, 2257.
15. T. H. Dunning, Jr, *J. Chem. Phys.*, 90, 1007 (**1989**).
16. D. E. Woon, T. H. J. Dunning, *Chem. Phys.*, **1994**, 100, 2975.
17. A. J. Sadlej, *J. Theor. Chim. Acta*, **1991**, 79, 123.
18. G. Zuber, W. Hug, *J. Phys. Chem. A*, **2004**, 108, 2108–2118.
19. M. J. Frisch, G. W. Trucks et al, *Gaussian09, Revision D01*; **2013**, Gaussian, Inc.: Wallingford, CT.
20. A. Komornicki, Fitzgerald, G. *J Chem Phys*, **1993**, 98, 1398.
21. A. D. Becke, *J. Chem. Phys.*, **1992**, 97, 9173.
22. J. P. Perdew, *Phys. Rev.*, **1986**, 33, 8822.
23. Y. Tawada, T. T. Suneda, S. Yanagisawa, T. Yanai, K. Hirao, **2004**, *J. Chem. Phys.*, 120, 8425.
24. Y. Zhao, G. Donald Truhlar, *Theor Chem Account*, **2008**, 120, 215.
25. J. P. Perdew, K. Burke, M. Ernzerhof, *Phys. Rev. Lett.*, **1997**, 78, 1396.
26. J. D. Chai and M. Head-Gordon, *J. Chem. Phys.*, **2009**, 131, 174105.
27. A. P. Scott, L. Radom, *J. Phys. Chem.*, **1996**, 100, 9213.
28. P. J. Merrick, D. Moran, L. Radom, *J. Phys. Chem*, **2007**, 111, 45.
29. C. Johannessen, E. W. Blanch, C. Villani, S. Abbate et al, *J. Phys. Chem*, **2013**, 117, 2221.
30. S. Abbate G. Longhi, F. Lebon, E. Castiglioni et al, *J. Phys. Chem*, **2014**, 118, 1682.

## Synthèse, études spectroscopiques et structures cristallines de la N, N'-bis (4-méthoxybenzylidène) éthylènediamine et d'un nouveau complexe de cadmium (II)

Adrienne Ndiolene<sup>a</sup>, Tidiane Diop<sup>a\*</sup>, Mouhamadou Sembene Boye<sup>a</sup>, Thierry Maris<sup>b</sup> And Aminata DIASSE-Sarr<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire de Chimie Minérale et Analytique, Département de Chimie, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, 5005 Dakar Dakar-Fann, Sénégal

<sup>b</sup> Département de Chimie, Université de Montréal, CP 6128, Succ. Centre-Ville, Montréal, Québec, H3C 3J7 Canada.

### Résumé

Les bases de Schiff sont des produits de condensation d'amines primaires avec des composés carbonyles. Ils ont été signalés et synthétisés pour la première fois par Hugo Schiff en 1864. Les bases de Schiff et leurs complexes sont très utilisés en chimie bio-inorganique, en médecine, en biologie, en catalyse, ... Dans notre étude nous avons synthétisé la N, N'-bis(4-méthoxybenzylidène) éthylènediamine et un nouveau complexe de cadmium (II). Après l'analyse élémentaire, les composés ont été caractérisés par spectroscopies IR et UV-visible et la diffraction des rayons X sur monocristal. Le ligand se cristallise dans un système monoclinique appartenant au groupe d'espace P21/n avec les paramètres  $a = 9.9522 \text{ \AA}$  ;  $b = 7.8338 \text{ \AA}$  et  $c = 10.6286 \text{ \AA}$ . La photographie moléculaire du complexe révèle qu'il se cristallise dans un système orthorhombique P avec un groupe d'espace Pbc<sub>a</sub> et  $a = 14,8704 \text{ \AA}$  ;  $b = 12,9618 \text{ \AA}$  ;  $c = 22,4416 \text{ \AA}$ . L'environnement autour du cadmium est tétraédrique avec un ligand bidentate chélatant via les deux groupes imine (N-donneur). La polymérisation de ces composés est assurée par des liaisons hydrogènes non classiques C-H...O. Par ailleurs, l'activité biologique de ces deux dérivés reste à déterminer afin de proposer des candidats médicaments.

**Mots Clés :** Spectroscopie ; bidentate ; tétraédrique, polymère.

## Synthesis, spectroscopic studies and crystal structures of N, N'-bis (4-méthoxybenzylidène) ethylenediamine and its new cadmium (II) complex

### Abstract

Schiff's bases are condensation products of primary amines with carbonyl compounds. They were first reported and synthesized by Hugo Schiff in 1864. Schiff bases and their complexes are widely used in bio-inorganic chemistry, in medicine, in biology, in catalysis.... In our study we synthesized N, N'-bis (4-methoxybenzylidene) ethylenediamine and a novel cadmium (II) complex. After elemental analysis, the compounds were characterized by IR and UV-visible spectroscopy and single crystal X-ray diffraction. The ligand crystallizes in a monoclinic system belonging to the P21 / n space group with  $a = 9.9522 \text{ \AA}$  ;  $b = 7.8338 \text{ \AA}$  and  $c = 10.6286 \text{ \AA}$ . Molecular photography (DRX) of the complex reveals that it crystallizes in an orthorhombic P system with a Pbc<sub>a</sub> space group and  $a = 14.8704 \text{ \AA}$  ;  $b = 12.9618 \text{ \AA}$  ;  $c = 22.4416 \text{ \AA}$ . The environment around cadmium is tetrahedral with a chelating bidentate ligand via the two imine groups (N-donor). The polymerisation of these compounds is achieved by non-classical C-H... O hydrogen bonds. Furthermore, the biological activity of these two derivatives remains to be determined in order to propose drug candidates.

**Keywords:** Spectroscopy; bidentate; tetrahedral, polymer.

### 1. Introduction

Les bases de Schiff, synthétisées pour la première fois par Hugo Schiff en 1864, sont des composés organiques contenant une double liaison C=N avec l'atome d'azote lié à un groupe aryle ou alkyle [1, 2]. Les bases de Schiff sont généralement synthétisées à partir de la condensation d'amines primaires et un groupes carbonyles (cétone ou aldéhyde) sous catalyse acide, basique ou à la chaleur en milieu alcoolique avec libération d'une molécule eau à la fin de la réaction qui pourrait conduire à une réaction réversible (hydrolyse) [3]. Les bases de Schiff sont généralement d'excellents agents chélateurs, en particulier lorsqu'un groupe tel que -OH ou -SH est présent à proximité du groupe azométhine de manière à former un cycle à cinq ou six chaînons avec l'ion métallique [4]. En raison de leurs propriétés pharmacologiques, catalytiques dans les systèmes biologiques et la préparation d'enzymes et dans la chimie supramoléculaire, les complexes de bases de Schiff constituent l'un des axes de recherche de la chimie bio-inorganique. Ces composés ont des applications variées notamment dans le domaine de la biologie avec leurs propriétés antimicrobiennes, antibactériennes, antifongique [5], anticancéreux [6], anti-inflammatoire [7] et antivirales [8]. Ces larges gammes d'applications et la flexibilité synthétique ont continué d'attirer l'intérêt des chimistes. Dans la présente étude, nous rapportons les résultats de notre recherche sur la synthèse d'un ligand, N, N'-bis-(4-méthoxybenzylidène) éthylènediamine obtenu par la condensation du p-anisaldéhyde et de l'éthylènediamine, et de son complexe de cadmium. Ces deux composés synthétisés ont été caractérisés par diverses études spectroscopiques et la diffraction des rayons X sur monocristal.

### 2. Matériel et méthodes

Tous les réactifs, P-Anisaldéhyde ; éthylènediamine, iodure de cadmium ont été obtenus auprès de Sigma -Aldrich et le solvant utilisé l'éthanol (98 %) sont utilisés sans aucune purification. Le ligand N, N'-bis (4-méthoxybenzylidène) éthylènediamine et son nouveau dérivé de cadmium ont été synthétisés selon des procédures décrites dans la littérature [9]. Les données de l'analyse élémentaire (C, H, N) ont été obtenues à l'aide d'un analyseur élémentaire. Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer dans la plage de 600-4000  $\text{cm}^{-1}$ . Un cristal approprié a été sélectionné et monté sur une cryoloop sur un diffractomètre Bruker Smart APEX. En utilisant Olex2 [11], la structure a été résolue avec le programme de résolution de structure SHELXT [12], la mise en phase intrinsèque et affiné avec le package de raffinement SHELXL [13] en utilisant la minimisation des moindres carrés. Les données ont été corrigées pour l'absorption par correction d'absorption multi-balayage en utilisant SADABS2012/1 [14]. Les spectres UV ont été obtenus sur un spectrophotomètre UV Visible Lab-Tech UV-2100 dans la plage de 190 à 1200 nm en utilisant de l'alcool absolu (éthanol) comme solvant et interne référence.

#### a- Synthèse du ligand L

Le ligand base de Schiff a été synthétisé en mélangeant les solutions d'éthylènediamine (30 mmol ; 1, 8g) et de p-Anisaldéhyde (60 mmol ; 7, 2 g) dans de l'éthanol à 98%. Un mélange incolore est obtenu, ce dernier est maintenu à reflux pendant 5 heures à une température de 80°C. Le mélange est ensuite filtré en utilisant du papier filtre. Après quelques jours d'évaporation lente, une masse de 6,345 g de cristaux est obtenu avec un rendement de 80,89%. La réaction de synthèse du composé est rapportée ci-dessous (schéma 1).

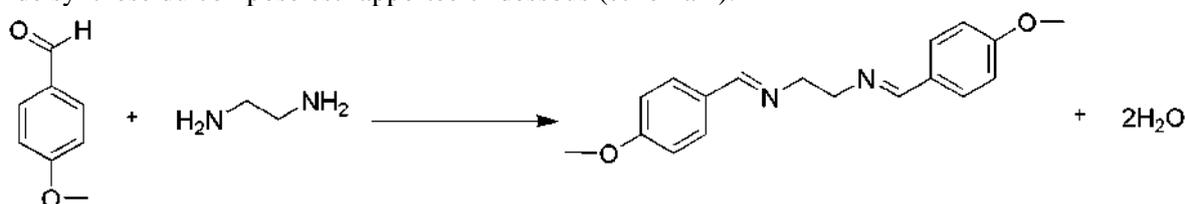


Schéma 1 : Réaction de synthèse du ligand N, N'-bis-(4-méthoxybenzylidène) éthylènediamine

#### b- Synthèse du complexe de cadmium (II)

Le dérivé de cadmium a été préparé en ajoutant une solution d'iodure de cadmium (II) (0,503 g ; 1,37 mmol) à un mélange éthanolique du ligand (0,406 g ; 1,37 mmol) dans un rapport 1 / 1. Le mélange a été agité sous reflux pendant 5 heures à une température de 80°C. Ce mélange a été filtré et évaporé lentement pendant quelques jours, le rendement de la réaction est de 44 %. (Schéma 2).

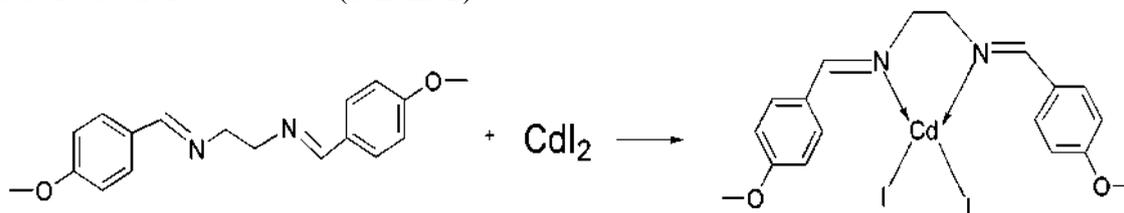


Schéma 2 : Réaction de synthèse du complexe  $\text{CdI}_2\text{L}$

### 3. Résultats et discussion

Les données cristallographiques et les paramètres géométriques du ligand et du complexe sont rapportés dans le tableau 1 et 2.

Tableau 1 : Données cristallographiques du ligand et du complexe

Composées	Ligand	Complexe
Formule brute	$\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$	$\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{CdI}_2\text{N}_2\text{O}_2$
Poids moléculaire (g/mol)	296,36	662,56
Température / k	100	295
Système cristallin	Monoclinique	Orthorhombique
Groupe d'espace	P21/n	Pbca
a/Å	9,9522(5)	14,8704 (4)
b/Å	7,8338(4)	12,9618 (3)
c/Å	10,6286(5)	22,4416 (4)
$\alpha$ /°	90	90
$\beta$ /°	110,972(2)	90
$\gamma$ /°	90	90
Volume/Å <sup>3</sup>	773,75(7)	4325,55 (17)
Z	2	8
Densité calculé ( $\text{mg m}^{-3}$ )	1,272	2,035

Coefficient d'absorption $\mu/ \text{mm}^{-1}$	0,668	3,88
F (000)	316,0	2496
Taille du cristal	$0,28 \times 0,15 \times 0,09$	$0,16 \times 0,08 \times 0,08 \text{ mm}$
Radiation	$\text{CuK}\alpha$ ( $\lambda = 1,54178$ )	$\text{Mo K}\alpha$ ( $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$ )
Intervalle de hkl	$-12 \leq h \leq 12, -9 \leq k \leq 9, -13 \leq l \leq 13$	$-19 \leq h \leq 13 ; -16 \leq k \leq 16 ; -29 \leq l \leq 27$
Réflexions recueillies	14622	24974
Réflexions indépendantes	1511 [ $R_{\text{int}} = 0,0298, R_{\text{sigma}} = 0,0151$ ]	4920 [ $R_{\text{int}} = 0,047 ; R_{\text{sigma}} = 0,0$ ]
Données / restrictions / paramètres	1511/0/101	4920/0/228
Indices R finaux [ $I \geq 2\sigma(I)$ ]	$R1 = 0,0425; wR2 = 0,1156$	$R1 = 0,0291; wR2 = 0,0674$
Densité électronique résiduelle ( $e.\text{\AA}^{-3}$ )	0,27/-0,21	0,6 / -0,68

**Tableau 2 :** Longueurs et les angles de liaisons du ligand et du complexe

Ligand				Complexe			
Longueur (Å)		Angle (°)		Longueur (Å)		Angle (°)	
O <sub>1</sub> – C <sub>6</sub>	1.3649(14)	C <sub>6</sub> – O <sub>1</sub> – C <sub>9</sub>	117.54(9)	Cd1-I1	2.7098 (4)	I2-Cd1-I1	112.750 (13)
O <sub>1</sub> – C <sub>9</sub>	1.4351(14)	C <sub>2</sub> – N <sub>1</sub> – C <sub>1</sub>	116.86(10)	Cd1-I2	2.7015 (4)	N1-Cd1-I1	123.07 (7)
N <sub>1</sub> – C <sub>1</sub>	1.4616(15)	N <sub>1</sub> – C <sub>2</sub> – C <sub>3</sub>	123.71(11)	Cd1-N1	2.308 (3)	N1-Cd1-I2	106.38 (7)
N <sub>1</sub> – C <sub>2</sub>	1.2674(16)	C <sub>4</sub> – C <sub>3</sub> – C <sub>2</sub>	122.45(11)	Cd1-N2	2.308 (3)	N1-Cd1-N2	78.33 (10)
C <sub>1</sub> – C <sub>1</sub> <sup>1</sup>	1.518(3)	C <sub>4</sub> – C <sub>3</sub> – C <sub>8</sub>	118.32(11)	C1-C6	1.464 (4)	N2-Cd1-I1	117.82 (7)
C <sub>2</sub> – C <sub>3</sub>	1.4699(16)	C <sub>8</sub> – C <sub>3</sub> – C <sub>2</sub>	119.23(11)	O1-C9	1.444 (4)	N2-Cd1-I2	114.15 (7)
C <sub>3</sub> – C <sub>4</sub>	1.3941(17)	C <sub>5</sub> – C <sub>4</sub> – C <sub>3</sub>	121.25(11)	O1-C17	1.357 (4)	N1-C6-C1	128.2 (3)
C <sub>3</sub> – C <sub>8</sub>	1.3986(18)	C <sub>4</sub> – C <sub>5</sub> – C <sub>6</sub>	119.44(11)	O2-C15	1.365 (5)	C7-N2-Cd1	107.3 (2)
C <sub>4</sub> – C <sub>5</sub>	1.3907(16)	O <sub>1</sub> – C <sub>6</sub> – C <sub>5</sub>	124.23(11)	C4-C11	1.453 (5)	C11-N2-Cd1	135.1 (3)
C <sub>5</sub> – C <sub>6</sub>	1.3946(18)	O <sub>1</sub> – C <sub>6</sub> – C <sub>7</sub>	115.81(10)	N1-C6	1.273 (4)	C11-N2-C7	116.9 (3)
C <sub>6</sub> – C <sub>7</sub>	1.3937(17)	C <sub>7</sub> – C <sub>6</sub> – C <sub>5</sub>	119.96(11)	N1-C8	1.477 (4)	C6-N1-Cd1	139.8 (3)
C <sub>7</sub> – C <sub>8</sub>	1.3823(17)	C <sub>8</sub> – C <sub>7</sub> – C <sub>6</sub>	119.91(11)	N2-C7	1.474 (4)	N1-C8-C7	110.5 (3)
		C <sub>7</sub> – C <sub>8</sub> – C <sub>3</sub>	121.10(11)	N2-C11	1.272 (4)	C6-N1-C8	116.8 (3)

### 3.1. L'analyse élémentaire du complexe C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>CdI<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Le complexe de cadmium est soumis à une analyse élémentaire. Les données de cet analyse C, H, N avec celles calculées à partir de la formule brute suggérée sont conforme. Ces résultats sont **%trouvé (%Calculé)** : % C = 31,28 (32,60) ; % H = 3,29 (3,02) ; % N = 4,28 (4,23). Ces données confirment la formation du complexe.

### 3.2. Spectroscopie infrarouge (IR)

L'étude comparative des données spectrales IR du complexe rapporté avec celles du ligand libre donne des preuves suffisantes pour une meilleure compréhension du comportement de coordination du ligand. La bande azométhine C=N apparait vers 1629 cm<sup>-1</sup> dans le spectre du complexe et environ 1639 cm<sup>-1</sup> dans celui du ligand. Cette diminution montre clairement la coordination du groupement azométhine avec Cadmium [15].

La bande d'absorption en 767 cm<sup>-1</sup>, attribuée aux liaisons Cd-N indique la formation du complexe [16]. La bande de vibration d'élongation de l'étheroxyde C-O située à 1019 cm<sup>-1</sup> dans le spectre du ligand libre, apparaissant à une fréquence inférieure à 1018 cm<sup>-1</sup> dans le complexe confirme l'interaction via les liaisons hydrogènes de ce groupe dans le complexe.

**Tableau 3 :** Données IR des composées

Composées	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{arom}}$	$\nu(\text{C}-\text{O})_{\text{ether}}$	$\nu(\text{Cd}-\text{N})$
Ligand	1639 cm <sup>-1</sup>	(1603 cm <sup>-1</sup> ; 1505 cm <sup>-1</sup> ; 1461 cm <sup>-1</sup> )	1019 cm <sup>-1</sup>	
Complexe	1629 cm <sup>-1</sup>	(1600 cm <sup>-1</sup> ; 1575 cm <sup>-1</sup> ; 1514 cm <sup>-1</sup> )	1018 cm <sup>-1</sup>	767 cm <sup>-1</sup>

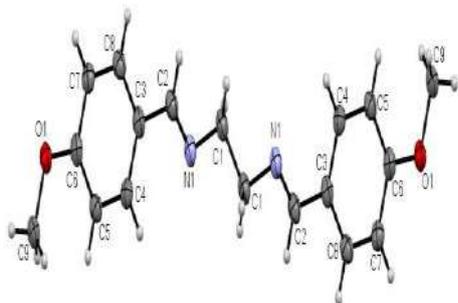
### 3.4. Spectroscopie ultraviolette-visible

L'étude de la transition électronique du ligand et de son complexe a été réalisée dans l'éthanol. Pour le ligand on observe une bande à 317 nm, cette bande d'absorption correspond aux transitions n- $\pi^*$  du groupement azométhine (-C=N). Tandis que pour le complexe il y a une légère diminution de la bande

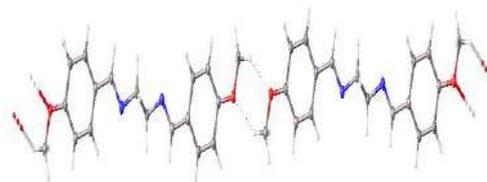
d'absorption à 306 nm due à la coordination du groupement azométhine, ce qui explique la formation du complexe de cadmium.

### 3.5. Diffraction aux rayons X

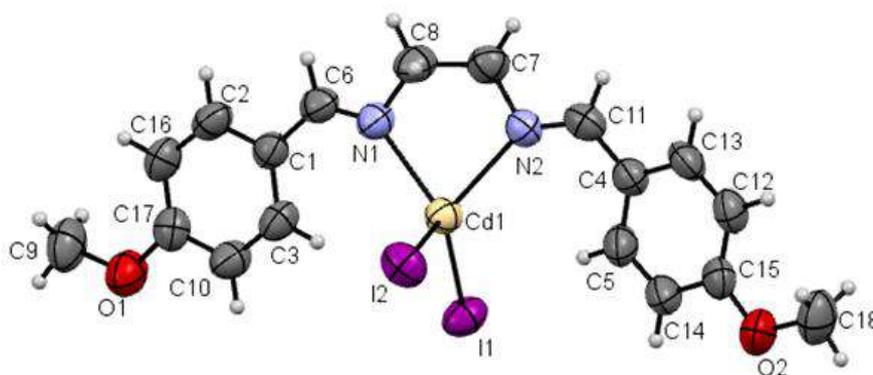
Le ligand cristallise dans un système monoclinique avec un groupe d'espace P21/n avec les paramètres de maille donnés dans le tableau 1. La structure globale du ligand est une chaîne infinie. Les monomères sont liés entre eux par deux ponts de faibles liaisons hydrogène intermoléculaires entre l'oxygène O1 et le carbone C9 (vice versa). Ces liaisons ont une distance interatomique de 0,98 Å le long de l'axe 1-X ; 2,62 Å suivant 1-Y et 3,4150 suivant l'axe -Z avec un angle D-H-A de 138,3° (figure 2). La maille élémentaire contient 2 molécules du ligand. La caractérisation structurale du complexe révèle qu'il cristallise dans un système orthorhombique P de groupe d'espace Pbca tableau 1. La structure du complexe montre que l'atome de cadmium est tétra-coordonné avec des atomes N donneur du groupement imine contenu dans le ligand L et les deux iodures du CdI<sub>2</sub>. L'environnement autour du Cd(II) est tétraédrique. Les longueurs de liaison des deux groupes azométhine (N1-C6 = 1,272 et N2-C11 = 1,273) dans le complexe de cadmium sont plus longues que celles trouvées dans le ligand (N1-C2 = 1,2674). Cette extension confirme que l'atome d'azote de l'azométhine participe à la coordination du complexe de cadmium [17]. Les molécules semblent être empilées et cette liaison hydrogène, vue le long de l'axe, relie les molécules en formant des chaînes infinies (Figure 4). L'unité asymétrique est constituée de huit (08) molécules du complexe.



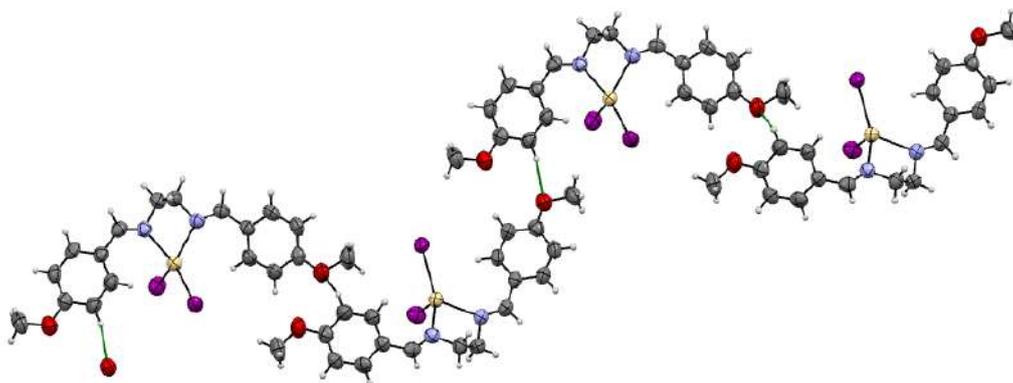
**Figure 1 :** Structure monocristalline du ligand



**Figure 2 :** Une vue de la chaîne infinie du ligand. Les liaisons hydrogène O-H... O et les interactions C-H... O sont représentées par des lignes cyan pointillées (voir le tableau 1 pour plus de détails).



**Figure 3 :** Structure cristalline du complexe CdI<sub>2</sub>.L



**Figure 4 :** Structure cristalline en chaîne infinie du complexe CdI<sub>2</sub>.L avec les liaisons hydrogènes entre C-O...H en verte.

#### 4. Conclusion

La base de Schiff N, N'-bis-(4-méthoxybenzylidène) éthylènediamine et son complexe de cadmium ont été synthétisés à partir du P-anisaldéhyde et de l'éthylènediamine dans un rapport 2 :1 dans de l'éthanol avec un bon rendement. Ils sont caractérisés par la spectroscopie infra rouge, l'analyse élémentaire, la spectroscopie UV-visible et la diffraction des rayons X. L'étude cristallographique confirme les conclusions spectroscopiques de ces deux composés. Les données cristallographiques du complexe montrent des monomères reliés entre eux par des liaisons hydrogènes conférant ainsi une chaîne infinie. Le ligand symétrique bidenté est coordonné aux atomes centraux de cadmium via les deux imine-N. Le centre Cd (II) adopte une géométrie de coordination tétraédrique déformée. Dans les structures cristallines, les monomères sont reliés par des liaisons H intermoléculaires non classiques du type C-H...O (méthoxy). En outre, l'activité biologique de ces deux dérivés reste à déterminer afin de proposer des candidats médicaments.

#### 5. Bibliographie :

- [1] Arulmurugan, S. ; Kavitha, H.P. and Venkatraman, B.R. *Rasayan.J. Chem.* (2010) 3; 385.
- [2] Schiff, H. *Ann Chem.* (1864) 131: 118.
- [3] Sahu, R.; Thakur, D. S and Kashyap, P. *Int J Pharm Sci Nanotech.* (2012) 5, 1757.
- [4] Bhar K, Khan S., Costa J. S., Ribas J., Roubeau O., Mitra P., Ghosh B. K. and Ange W. *Chem. Int. Ed.* (2012) 51, 2142.
- [5] Fonkui, T. H.; Ikhile, M. I.; Ndinteh, D. T. and Njobeh, P. B. *Trop. J. Pharm Res.* (2018) 17, 2508.
- [6] El-Saied, F. A; Salem, T. A; Shakhofa, M. M. E.; Al-Hakimi, A.N and Radwan, A. S. *J. Basic Appl. Sci.* (2018) 7, 420.
- [7] Bhushankumar, S. S.; Jaychandran, E.; Vijay, A. J. and Sreenivasa, G. *MIJPRD.* (2011) 3, 164.
- [8] Abbas, S. A.; Farag, A. A.; Yousry A. Ammar, Y. A.; Atrees, A. A.; Mohamed, A F and Ahmed A. El-Henawy, A. A. *Monatsh Chem.* (2013) 144, 1725.
- [9] Dalia, S. A.; Farhana Afsan, F.; Md. Hossain, S.; Md. Khan, N.; Zakaria, CM.; Md. E-Zahan, K and Md. Ali, M. *International Journal of Chemical Studies.*, (2018) 6, 2859.
- [11] Dolomanov, O. V., Bourhis, L. J., Gildea, R. J., Howard, J. A. K. and Puschmann, H. (2009) 42, 339.
- [12] Sheldrick, G. M. *Acta Crystallographica Section A*, (2015) A71, 3.
- [13] Sheldrick, G. M. *Acta Crystallographica C*, (2015) C71, 3.
- [14] Sheldrick G. M. *Journal Bruker AXS, Inc., Madison, Wisconsin*, (2012) 53719.
- [15] Jamali Aghbash. B.; Manoochehri, M and Daghighi Asli, M. *Bulgarian Chemical Communications.* (2019) 51, 146.
- [16] Raju A., Saravanan S., Ekamparam A., and Rangappan R. *Chem Sci Trans.* (2017) 6, 277.
- [17] Aazam, E. S.; EL Husseiny, A. F.; Hitchcock, P.B.; Alshehri, J. M. *J. Chem.* (2008) 6, 319.

## **Groupe Thématique 5 (GT5) : Eau, Mines et Environnement**

## Effet de traitement thermique sur la solubilité de phosphate naturel de Tahoua dans l'acide sulfurique et dans l'acide citrique

Abdoul Bari Idi Awali<sup>1\*</sup>, Zanguina Adamou<sup>1</sup>, Manzola Abdou Salam<sup>1</sup>, Laouali Mahaman Sani<sup>1</sup>, I. Hima Halidou<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Laboratoire matériaux-eau-environnement, FAST. BP 10 662, Université Abdou Moumouni, BP 10662 Niamey, Niger

### Résumé

Le phosphate naturel de Tahoua (PNT) est un phosphate sédimentaire et constitue une gamme d'impuretés [1]. La présence des impuretés dans l'apatite rend le phosphore moins disponible pour les plantes. Ce travail a pour objectif d'enrichir le PNT afin d'en accroître sa solubilité. Dans une première étape, nous avons effectué la calcination dans un four à 850°C pendant 2H [2;3;4]. Après le traitement, nous avons observé une perte de la masse de phosphate dans l'échantillon. Elle pourrait être liée à l'élimination de l'eau et de matières organiques. Ensuite nous avons procédé à la caractérisation chimique du phosphate calciné par XRF pour avoir la quantité des impuretés éliminées de la composition chimique de phosphate [5]. Les résultats obtenus sont Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (de 4,64% à 0,485%), SiO<sub>2</sub> (de 3,35% à 0,05%) et P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (de 20,6% à 30,8%). En fin nous avons dissous le produit obtenu dans deux acides. Les résultats obtenus montrent une augmentation de la solubilité du produit. Le taux de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> dissous de phosphate calciné et marchand dans l'acide sulfurique et dans l'acide citrique sont respectivement de 51,65%; 21,74% et 24,79%; 3,19%. La calcination de PNT a permis d'augmenter le taux de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> dissous dans les solutions d'acides et il est plus important dans la solution d'acide sulfurique.

**Mots clés:** phosphate naturel, traitement thermique, solubilité, acides.

### Abstract

Tahoua's genuine phosphate is a sedimentary phosphate and constitutes a range of impurities [1]. Unfortunately impurities within apatite makes phosphorus less available to plants. This work aims to enrich Tahoua's natural phosphate in order to increase its solubility. In a first step, we carried out a thermal treatment of Tahoua's commercial phosphate. The calcination was carried out in an oven at 850°C for 2H [2; 3; 4]. After treatment, we observed a loss of phosphate mass in the sample. It could be related to the disposal of water and organic matter. Then we proceeded to chemically characterize XRF-burnt phosphate to have the amount of impurities removed from the chemical phosphate composition [5]. The results obtained are Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (from 4.64% to 0.485%), SiO<sub>2</sub> (from 3.35% to 0.05%) and P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (from 20.6% to 30.8%). In the end we dissolved the product obtained in sulfuric acid and in citric acid. The results obtained show an increase in the solubility of the product. The dissolved phosphorus level expressed as a percentage of charred and commercial phosphate P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in sulfuric acid and citric acid is 51.65%; 21.74% and 24.79%; 3, 19%. Commercial phosphate calcination has increased the level of dissolved P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in acid solutions. This level of dissolved P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> is more important in the sulfuric acid solution.

**Key words:** genuine phosphate, treatment thermal, solubility, acids.

### Introduction

Les phosphates naturels désignent les assemblages minéraux naturels contenant une concentration élevée de minéraux phosphatés. Les termes se rapportent aussi bien aux minerais phosphatés non enrichis qu'aux produits concentrés. En plus, le phosphate est un dépôt sédimentaire sous forme d'apatite du fluor, de l'hydroxyle ou du chlore Ca<sub>5</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>(F, OH, Cl) [6]. Le phosphate marchand de Tahoua est un phosphate sédimentaire de type nodulaire qui est constitué en grande majorité par la fluoroapatite et titre environ 30 % de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> en moyenne, des teneurs en Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, SiO<sub>2</sub> et en matière organique trop élevées qui affectent la qualité marchande des nodules. Cependant les sols nigériens restent et demeurent pauvres en phosphore. Pour remédier à ce problème, de nombreuses études sont entreprises sur la valorisation du phosphate naturel de Tahoua dans l'agriculture; des essais d'application directe dans l'agriculture du phosphate marchand de

Tahoua n'ont pas pu donner des bons résultats à cause de sa faible solubilité dans l'eau qui est dû à sa forme d'apatite. Le phosphore du phosphate naturel ne peut être disponible pour les plantes que s'il est sous la forme assimilable [7]. C'est un produit indispensable à l'agriculture au même titre que l'azote (N) et le potassium (K) et figure parmi les rares matières premières non substituables [8]. Dans le cadre de la valorisation de phosphate naturel, il présente des impuretés qui influencent négativement la qualité du produit. Ce qui justifie la nécessité d'un traitement pour l'élimination de ces impuretés. Ce traitement est réalisé par des procédés physiques et/ou chimiques (granulométrie, lavage à l'eau, flottation, séparation, calcination etc.). Ainsi, la calcination et l'étude de la solubilité des phosphates naturels de Tahoua (PNTs) dans l'acide sulfurique (AS) et dans l'acide citrique(AC) ont été réalisés.

## II. Matériels et Méthodes

### 1. Matériels

#### a. Minerai phosphaté

Au cours de nos travaux, nous avons utilisé le phosphate marchand de Tahoua **figure 4**, après avoir suivi plusieurs étapes de traitement afin d'obtenir la qualité ciblée, achetée à la Centrale d'Approvisionnement des Intrants et Matériels Agricoles (CAIMA). La granulométrie de cette poudre est comprise entre 100 à 150  $\mu\text{m}$  [9].



**Figure 40:** Poudre de phosphate marchand de Tahoua

## b. Produits chimiques

Les produits chimiques utilisés au cours de ce travail sont décrits dans le tableau suivant.

**Tableau 13:** Produits chimiques

Produits	Formule	Masse molaire g/mol	Densité	Pureté	Origine
Acide sulfurique	$\text{H}_2\text{SO}_4$	98	1,84	95-98%	ProlaboNormapur
Acide citrique	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$	210,124	1,55	100%	ProlaboNormapur
Molybdate d'ammonium	$\text{NH}_4\text{M}_07 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1235,86	–	–	ACROS ORGANICS
Tartrate de potassium et antimoine	$\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$ $\text{K}(\text{SbO})_0,05\text{H}_2\text{O}$	333,93	2,6	99%	ACROS ORGANICS
Acide ascorbique	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$	176,13	–	99,7%	ProlaboNormapur
Phosphate mono potassique	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	136,1	–	–	–

## c. Appareillages

Les matériels utilisés au cours de notre travail sont:

- ✦ un Spectrophotomètre d'absorption moléculaire;
- ✦ Spectromètre de fluorescence aux rayons X

## 2. Méthodes

### a. Enrichissement du phosphate naturel de Tahoua par calcination

L'enrichissement du phosphate naturel par calcination est un moyen d'éliminer les impuretés dans le phosphate brut à savoir l'eau et la matière organique. Ce qui permet d'augmenter la teneur de phosphate  $\text{P}_2\text{O}_5$  dans le minerai. Une masse de 8 g de la poudre de phosphate naturel de Tahoua pesée à l'aide d'une balance de précision est introduite dans un creuset. Ensuite, il a été placé dans un four à la température de calcination 850 °C et pendant un temps de 2 heures.

### b. Attaque des solutions d'acides

Dans un bécher de 200 mL bien rincé à l'eau distillée, on introduit 0,1g du minerai et 100 mL de la solution acide. Le mélange est maintenu sous agitation magnétique à la température ambiante. La vitesse d'agitation est de 500 tours.min<sup>-1</sup> pendant un temps d'attaque d'une heure. A la fin de l'agitation, chaque mélange est ensuite filtré. Afin d'évaluer l'action de chaque solution d'acide dans le minerai de phosphate, un dosage du taux d'anhydride phosphorique ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) dissous a été effectué sur chaque filtrat.

**c. Réactif combiné** On ajoute 25 mL de la solution mère d'acide molybdique dans une fiole contenant 800 mL d'eau distillée. Puis on ajoute 10 mL de la solution d'acide ascorbique et on complète à 1000 mL [10].

### d. Solutions d'échantillons

Introduire 2 mL du filtrat (solutions à forte concentration en phosphore) dans une fiole jaugée de 25 mL. Ajouter 10 mL d'eau distillée et 8 mL de réactif mélangé. Dans un blanc, on introduit 15 mL d'eau distillée et 8 mL de réactif combiné. Homogénéiser, attendre quelques minutes la stabilisation de la coloration bleue (**figure 8**) et effectuer les mesures au spectromètre à la longueur d'onde de 882 nm après avoir réglé l'appareil au zéro d'absorbance par rapport au blanc.

### e. Spectrométrie à rayons X

L'analyse chimique a été effectuée sur 20 g de poudre brute au moyen d'un spectromètre à fluorescence X à dispersion d'énergie (modèle Minipal 4). Les filtres sélectionnés étaient "kapton" pour les oxydes majeurs et "Ag/Al-thin" pour les éléments traces et les terres rares. Le temps de mesure pour chaque échantillon était de 100 secondes et le milieu utilisé était toujours de l'air [11].

## III. Résultats et discussion

### 1. Traitement du phosphate marchand de Tahoua

L'enrichissement du phosphate naturel par calcination est un moyen d'éliminer les impuretés dans le phosphate brut à savoir l'eau et la matière organique. Ce qui permet d'augmenter la teneur de phosphate  $P_2O_5$  dans le minerai. La variation de la masse obtenue par calcination du minerai est présentée dans le **tableau 4** :

Après le traitement thermique du phosphate marchand, le résultat obtenu montre une diminution de la masse du phosphate. Cette perte de la masse peut être liée par l'élimination des impuretés telles que la matière organique, l'eau ...etc. Cette élimination pourrait favoriser l'augmentation de la teneur de  $P_2O_5$  dans le phosphate. En ce sens, **M. El Ouardi et al [12]** ont observé une perte de la masse et une augmentation de la teneur en  $P_2O_5$  dans le phosphate calciné.

**Tableau 14:** Les masses de phosphate naturel de Tahoua brut et calciné

	Phosphate marchand	Phosphate calciné
Masses en g	8	7,36

### 2. Détermination de la composition chimique de phosphate calciné par fluorescence de rayon x

Trois échantillons du phosphate marchand et deux échantillons de phosphate calciné ont été analysés par spectrométrie de fluorescence aux rayons X à dispersion d'énergie (EDXRF) du modèle « Minipal 4 » mais seule la moyenne des résultats obtenus est rassemblée dans le **tableau 5**.

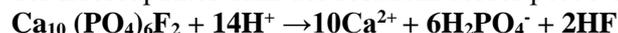
Les résultats obtenus avant et après un traitement thermique sont respectivement  $P_2O_5$  (de 20,6 % à 30,8 %),  $Al_2O_3$  (de 4,64 % à 0,485 %),  $SiO_2$  (de 3,35 % à 0,051 %),  $MgO$  (de 0,763 % à 0,015 %). Nous constatons une augmentation de la teneur de  $P_2O_5$  de phosphate calciné et une diminution de certaines impuretés telles que  $Al_2O_3$ ; de  $SiO_2$  et de  $MgO$ . Ceci peut être expliqué par l'élimination des grandes parties des impuretés telles que la matière organique, la silice, l'eau, oxyde d'aluminium et d'oxyde magnésium. Dans d'autres études, des auteurs ont montré que les impuretés ne favorisent pas les processus de valorisation des phosphates et leur efficacité en application directe dans l'agriculture [13; 14]. De même, M. El Ouardi, et al [12] ont montré que la teneur de  $P_2O_5$  augmente et les teneurs d'impuretés diminuent par la température 850 °C et pendant 30 minutes. L'élimination de la teneur des impuretés n'influence pas la teneur de  $P_2O_5$ . Il est important de noter que la présence de la matière organique et d'oxydes dans le phosphate marchand a des effets sur la valorisation et la solubilité de phosphate.

**Tableau 5 :** Composition chimique du phosphate brut et calciné

Eléments majeurs en %			Eléments traces en ppm		
Oxydes	Phosphate brut	Phosphate calciné	Métaux	Phosphate brut	Phosphate calciné en
CaO	53,18	51,13	Sr	4579,02	3191,69
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	20,6	30,8	Sc	41,667	212,18
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	9,89	14,88	Nb	39,967	150,73
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	4,64	0,485	Ba	-	501,52
SiO <sub>2</sub>	3,35	0,051	Cu	219,68	60,23
MnO	0,931	0,751	Zr	301,96	200
MgO	0,763	0,015	Zn	8,246	5,03
TiO <sub>2</sub>	0,346	0,2	Bi	-	28,5
Na <sub>2</sub> O	0,081	<0,001	Hg	-	3,869
K <sub>2</sub> O	0,048	<0,001	La	-	0,48
LOI (perte au feu)	5,2	1,1	Hf	24,06	41,465
			Pb	<0,01	225
			Y	-	21,25
			V	9,976	-
			As	14,056	-
			W	0,626	-
			Ta	12,016	-

### 3. Solubilité de phosphate naturel de Tahoua dans les acides

Le phosphate marchand de Tahoua est un phosphate sédimentaire [15]. Il est constitué en majorité par la fluoroapatite. La réaction de décomposition de la fluoroapatite s'effectue à la surface des matériaux solides, c'est une réaction chimique sans catalyseur. Lors de la dissolution des matériaux solides, la rupture des liaisons s'effectue de la plus faible énergétiquement à la moins faible. Par conséquent, la dissolution de la fluoroapatite débute par la rupture des liaisons Ca-F puis ensuite les liaisons Ca- P. En revanche, les liaisons P-O, les plus énergétiques, ne se rompent pas pour que la structure soit complètement détruite [16]. En milieu acide, le phosphate présenté sous forme d'ions  $\text{PO}_4^{3-}$  capte les ions  $\text{H}^+$  pour former des ions  $\text{HPO}_4^{2-}$  ou  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  suivant la force de l'acide. La réaction de décomposition des fluoroapatites dans des solutions acides peut s'écrire [17]:

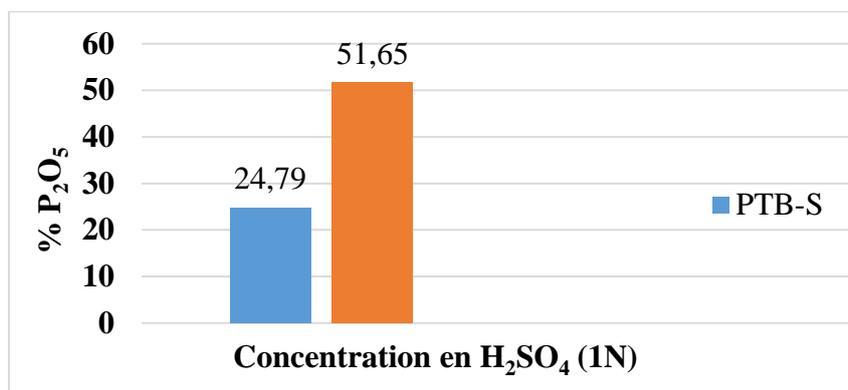


Nous avons étudié la dissolution des minerais dans l'acide sulfurique et dans l'acide citrique. Celle-ci a été évaluée à travers le dosage du  $\text{P}_2\text{O}_5$  dans les différents filtrats recueillis après l'attaque. Nous allons présenter et discuter les résultats de cette étude dans les prochains paragraphes.

#### a. Solubilité de PNT brut et calciné dans la solution d'acide sulfurique (1N)

La dissolution des phosphates naturels de Tahoua par la solution d'acide sulfurique a été réalisée. Les résultats obtenus sont présentés à la **figure 9**. Elle présente le taux de  $\text{P}_2\text{O}_5$  dissous dans le phosphate brut et calciné.

L'analyse de ces résultats montre que le pourcentage de  $\text{P}_2\text{O}_5$  dissous dans le phosphate calciné (51,65%) est le double de celui de phosphate brut (24,79 %). Cette augmentation de la teneur de  $\text{P}_2\text{O}_5$  dissous de phosphate calciné peut être expliquée par l'augmentation de la surface spécifique de phosphate d'une part, selon **Fao [18]** et d'autre part, par la libération des particules phosphatées et la destruction de la matière organique. **D. Akila et F. Zahia [8]** ont montré que l'élévation de la teneur en  $\text{P}_2\text{O}_5$  est due à la libération des particules phosphatées après la destruction des carbonates et de la matière organique par effet thermique. Ceci a pour conséquence une importante consommation des ions  $\text{H}_3\text{O}^+$  dans le milieu en augmentant la dissolution de minerais [19]. Les taux de solubilisation que nous avons obtenu après la calcination sont plus importants que ceux obtenus [7; 19 ; 20] pour la dissolution de phosphate marchand de Tahoua; du phosphate naturel du Togo [20] et du phosphate naturel d'Algérie [22].



**Figure 41** : Taux de  $\text{P}_2\text{O}_5$  dissous dans AS après 1 heure

#### b. Solubilité des PNT calciné et marchand dans la solution d'acide citrique (0,1M)

Le dosage de l'anhydride phosphorique dans les filtrats issus de l'attaque de phosphate calciné et marchand par une solution d'acide citrique a permis d'obtenir les résultats reportés dans la **figure 10**.

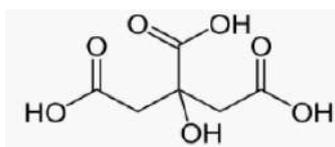
Ces résultats montrent que le taux de  $\text{P}_2\text{O}_5$  dissous du phosphate calciné (21,74 %) est sept fois plus élevé que celui de phosphate brut (3,19 %) dans la solution d'acide citrique. Dans ce milieu, la solubilité du minerai est importante également. Ces résultats peuvent être expliqués par le pouvoir complexant des groupements carboxyliques et hydroxyle de cet acide. **Agbagnan, K et al, [23]** ont prouvé que la dissolution des phosphates par les acides organiques est due à l'attaque du minerai par les protons  $\text{H}^+$  et par les phénomènes de complexation des ions métalliques par les groupements fonctionnels des acides.

#### c. Etude comparative de la dissolution des minerais (purifié et brut) par la solution AS (minéral) et AC (organique)

Afin de mieux comprendre les différences et les points communs des processus réactionnels de l'apatite avec d'une part les acides organiques et d'autre part les acides minéraux, nous avons réalisé une étude comparative des taux de dissolution de phosphates brut et calciné par les solutions d'acide organique (AC) et minéral (AS). Les taux de

dissolution des phosphates purifié et brut dans les deux acides au bout d'une heure d'attaque sont représentés sur la **figure 11** ci-dessous.

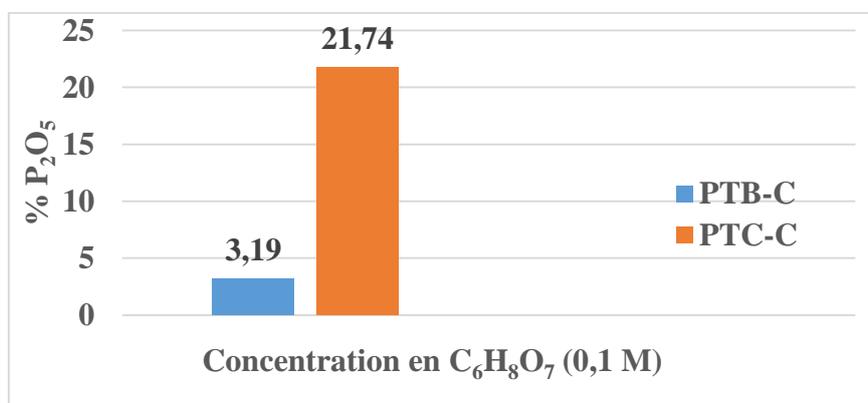
Au regard de ces résultats, les taux de dissolution de phosphate enrichi et de phosphate brut dans les solutions d'acide sulfurique 1N et citrique 0,1M montrent que la solution de l'acide sulfurique présente le taux de dissolution le plus élevé. Ceci montre que l'acide sulfurique dissout mieux le phosphate naturel de Tahoua que l'acide citrique. **Moursalou. K [20]** a montré que l'acide sulfurique est le meilleur solvant pour la dissolution de phosphates quelle que soit la concentration de la solution d'attaque lorsque celle-ci varie de 0,001 à 1M. En plus, l'acide sulfurique est un diacide fort ( $pK_{a1} = -3$  et  $pK_{a2} = 1,9$ ) tandis que l'acide citrique est un triacide faible ( $pK_{a1} = 3,1$  ;  $pK_{a2} = 4,8$  et  $pK_{a3} = 6,4$ ) [24]. **Moursalou et al [25]** ont affirmé que les acides organiques ont un effet positif sur la dissolution des apatites en milieu faiblement acide et basique. On peut penser que la dissolution de phosphates dans la solution d'acide citrique à faible concentration est liée à la complexation des cations métalliques par la base conjuguée de l'acide. La formule semi-développée d'AC est la suivante:



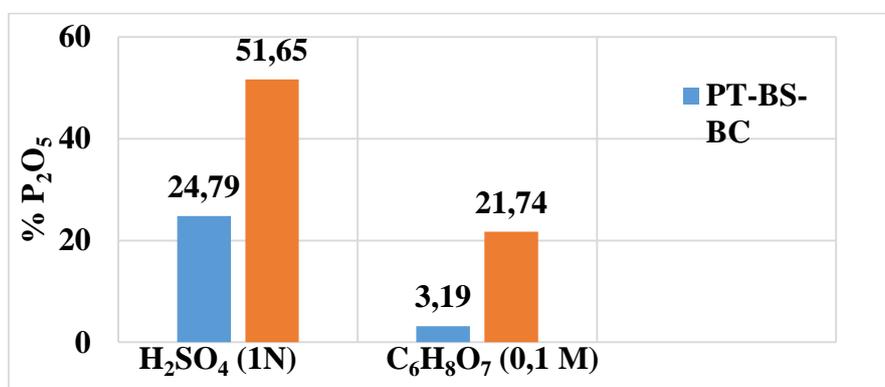
**Figure 42** : Formule semi-développée d'AC [26].

Alors cette molécule possède trois (3) groupements carboxyliques: c'est un ligand tridenté. La dissolution augmente lorsque le nombre de groupements fonctionnels est élevé.

Le taux de la dissolution de phosphate purifié étant seulement de 51,65 % et 21,74 % et pour le brut 24,79 % et 3,19 % respectivement dans les solutions acide sulfurique (1N) et citrique (0,1M). Ces résultats montrent que la dissolution des phosphates n'est pas totale confirmant aussi la difficulté de dissoudre complètement certains phosphates naturels [9]. Ceci peut être expliqué par la présence des quelques restes d'impuretés dans les minerais  $SiO_2$ ;  $Fe_2O_3$ ;  $Al_2O_3$  qui ne favorisent pas la dissolution.



**Figure 43** : Taux de  $P_2O_5$  dissous dans AC après 1 heure



**Figure 44**: Comparaison du taux des  $P_2O_5$  dissous par les solutions AS et AC après 1 heure d'attaque

### III. Conclusion et Perspectives

Au cours de ce travail, nous avons effectué la calcination à la température 850 ° C et pendant un temps de 2 heures. A la fin de l'opération, il a été constaté une diminution de la masse de l'échantillon du phosphate.

La caractérisation du phosphate calciné et brut avec la spectrométrie de fluorescence aux rayons X a montré que le taux de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> est passé de 20,6 % pour le phosphate brut à 30,8 % après calcination, soit une augmentation de 10,2 %. Nous avons ensuite étudié la dissolution des phosphates brut et calciné dans l'acide sulfurique et dans l'acide citrique. Les résultats du dosage du phosphore dissous, exprimés en pourcentage d'anhydride phosphorique (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), ont montré que le phosphate calciné se dissout mieux et que la dissolution est plus importante en milieu acide sulfurique que dans l'acide citrique. En perspectives, des études doivent être effectuées afin d'éliminer les impuretés dans le phosphate naturel telles que l'oxyde de fer, l'oxyde d'aluminium en utilisant des autres techniques à savoir la flottation, la séparation etc

### Références bibliographiques

- [1]. **Franconi, A, Julien J. et Zibo I., (1980).** Plan minéral de la république du Niger, tome IV 1er volume. Etude spécifique des principales substances minérales et leur contexte géologique, 725P. Projet fac n° 259/CD/80 et 383/CD/81
- [2]. **Akila, D, Zahia F, (2016).** L'influence de traitement thermique sur la granulométrie de minerai de phosphate beige de gisement de kef Es Sannoun Djebel Onk. Mémoire de master en valorisation des ressources minérales. Université Abderrahmane Mira Bejaia
- [3]. **Ousmane M S, Zanguina. A, Natatou. I, (2017).** Traitement Des Phosphates Naturels De Tahoua (Niger) Par Quelques Acides Conventionnels. European Scientific Journal August 2017 edition Vol.13, No.24 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN p1857- 7431
- [4]. **El Ouardi, M., Mrani, I., Anoua, M., & Chehouani, H. (2009).** Optimisation du traitement thermique d'un phosphate application au phosphate du bassin gantour au maroc. Matériaux & Techniques, 97(2), 133-142.
- [5]. **Willis, Ken Turner and Gary Pritchard, (2011).** XRF in workplace: A Guide to Practical XRF Spectrometry. Analytical Australia. P 4-16
- [6]. **Boujier V, (2007).** Influence des ions monohydrogenophosphates et fluorophosphates sur les propriétés des phosphogypses et la réactivité des phosphoplatres. Thèse de Doctorat en Génie procédés. Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne
- [7]. **Zanguina. A, (2011).** Contribution à la caractérisation physico-chimique et à la mise en valeur Agronomique de phosphate naturel de Tahoua (Niger) : Essais de fabrication de certains engrains minéraux et de phospho-compost. Thèse de doctorat en Physico-chimie des Matériaux, université Abdou Moumouni de Niamey, 149p.
- [8]. **Akila, D, Zahia F, (2016).** L'influence de traitement thermique sur la granulométrie de minerai de phosphate beige de gisement de kef Es Sannoun Djebel Onk. Mémoire de master en valorisation des ressources minérales. Université Abderrahmane Mira Bejaia
- [9]. **Natatou. I, A. Maman, A. Zanguina, I. Khalid, A. Boos et M. Burgard, (2004).** Etudes physico-chimiques du phosphate marchand de Tahoua (Niger). J. Soc. Ouest-Afr. Chim; 018; p.137-148.
- [10]. **Method. Bay 1, (1975).** Application des dosages automatiques à l'analyse des sols.
- [11]. **Willis, Ken Turner and Gary Pritchard, (2011).** XRF in workplace: A Guide to Practical XRF Spectrometry. Analytical Australia. P 4-16
- [12]. **El Ouardi, M., Mrani, I., Anoua, M., & Chehouani, H. (2009).** Optimisation du traitement thermique d'un phosphate application au phosphate du bassin gantour au maroc. Matériaux & Techniques, 97(2), 133-142.
- [13]. **Cuney, M, (2004).** "Facteurs contrôlant la nature et la concentration des impuretés dans les phosphates sédimentaires", COVAPHOS I (ed), Proceedings of the first international conference on the valorization of phosphates and phosphorus compounds 11-14p.
- [14]. **United Nations Industrial Development Organization (UNIDO) & IFDC, (1998).** Fertilizer manual. Dordrecht, the Netherlands, Kluwer Academic Publishers, p. 615.
- [15]. **Greigeri. J, (1970-1971).** Recherche de phosphate dans la région de Tahoua, rapport Agence Canadienne pour le développement International au Niger, 1970 -1971
- [16]. **Claire. C., (2005).** Etude expérimentale de la cinétique et des mécanismes d'altération de minéraux apatitiques. Application au comportement d'une céramique de confinement d'actinides mineurs. Thèse de doctorat de l'université Toulouse III en géochimie expérimentale.
- [17]. **Valyasko V. M., Kogardo L. N., Khodakovskiy I. L.,** Stability of fluorapatite, chloroapatite and hydroxylapatite in aqueous solutions at different temperature. Goech. Inter., 5, (1968), p. 21-30.
- [18]. **Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, (Fao, 2013).** Utilisation des phosphates naturels pour une agriculture durable. Bulletin fao engrais et nutrition végétale. Exploitation minière de phosphates naturels à Khourigba, Maroc.
- [19]. **Bassirou. I, Halidou, (2015).** Etude comparative de la dissolution du phosphate naturel de Tahoua dans divers acides minéraux et organique. Mémoire de Master en chimie inorganique, Université Abdou Moumouni de Niamey ,60p.

## Élimination des ions fluorure des eaux souterraines destinées à la consommation humaine à partir de la poudre de coquilles de *Corbula trigona* régénérée

Yapo N'zébo Sylvestre<sup>1\*</sup>, Briton Bi Gouessé Henri<sup>1</sup>, Aw Sadat<sup>1</sup>, Reinert Laurence<sup>2</sup>, Drogui Patrick<sup>3</sup>, Yao Kouassi Benjamin<sup>1</sup>, Adouby Kopoin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse, de l'Environnement et des Énergies Nouvelles (LAPISEN), Institut National Polytechnique Houphouët-Boigny, BP 1313, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

<sup>2</sup>Laboratoire Chimie Moléculaire et Environnement (LCME), Université Savoie Mont Blanc, 73000 Chambéry, France.

<sup>3</sup>Institut National de la Recherche Scientifique (INRS Eau Terre et Environnement), Université du Québec, 490 rue de la Couronne, Québec City, Canada.

### Résumé :

Les eaux souterraines constituent la principale source d'alimentation en eau potable pour de nombreux ménages à faible revenu à travers le monde. Malheureusement, au cours de ces dernières décennies, plusieurs sources naturelles ou anthropiques sont responsables de la présence excessive du fluorure dans les eaux souterraines. La défluoruration des eaux de boisson s'avère nécessaire. Cette étude vise à réduire le fluorure dans les eaux souterraines par adsorption-précipitation dans un réacteur discontinu en utilisant la poudre de coquilles de *Corbula trigona* régénérée (PCCTR). La PCCTR a été caractérisée par différentes techniques analytiques comme la diffraction des rayons X (DRX), l'infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF) et la microscopie électronique à balayage (MEB). L'influence du pH, de la dose et de la concentration initiale de fluorure a été étudiée. L'efficacité du procédé pour l'élimination de 2,20 mg/L était de 66,8% à pH3. En outre, la cinétique d'adsorption a montré que le modèle de pseudo-second ordre ajustait le mieux les données expérimentales et le modèle de Langmuir était le mieux adapté pour décrire le phénomène d'adsorption. Par finir, il serait intéressant d'améliorer la capacité d'adsorption de l'adsorbant en modifiant les propriétés de surface des coquilles de *Corbula trigona*.

**Mots clés :** Eau souterraine ; Fluorure ; *Corbula trigona* ; Adsorption

## Removal of fluoride ions from groundwater intended for human consumption using regenerated *Corbula trigona* shell powder

### Abstract

Groundwater is the primary source of drinking water supply for many low-income households worldwide. Unfortunately, in recent decades, several natural and anthropogenic sources have been responsible for the excessive presence of fluoride in groundwater. The defluoridation of drinking water is necessary. This study aims to reduce fluoride in groundwater by adsorption-precipitation in a batch reactor using regenerated *Corbula trigona* shell powder (RCTSP). RCTSP was characterized by different analytical techniques such as X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared (FTIR) and scanning electron microscopy (SEM). The influence of pH, dose and initial fluoride concentration was studied. The process efficiency for removal of 2.20 mg/L was 66.8% at pH3. Furthermore, the adsorption kinetics showed that the pseudo-second order model best fit the experimental data and the Langmuir model was the best fit to describe the adsorption phenomenon. Finally, it would be interesting to improve the adsorption capacity of the adsorbent by modifying the surface properties of *Corbula trigona* shells.

**Keywords:** Groundwater ; Fluoride ; *Corbula trigona* ; Adsorption

### 1. Introduction

Le fluor est le treizième élément le plus abondant de la croûte terrestre [1]. Son lessivage par les eaux de pluie entraîne une contamination en fluorures aussi bien des eaux de surface que des eaux souterraines [2]. En plus de cette source naturelle, il y a aussi une source anthropogène, constituée par le secteur industriel [3]. En Afrique, principalement les pays situés dans la vallée du Rift Est-africain tels que l'Éthiopie, l'Ouganda, le Kenya et la Tanzanie, les eaux de surface et souterraine présentent une concentration élevée en fluorure [4]. Cependant, la présence de fluorure dans les eaux de consommation peut avoir des effets aussi bien bénéfiques que néfastes sur la santé humaine selon leur concentration. En effet, les faibles teneurs favorisent la minéralisation normale des os et la calcification de l'émail dentaire [5,6] alors que les doses excessives sont à l'origine des fluoroses dentaire et squelettique lorsque la période d'exposition est prolongée [7].

En outre, d'autres effets indésirables, notamment le cancer, les troubles digestifs et nerveux suite à la formation de H<sub>2</sub>F dans l'estomac, la baisse du taux d'hémoglobine, la réduction de l'immunité, les problèmes urinaires et respiratoires, la stérilité féminine et le syndrome d'Alzheimer ont été également rapportés [8 - 11]. A ce jour, les travaux récents de Xia et al. [11] ont révélé que plus de 200 millions de personnes sont victimes de maladies liées à la consommation des eaux chargées en fluorures. Ce constat a conduit l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) à recommander moins de 1,5 mg/L de fluorure dans les eaux destinées à la consommation humaine [12].

De ce fait, de nombreuses techniques de défluoruration des eaux destinées à la consommation humaine ont été développées. Parmi celles-ci, on peut citer la nanofiltration, l'osmose inverse, l'électrodialyse, l'électrocoagulation, la précipitation et l'adsorption [13–15]. En effet, l'électrodialyse, la filtration membranaire, l'échange ionique et l'électrocoagulation sont très efficaces pour réduire la concentration en fluorures dans les limites prescrites par l'OMS. Mais ces procédés restent coûteux et nécessitent une régénération régulière, en plus du nettoyage des dépôts et des encrassements [16].

Ces dernières années, plusieurs études ont exploré divers supports poreux moins coûteux mais efficaces tels que l'oxyde de fer hydraté [17], l'alumine activée [18], la paille de blé, la sciure de bois, le charbon actif [19], la calcite [20] pour éliminer les ions fluorures dans les eaux de boisson. Par ailleurs, la réutilisation de la poudre de coquilles *Corbula trigona* régénérée (PCCTR) peut être une alternative à ces matériaux ayant fait leur preuve dans l'élimination des polluants en solution aqueuse. Au meilleur de nos connaissances, aucune étude n'a été rapportée sur son utilisation pour la réduction des ions fluorure dans les eaux destinées à la consommation.

L'objectif de cette étude vise à éliminer l'excès de fluorures contenus dans les eaux souterraines en utilisant la PCCTR. Cela pourrait élargir la liste des matériaux adsorbants non toxiques pour le traitement des eaux de consommation riches en fluorure. A cet effet, ce matériau a été caractérisé par la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF), la Morphologie structurale par microscopie électronique à balayage couplée avec la spectrométrie à dispersion d'énergie (MEB/EDS). Ensuite, par la méthode batch, la PCCTR a été mise en contact avec une quantité d'eau souterraine pour suivre la cinétique de défluoruration, les effets de pH, de la dose de l'adsorbant.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Dispositif expérimental en batch

Les études sont réalisées dans un réacteur discontinu selon le dispositif de la **figure 1**. Ce dispositif comprend un bain thermostaté réglé à 25 °C déposé sur un agitateur magnétique multipostes de type IKA MAG EOA 9, Janke & Kunkel.



**Figure 1** : Dispositif expérimental en mode discontinu

### 2.2. Régénération de la poudre de coquille de *Corbula trigona* (PCCT) et cycles successifs d'élimination

Pour la régénération de la PCCT, des tests de désorption des ions fluorure ont été effectués après contamination du matériau. Pour cela une quantité de 10 g de PCCT est mise en contact avec une solution de 1 litre de NaOH à 0,5 mol/L. Après 1 heure d'agitation, la PCCT est séparée de la solution par filtration et les filtrats sont analysés pour déterminer la concentration de fluorure désorbée. La PCCT récupérée a été lavée 5 fois avec de l'eau distillée et séchée à 80°C pendant 2 heures à l'étuve pour être réutilisée. Ainsi, des cycles d'adsorption-désorption sont réalisés cinq fois selon le même protocole. La quantité des ions fluorure désorbés de la PCCT est donnée par la relation suivante :

$$\text{Désorption (\%)} = \frac{\text{Quantité d'ion fluorure désorbée}}{\text{Quantité d'ion fluorure adsorbée}} \times 100 \quad (1)$$

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Désorption des ions fluorures et cycles d'adsorption

Les ions fluorure fixés sur la PCCT peuvent être désorbés par la solution de NaOH, ainsi elle peut être utilisée plusieurs fois dans des cycle successifs d'adsorption-désorption. Le **tableau 1** montre les efficacités d'élimination et

de désorption au cours des différents cycles de régénération. Les résultats de cette étude montrent une diminution de la capacité d'adsorption sur la PCCT pour ces 5 cycles. En effet, les ions fluorure enregistre une perte de leur capacité maximale d'adsorption de 7,57%. Concernant la désorption successive des ions fluorure, on enregistre une diminution de l'efficacité de désorption de 13,63%. Les résultats montrent que la PCCT pourrait être utilisée plusieurs fois au cours de l'élimination des ions fluorure sans perte significative de leur capacité maximale d'adsorption.

En revanche, à chaque réutilisation de la PCCT, la quantité de fluorure nouvellement adsorbée diminue du fait de l'occupation des sites actifs par des ions fluorure non désorbés pendant la régénération de l'adsorbant. Tan *et al* [21] ont utilisé des armatures organométalliques à base de zirconium dans quatre cycles de régénération d'adsorption/désorption du fluorure sans perte significative de la capacité d'adsorption de l'adsorbant. En effet, les résultats obtenus dans cette étude confirment que cet adsorbant pouvait éliminer jusqu'à 79% des ions fluorure après le quatrième cycle.

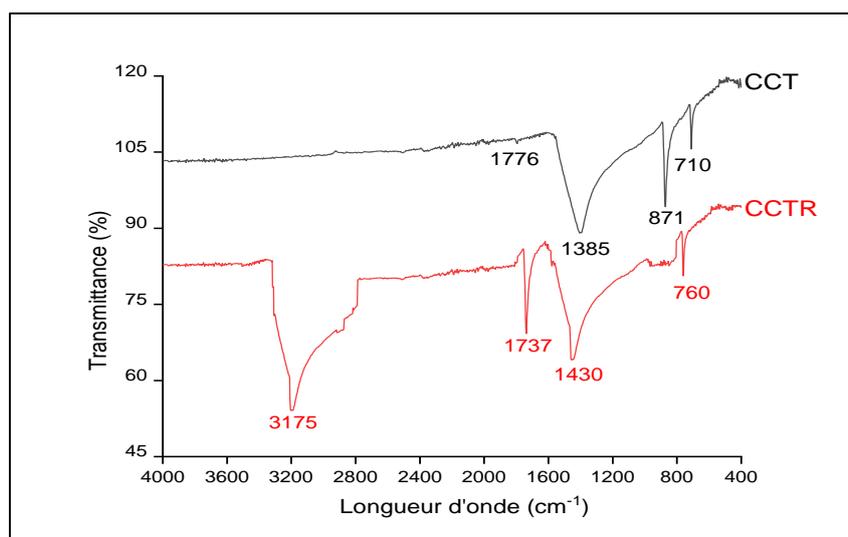
**Tableau 1** : Efficacité d'élimination et de désorption des ions fluorure (Concentration initiale : 2,2 mg/L, dose de CCTB : 10 g/L, température : 25°C et temps de contact : 60 min)

Nombre de cycles	Efficacité d'élimination (%)	Efficacité de désorption (%)
Cycle 1	68,18	-
Cycle 2	66,67	98,48
Cycle 3	65,15	96,97
Cycle 4	63,64	87,88
Cycle 5	60,61	84,85

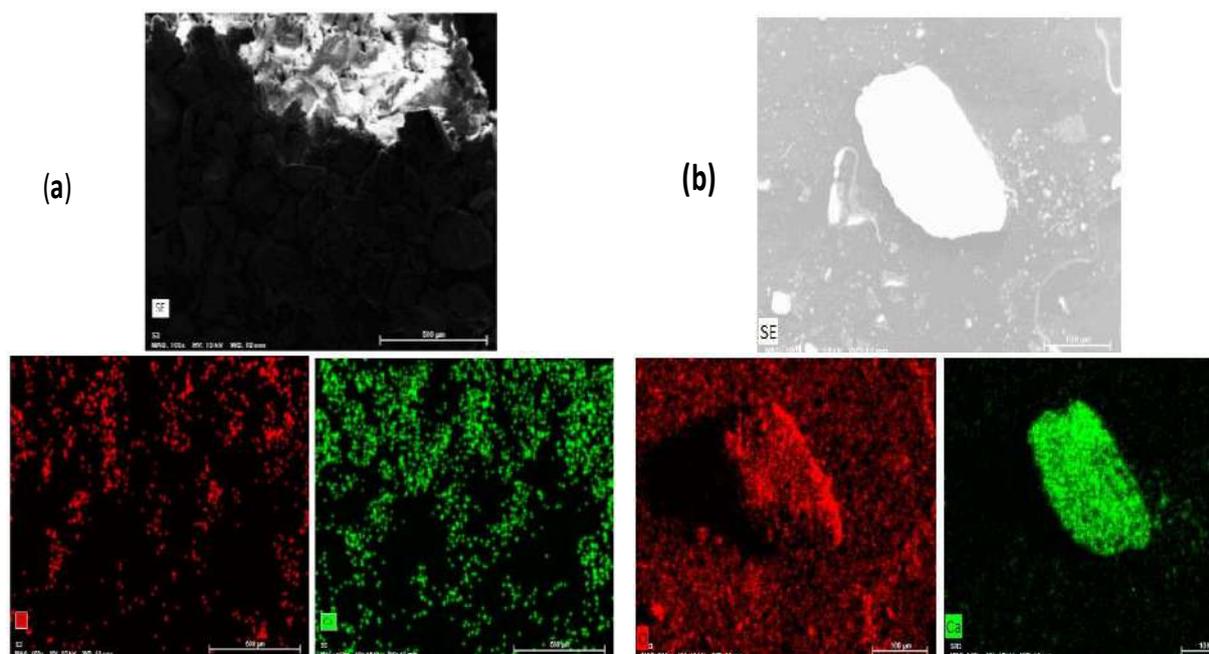
### 3.2. Comparaison des caractéristiques des poudres de coquille de *Corbula trigona* brute (PCCTB) et régénérée (PCCTR)

La **figure 2** présente le spectre IR-TF de la PCCT et celui de la PCCTR. En comparant le spectre de PCCTB à celui de PCCTR, il ressort de cette analyse l'apparition d'une nouvelle bande située à 3175 cm<sup>-1</sup> correspondent à la liaison OH. En effet, la présence de cette bande pourrait s'expliquer par la réaction d'adsorption en milieu aqueux. De plus, on note un déplacement des bandes observées sur le spectre IR-TF de la PCCTB suite à la réutilisation de celle-ci. Cela montre que la surface de la CCTB après les 5 cycles de régénération a subi une légère modification.

En revanche, les images MEB et les cartographies EDX de la PCCT et la PCCTR (**Figure 3**) montrent qu'il y a une modification de la surface de l'adsorbant après les cycles de recyclage. En effet, les atomes d'oxygène sont nettement plus présents que ceux du calcium au niveau de recyclés. Ceci reflète la dissolution du CaCO<sub>3</sub> et la dégradation progressive de la surface de l'adsorbant.



**Figure 3** : Spectres infrarouges de PCCT avant (PCCT) et après régénération (PCCTR)



**Figure 3** : Photographie MEB et cartographie des éléments chimiques de la PCCT avant (a) et après régénération (b)

#### 4. Conclusion

L'étude portant sur l'élimination des ions fluorure par les procédés d'adsorption sur la PCCTR a permis d'évaluer son efficacité au de sa réutilisation. Ainsi, les efficacités d'élimination et de désorption au cours des différents cycles de régénération ont montré une diminution de la capacité d'adsorption sur la PCCT pour ces 5 cycles. Par conséquent, les ions fluorure enregistre une perte de leur capacité maximale d'adsorption de 7,57%. Concernant la désorption successive des ions fluorure, on enregistre une diminution de l'efficacité de désorption de 13,63%. La PCCT pourrait être utilisée plusieurs fois au cours de l'élimination des ions fluorure sans perte significative de leur capacité maximale d'adsorption.

#### 5. Bibliographie

- [1] S. R. Taylor, « Abundance of chemical elements in the continental crust: a new table », *Geochim. Cosmochim. Acta*, vol. 28, n° 8, p. 1273-1285, août 1964, doi: 10.1016/0016-7037(64)90129-2.
- [2] J. E. Podgorski, P. Labhasetwar, D. Saha, et M. Berg, « Prediction Modeling and Mapping of Groundwater Fluoride Contamination throughout India », *Environ. Sci. Technol.*, vol. 52, n° 17, p. 9889-9898, sept. 2018, doi: 10.1021/acs.est.8b01679.
- [3] M. Barathi, A. S. K. Kumar, et N. Rajesh, « Impact of fluoride in potable water – An outlook on the existing defluoridation strategies and the road ahead », *Coord. Chem. Rev.*, vol. 387, p. 121-128, mai 2019, doi: 10.1016/j.ccr.2019.02.006.
- [4] J. Malago, E. Makoba, et A. N. N. Muzuka, « Fluoride Levels in Surface and Groundwater in Africa: A Review », *Am. J. Water Sci. Eng.*, vol. 3, n° 1, p. 1, févr. 2017, doi: 10.11648/j.ajwse.20170301.11.
- [5] P. Loganathan, S. Vigneswaran, J. Kandasamy, et R. Naidu, « Defluoridation of drinking water using adsorption processes », *J. Hazard. Mater.*, vol. 248-249, p. 1-19, mars 2013, doi: 10.1016/j.jhazmat.2012.12.043.
- [6] B.-S. Lee, P.-H. Chou, S.-Y. Chen, H.-Y. Liao, et C.-C. Chang, « Prevention of enamel demineralization with a novel fluoride strip: enamel surface composition and depth profile », *Sci. Rep.*, vol. 5, p. 13352, août 2015, doi: 10.1038/srep13352.
- [7] W. Wei, S. Pang, et D. Sun, « The pathogenesis of endemic fluorosis: Research progress in the last 5 years », *J. Cell. Mol. Med.*, vol. 23, n° 4, p. 2333-2342, 2019, doi: 10.1111/jcmm.14185.
- [8] J. K. Fawell, K. Bailey, W. H. Organization, J. Chilton, et E. Dahi, *Fluoride in Drinking-water*. World Health Organization, 2006.
- [9] M. Islam et R. Patel, « Thermal activation of basic oxygen furnace slag and evaluation of its fluoride removal efficiency », *Chem. Eng. J.*, vol. 169, n° 1, p. 68-77, mai 2011, doi: 10.1016/j.cej.2011.02.054.
- [10] A. M. Barberio, F. S. Hosein, C. Quiñonez, et L. McLaren, « Fluoride exposure and indicators of thyroid functioning in the Canadian population: implications for community water fluoridation », *J Epidemiol Community Health*, vol. 71, n° 10, p. 1019-1025, oct. 2017, doi: 10.1136/jech-2017-209129.
- [11] Y. Xia, X. Huang, W. Li, Y. Zhang, et Z. Li, « Facile defluoridation of drinking water by forming shell@fluorapatite nanoarray during boiling egg shell », *J. Hazard. Mater.*, vol. 361, p. 321-328, janv. 2019, doi: 10.1016/j.jhazmat.2018.09.007.

- [12] L. Craig, A. Lutz, K. A. Berry, et W. Yang, « Recommendations for fluoride limits in drinking water based on estimated daily fluoride intake in the Upper East Region, Ghana », *Sci. Total Environ.*, vol. 532, p. 127-137, nov. 2015, doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.05.126.
- [13] N. Nabbou *et al.*, « Removal of fluoride from groundwater using natural clay (kaolinite): Optimization of adsorption conditions », *Comptes Rendus Chim.*, vol. 22, n° 2, p. 105-112, févr. 2019, doi: 10.1016/j.crci.2018.09.010.
- [14] A. Addoun, W. Bencheikh, L. Temdrara, M. Belhachemi, et A. Khelifi, « Adsorption behavior of phenol on activated carbons prepared from Algerian coals », *Desalination Water Treat.*, vol. 52, n° 7-9, p. 1674-1682, févr. 2014, doi: 10.1080/19443994.2013.807010.
- [15] K. K. Yadav, N. Gupta, V. Kumar, S. A. Khan, et A. Kumar, « A review of emerging adsorbents and current demand for defluoridation of water: Bright future in water sustainability », *Environ. Int.*, vol. 111, p. 80-108, 2018, doi: 10.1016/j.envint.2017.11.014.
- [16] D. Cohen et H. M. Conrad, « 65,000 GPD fluoride removal membrane system in Lakeland, California, USA », *Desalination*, vol. 117, n° 1, p. 19-35, sept. 1998, doi: 10.1016/S0011-9164(98)00063-0.
- [17] A. Ghosh, S. Paul, S. Bhattacharya, P. Sasikumar, K. Biswas, et U. C. Ghosh, « Calcium ion incorporated hydrous iron(III) oxide: synthesis, characterization, and property exploitation towards water remediation from arsenite and fluoride », *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 26, n° 5, p. 4618-4632, févr. 2019, doi: 10.1007/s11356-018-3872-3.
- [18] A. A. Aghapour, H. Khorsandi, A. Dehghani, et S. Karimzade, « Preparation and characterization and application of activated alumina (AA) from alum sludge for the adsorption of fluoride from aqueous solutions: new approach to alum sludge recycling », *Water Supply*, vol. 18, n° 5, p. 1825-1831, oct. 2018, doi: 10.2166/ws.2018.006.
- [19] X. Liao et B. Shi, « Adsorption of Fluoride on Zirconium(IV)-Impregnated Collagen Fiber », *Environ. Sci. Technol.*, vol. 39, n° 12, p. 4628-4632, juin 2005, doi: 10.1021/es0479944.
- [20] B. D. Turner, P. Binning, et S. L. S. Stipp, « Fluoride Removal by Calcite: Evidence for Fluorite Precipitation and Surface Adsorption », *Environ. Sci. Technol.*, vol. 39, n° 24, p. 9561-9568, déc. 2005, doi: 10.1021/es0505090.
- [21] T. L. Tan, P. A. Krusnamurthy, H. Nakajima, et S. A. Rashid, « Adsorptive, kinetics and regeneration studies of fluoride removal from water using zirconium-based metal organic frameworks », *RSC Adv.*, vol. 10, n° 32, p. 18740-18752, mai 2020, doi: 10.1039/D0RA01268H.

## **Arsenic and cadmium availability assessment by BCR sequential extraction procedure in wetlands sediment around three gold mines in central-southern and southeastern Côte d'Ivoire, West Africa**

Kakou Charles Kinimo<sup>1</sup>, Koffi Marcellin Yao<sup>2</sup>, Kouassi Louis Bérenger N'guessan<sup>1</sup>, Albert Trokourey<sup>3</sup>

*1 UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo Gon Coulibaly, Korhogo, Côte d'Ivoire*

*2 Centre de Recherches Océanologiques(CRO) Abidjan, Côte d'Ivoire.*

*3 Laboratoire de Constitution et de Réaction de la Matière, UFR SSMT, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire.*

La contamination des bas-fonds par les métaux lourds est une inquiétude d'ordre mondiale (Kabala & Ram, 2011). Cette étude détermine la spéciation chimique de l'arsenic, du cadmium et du mercure afin d'évaluer la biodisponibilité de ces métaux. La procédure de spéciation chimique BCR a été réalisée pour évaluer la concentration des métaux dans les différentes phases échangeables et carbonates, oxydes de fer et de manganèse et résiduelles dans les échantillons de sédiments (Fernandez et al., 2004 ; Gonzalez et al., 2011). Un total de 45 échantillons de sédiments a été collecté sur trois bas-fonds impactés par l'agriculture, l'extraction artisanale et industrielle de l'or à l'Est et au Centre-Est de la Côte d'Ivoire. Les résultats montrent que l'As et le Cd sont majoritairement (78 %) associés à la phase résiduelle indépendamment des activités pratiquées sur le site. Cependant, la fraction des métaux présents dans les phases mobiles des sédiments est plus élevée dans les zones d'extraction industrielle et artisanales d'or. Ce qui suggère un risque écologique plus importants dans ces zones. Des mesures de remédiation appropriées devraient être mises en place réduire la pollution dans les bas-fonds en Afrique de l'Ouest

**Mots clés :** Heavy metals, mobility, sequential extraction, gold mining.

### **Assessment of arsenic and cadmium availability from wetland sediments around gold mines in central-southern and southeastern Côte d'Ivoire, West Africa.**

Heavy metals contamination in wetland is global concern in worldwide (Kabala & Ram, 2011). This study determines the chemical speciation of As and Cd, to assess the potential bioavailability of metal(loid)s. The BCR sequential extraction scheme was performed to determine metal(loid) concentrations in the exchangeable and carbonate, reducible (Fe-Mn oxides), and residual fractions in surface sediment (0 – 5 cm) samples (Fernandez et al., 2004 ; Gonzalez et al., 2011). A total of 45 sediment samples were collected from three sampling sites under different land use types (agricultural wetland, artisanal and industrial gold mining areas) in the central-southern and southeastern regions of Côte d'Ivoire. As, Cd, and Hg were mainly found in the residual fraction with an average proportion reaching up to 78 %. The highest mobile fraction for As and Cd was recorded in industrial gold mining areas. This results suggested high ecological risks. Appropriate remediation measures should be taken to alleviate anthropogenic pollution of wetlands in West Africa.

**Keywords:** Heavy metals, mobility, sequential extraction, gold mining

#### **1. Introduction**

Wetlands contributes in diverse ways to the livelihoods of millions of people in Africa and are of huge economic importance (Bodin et al., 2012; Fonseca et al., 2015). Wetland habitats contain a multitude of ecological niches and support a wide variety of flora and fauna with different ecological functions (Lecce et al., 2014). Whereas, wetland around different scale (large, small and illegal) of gold mine sites were seriously treated through wet and dry emission from smelter and runoff waste accumulated in dumps (Kinimo et al., 2018). In mining sites, sediment is commonly contaminated with heavy metals, which exhibit a tendency to accumulate and persist in as they are not biodegradable. Indeed, they are considered as appropriate indicators of metal pollution in aquatic system (Kouassi et al., 2015).

In gold mining and else contaminated areas, heavy metals partitioning in sediment is a relevant feature controlled by sediment chemical properties and composition (e.g. pH, cation exchange, contents of clay mineral and organic matter) (Cukrowska et al., 2015), chemistry of sediment (or soil) solution and affinity the chemical element reactions such as sorption, precipitation and co-precipitation (Glyezes et al., 2008). In addition, it widely recognized that pollutants mobility, environmental availability, biological availability and they toxicity depends strongly on their specific forms and on the binding state (precipitated with primary or secondary minerals, complexed by organic ligands, and so on). Hence, identification of the main binding sites and phases associations of heavy metals in sediment helps in understanding geochemical processes in order to evaluate the remobilization potential and the risk induced.

In sediment, the first three fractions (water-soluble, exchangeable and acid-soluble) constitute the most mobile, active, accessible pool of heavy metals in sediment, also called effective available pool. Arsenic (As), cadmium (Cd) and mercury (Hg) are known ones of the most toxic metals found in environment with very little or no essential biological function (Chakraborty et al., 2012). Moreover, many health problems are associated with arsenic and cadmium include skin disorder, bladder, lung and liver cancer and reproduction organ and cardiovascular troubles, (IARC, International Agency for Research on Cancer, 2012).

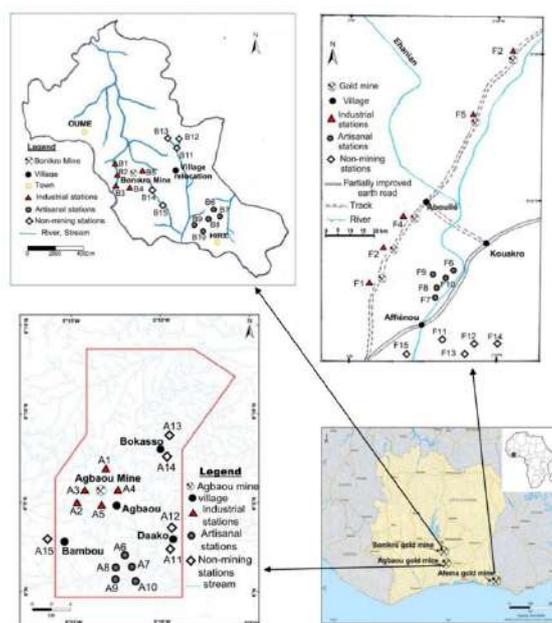
Despite the development of gold mining activities in developing countries in general and particularly in Côte d'Ivoire this last decade, none study has conducted about gold mining and smelting impact on sediments in wetlands, and crops grown around active or abandoned gold mining. Thereby, information on the distribution of As, Cd and Hg still lacking. The present study was carried out with main objectives of: (i) determine and compare metals fractionation and assess they bioavailability in wetland sediment around gold mining areas (ii) define the contribution of natural and anthropogenic source with multivariate statistical approach and (iii) estimate these metals potential ecological risks.

## 2. Material and method

### 2.1 Study area and sampling description

Côte d'Ivoire (7.54 °N, 5.54°W) a sub-Saharan country in West Africa. The geology of the country is mainly characterized by paleoproterozoic formations, making it a mining region. Three wetland sites impacted by gold mine activities were chosen. Bonikro and Agbaou (6.38°N – 5.21°N) and Afema (5.41°N, 2.92°N) located in south-central and south-eastern of Côte d'Ivoire, respectively. The two formers are approximately 230 km distant from Abidjan (Fig.1). Bonikro and Agbaou gold mining started in 2008 and 2012, respectively. The geology of Bonikro and Agbaou deposit is dominated by a granodiorite intrusion (felsic) into mafic volcanic (basalts) of the upper Birimian series that have been metamorphosed to mid greenschist facies, and sedimentary rocks, with a strike length of 1000 m and a width of up to 300 m (Newcrest mining limited, 2011; <http://www.newcrest.com.au>). The climate is equatorial with annual precipitations reaching up to 1305 mm. Afema gold mine is located 42 km to the east of the town of Aboisso, and 160 km from Abidjan, southeastern Côte d'Ivoire. It was initiated in 1994, but ceased in 1998. Climate is a sub-equatorial type with average temperatures between of about 21°C and 33°C and precipitation ranging between 1400 and 2500 mm (Assie, 2008). The geology of Afema is also characterized by lithology of Birimian, with mainly metalovolcanic and a metasedimentary rock assemblage which can be followed up to the adjacent Ghanaian territory Afema lies in Ehanian River basin, a tributary of Tanoé River, while Bonikro and.

From March to November 2015, surface sediment samples (0-5 cm) were collected in wetland around the three sites chosen. In each sampling site, a total of 15 surface sediment samples including 5 in industrial area, 5 in artisanal area and 5 in no mining area. Approximately 300 g of Surface sediments were grabbed from River bottom with a small Van Veen stainless (with an area 0.02 m<sup>2</sup>) and stored in a sealed plastic bags. In order to take local variability into account, sediment samples was a composite sample including 5 sub-samples (Saleem et al., 2015). Sample were put into ice bag and transported to laboratory and frozen in deep-freeze unit before the drying process. Sediments were air-dried at room temperature (Cai et al., 2016), ground manually with an agate mortar and sieved to 63 µm. Homogenized samples were stored in zip-type bags and shipped to Laboratoire de Chimie Organique Bioorganique Réactivité et Analyse (COBRA), Université de Rouen, France for further analysis.



**Fig.1:** Sampling locations of surface sediments collected from Afema, Agbaou, and Bonikro gold mining areas (Côte d'Ivoire)

## 2.2 Chemical analysis

In this study, the procedure proposed by the Standard Measurements and Testing Program (formerly BCR, Bureau Community of reference) was applied to determine the partitioning of As and Cd in the different fractions of sediment samples. This procedure, usually named BCR procedure, consists of the following extraction steps: (i) extraction of extractable fraction accounting for water-soluble, exchangeable and carbonate-bound fractions, with a 0.11 M solution of acetic acid; (ii) extraction of reducible fraction with a 0.5 M solution of hydroxylamine hydrochloride at pH 1.5; (iii) extraction of oxidable fraction with a 8.8 M solution of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 1 M solution of ammonium acetate at pH 2. The solubilization of residual fraction by acid digestion with 3 mL HNO<sub>3</sub> and 9 mL HCl was added to the BCR procedure.

## 2.3 Risk assessment code (RAC)

We assess risk assessment code (RAC) to give a clear indication on the risks associated with the presence of heavy metals in environment (Moore et al., 2015). Thereby, RAC assesses the availability of the metals by applying a scale to the percentage of metal in the carbonate and exchangeable fraction. According to exchangeable fraction, RAC values were classified as follow: class 0, when the exchangeable fraction is less than 1% there is no risk, class 1 for the range of 1-10%, there is low risk; class 2 for the range of 11 – 30%, there is medium risk; class 3 for the range of 31 – 50%, there is high risk and very high risk for range of 51 – 100 %.

## 2.4 Control quality

Replicate and blank methods are used for each sample analyzed and the error was within 6%. The accuracy of the analytical procedures was evaluating through the analysis of the certified reference material CRM CNS 301-04-050 (sigma-Aldrich; Missouri, USA) for freshwater sediment. The measured concentrations fell within the range of certified values. BCR extraction procedure accuracy was assessed through the comparison the sum of As and Cd concentrations and their total content. The recoveries were in the ranges: 84 – 118 % for As and 104 – 119% for Cd

## 2.5 Statistical analysis

Pearson's correlation coefficient and the principal component analysis (PCA) was applied to the collection of average metal concentration data, in order to explore the grouping of metals according to their similarities. Statistical analyses were performed by Sigmaplot 14.0.

## 3. Results and discussion

### 3.1 Chemical partitioning and distribution metals in sediment

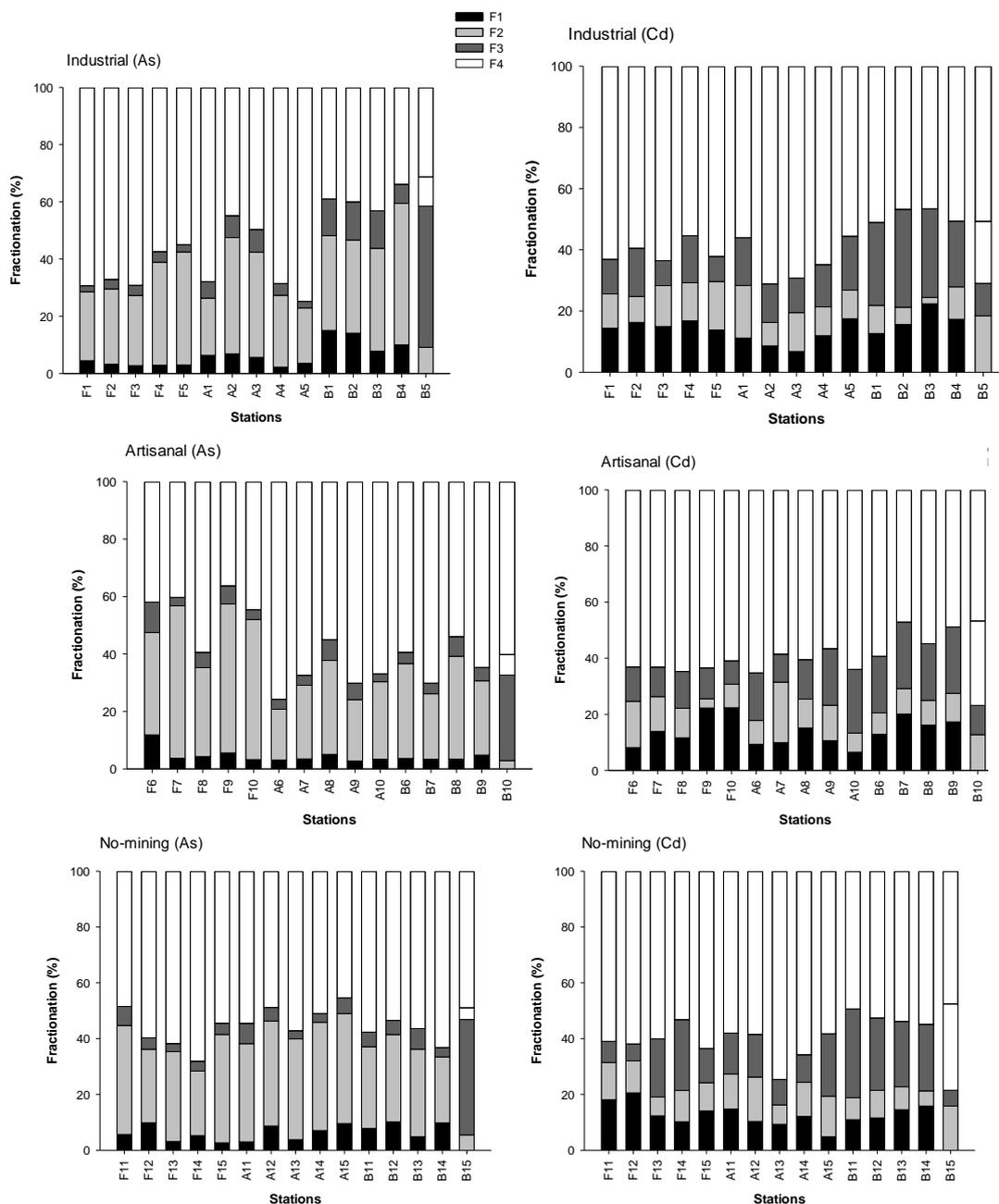
#### 3.1.1 Arsenic

Arsenic concentration in different sequential extraction fraction in the surface sediment from wetland directly impacted by the three gold mines are summarized in Table 3. According to the average percentage of the different fraction, in the three studied sites, arsenic is ordered in the following order: F4 > F2 > F1 ~F3. It should be noted that the sequential order of Arsenic in the industrial, artisanal and non-mining station of each site are in the same pattern. According to the pooled station the high proportion of As were found in residual and Fe-Mn oxide fractions (reducible fraction) with the average proportion of 59 ± 12 % and 32 ± 9 % respectively. However, average arsenic concentration bounding to reducible and residual fractions in industrial area sediment were significantly ( $p < 0.05$ ) higher than those in artisanal and no-mining area. The mathematic sum of arsenic concentration bounding to the labile (exchangeable, reducible and oxidable) fraction was also high in industrial area than artisanal and non-mining areas and reach up 18 times the upper continental crust background (As = 2 µg/g). This result suggesting that arsenic mobility are probably high in industrial area than artisanal and non-mining areas. Similarly, predominant distribution of arsenic in residual and iron oxyhydroxide fraction was found in sediment from Riotinto mining area (Spain) by González et al. (2011).

#### 3.1.2 Cadmium

Cadmium partitioning and fraction concentration are presented in Table 4. The chemical partitioning result showed the decreasing following order: F4 > F3 > F1 > F2 for the pooled station from the three site. According to average percent, cadmium was preferentially associated to residual fraction with an average of 61.7 ± 3.1 % for Afema, of 62.5 ± 5.7% for Agbaou and of 51.2 ± 3.6% for Bonikro. It indicates that cadmium in the studies areas are strongly bound to the resistant components of the sediment. This result agrees with those found by Olujimi et al. (2015), who studied cadmium and other metals speciation in illegal gold mining site in Igoun, Osun state (Nigeria). The percentage of most mobilizable fraction (exchangeable, reducible and oxidable) are low when they are take singly, but they mathematic sum are relatively important with an average of 40 percent in the three station kind (industrial, artisanal

and non-mining) which corresponding to a concentration of  $1.6 \pm 1.1 \mu\text{g/g}$  in industrial area, of  $1.5 \pm 0.5 \mu\text{g/g}$  in artisanal area and of  $3.6 \pm 2.6 \mu\text{g/g}$  in non-mining area. It suggests that the mathematic sum of labile fraction percentage in the three activities areas are high than background value of  $0.102 \mu\text{g/g}$  from upper continental crust (Wedpohl, 1995). However, analysis of variance (ANOVA) of cadmium concentration present in labile fraction showed no significant difference ( $p < 0.05$ ) from one site to another.

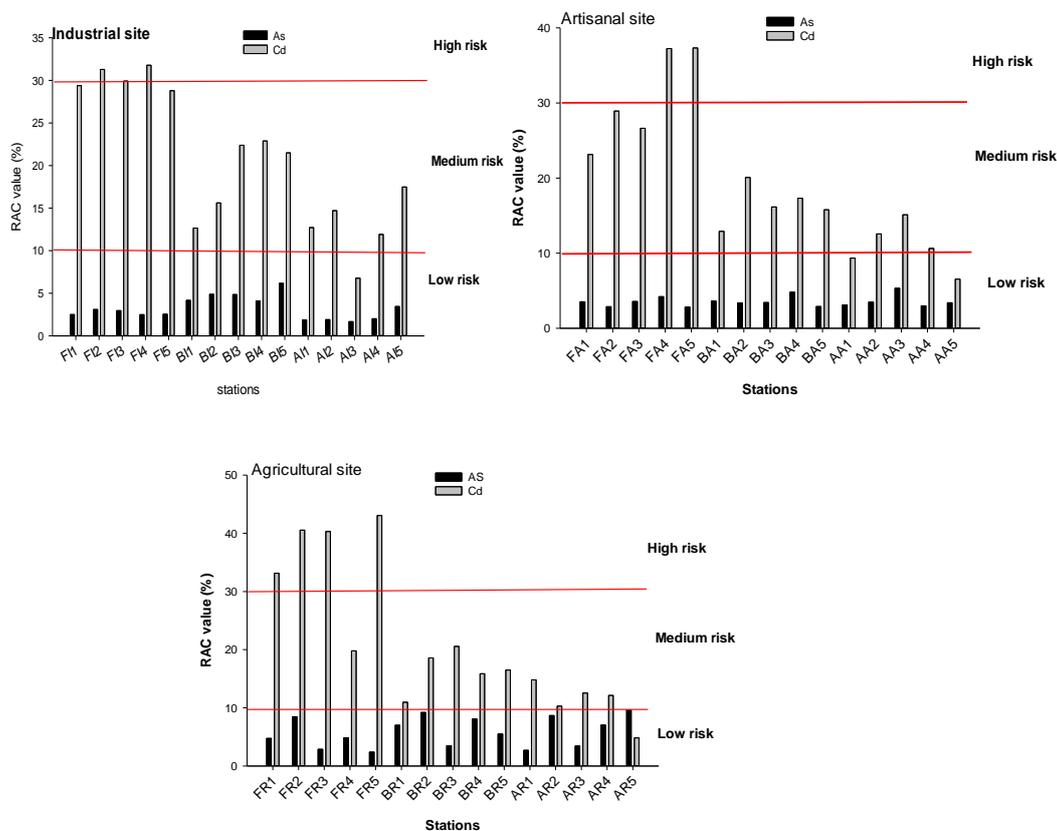


**Fig. 2: Fractionation of As and Cd in surface sediment from industrial, artisanal and no-mining areas.**

### 3.2 Risk assessment code analysis

The exchangeable fraction percentage are used for assigned RAC speciation indices. As can be observed in Table 5, the RAC values are ranged from 2.21% at Agbaou to 15.1% at Bonikro site and ranged from 5.24% at Agbaou to 37.3% at Afema for As and Cd, respectively. According to average percentage for pooled station, RAC values for As in industrial, artisanal and non-mining are less than 10% class (I), and ANOVA one-way analysis showed no significant difference between the three station kinds ( $p < 0.05$ ). This suggests that arsenic in the studied area presents a low environmental risk. For Cd, RAC values in industrial area varied from 6.7 to 34.5%, in artisanal area from 7.7 to 37.3% and in non-mining area from 5.2 to 33.4% when considering all stations. According to RAC guideline, the risk

level for Cd varied from low risk to high risk. Although, no significant difference ( $p < 0.05$ ) are found between RAC values in the three activities areas, gold mining areas (industrial and artisanal) showed the highest RAC values, which could reach up 37% in artisanal area at Afema.



**Fig. 3:** RAC values for As and Cd in surface sediment from industrial, artisanal gold mining and no-mining areas. The red line represents the threshold of RAC different classes.

#### 4. Discussion

It well known that heavy metal found in residual fraction are strongly bound to crystalline structures of the minerals present in the sediments matrices and studies have proven that these metals are not labile (Nemati et al., 2011). In this study, it can see in Fig. 2, that in the three kinds stations (industrial, artisanal and no-mining) showed high percentage in residual fraction which indicate that a relatively large fraction of As and Cd in the sediment samples are strongly bounded to the minerals and resistant component of the solid matrix. A similar pattern result for As and Cd fractionation distribution were observed by Liu et al., (2013). This implied that these metals are unlikely to be release in overlying water. Although, the residual fraction represents the predominant proportion for arsenic and cadmium chemical fractionation as well for site and different activities, the mathematic sum of extractable fraction was considerable. Indeed, for pooled stations, the average percentage of mobilizable arsenic are relatively high with,  $45.0 \pm 14.8\%$  in industrial area,  $41.8 \pm 12.1\%$  in artisanal area and of  $44.2 \pm 6.2\%$  in non-mining area, which corresponding to  $36.5 \pm 55.7 \mu\text{g/g}$ ,  $1.3 \pm 1.8 \mu\text{g/g}$  and  $6.1 \pm 11.2 \mu\text{g/g}$ , in industrial, artisanal and non-mining area, respectively. These concentrations were 13 and 3 times high than background value (2 ppm) of arsenic in Upper Continental Crust (UCC) suggested (Wedpolh, 1995) and could threaten the quality of overlying water, aquatic organism, biota and population health (Yu et al., 2011).

For cadmium, the average sum of the three extracted sediment phases percent close to 40% in industrial, artisanal and non-mining areas when station was put together corresponding approximately an average cadmium concentration (all in  $\mu\text{g/g}$ ) of  $1.6 \pm 1.1$ ,  $1.5 \pm 0.5$  and  $3.6 \pm 2.6$  in industrial, artisanal and non-mining areas, respectively. Similarly, to arsenic, cadmium concentration from extractable fraction were higher than cadmium UCC value ( $0.102 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). Whereas, highest mobilizable fraction was found in non-mining areas, this result could be due by geological intrusion of cadmium-rich mineral or the excess used of fertilizer for agricultural purpose, with important cadmium generated in wetland sediment as result. However, agriculture in the study area consist of traditional growing of cash crop by communities and fertilizers and pesticides uses are relatively limited. Therefore, farming practices are unlikely to be the major sources of heavy metals measured in sediments collected in this study. Arsenic appears to be absorbed by iron (Fe) compounds in the sediment, particularly in hydroxides after the residual fraction.

Consequently, a potential risk of As remobilization exist especially under acidic and/or reducing conditions, which frequently occurs in mining environment. This trend was also observed in mining area in Kosovo (Nannoni et al., 2011).

Those elements are very toxic and when they are present in crops (even at low concentrations), they can be transferred to the human being through the food chain, thus leading to serious human health. In addition, even though the percentage of other toxic elements in this fraction are low, their environmental and ecological risks cannot be ignored. Therefore, the obtained results suggest that the good management impact of industrial, artisanal, and agricultural the study wetland is required to control the mobility of cadmium.

## 1. Conclusion

The sequential extraction procedure from BCR method has been used to evaluate the fractionation of As and Cd in industrial, artisanal gold mining, and agricultural surface sediments. A total of forty-five sediments samples were collected during March to December 2015 near three gold mines sites at Afema, Bonikro and Agbaou from southeastern and middle-west of Côte d'Ivoire. The result demonstrated that noticeable concentration for As ( $2.39 \pm 0.97 \mu\text{g.g}^{-1}$ ;  $1.74 \pm 0.88 \mu\text{g.g}^{-1}$  and  $1.98 \pm 0.81 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) and for Cd ( $0.46 \pm 0.25 \mu\text{g.g}^{-1}$ ;  $0.31 \pm 0.17 \mu\text{g.g}^{-1}$  and  $0.22 \pm 0.14 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) in industrial, artisanal and agricultural areas respectively existed in extractable fraction of surface sediments. Thus, in all area the concentration in labile fraction exceeded UCC value for Cd ( $0.102 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) and As ( $2.0 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). Furthermore, chemical speciation of arsenic showed that the percentage of arsenic was relatively high in reducible fraction, on contrary with general trend. In view of the above, it can be concluded that the exchangeable, reducible, and organic are most likely due to anthropogenic origin. In addition, the positive correlation of the most labile fraction with pseudo total concentration for these metals suggest that the concentration in the labile fraction can reach up permissible limit and may pose a great threat to the environment.

## 1. References

- Assie K. E., 2008. Lode Gold Mineralization in the Paleoproterozoic (Birimian) Volcano Sedimentary Sequence of Afema Gold District, Southeastern Côte d'Ivoire. Doctoral dissertation, Papierflieger, Technical University of Clausthal, Germany, pp 198
- Bodin. N., N'Gom-Kâ. R., Kâ. S., Thiaw. O.T., Tito de Morias. Le Loc'h. F., Rozuel-Chartier. E., Auger. D.. Chiffolleau. J-F.. 2012. Assessment of trace metal contamination in mangrove ecosystems from senegal. West africa.
- Chakraborty. P., Raghunadh B., Sarma. V.V.; 2012. A study of lead and cadmium speciation in some estuarine and coastal sediments. *Chem. Geol.* (294-295): 217-225
- Fernandez , E., Jimenez, R., Lallena, A.M., Aguilar, J., 2004. Evaluation of the BCR sequential extraction procedure applied for two unpolluted Spanish soils. *Environmental Pollution*, 131 : 355 – 364.
- Fonseca. E.F., Baptista Neto. J.A., Silva. C.G., 2013. Heavy metal accumulation in mangrove sediments surrounding a large waste reservoir of a local metallurgical plant. Septiba Bay. SE. Brazil. *Environ Earth Sci* (70): 643-650.
- Gonzalez, I., Galan, E., Romeo, A., 2011. Assessing Soil Quality in Areas Affected by Sulfide Mining : Application to Soils in the Iberian Pyrite Belt (SW Spain). *Minerals*,
- González-Corrochano B., Esbri J. M., Alonso-Azacárate J., Martínez-Coronado A., Jurado, V., Higuera P., 2014. Environmental geochemistry of highly polluted area: the unionPb-Zn mine 5 castilla-La mancha region, Spain). *J Geochem Explor* (144): 345 – 354.
- IARC (International Agency for Research on Cancer), 2012. A review of human carcinogens: arsenic, metals, fibre, and dusts: Chromium (IV) compound IARC Monographs vol. 100C-9. International Agency for research on cancer (IARC). <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100C/mno100C-9pdf> (accessed: 20/07/2018).
- Kabala, C.S., Ram, B., 2001. Fractionation and mobility of copper, lead, and zinc in soil profiles in the vicinity of a copper smelter. *Journal of Environmental Quality* 30, 485–492.
- Kinimo KC, Yao KM, Marcotte S, Kouassi NLB, Trokourey A 2018. Distribution trends and ecological risks of arsenic and trace metals in wetland sediments around gold mining activities in central-southern and southeastern Côte d'Ivoire. *J Geochem Explor* (190):265–280. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2018.03.013>
- Kouassi. N.L.B., Yao., K.M., Trokourey. A., Soro. M.B., 2015. Distribution. sources. and possible adverses biological effects of trace metals in surfaces sediments of a tropical estuary. *Environmental Forensics* (16): 96-108. Doi: 10.1080/15275275922.2014.991433.
- Lecce. S.A.. Pavlowsky. R.T.. 2014. Floodplain storage of sediment contaminated by mercury and copper from historic gold mining at Gold Hill. North Carolina. USA. *Geomorphology* (206): 122-132.
- Liu. G., Tao. L., Liu. X., Hou. J., Anjian. W., Li. R., 2013. Heavy metal speciation and pollution of agricultural soils along Jishui River in non-ferrous metal mine area in Jiangxi Province. China. *Journal of Geochemical Exploration*. (132): 156-163.
- Moore. F., Nematollahi., M.J., Keshavarzi. B., 2015. Heavy metals fractionation in surface sediment of Gowatr bay-Iran. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187: 1 – 14.

- Nannoni. F., Protano. G., Riccobono. F., 2011. Fractionation and geochemical mobility of heavy elements in soil of mining area in northern Kosovo. *Geoderma* (161): 63-73.
- Nemati. K.; Bakar. N.K.A., Abas. M.R.B., Sobhanzadeh. F., Low. K.H., 2011. Comparison of unmodified and modified BCR sequential extraction schemes for the fractionation of heavy metals in shrimp aquaculture sludge from Selangor, Malaysia. *Environ. Monit. Assess.* 176 (1-4): 313-320.
- Olujimi O. O., Oputu O., Fatoki O., Opatoyinbo O. E., Aroyewun O. A., Baruani J., 2015. Heavy metals speciation and human health risk assessment at Illegal gold mine site in Igun, Osun State, Nigeria. *J. Health Pollution* (8): 19 – 32
- Wedepohl K. H., 1995. The composition of the continental crust. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 59 (7): 1217 – 1232
- Yu, G.B., Liu, Y., Yu, S., Wu, S.C., Leung, A.O.W., Luo, X.S., Li, H.B., Wong, M.H., 2011. Inconsistency and comprehensiveness of risk assessments for heavy metals in urban surface sediment. *Chemosphere*, 85, 1080-1087

## Caractérisation de trois pesticides (Dicofol, Deltaméthrine, Lambda Cyhalothrine) dans l'eau par Hplc au Laboratoire National de la Santé de Bamako, Mali

Tidiane Diallo<sup>1,2\*</sup>, Abdourahamane Diara<sup>1,3</sup>, Cheick Abou Coulibaly<sup>4</sup>, Samba Bagayogo<sup>1</sup>, Kadidiatou Coumaré<sup>2</sup>, Seydou Moussa Coulibaly<sup>2</sup>, Benoit Yaranga Koumaré<sup>1,2</sup>, Ababacar Maïga<sup>1,3</sup>.

<sup>1</sup>Faculté de Pharmacie de Bamako, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, Mali.

<sup>2</sup>Laboratoire National de la Santé de Bamako, Mali. <sup>3</sup>Institut National en Santé Publique, Bamako-Mali. <sup>4</sup>Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie de Bamako, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, Mali.

### Résumé

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la contribution au contrôle de qualité des eaux destinées à la consommation humaine et animale vu que les pesticides représentent un risque considérable sur la santé humaine, animale et environnementale.

Au cours de ce travail, nous avons mis en évidence la présence de trois pesticides (Deltaméthrine, Lambda-cyhalothrine et Dicofol) dans des échantillons d'eau dopée. Pour chacun des trois pesticides, nous avons obtenu des temps de rétention spécifiques qui sont : 3,9 min pour le dicofol, 4,3 min pour lambda cyhalothrine et 4,9 min pour Deltaméthrine. L'objectif de l'étude était l'expérimentation de la méthode de caractérisation de pesticide (Deltaméthrine et Lambda-cyhalothrine) dans l'eau par la chromatographie liquide à haute performance associé à un détecteur à barrette de diode (DAD).

**Mots-clés** : Caractérisation, pesticides, chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC),

### Abstract:

The purpose of this study is to contribute to the identification of deltamethrin and Lambda-cyhalothrin in water by high performance liquid chromatography separation combined with a diode array detector.

During this work, we demonstrated the presence of three pesticides (Deltamethrin, Lambda-cyhalothrin and Dicofol) in samples of spiked water. For each of the three pesticides, we obtained specific retention times which are: 3.9 min for dicofol, 4.3 min for lambda cyhalothrin and 4.9 min for deltamethrin. The objective is the experimentation of the method of characterization of pesticides (Deltamethrin and Lambda-cyhalothrin) in water by high performance liquid chromatography associated with a diode array detector (DAD).

**Keywords:** Characterization, pesticides, high performance liquid chromatography (HPLC), diode array detector, National Health Laboratory (LNS).

### 1. Introduction

Plus de 4,6 millions de tonnes de pesticides chimiques sont épandus mondialement chaque année, leur impact néfaste sur les espèces non visées (humaines, animales et végétales) engendre des pertes économiques s'élevant à environ huit (8) milliards de dollars par an [1]. L'utilisation intensive des pesticides chimiques pollue inévitablement l'environnement. En effet, pendant l'épandage, toutes les particules du pesticide ne sont pas déposées sur la culture. Les pertes peuvent atteindre 10 à 70 % vers le sol et entre 30 à 50 % vers l'air et les cours d'eau [2 ; 3].

Ces effets sont bien documentés et constituent une problématique majeure de santé publique qui soulève beaucoup de questions au niveau mondial [4-6].

Le Dicofol est un acaricide organochloré essentiellement utilisé pour protéger de nombreux fruits et légumes mais également le coton, le thé, les plantes ornementales et les cultures de plein champ [7]. Bien que le Dicofol ne figure pas sur la liste des produits autorisés par le Comité Sahélien des Pesticides due à son retrait sur le marché, il est susceptible être retrouvé dans l'environnement lié à sa rémanence. La Deltaméthrine est un insecticide Pyréthroides. Il n'est pas persistant dans le sol et n'est pas mobile. Elle est hautement toxique pour l'homme et les autres mammifères et est une neurotoxine. Il est relativement non toxique pour les oiseaux et les vers de terre, bien qu'il présente un risque élevé pour la plupart des organismes aquatiques et des abeilles [8]. La Lambda cyhalothrine est un insecticide à action rapide utilisé pour lutter contre un large éventail d'organismes nuisibles aux cultures et à la santé publique.

En 2004 selon le rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), on estime que le nombre annuel des intoxications par les pesticides se situent entre 1 et 5 millions, dont plusieurs milliers de cas mortels. L'Afrique est la région où les pesticides causent le plus de problèmes, totalisant la moitié des empoisonnements et plus de 75 % des cas mortels » [5 ; 6].

Cependant, plusieurs études ont montré que les effets indirects des pesticides sur les organismes vivants sont plus importants que leur toxicité directe [10 ; 11].

Selon une étude rétrospective des cas de décès par intoxication survenus au Mali durant la période allant de 2000 à 2010, les pesticides représentent la 3<sup>ème</sup> cause d'intoxication derrière les médicaments et le monoxyde de carbone [12].

En 2006 en Côte d'Ivoire, une étude réalisée par Traoré et *al.*, a montré la présence de nombreuses matières actives (insecticides, herbicides et fongicides) avec des teneurs cumulées pouvant atteindre 25,63 µg/L par endroit. Au total, 67 % des puits prospectés étaient contaminés. Les zones les plus touchées par cette contamination par les pesticides étaient celles où sont pratiquées les cultures maraîchères et celles de la banane [14].

Au Togo en 2008, Mawussi a décelé la présence de DDT (0,11 et 0,15 µg/L), d'aldrine (0,07 µg/L) et d'autres pesticides dans les eaux des fleuves Anié, Mono et de puits à Adéta [16].

La caractérisation est un ensemble de procédé analytique qui permet la détection et l'identification d'une substance chimique. En ceux qui concernent les pesticides, cette activité demeure complexe car les produits phytosanitaires appartiennent à des classes chimiques très diverses ; leur dosage nécessite donc l'utilisation de techniques variées.

En 2001, l'OMS fixe des limites applicables concernant la présence de pesticide et leurs produits de dégradation dans les eaux destinées à la consommation humaine. Ces références de qualité sont les suivantes : 0,1 µg/L par pesticide individualisée et 0,5 µg/L pour le total des pesticides quantifiés [18].

Ainsi cette étude est initiée dont l'objectif était de caractériser trois pesticides dans l'eau de la Deltaméthrine et la Lambda cyhalothrine par séparation par la chromatographie en phase liquide à haute performance associée à un détecteur à barrette de diode.

## 2. matériels et methodes

Cette étude de l'expérimentation du protocole analytique utilisant la chromatographie en phase liquide associée à un détecteur à barrette diode (DAD) dans la caractérisation des pesticides (Deltaméthrine, Lambda cyhalothrine et Dicofol) dans les eaux a été menée au Laboratoire National de la Santé (LNS).

L'analyse des résidus de pesticides dans les matrices environnementales plus particulièrement les eaux comprend différentes étapes dont chacune a une incidence déterminante sur le résultat. Ces étapes sont les suivantes :

- L'échantillonnage (prélèvement, extraction, concentration et purification des extraits) ;
- L'analyse des extraits par méthodes séparatives associées à des techniques d'identification ou de détection ;
- La quantification des substances détectées.

Notre étude a porté sur trois pesticides (Deltaméthrine, lambda-Cyhalothrine et Dicofol) qui ont été analysés chacune à cinq concentrations différentes (0,01 ppm ; 0,02 ppm ; 0,05 ppm ; 0,1 ppm et 0,2 ppm).

**Tableau 1** : les volumes et concentrations pour l'extraction des trois pesticides dans l'eau

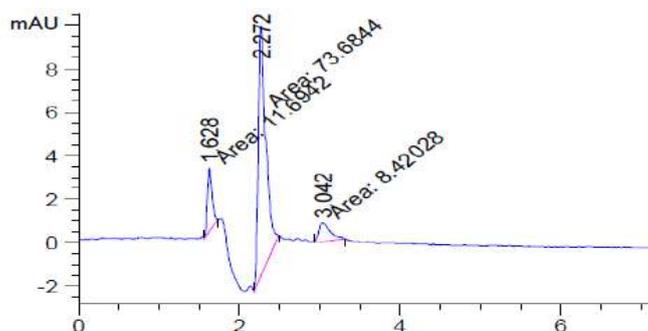
Concentration de l'échantillon	Volume de l'échantillon	Volume d'eau	Volume de Dichlorométhane		volume de l'Acétonitrile
			1ère extraction	2ème extraction	
0,01 ppm	12,5 µL	250 mL	25 mL	20 mL	1 mL
0,02 ppm	25 µL	250 mL	25 mL	20 mL	1 mL
0,05 ppm	62,5 µL	250 mL	25 mL	20 mL	1 mL
0,1 ppm	125 µL	250 mL	25 mL	20 mL	1 mL
0,02 ppm	250 µL	250 mL	25 mL	20 mL	1 mL

Nous avons créé un système de proportionnalité entre la concentration et le volume de l'échantillon

## 1. Les resultats et discussions

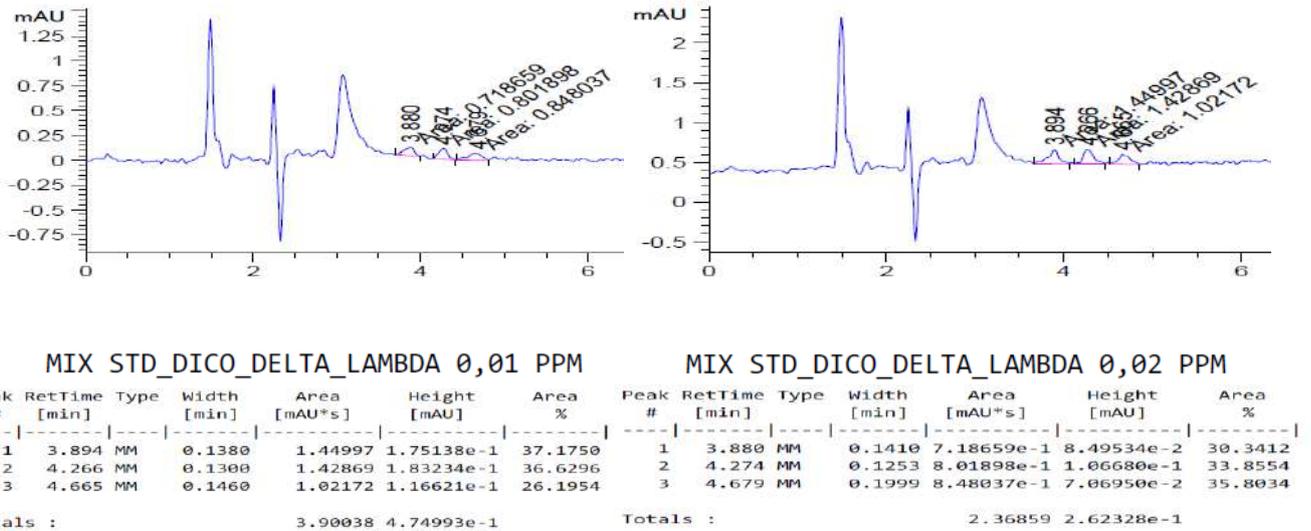
### Les données chromatographiques et les chromatogrammes des trois pesticides

Ce tableau nous montre une nette augmentation de la surface en fonction de la concentration moléculaire.



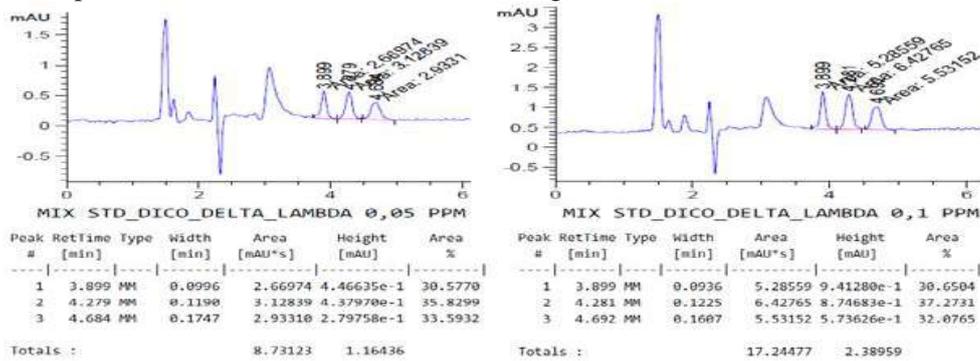
**Figure** : Chromatogramme du blanc de l'analyse de la solution mixte (Dicofol, Deltaméthrine et Lambda Cyhalothrine)

Nous observons une ligne constante après un dernier pic au temps de rétention 3,042 min

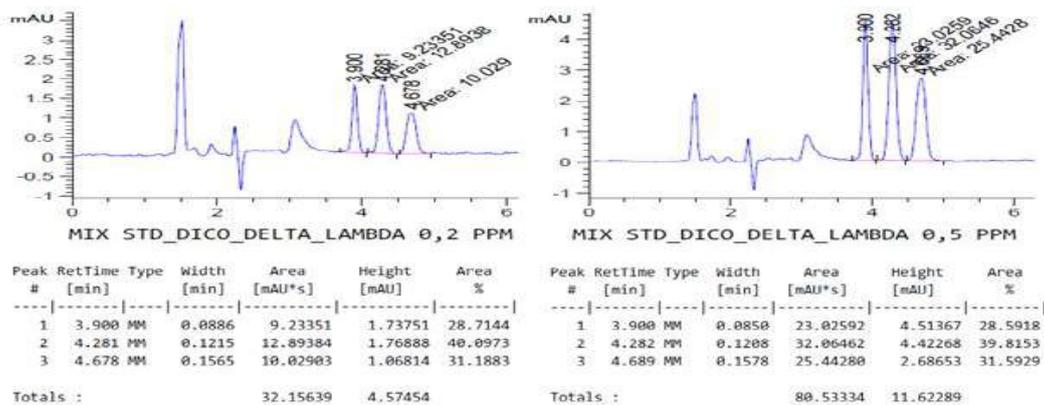


**Figure 2 :** Chromatogrammes des concentrations 0,01 et 0,02 ppm de la solution mixte (Dicofol, Deltamethrine et Lambda Cyhalothrine)

Nous observons trois pics bien lisibles sur les deux chromatogrammes



**Figure :** Chromatogrammes des concentrations 0,05 et 0,1 ppm de la solution mixte (Dicofol, Deltamethrine et Lambda Cyhalothrine)



**Figure :** Chromatogrammes des concentrations 0,2 et 0,5 ppm de la solution mixte (Dicofol, Deltamethrine et Lambda Cyhalothrine)

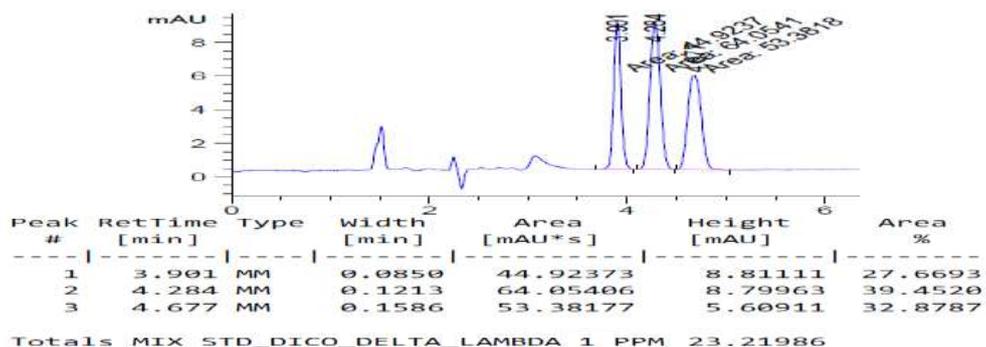


Figure 5 : Chromatogrammes de la concentration de 1 ppm de la solution mixte (Dicofol, Deltamethrine et Lambda Cyhalothrine)

Analyse de l'eau dopée à la solution mixte (Dicofol, Deltamethrine et Lambda Cyhalothrine)

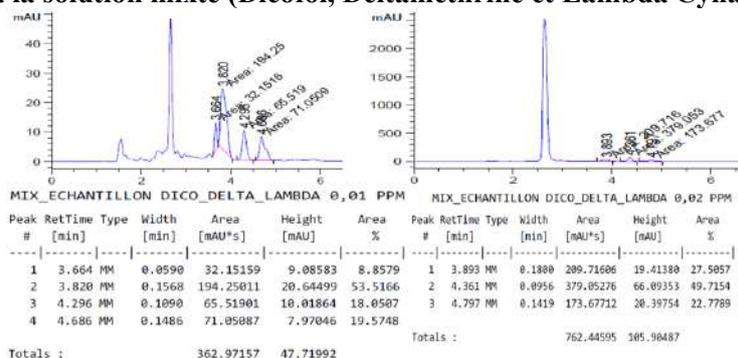


Figure 6 : Chromatogrammes des concentrations 0,01 et 0,02 ppm de l'échantillon d'eau dopée de la solution mixte (Dicofol, Deltamethrine et Lambda Cyhalothrine)

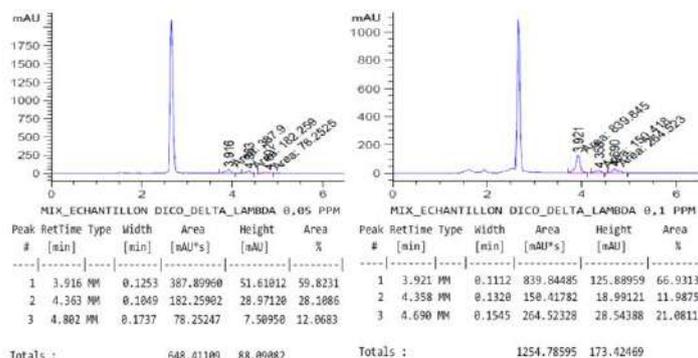


Figure 7 : Chromatogrammes des concentrations 0,05 et 0,1 ppm de l'échantillon d'eau dopée de la solution mixte (Dicofol, Deltamethrine et Lambda Cyhalothrine)

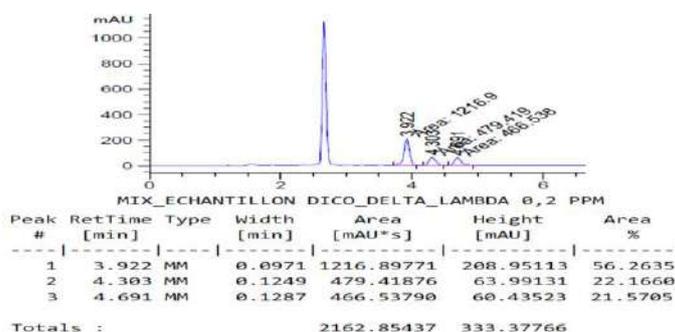


Figure 8 : Chromatogrammes de la concentration de 0,2 ppm de l'échantillon d'eau dopée de la solution mixte (Dicofol, Deltamethrine et Lambda Cyhalothrine)

Dans notre étude, les taux de recouvrement obtenus sont 97,51% pour Dicofol, 101,29% pour Lambda cyhalothrine et 105,07% pour Deltaméthrine, Ces valeurs sont similaires à ceux de l'étude réalisée par Lilly Asanuma et *al.* qui ont obtenu 88% pour Dicofol, 94% pour Lambda cyhalothrine et 112% pour Deltaméthrine avec des concentrations de 1 ppm [19], les résultats obtenus par ces deux études se situent dans l'intervalle 70-120% qui correspond à la norme fixée par la Commission Européenne [20]. Par ailleurs, dans notre étude nous avons enregistré des taux de recouvrement de 135,84% avec 0,05 ppm de Deltaméthrine et 65,5% avec 0,2 ppm de Deltaméthrine, ces discordances pourraient être liées aux conditions opératoires.

Concernant l'identification des molécules l'ordre d'apparition des trois pesticides sur les différents chromatogrammes est la suivante : Dicofol (**3,706 min**) suivi de Lambda-cyhalothrine (**3,994min**) et Deltaméthrine (**4,322 min**) en dernière position. Cet ordre d'apparition est respecté également dans d'autres études, celle réalisée par Amadou DIOP et *al.* en 2013 au Sénégal avec 17,64 min pour Dicofol, ; 25,28 min pour Lambda cyhalothrine et 28,96 min pour Deltaméthrine [21], ainsi que celle réalisée par Abou TOGOLA et *al.* au Nigeria en 2018 qui ont obtenu 7,14 min pour Lambda-cyhalothrine et 8,51 min pour Deltaméthrine [22]. Toute fois nous remarquons que les temps de rétention de notre étude sont différents de ceux de l'étude d'Amadou DIOP et *al.* qui sont tous également différents de ceux d'Abou TOGOLA et *al.* Ces écarts pourraient s'expliquer soit par la différence de nos protocoles d'analyses, soit par la différence de nos éluants : acetonitrile /eau [90:10] pour notre étude, contre méthanol/eau [60:40] dans l'étude faite par DIOP et *al.* et méthanol/eau [90:10] dans celle de TOGOLA et *al.* soit par la différence de nos appareils : CLHP-DAD utilisé dans notre étude tandis que l'analyse d'Amadou DIOP a été réalisée avec le CPG-MS et Abou TOGOLA et *al.* ont utilisé le CLHP (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA).

#### 4. Conclusion

Les pesticides ayant des propriétés physicochimiques différentes présentent également des comportements qui diffèrent en analyse. Cette situation rend nécessaire le choix de la méthode la plus appropriée pour les rechercher dans les matrices environnementales où ils sont présents souvent en faible teneur.

Dans le cadre de cette étude, nous avons utilisé un chromatographe en phase liquide haute performance associée à un détecteur à barrette de diode (DAD) dans la caractérisation de trois pesticides (Deltaméthrine, Lambda cyhalothrine et Dicofol) dans l'eau.

Les résultats obtenus en termes de justesse, de répétabilité et de linéarité répondent aux normes définies. Par ailleurs, ils sont en général similaires à ceux rapportés dans la littérature. Suite à ces résultats, nous pouvons donc conclure que la méthode d'analyse par chromatographie en phase liquide à haute performance associée à un DAD peut être utilisée pour la caractérisation des pesticides (Deltaméthrine, Lambda cyhalothrine et Dicofol) dans l'eau.

#### 5. Bibliographie

1. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Manual on the development and use of fao and who specifications for pesticides, revision of first edition. Rome, food and agriculture Organization of the United Nation and Geneva, world health organization, March 2006
2. Union des Industries de la Protection des Plantes. Repères 2013. Disponible sur : <http://www.uipp.org/Boite-a-outils/Publications> (consulté le 20 septembre 2019)
3. Toé A., Kinane M., Koné S., Sanfo-Boyarm E. Le non-respect des bonnes pratiques agricoles dans l'utilisation de l'endosulfan comme insecticide en culture cotonnière au Burkina Faso : Quelques conséquences pour la santé humaine et l'environnement.", Revue Africaine de santé et de productions animales, 2004, 2 (3-4) : pp. 275–280.
4. Laboratoire National de métrologie et d'Essais. Les pesticides : traçabilité métrologiques des mesures – LNE, 2008 ; 15 p.
5. Josef G Thundiyl, judy stober, nida Besbelli, Jemmy Pronczuck. Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé. Prévention des risques pour la santé liés à l'utilisation des pesticides. GENEVE, Septembre 2004
6. A. Thiam et M. B. Sagna. Monitoring des pesticides au niveau des communautés à la base. Rapport régional Afrique. PAN Africa, Dakar, Sénégal, 2009.
7. R. Naima, K. Asmae, A. Sanae, S. Abdelmjid et B. Rachida S. Facteurs prédictifs de gravité de l'intoxication aux pesticides : Expérience du Centre Antipoison du Maroc. Annales Toxicologique Analytique, vol. 21, n°2, pp. 79-84, 2009.
8. S. Badarou et Y. Coppieters. Intoxications alimentaires dues à l'endosulfan : mise en place d'un système de notification et de prise en charge au Bénin. Environnement risques & santé, vol. 8, n°2, pp. 133-136, 2009
9. M. Sène. Pratiques d'utilisation des pesticides et teneurs en résidus des produits horticoles dans la zone des Niayes de Mboro : effets éventuels sur la santé publique. Thèse de pharmacie, Dakar : UCAD, 2008.
10. Sánchez-Peña L., Reyes B., López-Carrillo L., Recio R., Morán-Martínez J., Cebrián M. E. and Quintanilla-Vega B. Toxicology and Applied Pharmacology. Volume 196, Issue 1, April. (2004), Pages 108-113..

11. Margarita L-C., Dante A., Patricia O-W., Carmen G.-H., Yolanda C. and Luz H. , Chemosphere 2004, Volume 55, Issue 10, June, pp. 1421-1427
12. Diallo T.1, Maïga D.2, Maïga A.1, Sangho H.3, Coulibaly B.4, Hami H.5, Mokthari A.5, Soulaymani R.6, Soulaymani A. Les intoxications mortelles au Mali. Université des sciences, des techniques et des technologies, Bamako, Mali. Aout 2014
13. El Mrabet K. Développement d'une méthode d'analyse de résidus de pesticides par dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem dans les matrices céréalières après extraction en solvant chaud pressurisé. Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie-Curie, 2010, 295 p.
14. S. K. Traoré, M. Koné, A. Dembélé, P. Lafrance, P. Mazellier et P. Houenou. Contamination de l'eau souterraine par les pesticides en régions agricoles en Côte d'Ivoire (centre, sud et sud-ouest). Journal Africain des Sciences de l'Environnement, vol. 1, pp. 1-9, 2006.
15. O. S. Fatoki et R. O. Awofolu. Methods for selective determination of persistent organochlorine pesticide residues in water and sediments by capillary gas chromatography and electron-capture detection. Journal of Chromatography A, vol. 983, p. 225–236, 2003
16. G. Mawussi. Bilan environnemental de l'utilisation de pesticides organochlorés dans les cultures de coton, café et cacao au Togo et recherche d'alternatives par l'évaluation du pouvoir insecticide d'extraits de plantes locales contre le scolyte du café, Toulouse : Université de Toulouse, 2008
17. Lambropoulou, D. A.; Albanis, T. A. Analytical and Bioanalytical Chemistry 2007, 389, 1663-1683
18. SENAT. La qualité de l'eau et assainissement en France. Annexe 64-La réglementation des teneurs en pesticides dans l'eau. Disponible sur [<https://www.senat.fr/rap/I02-215-2/I02-215-257.html>] consulté le 26 septembre 2019
19. Lilly Asanuma, Dan Miller, Rick Jordan, Melissa Churley, and Anthony Macherone. A novel comprehensive strategy for residual pesticide analysis in cannabis flower. Agilent Technologies, Inc. Printed in the USA, March 9, 2018
20. EC. «Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed, Document No. SANCO/2007/3131,» European Commission, 2007. [En ligne]. Available: [www.ec.europa.eu/food/plant/protection/ressources/qualcontrol\\_en.pdf](http://www.ec.europa.eu/food/plant/protection/ressources/qualcontrol_en.pdf). Consulté le 20/01/2020
21. Amadou Diop. Diagnostic des pratiques d'utilisation et quantification des pesticides dans la zone des Niayes de Dakar (Sénégal). Thèse de doctorat, Université du Littoral Côte d'Opale, 2013.
22. Abou Togola , Silvestro Meseka , Abebe Menkir , Baffour Badu-Apraku , Ousmane Boukar , Manuele Tamò and Rousseau Djouaka. Measurement of Pesticide Residues from Chemical Control of the Invasive Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) in a Maize Experimental

## Identification et dosage du Deltaméthrine dans les moustiquaires imprégnées d'insecticide par Hplc au Laboratoire national de la santé à Bamako, Mali

T. Diallo<sup>1,2</sup>, A. Doumbia<sup>1,3</sup>, A. Diara<sup>1</sup>, A. Gadjigo<sup>1,3</sup>, S. Traoré<sup>1</sup>, M. Cissé<sup>1</sup>, K Coumaré<sup>2</sup>, S. M. Coulibaly<sup>2</sup>, B. Y. Koumaré<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Faculté de Pharmacie de Bamako, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, Mali ;

<sup>2</sup>Laboratoire National de la Santé de Bamako, Mali ;

<sup>3</sup>Institut des Sciences Appliquées/Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako.

### Résumé :

**Contexte :** la principale mesure de lutte contre les moustiques vecteurs du paludisme dans la plupart des programmes de lutte antipaludique est l'usage des moustiquaires imprégnées d'insecticide pour prévenir le paludisme.

**Objectif :** contribuer à la lutte contre le paludisme à travers le contrôle de qualité des moustiquaires imprégnées d'insecticide par la technique de la Chromatographie liquide haute performance pour assurer leur efficacité dans la prévention du paludisme.

**Matériels et Méthode :** La méthode utilisée pour la quantification et l'identification de la Deltaméthrine était celle de l'Hplc. Nous avons réalisé une extraction solide/liquide avec comme solvant d'extraction l'Acétone pendant une période de deux heures.

**Résultats :** Les conditions chromatographiques utilisées ont permis d'identifier et doser la Deltaméthrine dans les échantillons de moustiquaires à un temps de rétention de 3,27 minutes. Les différentes gammes de concentrations étaient proportionnelles à la surface des pics obtenues.

**Conclusion et perspectives :** La méthode a été mise en place pour l'identification et la quantification de la Deltaméthrine dans les différents matériaux de moustiquaires.

**Mots clés :** Moustiquaire, Deltaméthrine, Hplc, Bamako-Mali.

## Identification and determination of Deltamethrin in insecticide-treated mosquito nets by Hplc at the National Health Laboratory in Bamako, Mali

### Abstract

**Background:** the primary measure for controlling malaria-vector mosquitoes in most malaria control programs is the use of insecticide-treated bednets to prevent malaria.

**Objective:** to contribute to the fight against malaria through the quality control of mosquito nets impregnated with insecticide by the technique of high performance liquid chromatography to ensure their effectiveness in the prevention of malaria.

**Materials and Method:** the method used for the quantification and identification of Deltamethrin was that of Hplc. We performed a solid / liquid extraction with Acetone as the extraction solvent for a period of two hours.

**Results:** the chromatographic conditions used made it possible to identify and assay Deltamethrin in the mosquito net samples at a retention time of 3.27 minutes. The different ranges of concentrations were proportional to the area of the peaks obtained.

**Conclusion and outlook:** The method was set up for the identification and quantification of Deltamethrin in different mosquito net materials.

**Keywords:** Mosquito net, Deltamethrin, HPLC, Bamako-Mali.

### 1. Introduction

Le paludisme demeure un problème de santé publique dans les régions tropicales. En 2018, il a été enregistré 228 millions cas de paludisme et 405 000 décès dans le monde. C'est toujours l'Afrique subsaharienne qui supporte la charge mondiale du paludisme avec 93% de cas enregistrés dans la Région Afrique de l'OMS [1].

Le paludisme est une maladie parasitaire endémo épidémique à manifestation infectieuse transmise à l'homme par la pique d'un moustique femelle hématozoaire du type plasmodium qui est responsable de la maladie [1].

Le paludisme tue un enfant toutes les 30 secondes en Afrique selon OMS et plus de 40% de la population mondiale est exposé à cette maladie et des milliers de personnes en succombent chaque jour dont 90% sont des enfants [2].

Pour diminuer cette mortalité nous nous intéressons à la moustiquaire imprégnée d'insecticides, ce sont moustiquaires dont la toile a été imprégnée par un insecticide. Ils ont un effet répulsif, incapacitant et ou létal sur les moustiques qui viennent au contact du produit sur la toile.

Il en existe deux catégories : la moustiquaire imprégnée d'insecticide (MII) et la moustiquaire à imprégnation durable (MID) [3].

La moustiquaire doit conserver son efficacité biologique contre les vecteurs pendant au moins trois ans sur le terrain, dans les conditions d'utilisation recommandées, ce qui supprime le besoin des retraits réguliers. Pour cette raison, l'OMS insiste sur l'utilisation des moustiquaires à imprégnation durable à la place des MII classiques [3].

L'efficacité des matériaux traités à l'insecticide est réduite au fil du temps en raison de la perte d'insecticide. Dans la plupart des cas, la durée de vie utile recommandée de la Pulvérisation Intra Domiciliaire (PID) et de MII est estimée sur la base de tests de laboratoire [4 ; 5].

En outre la mauvaise qualité des pesticides utilisés, le sous ou sur dosage lors de l'imprégnation, il y a aussi les moustiquaires contrefaites qui présentent un risque pour leurs utilisateurs.

Ainsi nous avons initié cette étude dont l'objectif était de contribuer à la lutte contre le paludisme à travers le contrôle de qualité des moustiquaires imprégnées d'insecticide par la technique de la Chromatographie liquide haute performance.

## 2. Matériel et méthode

Notre analyse a été réalisée par un appareil CLHP de marque AGILENT 1260 Infinity couplé à un détecteur à barrette de diode (DAD), composé d'un échantillonneur automatique (G1329B), une pompe quaternaire (G1311C), un thermostat à colonne (G1316A) et un détecteur de longueur d'onde variable (G1315C).

Il s'agissait d'une étude analytique basée sur la semi-validation d'une méthode d'identification et de dosage de la Deltaméthrine contenue dans les moustiquaires imprégnées. Notre étude s'est déroulée du 01 Janvier au 31 Mars 2020 au Laboratoire National de la Santé.

L'échantillonnage était exhaustif de quelques moustiquaires imprégnées avec la Deltaméthrine vendue dans les marchés de Bamako, les officines privées mais aussi celles distribuées dans certaine structure de santé.

Il existe deux types d'échantillonnage de l'analyte

**1<sup>er</sup> échantillonnage :** un morceau de 10×10 cm sera coupé au centre de chacun des cinq côtés de la moustiquaire à l'aide du carré modèle pour former un échantillon représentatif de la moustiquaire.

**2<sup>ème</sup> échantillonnage :** Découper un morceau sur chaque côté de moustiquaire de manière aléatoire sur les quatre extrémités ainsi que le centre des cinq côtés de la moustiquaire soit un total de 25 morceaux pour une moustiquaire rectangulaire. Ces morceaux coupés constituent la prise d'essai et contiennent T la quantité de substance active et sont nécessaires pour calculer la masse d'insecticide (g) par masse de moustiquaire (kg).

$$T = ( \text{Aire} / \text{AirStd} ) \times \text{CStd} \times ( \text{VEch} / \text{mEch} ) \quad [23]$$

## 3. Resultats et interpretations

Les concentrations théoriques en Deltaméthrine dans les échantillons étaient de 1,4g/kg (1400ppm) pour les échantillons de 100 deniers et de 1,8g/kg (1800ppm) pour 120 deniers. En utilisant les conditions chromatographiques de la méthode ; le pic du standard de Deltaméthrine a été identifié à 3,27 min pour les trois gammes de concentrations à 0,5 ppm, 1 ppm et 2 ppm comparativement à l'étude de D. Jenkins et al [6] qui a obtenu un temps de rétention de 5,9 mn.

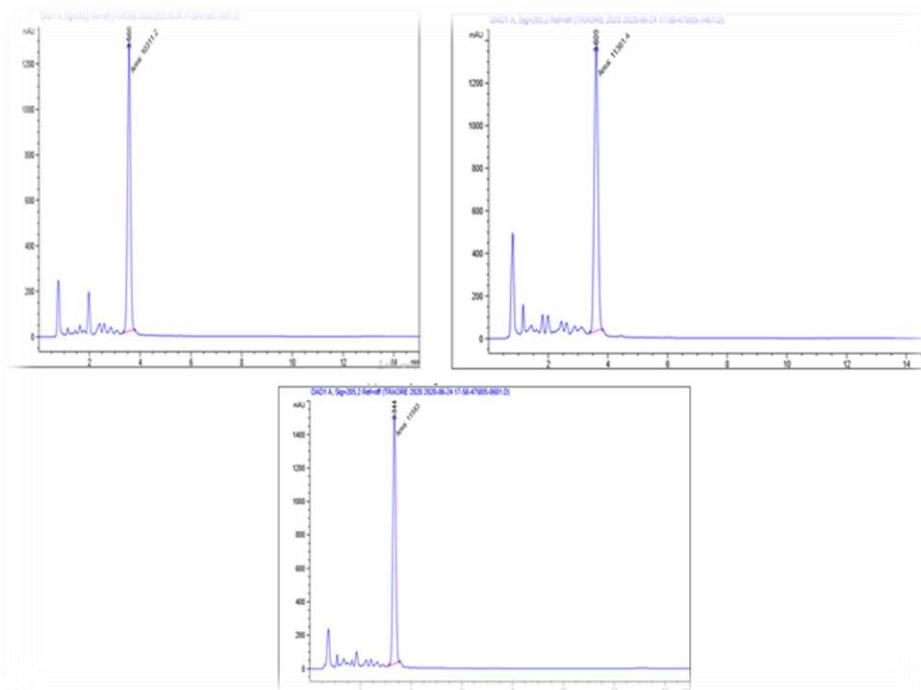
**Tableau I :** Matières actives d'imprégnation des moustiquaires imprégnées et les matériaux utilisés pour la fabrication des moustiquaires.

Echantillons	Substances actives	Matériaux	Poids des moustiquaires en gramme	Concentration en ppm
P31-03-20-01-D	Deltaméthrine	Polyester	651	1400
Y31-03-20-02-D	Deltaméthrine	Polyester	623,4	1400
D31-03-20-03-D	Deltaméthrine	Polyester	599,8	2000
P31-03-20-04-D	Deltaméthrine	Polyéthylène	452,3	1800

Le polyester a été le matériau le plus utilisé pour fabriquer les moustiquaires.

**Tableau II** : Détermination de la concentration mère de Deltaméthrine dans les échantillons après la première dilution par CLHP-DAD.

Type de Prise d'essai	de Échantillons	Poids des Prises en mg	des d'essai Concentration lue en ppm	Concentration moyenne lue en ppm	Surface des pics	Surface moyenne des pics	Temps de rétention en minute	de Temps de rétention en	de Temps de rétention moyenne
10*10 cm <sup>2</sup>	P31-03-20-01D-1	2,3619	190,6 181,2	185,9	10311,2 9800,4	10055,8	3,566 3,462		3,514
	Y31-03-20-02D-1	2,39967	210,0 193,9	202,0	11361,4 10490,5	10926,0	3,609 3,452		3,531
	D31-03-20-03D-1	2,25337	214,1 228,5	221,3	11583 12363,8	11973,4	3,344 3,622		3,483
	P31-03-20-04D1	2,12798	23,7 23,7	23,7	1291,9 1328,6	1310,2	3,197 3,283		3,240
	P31-03-20-01D-2	2,2535	192,9 191,0	192,0	10437,9 10332,1	10385	3,549 3,545		3,547
Aléatoire	Y31-03-20-02D-2	3,38106	259,2 253,7	256,5	14022,6 13726,6	13874,6	3,527 3,467		3,497
	D31-03-20-03D-2	4,04989	352,0 351,8	351,9	19043,2 19033,6	19038,4	3,564 3,513		3,539
	P31-03-20-04D-2	10,50646	69,8 68,4	69,1	3776,9 3832,8	3804,8	3,441 3,228		3,335

**Figure 1** : Chromatogrammes des échantillons de Deltaméthrine

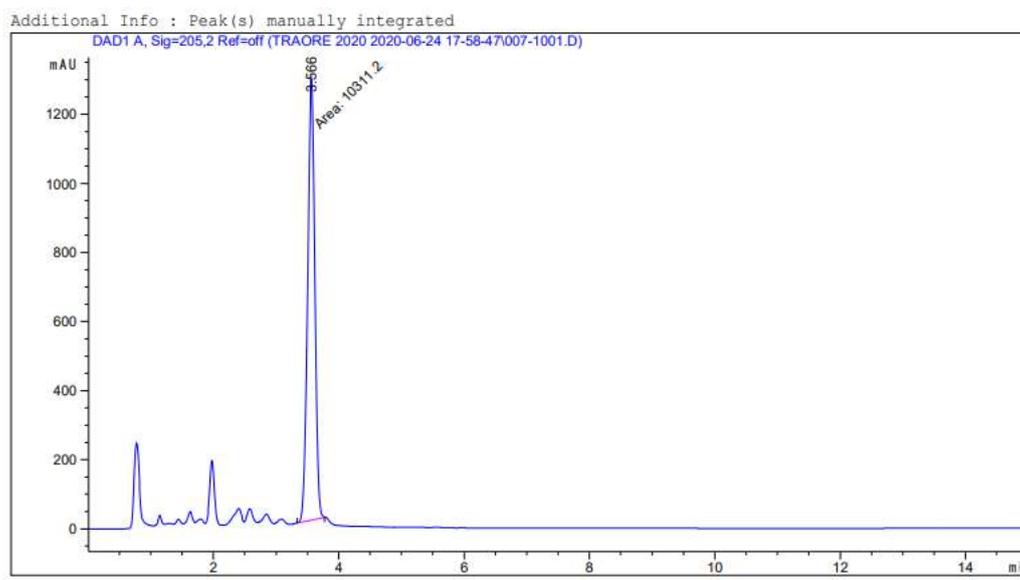
Nous remarquons que le temps de rétention des échantillons diffère selon la concentration.

**Tableau III** : Teneur en Deltaméthrine dans les échantillons de moustiquaires dosée par HPLC-DAD.

Type de Prise d'essai	Echantillon	Aire Echantillon	Aire Standard 0,5 ppm	Concentration Standard ppm	Volum e de dilution en mL	Prise d'essai en (g)	Teneur Théorique en ppm	Teneur réelle en ppm	Taux de recouvrement en %	Marge d'acceptation ±25%	Résultat at marge
<b>10*10 cm<sup>2</sup></b>	P31-03-20-01D-1	10311,2	24,083	0,464	20	2,362	1400	1682,209	120,158	25	30,039
	D31-03-20-03D-1	11583	24,083	0,464	20	2,253	2000	1980,709	99,035	25	24,759
	Y31-03-20-02D-1	11361,4	24,083	0,464	20	2,400	1400	1824,368	130,312	25	32,578
	P-31-03-20-04D-1	1291,9	24,083	0,464	20	2,128	1800	233,934	12,996	25	3,249
	P31-03-20-01D-2	10437,9	24,083	0,464	20	2,254	1400	1784,792	127,485	25	31,871
<b>Aléatoire</b>	D31-03-20-03D-2	19043,2	24,083	0,464	20	4,050	2000	1811,878	90,594	25	22,648
	Y31-03-20-02D-2	14022,6	24,083	0,464	20	3,381	1400	1598,114	114,151	25	28,538
	P-31-03-20-04D-2	3767,5	24,083	0,464	20	10,50	1800	138,175	7,676	25	1,919

Ce tableau rassemble les résultats des différentes analyses faites au cours de notre étude.

Nous avons remarqué que les échantillons P-31-03-20-04D-1 et P-31-03-20-04D-2 présentent des aires très faibles. Les teneurs du principe actif recherché dans ces deux échantillons ne répondent pas aux normes. La moustiquaire souche pas dans les normes. Cela prouve que toutes les moustiquaires imprégnées ne répondent pas aux normes.



**Figure 2** : Chromatogramme du standard de Deltaméthrine à 0,5PPM identifié à un temps de rétention de 3,668 min avec une surface de 10311,2.

#### 4. Conclusion

Le paludisme est endémique pour la plupart des pays en développement en général et dans le nôtre en particulier. L'emploi des moustiquaires imprégnées participe à la lutte contre le paludisme. Dans notre pays la Deltaméthrine est le principal principe actif de cette imprégnation.

Si cette action est conduite de façon efficiente, elle éloigne et peut tuer l'anophèle vecteur de la maladie.

Dans le cas contraire, au lieu d'être un atout, la moustiquaire mal imprégnée contribue à la prolifération de la pandémie.

Au cours du présent mémoire, nous avons élaboré une méthode d'identification et de dosage de la Deltaméthrine par CLHP.

Trois quart de nos échantillons répondent aux mornes alors nous concluons que cette méthode est non seulement fiable mais aussi rapide et moins couteux.

A travers l'établissement d'une droite de calibration dont le  $R^2$  0.99948 le teste préliminaire a permis d'obtenir ¼ de non-conformité sur l'ensemble des moustiquaires analysé.

## 5. Bibliographie

1. WHO: World Health Organization, (2019). World Malaria report 2019. [www.who.int/malaria/world-malaria-report-2019/fr/](http://www.who.int/malaria/world-malaria-report-2019/fr/) consulté 12/12/2019
2. Organisation mondiale de la Santé (OMS) 2014. Entomologie du paludisme et lutte anti-vectorielle guide du participant. WC 765, 2014: 6-107
3. Lignes directrices pour la lutte contre les vecteurs du paludisme [Guidelines for malaria vector control]. Genève : Organisation mondiale de la Santé ; 2019. Licence : CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
4. Banek K, Kilian A, Allan R. Evaluation of Interceptor long lasting insecticidal nets in eight communities in Liberia. *Malaria J* 2010; 9: 84.
5. Das ML, Rowland M, Austin JW, De Lazzari E, Picado A. Do size and insecticide treatment matter? Evaluation of different nets against *Phlebotomus argentipes*, the vector of visceral leishmaniasis in Nepal. *PLoS One* 2014; 9: e114915.
6. David W. Jenkins, Arno Hensens, Jacob Lloyd, Michael Payne, Peter Cizmarik and Steve Hamel. Development and validation of a 'universal' HPLC method for pyrethroid quantification in long-lasting insecticidal mosquito nets for malaria control and prevention, January 2013 18(1) 2-11

## Recherche de résidus de Propanil dans le riz par spectrophotométrie UV-Visible et FTIR au Laboratoire national de la santé de Bamako, Mali

T. Diallo<sup>1,2\*</sup>, B. B. Traoré<sup>1,3</sup>, A. Diara<sup>1</sup>, H. Coulibaly<sup>2,3</sup>, K. Coumaré<sup>2</sup>, A. Diallo<sup>2</sup>, S. M. Coulibaly<sup>2</sup>, B. Y. Koumaré<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Faculté de Pharmacie de Bamako, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, Mali.

<sup>2</sup>Laboratoire National de la Santé de Bamako, Mali.

<sup>3</sup>Institut des Sciences Appliquées/Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, Mali.

### Résumé :

**Contexte :** Le Propanil est l'un des pesticides (herbicides) utilisés pour améliorer le rendement du riz, pourtant la présence de son résidu en quantité serait toxique à l'homme et à l'animal.

**Objectif :** mise en place d'une technique de recherche des résidus de Propanil dans les riz vendus au marché de Niono place de Bamako par la méthode spectrophotométrie UV- visible et FTIR.

**Matériels et Méthodes :** il s'agissait d'une étude expérimentale, réalisée au Laboratoire National de la Santé. La méthode spectrophotométrie UV- visible nous a permis de quantifier la teneur du Propanil dans le riz. La FTIR a été utilisé pour l'identification à travers la superposition spectrale.

**Résultat :** notre étude nous a permis de :

- doser le riz conformément à la limite maximum de résidus (0,01ppm) par spectrophotomètre UV-visible avec un résultat de 107,1% ;
- d'identifier la présence du Propanil dans le riz à travers la superposition des pics du standard et l'échantillon à la même concentration de 0,01ppm.

**Conclusion et perspectives :** d'autres études supplémentaires doivent être réalisées afin de valider cette méthode et d'étendre à d'autres variétés de riz afin de garantir la sécurité sanitaire du riz consommés au Mali.

**Mots Clés :** Riz, Propanil, Spectrophotométrie UV- visible et FTIR

## Search for Propanil residues in rice by UV-Visible spectrophotometry and FTIR at the National Health Laboratory in Bamako, Mali

### Abstract

**Context:** farmers, to increase productivity, increasingly resort to fertilizers and pesticides. Propanil is one of the pesticides used to improve the yield of rice, but the presence of its residue in quantity is said to be toxic to humans and animals.

**Objective:** implementation of a technique to search for Propanil residues in rice sold at the Niono market in Bamako by the UV-visible spectrophotometry method and FTIR.

**Materials and Methods:** this was an experimental study, carried out within the food and drink quality control service of the National Health Laboratory. The UV-visible spectrophotometry method allowed us to quantify the Propanil content in rice. The FTIR was used for identification through the spectral overlay.

**Result:** our study allowed us to:

- dose the rice in accordance with the maximum residue limit (0.01ppm) by UV-visible spectrophotometer with a result of 107.1%;
- to identify the presence of Propanil in the rice by superimposing the images of the standard and the sample at the same concentration of 0.01ppm.

**Conclusion and outlook:** other additional studies must be carried out in order to validate this method and extend it to other varieties of rice in order to guarantee the safety of the rice consumed in Mali.

### 1. Introduction

Le terme pesticide est utilisé pour désigner toutes les substances naturelles ou synthétiques qui peuvent contrôler, repousser, tuer ou arrêter le développement des organismes vivants (microbes, animaux ou végétaux) considérés comme nuisibles au développement des productions agricoles, à l'hygiène ou à la santé publique (les cafards dans les habitations et les insectes parasites comme les poux, les moustiques,...) [1].

Les pesticides permettent d'améliorer le rendement et la qualité des produits à travers la protection des cultures contre les ravageurs.

Le Propanil (3,4-dichloropropionanilide) est un pesticide de la famille des herbicides utilisé dans la culture du riz irrigué. C'est un herbicide de contact sélectif en post-levée de courte durée [2]. Il est autorisé par le Comité Sahélien des Pesticides pour lutter contre les adventices annuels en culture de riz.

Le riz est l'aliment de base de plus de la moitié de la population mondiale [3]. Selon les dernières enquêtes réalisées en 2018/2019 par l'Institut National de la Statistique du Mali, la consommation annuelle du riz s'élève environ 3,14 millions de tonnes, soit une hausse de 7,5% par rapport au résultat de la saison dernière (2,92 millions de tonnes) [4]. Le riz devient ainsi la première céréale consommée en zone urbaine. Á Bamako, plus de la moitié de la consommation est assurée par les importations. Il a été noté que de manière générale, les populations rurales se nourrissent de plus en plus de riz importé [3].

Néanmoins, malgré l'augmentation croissante de sa production, le Mali est obligé de faire recours à des importations pour couvrir ses besoins. Ainsi, 45% du riz commercialisé sur le marché national proviennent des importations [3]. Selon un rapport de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO), la population mondiale atteindra 9 milliards d'individus en 2050. Pour répondre aux besoins alimentaires de cette population croissante, la production agricole doit augmenter de 70%, voire doublé, dans les pays en voie de développement [5]. Il est donc nécessaire d'augmenter les rendements agricoles et de régulariser les productions. La protection des cultures contre les bio-agresseurs s'avère donc indispensable. Dans ce contexte l'utilisation de produits qui peuvent lutter contre ces « ennemis » des cultures est un puissant levier. Face à cette situation, les structures techniques de la santé doivent renforcer la sécurité sanitaire du riz importé et/ou produit localement à travers le contrôle de qualité au laboratoire.

Ainsi, nous avons initié la présente étude dans le but de la surveillance de la qualité des riz post production par rapport à la contamination au Propanil. Cette étude avait comme objectif de rechercher les résidus de Propanil dans le riz de Gambiaka vendus au marché « Niono place » à Bamako par spectrophotométrie UV-Visible et Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) au Laboratoire National de la Santé.

## 2. Matériels et méthodes

L'étude a été réalisée au service contrôle qualité des aliments et boissons du Laboratoire National de la Santé (LNS) de Bamako-Mali, entre d'août et octobre 2020.

Il s'agissait d'une étude analytique qualitative et quantitative basée sur la recherche de résidus de Propanil dans le riz par Spectrophotométrie UV-Visible et FTIR au LNS.

Nous avons échantillonné de façon aléatoire trois types de riz selon la taille de la graine (petit, moyen et grand). Ainsi nous avons obtenu un total de trois échantillons.

Nos échantillons ont été analysés conformément à la méthode de QUECHERS selon la norme ISO NF/EN 15662 [6].

A partir de la limite maximum de résidu (LMR) du Propanil dans le riz (0,01ppm), nous avons procédé à la préparation d'une solution 10 fois la LMR soit 0,1 ppm et 1/10<sup>ième</sup> de la LMR soit 0,001 ppm en plus de la LMR 0,01 ppm soit une gamme de trois solutions 0,1 ppm, 0,01ppm et 0,001ppm [7]. Ces différentes concentrations nous permettront de déterminer la densité optique du standard. A partir de la lecture des échantillons au spectrophotométrie UV-visible, nous aurons leurs densités optiques [8]. Nous aurons ainsi à déterminer la teneur de ces échantillons en Propanil à partir du rapport de la densité optique de l'échantillon et celle du standard, multiplié par 100.

$$T \text{ (teneur de l'échantillon en Propanil)} = \frac{\text{Densité Optique de l'Echantillon}}{\text{Densité Optique du Standard}} * 100$$

### Normes 90,0-110,0%

Pour des raisons de confidentialité, les identités des vendeurs seront tenues secrets, les échantillons seront codifiés par des numéros.

Le logiciel (AGILENT Cary Win UV) du Spectrophotométrie UV-Visible nous a servi de traiter directement les données pour le calcul des absorbances et des concentrations pour chaque analyse.

La FTIR, nous a permis de réaliser l'identification du Propanil à travers la superposition spectrale entre le blanc, l'échantillon, et le standard [9].

## 3. résultats et commentaires

### a. Resultat FTIR : Identification du Propanil

- Le spectre de l'échantillon est différent par rapport au blanc (Figure 1)
- Le spectre du standard et l'échantillon ont été identifiés à des longueurs d'ondes 1360 nm, 1020 nm, 900 nm et 740 nm pour une concentration de standard 0,01 ppm et l'échantillon 0,01 ppm (Figure 2).
- Le spectre du Standard et l'échantillon sont identiques mais celui du blanc est différent (Figure 3).

Ces constats nous permettent de confirmer que la quantité du Propanil présente dans les échantillons de riz que nous avons analysés est égale 0,01 ppm de la concentration du standard.

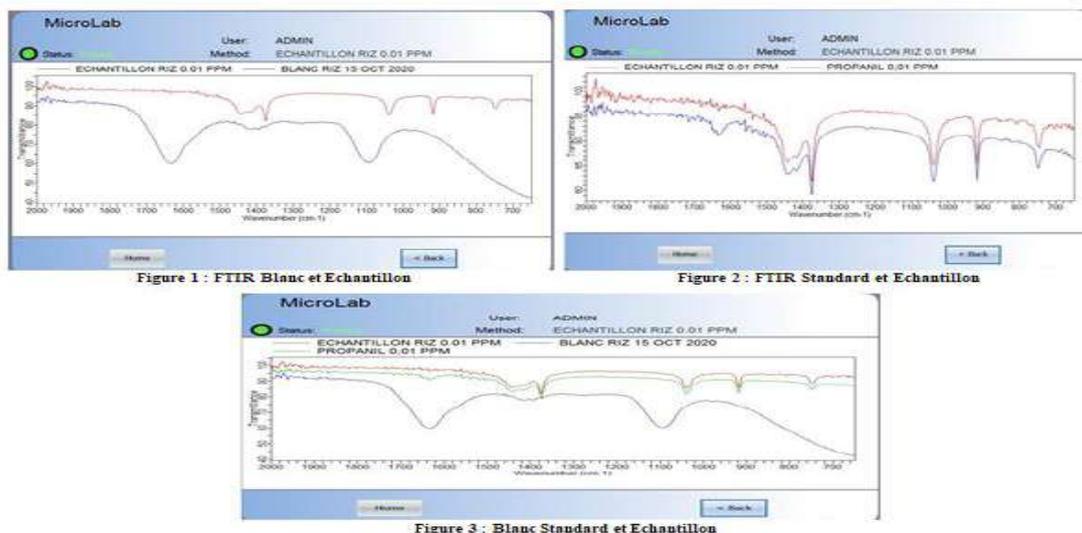


Figure 1 :

**b. Résultat du spectrophotométrie UV- visible : Dosage du Propanil Pour le standard**

**Tableau I : Spectrophotométrie UV – Visible standard**

N°	Longueurs d’ondes	Concentrations	Densités optiques
1	275	0,001	0,141
2	270	0,01	0,928
3	270	0,1	3,987
4	280	0,1	4,367

- Nous remarquons qu’à la longueur d’onde de 275 nm avec une concentration de 0,001 ppm la densité optique est de 0,141. Cette densité optique est faible par rapport à la norme exigée (0,4 - 0,9).
- Avec une longueur d’onde de 270 nm à une concentration de 0,01ppm (LMR), nous avons une densité optique de 0,928 qui est conforme à la norme.
- De 270 nm à 280 nm avec une concentration de 0,1ppm (10 fois LMR) la densité optique est élevée et donne respectivement les densités optiques de 3,99 et 4,37. Cela pourrait être expliqué par la haute teneur en Propanil du standard.

Ainsi la concentration du standard est proportionnelle à la densité optique.

**Pour l’échantillon**

**Tableau II : Résultats des absorbances de l’échantillon par Spectrophotométrie UV – Visible**

N°	Longueur d’onde	Concentration Echantillon	Densités optiques
1	270	0,1	0,797
2	270	0,01	0,994
3	275	0,1	0,808
4	280	0,1	1,206

Nous avons remarqué qu’à la longueur d’onde de 270 nm et 275 avec une concentration de 0,1 ppm, la densité optique est dans la norme (0,4-0,9) tandis qu’à la longueur d’onde de 280 nm à la même concentration de 0,1 ppm, la densité optique est supérieure à la norme soit 1,206.

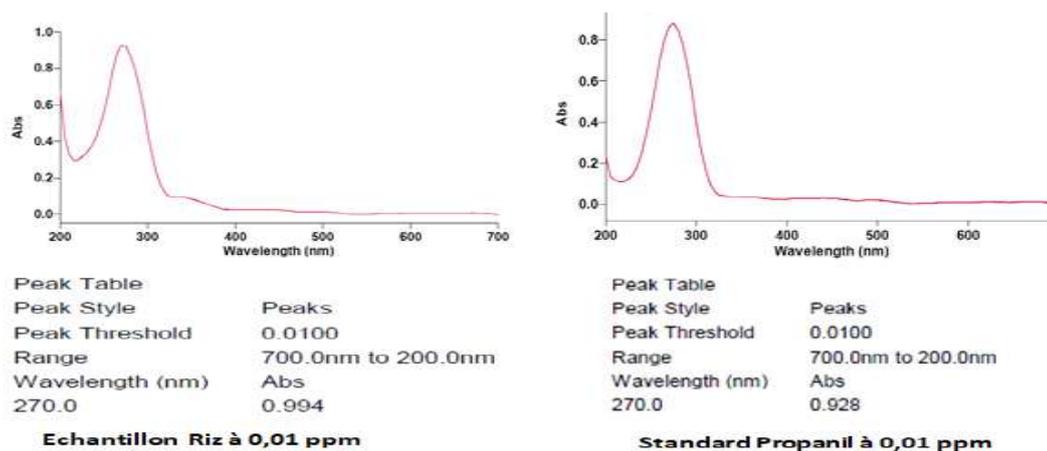
A la longueur d’onde de 270 nm avec une concentration de 0,01 ppm (LMR), nous avons obtenu une densité optique conforme à la norme.

**Comparaison du standard et échantillon**

**Tableau III : Détermination de la teneur en Propanil**

Paramètre	Longueur d’onde	Concentration	Densité optique	Teneur en %
Standard	270	0,01	0,928	107,1%
Echantillon			0,994	

Nous avons obtenu une teneur de 107,1% qui est conforme à la norme (90%-110%).



**Figure 2 :** Comparaison des pics du Standard et échantillon Les pics du Standard et de l'échantillon sont sortis à la même longueur d'onde et à la même concentration.

#### 4. Conclusion

Au terme de l'étude, qui consistait à expérimenter la méthode analytique de recherche de résidus de Propanil dans le riz local, nous avons eu des résultats satisfaisants. Car le Propanil a été identifié et dosée dans le riz à l'aide du FTIR et de la spectrophotométrie UV Visible.

Lors de l'identification, le graphique de l'échantillon et celui du standard se sont superposés, confirmant ainsi la présence de Propanil dans l'échantillon de riz

Durant l'analyse du dosage à la spectrophotométrie UV-Visible, nous avons remarqué qu'à la concentration de la LMR, la densité optique de l'échantillon a été normale et ce qui nous a permis de quantifier la teneur de l'échantillon en Propanil.

Cette méthode pourrait être reprise avec d'autres pesticides utilisés dans la riziculture, afin de permettre la recherche de résidus de pesticides dans le riz qui est l'alimentation de base au Mali.

Ainsi, le contrôle de qualité du riz par spectrophotométrie UV-Visible et la FTIR pourrait être instauré au LNS à l'instar des autres produits alimentaires de grande consommation.

#### 5. Bibliographie

- [1]- Ednei G. Primelli, et col, Risk assessment of surface water contamination by herbicide residues: monitoring of Propanil degradation in irrigated rice field waters using HPLC-UV and confirmation by GC-MS, J. Braz. Chem. Soc. vol.18 no.3 São Paulo 2007.
- [2]- Tomlin, C.D.S.; The e-Pesticide Manual, Thirteenth Edition, Version 3.0, Londres, 2003. 3,4.Propanil (Réf: FW 734), DCPA 3,4-DCPA \*\* propanamide \*\*
- [3]- Ministère de l'agriculture, Mai 2009. Stratégie nationale de développement de la riziculture
- [4]- AGRO, l'Agence Ecofin, <https://www.agencecofin.com/riz/0903-55095-le-mali-mise-sur-une-production-rizicole-de-3-14-millions-de-tonnes-en-2018/2019>
- [5]- Damalas, C. A.; Eleftherohorinos, I. G. Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2011.
- [6]- Quechers.cvua-stuttgart. fast easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/ partitioning, dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in produce. consulté le 6 avril 2020.
- [7]- EU Pesticides database - European Commission. Consulté le 10 juillet 2020, sur l'URL : <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=pesticide.residue.displayMRL&language=EN>
- [8]- Spectrophotométrie UV-visible. Principe de fonctionnement. Consulté, le 03 mars 2020 sur l'URL : <https://www.superprof.fr/ressources/scolaire/physique-chimie/terminale-s/la-spectroscopie/spectrometrie-ultraviolet-visible.html>
- [9]- Laurent S., 2011. Comprendre la spectroscopie infrarouge : principes et mise en œuvre

## Etude du comportement de l'Atenolol lors de l'inhibition de la corrosion du cuivre en milieu acide.

Ehouman Ahissan Donatien<sup>1\*</sup>, Tigori Mougout André<sup>2</sup>, Diki N'guessan<sup>3</sup>, Bamba Amara<sup>3</sup>, Kouakou Adjoumani Rodrigue<sup>1</sup>, Kogbi Guy Roland<sup>1</sup>, Diarrassouba Fatogoma<sup>1</sup>, Bamba Kafoumba<sup>1</sup>, Niamien Paulin Marius<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Thermodynamique et Physico-Chimie du Milieu, Université NANGUI ABROGOUA, 02 BP 882 Abidjan 02, Côte d'Ivoire.

<sup>2</sup>UFR Environnement, Université Jean Lorougnon Guédé, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire.

<sup>3</sup>Laboratoire de Constitution et de réaction de la matière, Université Félix Houphouët Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

### Résumé

Le cuivre considéré autre fois comme étant un poison dangereux est un métal présent dans plusieurs domaines industriels. Ces secteurs industriels font énormément recours aux solutions acides tels que l'acide nitrique ; l'acide chlorhydrique, etc. L'usage de celles-ci n'est pas sans effet sur les matériaux métalliques créant ainsi leur corrosion qui présente une source de dégradation de matière. Depuis ces quarante dernières années, l'utilisation des inhibiteurs de corrosion est de plus en plus fréquente. L'objectif de notre étude est de tester l'atenolol comme inhibiteur de la corrosion du cuivre en milieu acide nitrique 1M. Les études ont été menées en utilisant la méthode de perte de masse et la théorie de la fonctionnelle densité (DFT) au niveau de théorie B3LYP/6-311G (d,p). L'efficacité inhibitrice de la molécule croît avec l'augmentation de la l'efficacité inhibitrice augmeconcentration et de la température. L'adsorption de la molécule sur la surface du cuivre suit le modèle de Langmuir modifié. Les grandeurs thermodynamiques d'adsorption et d'activation ont été déterminées et discutées. Les calculs de chimie quantique ont permis de déterminer les descripteurs moléculaires. Il existe un bon accord entre les résultats expérimentaux et théoriques. Les études d'électrochimie sont envisagées.

Mots clés: Atenolol ; cuivre ; inhibition de la corrosion ; théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT).

### Inhibition effect of atenolol on copper corrosion in 1M HNO<sub>3</sub>

#### Abstract

Copper, once considered to be a dangerous poison, is a metal present in several industrial fields. These industrial sectors make extensive use of acid solutions such as nitric acid; hydrochloric acid, etc. The use of these solutions is not without effect on metallic materials, creating their corrosion, which is a source of material degradation. Over the last forty years, the use of corrosion inhibitors has become more and more frequent. The objective of our study is to test atenolol as a copper corrosion inhibitor in 1M nitric acid medium. The studies were conducted using the mass loss method and density functional theory (DFT) at the B3LYP/6-311G (d,p) theory level. The inhibitory efficacy of the molecule increases with increasing concentration and temperature. The adsorption of the molecule on the copper surface follows the modified Langmuir model. The thermodynamic quantities of adsorption and activation were determined and discussed. Quantum chemistry calculations were used to determine the molecular descriptors. There is a good agreement between the experimental and theoretical results. Electrochemistry studies are envisaged.

Keywords: Atenolol ; copper ; corrosion inhibition, density functional theory

#### 1. Introduction

Le cuivre et ses alliages [1,2] sont très utilisés dans divers domaines (industrie navale, microélectronique, communication, canalisations, etc.) en raison de leurs excellentes conductivités électriques et thermiques. Cependant aux contacts de milieux agressifs en particulier des milieux acides, le cuivre et ses alliages se dissolvent (corrosion) [3,4], ce qui a poussé de nombreux chercheurs à s'intéresser à l'inhibition de la corrosion de ce métal et de ses alliages. L'une des méthodes les plus utilisées pour la protection des métaux contre la corrosion est l'utilisation d'inhibiteurs de corrosion organiques [5,6] qui contiennent des hétéroatomes comme l'azote, le soufre et l'oxygène ; ces composés sont généralement des hétérocycliques [7,8] avec des groupes fonctionnels polaires et des liaisons doubles conjuguées. L'action inhibitrice de ces composés organiques est attribuée à leurs interactions avec la surface de cuivre via leur adsorption. Les groupes fonctionnels polaires [9] sont considérés comme les centres de réaction qui stabilise le processus d'adsorption. En général, l'adsorption d'un inhibiteur sur une surface métallique [10] dépend de la nature de celle-ci, du mode d'adsorption, de la structure moléculaire et du type de solution électrolytique. Selon Abdallah et coll, les composés antibiotiques tels que la paromomicine et la streptomycine sont des inhibiteurs efficaces de la corrosion de l'électrode de Zn dans une solution de HCl 1,0 M [11].

Ainsi, les médicaments chimiques qui sont considérés comme non toxiques sont prometteurs dans la recherche d'inhibiteurs efficaces et peu onéreux contre la corrosion des métaux en milieux acides.

Ce travail qui est une contribution à l'étude de l'inhibition de la corrosion des métaux en milieu acide a pour objectif d'étudier le comportement de l'atenolol vis-à-vis de la corrosion du cuivre en milieu acide nitrique 1M.

#### 2. Matériel et méthodes

Dans ce travail deux approches sont utilisées :

- L'approche expérimentale : la méthode de perte de masse

Cette méthode [12, 13] simple à mettre en œuvre est la seule méthode qui traduit la situation ou la manifestation réelle ; elle conduit à des résultats comparables à ceux obtenus avec les méthodes électrochimiques, thermométriques, etc. Le matériel utilisé dans cette méthode est composé d'une balance de précision, d'un bain thermostaté, d'une étuve, d'échantillons de cuivre, de papier grattoir de différentes granulométries.

La vitesse de corrosion est donnée par la relation :

$$W = \frac{\Delta m}{St} \quad (1)$$

$\Delta m$  est la perte de masse,  $S$  est la surface totale de l'échantillon et  $t$  le temps d'immersion.

L'efficacité inhibitrice est définie par :

$$EI(\%) = \frac{W_0 - W}{W_0} \times 100 \quad (2)$$

Dans cette relation,  $W_0$  et  $W$  sont respectivement la vitesse de corrosion en absence d'inhibiteur et la vitesse de corrosion en présence de l'inhibiteur.

Les études ont été menées à différentes températures (298K, 303K, 308K, 313K, 323K) et à différentes concentrations (0,093 mM ; 0,187 mM ; 0,234 mM et 0,375 mM).

- *L'approche théorique : la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT)*

Les calculs ont été faits au niveau B3LYP avec la base d'orbitales 6-311G (d,p). Le logiciel commercial (Gaussian 03 W) [14] a été utilisé. Les paramètres descripteurs de la molécule ont été calculés après optimisation de la structure moléculaire.

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1 Efficacité inhibitrice de l'aténolol en fonction de la température pour différentes concentrations.

La figure 1 présente l'évolution de l'efficacité inhibitrice de l'aténolol en fonction de la température pour différentes concentrations.

Cette figure montre que l'efficacité inhibitrice de l'aténolol augmente aussi bien avec la température qu'avec la concentration de l'inhibiteur. Cela pourrait s'expliquer par un recouvrement plus important de la surface du cuivre quand la concentration de l'inhibiteur augmente et surtout par la formation d'un film complexe Cu-aténolol (les orbitales d vacantes des ions  $\text{Cu}^{2+}$  reçoivent des électrons des molécules de l'aténolol). L'accroissement de la température augmente le nombre d'ions  $\text{Cu}^{2+}$  en surface ce qui favorise un recouvrement plus important (formation d'une barrière constituée du complexe Cu-aténolol) qui isole le métal de son environnement. Cela entraîne l'augmentation de l'efficacité inhibitrice quand la température augmente. L'équilibre adsorption-désorption est donc déplacé dans le sens de l'adsorption [15].

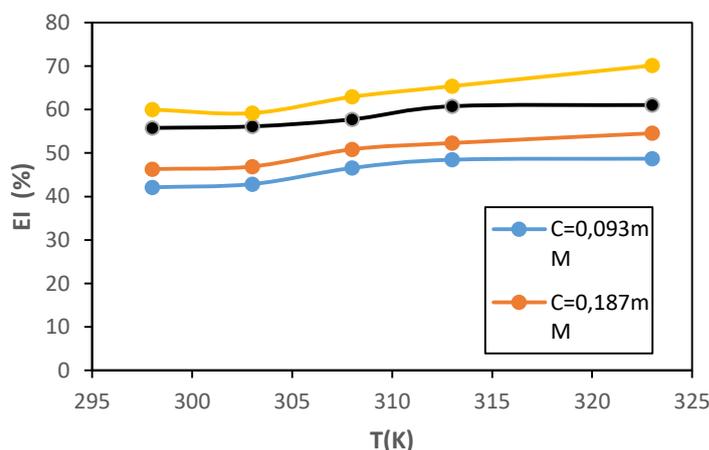
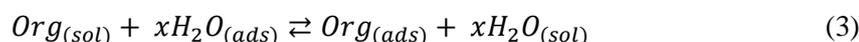


Figure 1 : Efficacité inhibitrice en fonction de la température pour différentes concentrations en aténolol

#### 3.2 Isotherme d'adsorption

Les molécules organiques [16] inhibent la corrosion d'un métal en s'adsorbant sur la surface de celui-ci. L'adsorption est considérée ici comme une réaction de substitution entre les molécules de l'inhibiteur et les molécules d'eau :



Avec :

$Org_{(sol)}$  : Molécule organique au sein de la solution ;

$H_2O_{(ads)}$  : Molécule d'eau adsorbée ;

$Org_{(ads)}$  : Molécule organique adsorbée ;

$H_2O_{(sol)}$  : Molécule d'eau au sein de la solution.

La formule générale des isothermes d'adsorption est :

$$f(\theta, x) \exp(-2a\theta) = KC_{inh} \quad (4)$$

Où :

$f(\theta, x)$  : est le facteur lié aux caractéristiques (mode d'interactions, hypothèses ayant servies à la conception) de l'isotherme ;

$\theta$  : est le taux de recouvrement de la surface métallique;

$C_{inh}$  : est la concentration en inhibiteur ;

$a$  : est un paramètre d'interaction moléculaire ;

$x$  : est le nombre de molécules d'eau remplacées par une molécule organique ;

Plusieurs isothermes ont été étudiées (Langmuir, El-Awady, Freundlich, Dubinin Raduskhevich, etc.) mais l'isotherme de Langmuir qui a présenté le meilleur coefficient de corrélation linéaire ( $R^2=0,989$ ) a été choisie comme isotherme appropriée. Cette isotherme [17] est représentée par la relation :

$$\frac{C_{inh}}{\theta} = \frac{1}{K} + C_{inh} \quad (5)$$

La figure 2 ci-dessous donne les droites obtenues pour les différentes températures étudiées

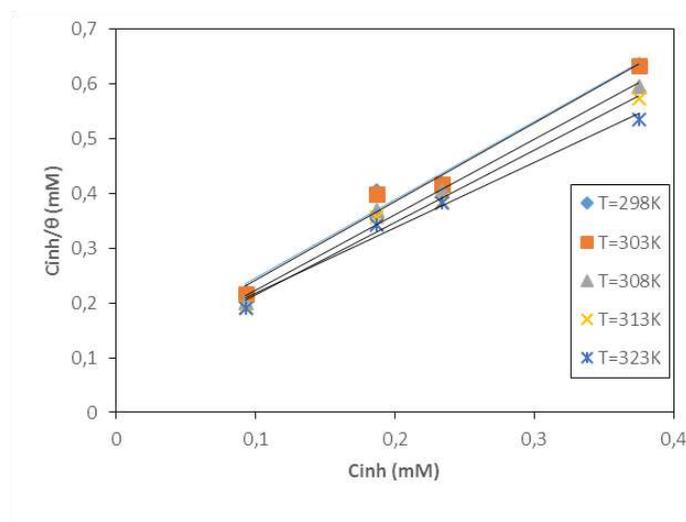


Figure 2 : Isothermes de Langmuir pour l'adsorption de l'aténolol sur le cuivre en milieu  $HNO_3$  1M.

Les écarts à l'idéalité observés (interactions entre molécules adsorbées, hétérogénéité de la surface, etc.) ont conduit à l'adoption du modèle de Langmuir modifié [18] caractérisé par l'équation :

$$\frac{C_{inh}}{\theta} = \frac{n}{K} + nC_{inh} \quad (6)$$

$n\theta$  représente le taux de recouvrement effectif.

### 3.3 Grandeurs thermodynamiques d'adsorption et d'activation

#### 3.3.1 Grandeurs thermodynamiques d'adsorption

Les grandeurs thermodynamiques liées à l'adsorption de l'aténolol sur le cuivre ont été obtenues partir des relations ci-dessous :

$$\Delta G_{ads}^0 = -2,303RT \log(55,5K_{ads}) \quad (7)$$

$$\Delta G_{ads}^0 = \Delta H_{ads}^0 - T\Delta S_{ads}^0 \quad (8) \quad \Delta G_{ads}^0,$$

$\Delta H_{ads}^0$  et  $\Delta S_{ads}^0$  sont respectivement la variation d'enthalpie libre, la variation d'enthalpie et la variation d'entropie.

Le tableau I ci-dessous rassemble les valeurs des grandeurs thermodynamiques d'adsorption de l'aténolol sur le cuivre.

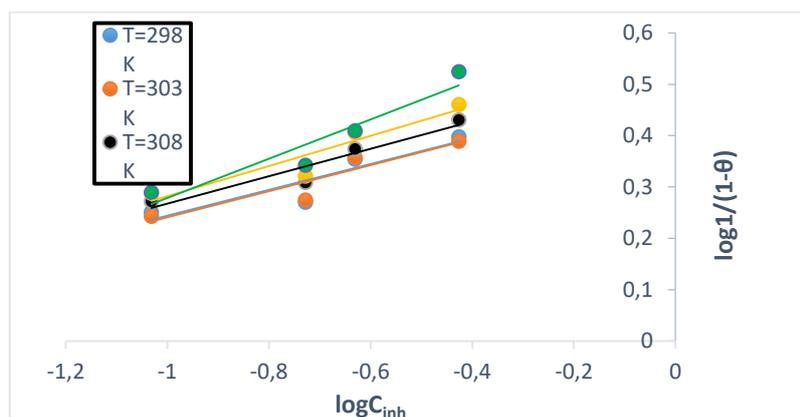
**Le tableau I :** valeurs des grandeurs thermodynamiques d'adsorption de l'aténolol sur le cuivre.

T(K)	$K_{ads} (\times 10^3 M^{-1})$	$\Delta G_{ads}^0 (kJ.mol^{-1})$	$\Delta H_{ads}^0 (kJ.mol^{-1})$	$\Delta S_{ads}^0 (J.mol^{-1}.K^{-1})$
298	9,80	-32,72	7,24	134,3
303	10,35	-33,40		
308	11,59	-34,25		
313	11,99	-34,89		
323	12,22	-36,05		

Les valeurs de  $\Delta G_{ads}^0$  sont négatives pour toutes les températures ; cela signifie que l'adsorption de l'aténolol sur le cuivre est spontanée. Selon la littérature [19], une valeur de  $\Delta G_{ads}^0$  inférieure à  $-40 kJ.mol^{-1}$  indiquerait un processus d'adsorption chimique (chimisorption) alors qu'une valeur supérieure à  $-20 kJ.mol^{-1}$  indiquerait plutôt un processus d'adsorption physique (physisorption). Pour les valeurs comprises entre  $-40 kJ.mol^{-1}$  et  $-20 kJ.mol^{-1}$ , les deux types d'adsorption existeraient. Au regard des valeurs contenues dans le tableau, nous pouvons déduire que l'adsorption de l'aténolol sur le cuivre se fait selon les deux modes d'adsorption (la physisorption et la chimisorption).

Pour accéder aussi à la nature et aux domaines de températures de l'adsorption de l'Atenolol, nous nous referons à l'isotherme d'Adejo-Ekwenchi [20]

La courbe relative au modèle d'adsorption d'Adejo-Ekwenchi est obtenue en représentant  $\log(1/(1-\theta))$  en fonction de  $\log C_{inh}$ .

**Figure 3:** Variation de  $\log 1/(1-\theta)$  en fonction de  $\log C_{inh}$  pour l'Atenolol

Les paramètres de régression pour l'Atenolol sont consignés dans le tableau II ci-dessous pour des températures comprises entre 298K et 323K.

Le tableau 2 ci-dessous concerne les paramètres de l'isotherme d'Adejo Ekwenchi pour l'atenol.

**Tableau II :** paramètres de l'isotherme d'Adejo-Ekwenchi pour l'Atenolol

T(K)	b	KAE	R <sup>2</sup>
298	0,2519	3,0103	0,8339
303	0,2533	3,1225	0,8674
308	0,2666	3,4206	0,9106
313	0,2936	3,7662	0,8814
323	0,3823	4,5804	0,9037

Pour notre médicament, le tableau II montre que les paramètres b et KAE (l'ordonnée à l'origine) de l'isotherme d'Adejo-Ekwenchi augmentent avec l'augmentation de la température de 298K à 323K indiquant selon [20] que le processus d'adsorption de notre médicament est la chimisorption. L'Atenolol s'adsorbe sur le cuivre selon le mode de la chimisorption.

La variation d'enthalpie d'adsorption  $\Delta H_{ads}^0$  a une valeur positive, traduisant le caractère endothermique du processus d'adsorption.

La variation d'entropie d'adsorption  $\Delta S_{ads}^0$  est positive, ce qui indique une augmentation du désordre lors de l'adsorption de l'aténolol sur le cuivre. Cette augmentation du désordre serait due à la désorption des molécules d'eau.

### 3.3.2 Grandeurs thermodynamiques d'activation

Les grandeurs thermodynamiques (énergie d'activation  $E_a$ , variation d'enthalpie d'activation  $\Delta H_a^*$  et variation d'entropie d'activation  $\Delta S_a^*$ ) liées à la dissolution du cuivre ont été déterminées en utilisant la relation d'Arrhénius et celle des états de transition :

$$\log W = \log A - \frac{E_a}{2,303RT} \quad (9)$$

$$\log \left( \frac{W}{T} \right) = \left[ \log \left( \frac{R}{\aleph h} \right) + \frac{\Delta S_a^*}{2,303R} \right] - \frac{\Delta H_a^*}{2,303RT} \quad (10)$$

$W$  est la vitesse de corrosion,  $R$  est la constante des gaz parfaits,  $A$  est le facteur préexponentiel,  $h$  est la constante de Planck et  $\aleph$  la constante d'Avogadro.

Les valeurs des grandeurs thermodynamiques d'activation sont consignées dans le **tableau III**.

L'énergie d'activation en absence de l'aténolol est supérieure aux énergies d'activation en sa présence ; cela indiquerait selon la littérature [21] que la chimisorption est prépondérante.

La variation d'enthalpie d'activation  $\Delta H_a^*$  est positive, indiquant le caractère endothermique de la dissolution du cuivre. La variation d'entropie d'activation  $\Delta S_a^*$  est négative, ce qui traduirait [22] une certaine organisation lors de la formation du complexe activé.

**Tableau III** : Grandeurs thermodynamiques de dissolution du cuivre

Concentration (mM)	$E_a$ (kJ.mol <sup>-1</sup> )	$\Delta H_a^*$ (kJ.mol <sup>-1</sup> )	$\Delta S_a^*$ (J.mol <sup>-1</sup> .K <sup>-1</sup> )
0	16.39	13.80	-199.24
0,093	11.71	9.14	-219.46
0,0187	10.68	8.17	-223.30
0,234	11.13	8.59	-223.33
0,375	6.39	3.83	-240

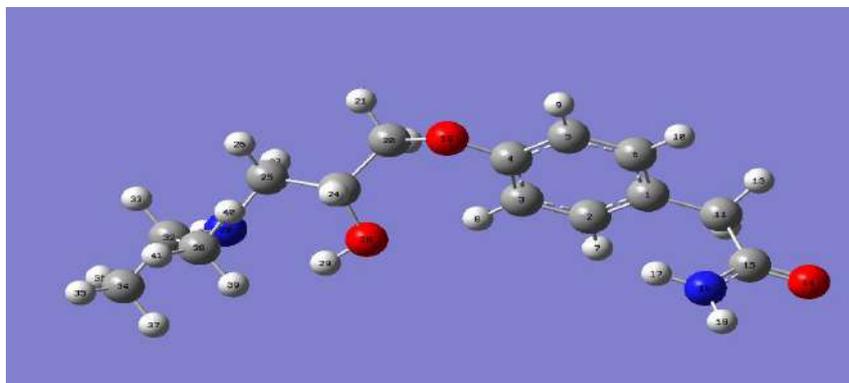
### 3.4 Calculs de chimie quantique

Les calculs des descripteurs de la molécule ont été réalisés en utilisant la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) au niveau B3LYP avec la base d'orbitales 6-311G (d,p). La méthode de calcul a été choisie en tenant compte du compromis entre le temps d'exécution des calculs (Temps CPU) et la précision des résultats (taille de la base d'orbitales). Dans cette théorie, basée sur l'approche variationnelle, l'énergie de l'état fondamentale est donnée par la relation :

$$E = \min_n [F(n) + \int d^3r V_{ext}(r)n(r)] \quad (11)$$

Après l'optimisation de la structure, les paramètres descripteurs de la molécule sont calculés.

La **figure 4** donne la structure moléculaire optimisée de l'aténolol.



**Figure 4** : Structure moléculaire de l'aténolol obtenue à partir de B3LYP/6-311G (d,p)

Les descripteurs calculés sont consignés dans le **tableau IV** ci-dessous

**Tableau IV** : Paramètres descripteurs de l'aténolol obtenus à partir de B3LYP/6-311G (d,p)

Paramètres	Valeurs	Paramètres	Valeurs
$E_{\text{HOMO}}$ (eV)	-5,902	$\chi$ (eV)	3,102
$E_{\text{LUMO}}$ (eV)	-0,302	$\eta$ (eV)	2,800
$\Delta E$ (eV)	5,600	$S$ (eV) <sup>-1</sup>	0,357
$\mu$ (Debye)	8,527	$\Delta N$	0,335
$I$ (eV)	5,902	$\omega$ (eV)	1,718
$A$ (eV)	0,302	$\mu$ (eV)	-3,102

Les paramètres  $E_{\text{HOMO}}$  (énergie du niveau occupé le plus élevé),  $E_{\text{LUMO}}$  (énergie du niveau vacant le plus bas) et le moment dipolaire ( $\mu$ ) sont des paramètres importants qui renseignent sur la réactivité de la molécule. Ainsi une valeur élevée de  $E_{\text{HOMO}}$  (-5,902 eV dans notre cas) disposerait la molécule [23] à donner des électrons ; une valeur basse de  $E_{\text{LUMO}}$  (-0,302 eV), traduirait [24] une grande aptitude à recevoir des électrons d'un donneur potentiel. Ainsi, cet inhibiteur ne fournit pas que des électrons aux orbitales (d) des ions métalliques  $\text{Cu}^{2+}$  ( $[\text{Ar}]3d^9$ ) mais il peut aussi recevoir des électrons de ces orbitales (d) (formation de liaison covalente), ce qui montre les grandes valeurs d'efficacité inhibitrices quand la température augmente.

D'autres paramètres comme l'électronégativité globale ( $\chi = 3,102 \text{ eV}$ ), la dureté globale ( $\eta = 2,800 \text{ eV}$ ), la mollesse globale ( $S = 0,357(\text{eV})^{-1}$ ), la fraction d'électrons transférés ( $\Delta N = 0,335$ ) et l'index d'électrophilicité ( $\omega = 1,718 \text{ (eV)}$ ) montrent que la molécule fournit des électrons au métal, ce qui permet la formation du complexe Cu-aténolol.

La réactivité locale est analysée à travers la fonction de Fukui  $f_k^\alpha$  ( $\alpha = +ou -$ ) et les molleses locales  $s_k^\alpha$  ( $\alpha = +ou-$ ). Ces fonctions sont définies par les relations suivantes [25] :

$$f_k^+ = q_k(N+1) - q_k(N) \quad (12)$$

$$f_k^- = q_k(N) - q_k(N-1) \quad (13)$$

$$s_k^\alpha = f_k^\alpha S \quad (14)$$

Les fonctions sont ainsi définies pour chaque atome  $k$  ;  $N$  est le nombre total d'électrons.

**Le tableau V** ci-dessous indique les valeurs des paramètres de réactivité locale.

**Tableau V**: Valeurs de la fonction de Fukui, des charges naturelles et du descripteur dual

Atome	$q(N)$	$q(N+1)$	$q(N-1)$	$Q(N)$	$Q(N+1)$	$Q(N-1)$	$f^+$	$f^-$	$\Delta f$
C1	-0,0397	-0,0824	0,0353	6,0397	6,0824	5,9646	0,043	0,075	-0,032
C2	-0,2029	-0,2988	-0,1640	6,2029	6,2988	6,1640	0,096	0,039	0,057
<b>C3</b>	-0,2305	-0,3790	-0,2247	6,2305	6,3790	6,2247	<b>0,149</b>	0,006	<b>0,143</b>
C4	0,3114	0,3369	0,3987	5,688	5,6630	5,601	-0,026	0,087	-0,113
C5	-0,2468	-0,3536	-0,1812	6,246	6,3536	6,1812	0,107	0,066	0,041
C6	-0,2019	-0,2918	-0,1764	6,2019	6,2918	6,1764	0,090	0,025	0,064
C11	-0,4522	-0,4773	-0,4966	6,4522	6,4773	6,4966	0,025	-0,044	0,069
O14	-0,5956	-0,6735	-0,4817	6,5956	6,6735	6,481	0,078	0,114	-0,036
C15	0,6433	0,7034	0,7064	5,3566	5,2965	5,2935	-0,060	0,063	-0,123
N16	-0,7672	-0,8092	-0,7744	6,7672	6,8092	6,7744	0,042	-0,007	0,049
<b>O19</b>	-0,5755	-0,5648	-0,4389	6,5755	6,5648	6,4389	-0,011	<b>0,137</b>	<b>-0,147</b>
C20	-0,0285	-0,0315	-0,0455	6,0285	6,0315	6,0455	0,003	-0,017	0,020
C23	0,1458	0,1255	0,1233	5,8541	5,8744	5,8767	0,020	-0,023	0,043
C25	-0,1970	-0,2098	-0,2059	6,197	6,2098	6,2059	0,013	-0,009	0,022
O28	-0,7453	-0,7642	-0,7706	6,7453	6,7642	6,7706	0,019	-0,025	0,044
N30	-0,6886	-0,7224	-0,6565	6,6886	6,7224	6,6567	0,034	0,032	0,002
C32	0,0258	0,0180	0,0059	5,9741	5,9819	5,9940	0,008	-0,020	0,028
C34	-0,5684	-0,5859	-0,5800	6,5684	6,5859	6,5800	0,018	-0,012	0,029
C38	-0,5835	-0,5868	-0,5854	6,5835	6,5868	6,5854	0,003	-0,002	0,005

Les valeurs de la fonction de Fukui, des charges naturelles, et du descripteur dual sont rassemblées dans le tableau 11 ci-dessus : Les figures 19 et 20 ci-dessous nous donnent les densités HOMO et LUMO de notre molécule (aténolol).

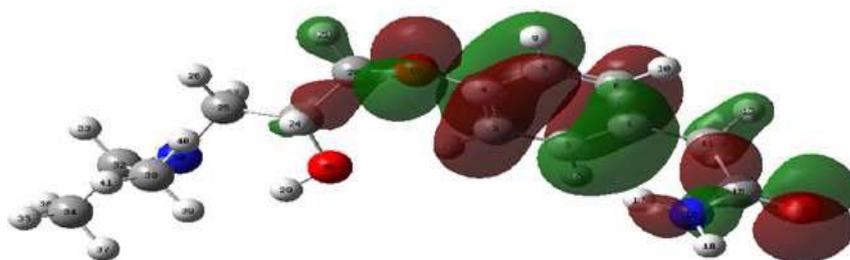


Figure 5: Densité HOMO de l'atenolol au niveau B3LYP/6-311G(d,p).

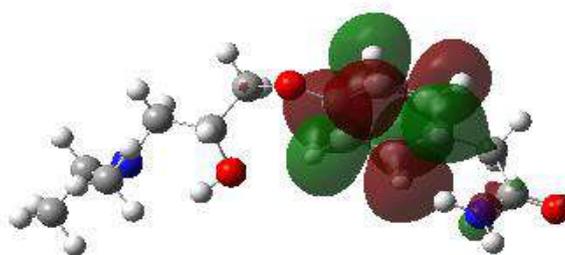


Figure 6: Densité LUMO de l'atenolol au niveau B3LYP/6-311G(d,p).

L'analyse des valeurs des fonctions consignées dans le tableau ci-dessus pour l'inhibiteur, nous permet de déduire que les attaques nucléophiles ont lieu autour de l'atome de carbone C(3) (centre d'attaque nucléophile, compris dans la zone de densité LUMO) car possédant les plus grandes valeurs de  $f_k^+$  et également possédant la plus grande valeur de  $\Delta f(\vec{r}) > 0$ . Les attaques électrophiles se font autour de l'atome d'oxygène O(19) (centre d'attaque électrophile, compris dans la zone de densité HOMO) car il possède les plus grandes valeurs de  $f_k^-(r)$  et de  $\Delta f(\vec{r}) > 0$  en valeur absolue.

#### 4. Conclusion

L'aténolol est un bon inhibiteur de la corrosion de cuivre en milieu acide nitrique 1M. L'efficacité inhibitrice de la molécule augmente avec la concentration et la température. La molécule s'adsorbe sur le cuivre selon l'isotherme de Langmuir modifiée. Les paramètres thermodynamiques d'adsorption et d'activation montrent l'existence des deux types d'adsorption (la chimisorption est prépondérante). Les paramètres de réactivité globale confirment la bonne efficacité inhibitrice de la molécule. Les fonctions de Fukui et les molleses locales indiquent les sites d'attaques nucléophiles et électrophiles.

#### 5. Bibliographie

- [1]. G. Kane, Jennings et P. E. Laibins, *Colloids et Surfaces A: Physicochem & Eng. Asp.*, 1996,116, 105-114.
- [2]. E. ISayed et M Sherif, *Appl. Surf.Sci.*, 2006, 252, 8615-8623.
- [3]. I. Numez; E. Reguera; F. Corvo; E. Gonzalez et C. Vasquez, *Corros. Sci.*, 2005, 47, 461- 484.
- [4]. A. G. Christy; A. Lowe; V. Otieno-Alego; M. Stoll et R. D. Webster, *J. Appl. Electrochem.*, 2004,34, 225- 233.
- [5]. D. G. Zhang; I. X. Gao et G. D. Zhou, *J. Appl. Surf. Sci.*, 2004, 225, 287-293.
- [6]. H. Otmacic; J. Telegdi; K. Papp et E. Stupnisek-Lisac, *J. Appl. Electrochem.*, 2004, 34, 545-550.
- [7]. H. Otmacic et E. Stupnisek-Lisac, *Electrochim. Acta*, 2002, 48, 985-991.
- [8]. M. Scendo; D. Poddebnick et J. Malyszko, *J. Appl. Electrochem.*, 2003, 33, 287-293.
- [9]. M .G. Fontana et K. W. Staehle, *Advances in corrosion Science et Technology*, vol 1, Plenum Press, New York, 1970.
- [10]. O. I. Riggs, Jr., *Corrosion inhibitors*, 2<sup>nd</sup> ed., C. C. Nathan, Houston, TX, 1973.
- [11] Abdallah, M., Zaafarany, I. A., et Al Jahdaly, B. A. Corrosion inhibition of zinc in hydrochloric acid using some antibiotic drugs. *J Mater Environ Sci*, 2016, vol. 7, no 4, p. 1107-1118.
- [12]. M. Boukalah; B. Hammouti; M. Lagrenée et F. Bentiss, *Corros. Sci.*, 2006, 48, 2831-2842.
- [13]. S. S. Mahmoud; M. M. Ahmed et R. A. El-Kasaby, *Advances in Materials and Corrosion*, 2013, 1, 36-45.
- [14]. 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.

[15]. Obot, I. B., Obi-Egbedi, N. O., Umoren, S. A., *et al.* Adsorption and kinetic studies on the inhibition potential of fluconazole for the corrosion of Al in HCl solution. *Chemical Engineering Communications*, 2011, vol. 198, no 5, p. 711-725.

[16]. H. Ashassi-Sorkhabi; B. Shabani; B. Ahgholipour et D. Seifzadeh, *Appl. Surf. Sci.*, 2006, 252, 4039-4047.

[17]. B. Ateya ; B. El-Aradouli et F. El-Nizang, *Corros. Sci.*, 1984, 24, 497-507.

[18]. R. F. V. Villamil; P. Corio, J. C. Rubin et S. M. L. Agostinho, *J. Electroanal. Chem.*, 47, 1999, 112-119.

[19]. G. Moretti; F. Guidi et G. Grion, *Corros. Sci.*, 2004, 46, 387- 403.

[20]. Adejo, Sylvester O. Proposing a new empirical adsorption isotherm known as Adejo-Ekwenchi isotherm. *Journal of Applied Chemistry*, 2014, vol. 6, no 5, p. 66-71.

[21]. I. Dehri et M. Ozcan, *Mater Chem Phys*, 2010, 123, 666-677.

[22]. H. Zarrok; A. Zarrouk; B. Hammouti; R. Salghi; C. Jama et. F. Bentiss, *Corros. Sci.*, 2012, 64, 243-252.

[23] M. J. S. Dewar and W. Thiel. Ground States of Molecules, 38. The MNDO Method. Approximations and Parameters. *J. Am. Chem. Soc.*, 1977, 99, 4899.

[24] G. Gece, S. Bilgic, Quantum Chemical study of some cyclic nitrogen compounds as corrosion inhibitor of steel in NaCl media, *Corros. Sci.*, 2009, 51, 1876.

[25]. R. G. Parr et W. Yang, *J. Am. Chem. Soc.*, 1984, 106, 4049-4050.

## Phytoremédiation : Effet de synergie entre *Thalia geniculata* et *Eichhornia Crassipes* (Jacinthe d'eau) dans le traitement des eaux usées domestiques

Franck Yovo<sup>1,2\*</sup>, Amoussatou Sakirigui<sup>1</sup>, Pélagie Yete<sup>2</sup>, Alexis F. C. Togbe<sup>2</sup>, Nikita Topanou<sup>1</sup>, Sèmiyou A. Osseni<sup>1</sup>, Valentin D. Wotto, Jacques K. Fatombi<sup>1</sup>.

*1-Laboratoire Kaba de Recherches en Chimie et Applications, Faculté des Sciences et Techniques de Natitingou, Université Nationale des Sciences Technologies Ingénierie et Mathématiques (LaKReCA/FAST-NATI/UNSTIM), BP 72 Natitingou, BENIN*  
*2-Laboratoire de Chimie Physique, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi (LCP/FAST/UAC) 01 BP 526 Cotonou, BENIN*

### Resumé

Le traitement des eaux usées domestiques est un souci majeur pour les collectivités locales en raison du faible taux d'abattement des charges polluantes que présentent certaines techniques de la phytoremédiation. C'est pour mieux réduire les charges polluantes que le présent travail se penche sur l'étude de l'effet de synergie entre *Thalia geniculata* et *Eichhornia Crassipes*. L'atteinte de cet objectif a conduit à varier les espèces dans trois bassins : TG (*Thalia geniculata*), JE (Jacinthe d'eau) et TJ (combinaison de *Thalia geniculata* et de la Jacinthe). Les paramètres des eaux usées ont été déterminés conformément à la norme française en fonction du temps de séjour.

Les résultats montrent une excellente réduction de la pollution azotée dans le bassin TJ [ $\text{NO}_3^-$  (97,75%), NTK (82,83%)] et un faible rendement d'élimination de phosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ :24,84%) après douze jours de traitement. Les bassins (TG, JE) montrent les abattements moyens en nitrates (68,62% ; 53,98%), en NTK (55,71% ; 39,52%) et en orthophosphates (23,55% ; 89,27%). Ces abattements affichent un effet de synergie intéressant et rendent la technique prometteuse dans l'élimination de la pollution azotée des eaux usées domestiques. Cependant, des études supplémentaires s'avèrent nécessaire pour un meilleur abattement du phosphate par la combinaison des deux plantes.

**Mots-clés** : Phytoremédiation, effet de synergie, eaux usées domestiques.

### Abstract

The treatment of domestic wastewater is a major concern for local communities because of deficiencies in treatment performance. In order to effectively reduce grey water loads, the synergistic effect between *Thalia geniculata* and *Eichhornia Crassipes* (water hyacinth) has been studied. Achieving this goal led to a variety of species in three basins: TG (*Thalia geniculata*), JE (water hyacinth) and TJ (combination of both *Thalia geniculata* and water hyacinth). The wastewater parameters were determined according to the French standard and residence time. The results show excellent TJ basin purification performance for nitrogen pollution with good abatement efficiency [ $\text{NO}_3^-$  (97.75%), NTK (82.83%)] and a low phosphate removal efficiency ( $\text{PO}_4^{3-}$ : 24.84%) after a residence time of twelve days. The basins (TG, JE) show the respective reductions in nutritious (68.62%, 53.98%), NTK (55.71%, 39.52%) and orthophosphates (23.55%, 89.27%). The treatment yields show an interesting synergistic effect in nitrogen pollution reducing in domestic wastewater. However, further studies are needed for a better reducing of phosphate by the combination of the two plants.

**Keywords**: Phytoremediation, synergy effect, domestic wastewater.

### Introduction

La phytoremédiation est une méthode d'assainissement qui vise à réduire, décontaminer et restaurer l'environnement (sol, air et eaux usées) [1]. L'augmentation des eaux grises due à l'urbanisation posent des problèmes environnementaux et entraîne la pollution, la contamination des eaux souterraines et les problèmes de santé [2-5]. Les eaux de la nappe phréatique sont d'une importante source qui approvisionnent les populations en eau en Afrique et particulièrement au Bénin. Or on remarque de nos jours que cette eau est polluée en raison d'un faible entretien et de l'indéfectuosité du dispositif de drainage des eaux usées [6-8]. Pour y remédier, nombreuses de techniques (filtrage, flottation, floculation, coagulation, électrocoagulation, ruissellement, filtres bios, marais artificiels, lagunes, phytoremédiation etc) pouvant contribuer au traitement des eaux usées ont été développées [9, 10]. Pour une bonne efficacité des méthodes de traitement, plusieurs auteurs ont exploré des macrophytes (roseaux, hybrides populaires iris, roseaux, marais, jacinthe d'eau, lentilles d'eau, laitue d'eau etc.) avec des rendements d'élimination des polluants variés [11-15]. Par contre, le problème lié au colmatage des systèmes de traitement et la libération de phosphore dans les eaux traitées ont été rapportés [16]. Pour plus d'efficacité dans le traitement et une bonne remédiation à ce problème, des filtres plantés sur des lits de gravier et de sable ont été associés aux lits de bactéries suivi d'un traitement physico-chimique [10, 17, 18]. Malgré la modification du temps de suivi (3-12 jours) selon des auteurs [19, 20], la réduction des polluants n'est pas excellente. Au même moment, le potentiel de réduction des polluants par les macrophytes, *Eichhornia Crassipes* et *Thalia geniculata*, a été démontré par des auteurs [21-25]. Ainsi il a été rapporté que les deux macrophytes réduisent respectivement les orthophosphate et les nitrates des eaux usées. Ceci permet de lutter contre le phénomène d'eutrophisation que ces ions engendrent au niveau des réserves d'eau et des eaux de surfaces [26]. Dans le but d'améliorer l'élimination de ces deux ions dans les eaux grises, cette étude est

menée et est basée sur les possibilités de combinaison des macrophytes dans les bassins à filtres contenant ces eaux en vue de ressortir leur effet synergique.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Matériaux

Deux espèces de plantes: *Thalia geniculata* et *Eichhornia crassipes* ont été utilisés dans cette étude. Les plantes ont été récoltées dans un plan d'eau situé à Fifadji et Hêvié (Sud Bénin). Les eaux usées ont été collectées à partir d'un collecteur d'eaux usées à Quartier Agla situé dans le 13ème arrondissement de la ville de Cotonou (Département du Littoral) (Fig. 1). Le collecteur d'eau, pendant la saison sèche reçoit particulièrement les eaux grises (lavage, lessive, douche et vannes d'eau, etc). Les bassins utilisés pour les expérimentations sont d'une densité de plantation égale à 50 plantes/m<sup>2</sup>. Pour atteindre nos objectifs quatre bassins dont un témoin et trois équipés d'un macrophyte ont été conçu comme indiqué dans les figures ci-dessous (Fig. 2).



Fig. 1. (a) Collecteur d'eaux grises à Agla (Sud Bénin) (b) Échantillons d'eaux grises.



Fig. 2. (a) Bassin témoin EB (b) Bassin avec *Thalia geniculata* TG (c) Bassin *Eichhornia crassipes* JE (d) Bassin avec à la fois *Thalia geniculata* et *Eichhornia crassipes* (TJ).

## 2.2. Méthodes analytiques

### 2.2.1. Paramètres physicochimiques

Les paramètres physico-chimiques des eaux usées, y compris température (T), conductivité électrique ( $\chi$ ), total dissous solides (TDS) ont été mesurés à l'aide d'un multi paramètre de type Combo Hanna étanche selon la norme NF EN 27888 (janvier 1994). Le pH a été mesuré avec un pH-mètre de type Mettler Toledo avec une sonde LE 409 (NFT 90-008) et la couleur (col) par la méthode APHA Platine-Cobalt. La turbidité (Turb) et le potentiel redox (EH) ont été déterminés respectivement avec un colorimètre DR/890 et le multiparamètre de type WTW pH/EH 340i suite à l'atténuation des rayonnements suivant la norme NF EN 27888. L'oxygène dissous (O<sub>2</sub> Dissous) est mesuré avec un mutiparamètre pH/O<sub>2</sub> Innolab de type WTW 740i selon la norme française (NF EN 25814).

### 2.2.2. Paramètres de pollution

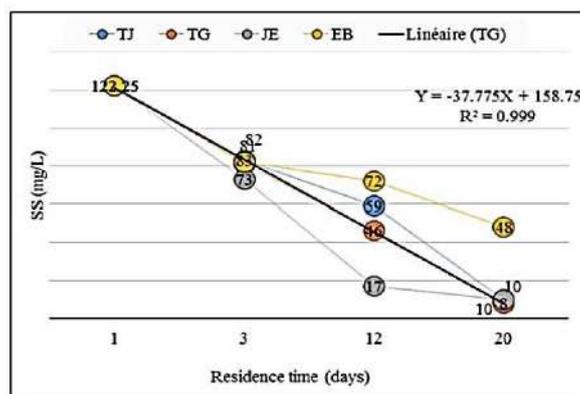
Les solides en suspension (MES) ont été déterminés par la méthode colorimétrique telle que préconisée par la norme française (NF EN 872, janvier 1997). Les lectures ont été faites avec un colorimètre de type HACH DR/ 890. Les ions orthophosphates (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) ont été déterminés par une mesure colorimétrique de complexe phosphomolybdique

formé; utilisant un spectrophotomètre à absorption moléculaire type DR/2800 selon la norme AFNOR (AFNOR T90-023). L'azote total Kjeldahl (NTK) a été dosé par la méthode AFNOR NFT90-110. Cette méthode consiste à minéraliser l'azote organique en azote ammoniacal par l'acide sulfurique suivi du dosage de l'ammonium obtenu par acidimétrie; après distillation avec l'appareil (Buchi Auto kjeldahl K370). Les nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) ont été déterminé par la méthode colorimétrie par diazotation selon la norme française NF EN ISO 13395 (1994) avec le spectrophotomètre HACH DR / 800 après réduction par passage sur colonne de cadmium.

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Matières en suspension (MES)

Les données relevées dans les quatre bassins durant l'expérience ont permis de tracer les courbes du graphe ci-dessous.



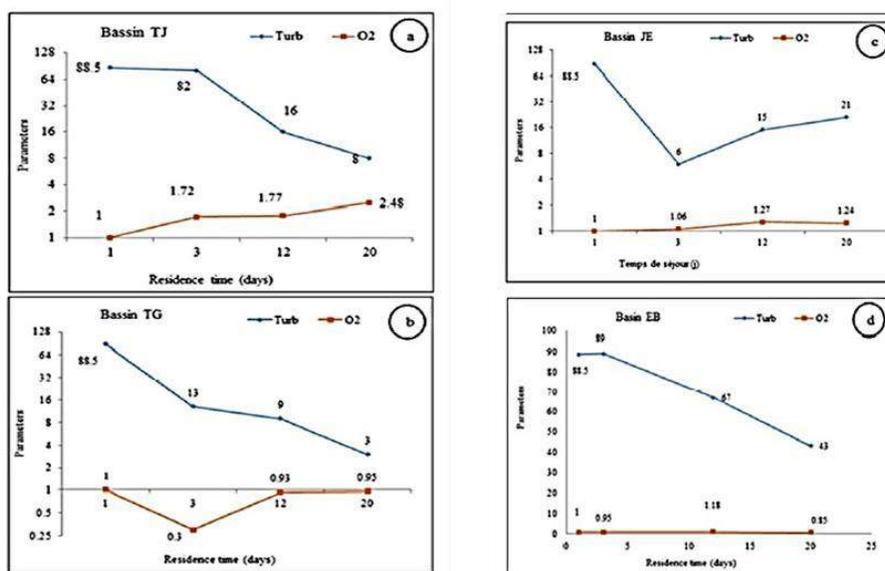
**Fig. 3.** Profile des matières en suspension au cours du temps dans les bassins.

Le traitement a permis d'apprécier la qualité des eaux grises et l'efficacité des systèmes au fil du temps. Les solides en suspension dans les eaux usées ont été évalués à 122,25 mg/L au début. Cette valeur a baissé avec le temps à environ 8-10 mg/L le 20ème jour dans tous les bassins. Les rendements d'abattement maximum étaient : TG (93,45 %), TJ (91,82 %) et JE (91,82 %). Il est important de noter que déjà après 3 jours de traitement, les MES ont diminué à environ 70 et 80 mg/L. Cela correspond au temps d'adaptation de micro-organismes des eaux grises au milieu de traitement [12, 22]. Au 12ème jour, le bassin (JE) contenant l'*Eichhornia crassipes*, réduit deux fois les MES de plus que le bassin (TG) contenant les macrophytes de *Thalia geniculata* et trois fois de plus que le bassin (TJ) contenant les deux espèces (*Eichhornia crassipes* et *Thalia geniculata*). Par ailleurs, le bassin (JE) réduit les MES en peu de temps. Les bassins TJ et TG ont réduit les MES suivant la même tendance. Quant au bassin TG, l'abattement des MES en fonction du temps de séjour suivait une fonction linéaire selon l'équation  $y = -37,77x + 158,7$ . Il est remarquable qu'après 12 jours de traitement, le taux de réduction de la MES est estimé à 51,73 % dans le bassin TJ contre 86,09 % et 62,37 % dans le JE et le TG, respectivement. Après 20 jours, les MES ont été fortement éliminés dans tous les bassins. Il montre que l'effet synergique concernant l'élimination des MES est négatif pour un temps de séjour plus court (12 jours) et positif pour un temps de séjour relativement long (20 jours) [16]. Une comparaison entre le profil des courbes d'abattement des MES montre que la décantation des eaux usées brutes n'élimine pas correctement les MES.

#### 3.2. Turbidité (TDS) et oxygène dissous (OD)

La figure 4 montre le profil de turbidité et de dissolution de l'oxygène du traitement en fonction du temps de séjour. A partir de la Fig. 4a et b, une diminution considérable de la turbidité dans les bassins TG et TJ au fil du temps pourrait être remarquée; tandis que l'oxygène dissous augmente. Par rapport aux bassins (TG et JE), la réduction de la turbidité est restée faible pendant les 12 premiers jours dans le bassin TJ. Cela confirme la déclaration ci-dessus concernant la réduction des MES. La diminution de la turbidité et l'augmentation de la teneur en oxygène dans le témoin (bassin EB) est faible par rapport à autres bassins (TJ, TG et JE). Les figures (Fig. 4a, b et c), montrent également une diminution significative de la turbidité et une augmentation remarquable de la teneur en oxygène dissous pendant le traitement. Cela confirme l'hypothèse que les macrophytes produisent dans leurs rhizomes, l'oxygène dissous, ce qui facilite la dégradation de matières organiques [27, 28]. Nos résultats sont en accord avec ceux de [22, 29] qui ont trouvé qu'après traitement, l'eau devient riche en oxygène dissous. De plus, au niveau de la figure 4, on peut en déduire que l'eau usée traitée par les macrophytes d'*Eichhornia crassipes* (JE) est trouble après

un long temps de séjour. Il est donc important de garder à l'esprit que l'*Eichhornia crassipes* n'est pas efficace pour un traitement à long terme. De même, la décantation des eaux usées (bassin EB), n'est pas efficace pour éliminer la turbidité des eaux grises. Quant au traitement TJ et TG, ils ont considérablement réduit la turbidité des eaux grises, entraînant une augmentation de l'oxygène dissous contenu dans ces eaux traitées. Le taux d'élimination de la turbidité à la fin du traitement était de 90,96 % dans le bassin TG et 96,61 % dans le bassin TJ. Ces rendements sont meilleurs par rapport à ceux rapportés (72 %) par [30] et comparable à celui obtenu (95 %) par [31]. L'augmentation de la teneur en oxygène dissous de l'eau traitée dans le bassin TJ révèle un effet de synergie probable



**Fig. 4.** Profil de la turbidité (NTU) et de l'O<sub>2</sub> dissous (mg/L) dans (a) Bassin avec à la fois *Thalia geniculata* et *Eichhornia crassipes* (TJ), (b) Bassin avec *Thalia geniculata* TG (c) Bassin avec *Eichhornia crassipes* JE, (d) Bassin témoin EB.

### 3.3. Autres paramètres physico-chimiques

La mesure des solides dissous totaux (TDS), de la couleur, conductivité électrique, pH et température des eaux usées et l'eau traitée sont présentés dans le tableau 1 ci-dessous. Les données montrent qu'au 12ème jour, le bassin TG possède le plus fort prélèvement de conductivité (95,54 %) suivi des bassins TJ (76,6 %) et JE (93,76 %). Les bassins TJ et JE ont réussi à réduire la couleur jusqu'à 91,75 % et 85,5 %, respectivement par rapport à 81,96 %. Concernant le TDS, 81 % ont été supprimés dans le bassin TJ, 84,31 % et TG puis 87,59 % dans le bassin JE. Les taux de purification au 12ème jour étaient plus élevés que ceux obtenus au 20ème jour au niveau du TG (Cond : 8,3 %) et JE (TDS : 55,03 %) ; mais relativement inférieurs à ceux obtenus dans le bassin TJ (Couleur : 96,94 % ; Cond : 92,37 % ; TDS : 93,38 %). Il faut remarquer que les bassins TG et JE ont réduit efficacement les paramètres physico-chimiques dans un peu de temps alors que leur combinaison le réduisait avec un temps plus long. Cela peut être justifié par le fait que les rhizomes des deux macrophytes absorbent plus de polluants de l'eau en fonction du temps de séjour [32]. Ce phénomène pourrait être mis en évidence lorsque l'on compare les rendements en TJ avec ceux obtenus dans le bassin témoin (EB) (Couleur : 91,75 % ; Cond : 54,73 % ; TDS : 67,76 %). Le résultat révèle un bon rendement obtenu pour la plupart des bassins. Il confirme notre observation et prouve que les rhizomes sont des sites de développement de micro-organismes responsable de la dégradation de la matière organique [33]. Les macrophytes JE et TG contribuent donc à une meilleure minéralisation des eaux grises par les micro-organismes fixes sur les rhizomes [13, 21, 22]. Leur association serait intéressante pour éliminer les polluants et les particules chargées des eaux usées. Le bassin EB a de bons rendements pour la couleur en ce qui concerne le temps de séjour (20 jours). Le règlement des eaux usées dans les bassins aérés ne sont pas efficaces pendant une courte période. On peut dire que la décantation est beaucoup plus efficace pour éliminer la couleur avec un rendement intéressant (69,74 %). La température a varié uniformément autour de 28,3°C et 28,7°C dans tous les bassins. Cela semble être une bonne condition climatique propice à la croissance des micro-organismes responsables de la dégradation des polluants dans les eaux usées [12]. Le pH de l'eau variait du faible pH alcalin à un faible acidité dans les bassins TJ et TG, d'une alcalinité faible à un pH neutre dans le bassin JE. Il est resté constant autour de la neutralité dans le bassin témoin EB. La diminution du pH peut être due aux différentes réactions qui transforment l'azote organique en ammonium [28].

Tableau 1: Paramètres physicochimiques des eaux usées traitées

BASINS	PARAMETERS					
	Residence time (days)	T (°C)	pH	TDS (mg/L)	Cond (µS/cm)	Color (uca)
TJ	25/05/2015	28.4	7.72	242	393,25	655.25
	28/05/2015	28.7	8.37	129	481	138
	05/06/2015	28.5	6.43	46	92	54
	13/06/2015	28.4	6.85	16	30	20
Yield (%)	12 <sup>th</sup> day	-0.28	16.70	80.99	76.60	91.75
	20 <sup>th</sup> day	0.07	11.26	93.38	92.37	96.94
TG	25/05/2015	28.4	8.39	153	539	122
	28/05/2015	28.5	7.52	26	53	71
	05/06/2015	28.3	7.06	24	24	22
	13/06/2015	28.5	7.86	192	494	152
Yield (%)	12 <sup>th</sup> day	0.35	15.85	84.31	95.54	81.96
	20 <sup>th</sup> day	-0.35	6.317	-25.49	8.34	-24.59
JE	25/05/2015	28.7	8.37	129	481	138
	28/05/2015	28.5	6.43	46	92	54
	05/06/2015	28.4	6.85	16	30	20
	13/06/2015	28.3	6.91	58	115	28
Yield (%)	12 <sup>th</sup> day	1.04	18.16	87.59	93.76	85.50
	20 <sup>th</sup> day	1.39	17.44	55.03	76.09	79.71
EB	23/05/2015	28.42	7.72	242	393.25	655.25
	28/05/2015	28.4	7.97	163	423	123
	05/06/2015	28.5	7.11	136	272	95
	13/06/2015	28.4	6.89	78	178	54
Yield (%)	12 <sup>th</sup> day	-0.28	7.90	43.80	30.83	85.50
	20 <sup>th</sup> day	0.07	10.75	67.76	54.73	91.75

### 3.4.Élimination des nutriments

Les concentrations des orthophosphates, des nitrates et de l'azote total kjeldahl ( $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{NO}_3^-$  et NTK) ont été surveillés pendant le traitement et les résultats sont rapportés sur les histogrammes de la Fig. 5. À partir des histogrammes, il ressort que les nutriments ont été réduits de 2,54 à 0,06 mg/L pour le nitrate et de 2,1 à 0,31 mg/L pour NTK en combinant *Thalia geniculata* et l'*Eichhornia crassipes* (Fig. 5a). Lors de l'utilisation de *Thalia geniculata* séparément, la concentration est passée de 2,54 à 0,8 mg/L pour les nitrates et 2,1 à 0,93 mg/L pour NTK (Fig. 5b); tandis que la concentration a diminué de 2,54 à 1,17 mg/L pour les nitrates puis 2,1 à 1,27 mg/L pour les NTK dans le bassin de l'*Eichhornia crassipes* (Fig. 5c). Ces rendements correspondent aux rendements épuratoires de 97,64 % ( $\text{NO}_3^-$ ) et 82,38 % (NTK) dans le bassin TJ ; 68,53 % ( $\text{NO}_3^-$ ) et 55,71 % (NTK) dans le bassin TG. Dans le bassin JE, les rendements correspondants ont été évalués à 53,98 % ( $\text{NO}_3^-$ ) et 39,52 % (NTK). Une suppression efficace de nutriment a pu être notée avec la combinaison de *Thalia geniculata* et l'*Eichhornia crassipes*. Un effet synergique des deux espèces concernant l'élimination des nitrates (TJ du bassin) pourraient également être remarqué. Ces rendements de traitement étaient en accord avec ceux obtenu par [34] (93 %  $\text{NO}_3^-$ ) en Grande-Bretagne; et plus élevé que celui rapporté par [19] (46 % pour NTK). La rendement était comparable à celui observé par Gourdon [10] (97,2 % NTK). En général, les orthophosphates ont été faiblement réduits dans le bassin TJ (22,92 %) et TG (23,95 %) mais ont été fortement éliminés par la jacinthe d'eau (bassin JE). Cela a mis en évidence l'importance effets synergiques mentionnés ci-dessus en ce qui concerne la élimination des ions nitrate. De plus, il a été constaté que l'*Eichhornia crassipes* élimine mieux les orthophosphates que *Thalia geniculata* qui élimine mieux les ions nitrates [22]. Les résultats montrent que lorsqu'ils sont combinés, il y a sélection de polluant à éliminer; avec la prédominance de la tendance de *Thalia geniculata* à éliminer les nitrates.

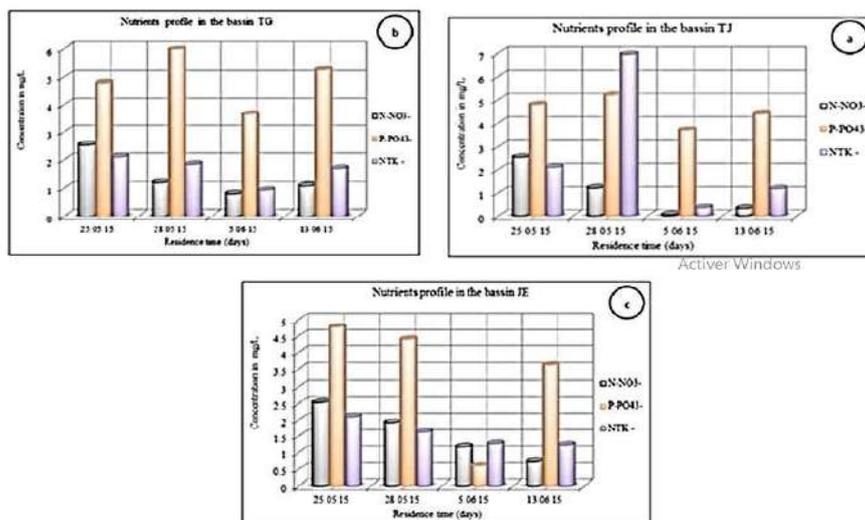


Fig. 5. Evolution du nitrate, de l'orthophosphate et de l'azote Kjeldahl (mg/L) dans le (a) bassin

avec à la fois *Thalia geniculata* et la jacinthe d'eau (TJ), (b) bassin avec *Thalia geniculata* TG (c) Jacinthe d'eau du bassin JE.

La figure 6 montre l'efficacité d'élimination des nutriments dans le bassin de contrôle EB. D'après les histogrammes, on peut clairement observer qu'il s'agissait d'une élimination négative ou médiocre des nutriments. En effet, NTK a été éliminé tout au long du processus ; en fait lorsque la concentration augmente dans le milieu, le rendement était de -25%, -5% et -25% respectivement les 3, 12 et 20ème jour. Concernant les orthophosphates, -5%, 23% et 2% ont été obtenus respectivement le 3, le 12 et le 20ème jour. Cette variante d'orthophosphate et de la concentration totale de Kjeldahl pendant le traitement est liée aux activités microbiennes ; l'augmentation de l'orthophosphate et la concentration totale d'azote Kjeldahl dans le milieu le 3ème jour ; serait la conséquence de la minéralisation des composés azotés et phosphorés [35]. La diminution de la concentration de phosphore et le positif rendement d'élimination au 12e jour, est dû à l'aérobie stricte bactéries qui absorbent la forme des ions en raison de l'aspect aérobic de l'environnement. A la fin de l'expérience, l'aérobie stricte des bactéries rejettent le phosphore sous forme solide, en raison de la diminution de la teneur en oxygène dissous et l'environnement anaérobie. Une remarque similaire a déjà été faite lors d'une étude réalisée à Grenoble en 2006. Cela justifierait la faible élimination du phosphore au 20e jour. De même, l'amélioration de l'élimination des NTK au jour 12 par rapport au jour 3ème, pourrait être la conséquence de la dénitrification<sup>1</sup>, réactions qui ont réduit la teneur en nitrates. Le contact des boues avec l'eau du bassin EB à la fin de l'expérience, serait responsable de l'augmentation de l'ammoniacque l'azote, d'où celle de l'azote total de Kjeldahl dans le bassin. Ce constat a été confirmé par celui de Deronzier [28]. Une comparaison des résultats des Fig. 5a, 5b, 5c avec ceux de la Fig. 6 a révélé que la décantation/débouage agit peu sur les nutriments. On en déduit que les plantes aquatiques jouent un rôle important pour réduire les nutriments des eaux grises.

Fig. 6. Rendements de traitement du nitrate, de l'orthophosphate et de l'azote Kjeldahl (mg/L) du bassin EB.

## Conclusion

L'effet synergique de *Thalia geniculata* et de la jacinthe d'eau lors du phytotraitement des eaux usées domestiques a été enquêté. Les résultats ont montré que le bassin (TJ) contenant l'association de *Thalia geniculata* et de jacinthe d'eau permet une meilleure clarification des eaux grises. Ce bassin avait atteint entre le 12ème et le 20ème jour, les rendements jusqu'à (91,82%) pour les MES, turbidité (90,96%), couleur (96,94%), conductivité (92,37%), TDS (93,38%), nitrates (97,64%), azote total kjeldahl (82,38 %) et orthophosphate (22,92 %). Le bassin TG contenant *Thalia geniculata* a des rendements intéressants [PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (23,55 %) et MES (93,45 %)] qui étaient proches de celles du bassin TJ. Il en résulte une amélioration de l'élimination des nitrates lorsque les deux espèces étaient combinées à partir du traitement des

<sup>1</sup> <https://www.ac-grenoble.fr/disciplines/stibiotechnologies/articles.php?lng=fr&pg=107>

eaux usées. Ceci montre clairement que l'effet de synergique de *Thalia geniculata* et de la *Eichhornia crassipes* est important au niveau du bassin TJ. La combinaison des deux macrophytes ont également facilité l'élimination des paramètres physico-chimiques des eaux usées domestiques.

## Références

- [1] C. Kwatar, "Essai de dépollution des eaux usées de la mine de Draa Sfar par phytoépuration, « Mémoire de stage de fin d'études », Université Cadi Aynad, 2014.
- [2] J. Casanova, N. Cagnimel, M. Devau, P. Pettenati, P. Stollstainer, BRGM."Recharge artificielle des eaux souterrains : état de l'art et perspectives." Rapport final. Convention Onema BRGM, 120p, 2013.
- [3] D. Moctar, " Approche hydrochimique et isotopique de la relation eau de surface (nappe et du mode de recharge dans l'estuaire et la basse vallée du fleuve Sénégal", Thèse de doctorat de 3ème cycle en Géologie Appliquée, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, 217p, 2008.
- [4] B. Odoulami, "Approvisionnement en eau potable dans les grandes villes du Bénin. Quelles politiques pour l'avenir ? Cas de Cotonou, Porto-Novo et Parakou", Mémoire de DEA fr Gestion de l'Environnement, UAC Abomey-Calavi, 55p, 1999.
- [5] Y. El Guamri, D. Belghyti, M. Cissé, K. El kharrin, I. Sylla, S. Raweh, H. Barkia, T. Hassouni, A. Jamber, "Etude physicochimique et parasitologique des eaux usées destinées à l'irrigation du périmètre périurbain de Fouarat (Kenita, Maroc)", Agronomie Africaine, 19 (3) : 251-261, 2007.
- [6] G. Baok, "Pollution des eaux et rivières et impact sur les populations riveraines : cas de la rivière Mgoua dans la zone industrielle de Douala –Bassa", Mémoire de Master en gestion de l'environnement, Université de Dschang-FASA, 2007.
- [7] D. Kuitcha, A. L. F. Takoundjou, J. Ndjama, "Apport de l'hydrochimie et de l'isotope de l'environnement à la connaissance des ressources en eaux souterraines de Yaoundé, Cameroun", Journal of Applied Bioscience, 67 : pp. 5194-5208, 2013.
- [8] MSP/MEHU, "Développement du secteur de l'Assainissement", Document de Politique Nationale, Programme d'Alimentation en Eau et d'Assainissement, Afrique de l'Ouest, p. 1132, 1995.
- [9] A. Filali, H. Hauduc, L. Rieger, L. Philippe, F. Nauleau, S. Gillot, " Analyse et consolidation de données de fonctionnement des stations d'épuration : une étude de cas", Techniques sciences méthodes, génie urbain génie rural, n° 12 : pp. 105-135, 2015.
- [10] R. Gourdon, M. Kanita, M. Gautier, B. Kimi, P. Mickel, "Traitement des eaux usées domestiques par une installation de filtres de roseaux à écoulement vertical C, N, P et micropolluants", Colloque International E3D, Lomé, 2016.
- [11] E. Demers, « Effet des macrophytes aquatiques sur le traitement d'eau contaminée à l'ACC et au PCP", Mémoire d'obtention du grade de Maîtrise en sciences biologiques, Université de Montréal, janvier 2015.
- [12] A. V. O. Akowanou, « Phytoépuration des eaux usées domestiques: Evaluation des paramètres de performances par combinaison de trois macrophytes flottants", Mémoire de master en environnement, 2012.
- [13] M. P. Aina, N. M. Kpondjo, J. Adoukpe, D. Chougourou, M. Moudochirou, « Etude des efficacités épuratoires de leurs macrophytes flottants dans le traitement des eaux usées », Recherche Journal des sciences chimiques; Vol. 1 (3) : pp. 2319-1414, Octobre 2012.
- [14] M. Seidl, J. M. Mouchel, "Valorisation des eaux usées par lagunage dans les pays en voie de développement", Programme de gestion durable des déchets et de l'assainissement urbain, rapport final, 40p, 2003.
- [15] M. Abissy, L. Mandi, "Utilisation des plantes aquatiques enracinées pour le traitement des eaux usées urbaines: Cas du roseau", Rev. Sci. Eau, pp. 285-315, 1999.
- [16] P. Mollé, M. Boucher, C. Barbier, S. Lapon, C. Lacour, "Conception et exploitation des stations de traitement des eaux usées des petites et moyennes collectivités (EPNAC), rapport final atelier thématique EPNAC << Guide d'exploitation>>, action 40-2, 2015.
- [17] T. Fujita, « Technologie environnementale : épuration de l'eau, dépollution des sols, épuration de l'air et recyclage », Recherche sur Artificats Center for Engineering, Université de Tokyo, Japon, 2015.
- [18] C. Bourtin, O. Caquel, N. Dimastromateo, J. Dumaine, G. Fernandes, C. Gerrassi, S. Parotin, C. Tscherter, "Ouvrages de traitement par filtres plantées de roseaux", Guide d'exploitation, ONEMA (EPNAC), janvier 2015.
- [19] N. F. Allouche, "La phytoremédiation pour la dépollution des eaux usées", Bulletin des Energies Renouvelables, N°10, décembre 2006. [20] C. Eme, P. Mollé, "Stockage des eaux usées transformées en vue de leur réutilisation", Rapport final IRSTEA / EPNAC/ ONEMA, décembre 2013.
- [21] S. Yapoga, Y. B. Ossey, V. Kouamé, « Phytoremediation of zinc, cadmium, cuivre et chrome provenant des eaux usées industrielles par Eichhorniacrassipes », International Journal of Conservation Science, Volume 4, Numéro 1 : 81-86, janvier-Mars 2013.
- [22] F. Yovo, B. Dimon, C. E. Azandegbe, F. Suanon, E. Sagbo, D. Mama, M. Aina, « Phytoremédiation : Investigation et valorisation du pouvoir purifiant de *Thalia geniculata* pour traitement des eaux usées domestiques », Research Journal of Sciences chimiques, vol. 5 (12) : 1-6, 2015.
- [23] Q. Yi, Y. Kim, M. Tateda, "Évaluation de la réduction de l'azote dans bassins de jacinthe d'eau intégrés avec stabilisation des déchets étangs ». Dessalement, Vol. 249 n° 2 : p. 528-534.

- [24] L. Jianbo, F. Zhihu, Y. Zhaozheng, "Performance of a water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) system in the treatment of wastewater from duck farm and the effects of using water hyacinth as duck feed", *Journal of environment sciences*, 20: pp. 513-519, 2007.
- [25] R. F. Polomski, G. B. Douglas, T. Whitwell, "Differential Nitrogen and Phosphorus Recovery by Five Aquatic Garden Species in Laboratory-scale Subsurface-constructed Wetlands, *Clemson University, HortScience*, 43 (3): pp. 868-874, 2008.
- [26] D. Mama, "Méthodologie et résultats du diagnostic de l'eutrophisation du lac nokoué (Bénin)", Thèse de doctorat, Université de Limoges, 141p, 2010.
- [27] J. N. Louvet, "Etude des variations en oxygène dissout rencontrées dans les systèmes d'aération en épuration des eaux et mise au point d'un réacteur de type scale-down", Mémoire de Master complémentaire en génie sanitaire, 2007.
- [28] G. Deronzier, S. Schérite, Y. Racault, J. P. Canler, A. Liénard, A. Héduit, P. Duchène, "Traitement de l'azote dans les stations d'épuration biologique des petites collectivités", Document technique FNDAE n° 25, 2001.
- [29] J. Chaib, J-P. Thorez, "L'épuration des eaux usées par les plantes", « Connaitre pour agir », 2002.
- [30] A. E. I. Nougbo, P. Sessou, A. K. Youssao, C. P. Agbangnan, D. Mama, K. C. D. Sohounhloue, "Évaluation de gel d'Aloevera en feuilles comme un flocculant naturel: criblage phytochimique et élimination de la turbidité des essais d'eau par coagulation floculation", *Res. J. Sci.*, 5 (1): 9-15, 2016.
- [31] M. R. Toklo, R. G. Josse, N. Topanou, A. F. C. Togbé, P. Dossou- Yovo, B. Coulomb, "Caractérisation physicochimique des lixiviats d'une décharge: cas du lieu d'enfouissement sanitaire de Oussè – Ouidah (Sud Bénin)", *International Journal of Innovation and Applied Studies*, Vol 13: pp. 921–928, décembre 2015.
- [32] M. Kleche, "Utilisation des systèmes biologiques dans l'épuration des eaux usées cas de la région d'Annaba", Thèse en vue de l'obtention d'un diplôme de doctorat spécialité: biologie végétale, Université Badji Mokhtar – Annaba, 2003.
- [33] BEIERE (Bureau d'Etudes Industrielles Energies Renouvelables et Environnement), "Description et principe de fonctionnement d'un filtre planté de roseaux à écoulement vertical (FPRV)", *Eco-gestion d'habitats*, 2009.
- [34] DRELB (Direction Régionale de l'Environnement et du Logement Bretagne), "Etude d'impact du traitement des effluents urbains", Fiche de cadrage de l'autorité environnementale, 2012.
- [35] J. Sibony et B. Bigot, "Traitement des eaux usées urbaines", Direction technique: Omnium de Traitement et de Valorisation (OTV), 1993.

## Impacts des résidus polluants des effluents de l'usine de production de l'alcool sur les eaux de la rivière Klou à Logozohè au Bénin

<sup>1</sup>Mickael Vitus Martin Kpessou Saizonou, <sup>1</sup>Léonce Firmin Comlan Dovonon, <sup>1</sup>Magloire Acakpo Nonvignon Gbaguidi, <sup>2</sup>Olphiz Mahuena Mensah, <sup>1</sup>Calixte Akotegnon, <sup>2</sup>Samson Agossou, <sup>2</sup>Azim Abibou, <sup>2</sup>Daouda Mama

<sup>1</sup>UREEQ-LERCA-EPAC-Université d'Abomey Calavi (UAC) ; <sup>2</sup>DGEA-INE-UAC [kpessou67@hotmail.com](mailto:kpessou67@hotmail.com) - 01 BP 2009- Cotonou-Bénin

### Résumé

Cette étude évalue la pollution de la rivière Klou par les résidus des effluents provenant de l'industrie YIBS spécialisée dans la production d'alcool alimentaire à Logozohè, après la suspension de ses activités. Des échantillons d'eaux ont été prélevés en saison sèche sur douze sites au niveau de l'effluent et le long de la rivière Klou et ont été analysés sur site et au laboratoire suivant les méthodes standards, pour déterminer leurs caractéristiques physico-chimiques. Les résultats obtenus ont permis de constater de la pollution persistante des eaux de la rivière. Les valeurs de la turbidité, des teneurs en magnésium, en fer, en manganèse, en orthophosphates, la DBO et la DCO sont supérieures aux normes béninoises de qualité de l'eau de boisson et des eaux résiduaires. En effet les teneurs en fer par exemple, sont comprises entre 0,10 mg/L et 11,3 mg/L et celles en manganèse, entre 0,02mg/L et 0,4mg/L. Le rapport DBO/DCO varie entre 0,13 et 0,62, indiquant ainsi l'irrégularité de la biodégradabilité des eaux. La pollution azotée globale quant à elle, est caractérisée par des valeurs comprises entre 2,52 mg/L et 16,2 mg/L pour le NTK. Toutes ces valeurs indiquent la persistance des polluants des effluents de l'usine dans les eaux de la rivière après la suspension des travaux de l'usine.

**Mots-clés :** Klou, effluents, YIBS, pollution, physico-chimique.

### Abstract

This study assesses the pollution of the Klou River by effluent residues from the YIBS food alcohol production industry in Logozohè, after the suspension of its activities. Water samples were collected from twelve effluent sites along the Klou River and were analyzed on site and in the laboratory using standard methods to determine their physical-chemical characteristics. The results revealed that pollution of river water is not uniform along the stream. The values of turbidity, magnesium, iron, manganese, orthophosphate, BOD and DCO are higher than Benin's drinking water and waste water quality standards. In fact, iron levels, for example, range from 0.10 mg/L to 11.3 mg/L and those in manganese, between 0.02mg/L and 0.4mg/L. The BOD/DCO ratio ranges from 0.13 to 0.62, indicating the irregularity of water biodegradability. Global nitrogen pollution is characterized by values between 2.52 mg/L and 16.2 mg/L for NTK. All of these values indicate the persistence of plant effluent pollutants in the river waters after the plant was suspended.

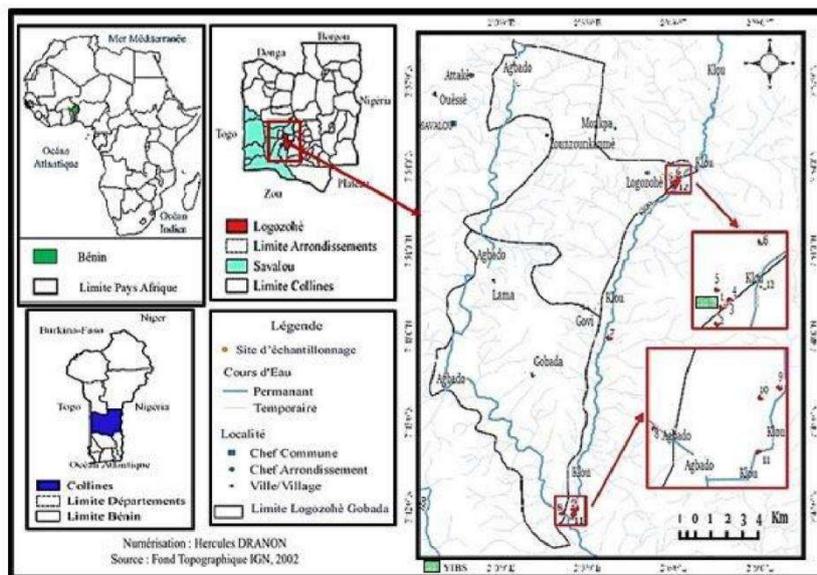
**Keywords :** Klou, effluents, pollution, physico-chemical.

### Introduction

De nos jours, au défi croissant que constitue la demande en eau et sa gestion, s'ajoutent l'augmentation de plus en plus inquiétante de la quantité des déchets, la diversification des pollutions liée à l'industrialisation galopante, les problèmes de rejet des eaux usées et leur influence directe ou indirecte, à long ou court terme sur l'environnement et sur la santé publique [1]. Dans nos pays en voie de développement, les industriels profitant du manque de rigueur dans le suivi de l'application de la législation rejettent la majorité de leurs eaux résiduaires dans l'environnement pratiquement à l'état brut. C'est le cas au Bénin de l'industrie *Yueken International Benin Sarl (YIBS)* spécialisée dans la production d'alcool alimentaire à base de cossettes de manioc implantée à Logozohè dans la commune de Savalou à proximité de la rivière Klou. Ces eaux usées rejetées dans le milieu récepteur demeurent fortement chargées en divers polluants organiques solubles dans l'eau dont les désagréments environnementaux ont suscité la suspension des activités de l'usine. Ce travail évalue les impacts des résidus, en saison sèche, des polluants des effluents de l'usine sur la rivière Klou, après la suspension de son fonctionnement.

## 2- Matériel et méthodes

### 2-1- Présentation de la zone d'étude



**Figure 1** : Carte hydrographique et points d'échantillonnage

La zone d'étude est constituée de l'usine YIBS et du bassin-versant partant de la source Klou, à l'exutoire du pont de Logozohé. D'une altitude moyenne de  $(178,1 \pm 19,9)$  m et couvrant une superficie d'environ  $300 \text{ km}^2$ , le bassin versant est situé entre  $07^{\circ}53,199'$  de latitude Nord et  $02^{\circ}05,995'$  de longitude Est [2].

**Tableau 1:** Points d'échantillonnage

N° Description du site

1	S1 : un site témoin. Station de pompage par l'industrie YIBS, de l'eau à l'état brut de la rivière Klou.
2	S2, S3, S4 : situés sur le cours de l'effluent liquide principal de l'usine en direction de l'usine.
5	S5 : situé sous le pont de Logozohé.
6	S6 : un des réceptacles des eaux de la rivière Klou et des effluents de l'usine YIBS situé après le pont de Logozohé. C'est une poche d'eau en saison sèche.
7	S7 : situé au niveau du déversoir du Barrage Klou, réceptacle des eaux de la rivière Klou juste après l'embouchure entre l'effluent de l'usine et celle-ci (Klou).

S8 : Sadohouin<sup>1</sup>. Eau de consommation des populations

S9 : situé au niveau de la rivière Agbado avant le point de confluence entre elle et la rivière du Klou.

S10 : situé au niveau de la rivière Klou avant le point de confluence entre elle et celle d'Agbado

S11 : point à l'embouchure Klou-Agbado.

S12 : point situé après le point de confluence Klou-Agbado.

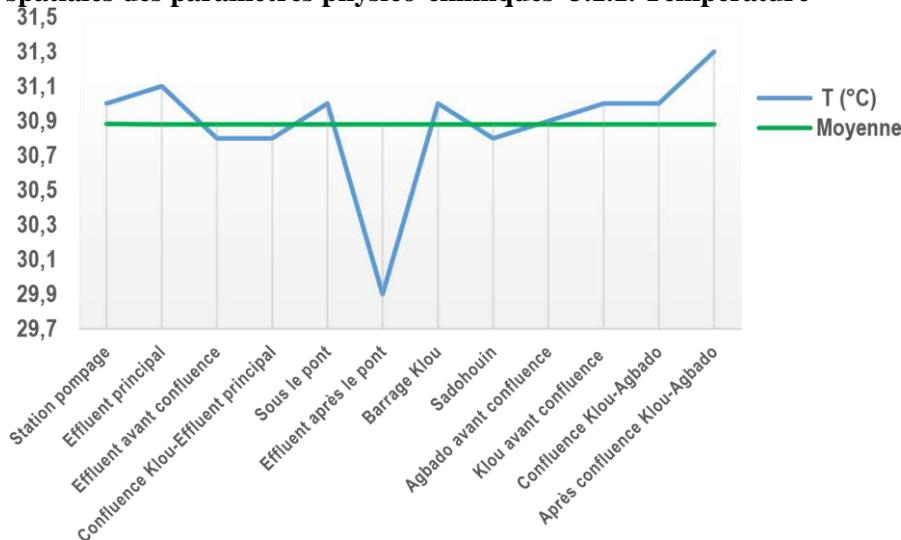
## 2-2-Echantillonnage

Vingt-quatre échantillons d'eaux ont été prélevés sur 12 sites. Sur l'ensemble de ces échantillons, le pH, la température, la salinité, la conductivité, les TDS, l'oxygène dissous, le potentiel d'oxydo-réduction et la teneur en fer ont été déterminées sur place. Tous ces paramètres, excepté la teneur en fer total, ont été mesurés à l'aide d'un multi paramètre de type Aqualyse Professional Plus YSI.

La teneur en fer a été mesurée par voie chimique à l'aide du Kit d'Aquamerck 1.11136.0001. Les échantillons placés dans une glacière contenant des accumulateurs de froid à environ 4°C ont ensuite été transportés au laboratoire pour les analyses complémentaires qui ont été effectuées selon les méthodes standards (Rodier, 2009).

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Variations spatiales des paramètres physico-chimiques 3.1.1. Température



**Figure 1:** Variations spatiales de la température

Les valeurs de la température varient entre 29,90°C et 31,30°C avec une moyenne de  $(30,88 \pm 0,34)$  °C et sont conformes aux normes de qualité des eaux résiduaires en République du Bénin car les écarts de température entre les eaux réceptrices de la rivière Klou et celles de l'effluent provenant de l'usine sont inférieures à la valeur recommandée égale à 5°C. En comparant les valeurs enregistrées à celles d'autres auteurs, on note que la valeur moyenne est inférieure à celle obtenue par Ahouanchédé, (2019) à savoir  $(35,38 \pm 0,57)$  °C en saison sèche sur les mêmes sites pendant que l'usine était en fonctionnement.

#### 3.1.2 pH



**Figure 2:** Variations spatiales du pH

Les valeurs du pH varient entre 5,3 et 7,4 avec une moyenne de 6,7 légèrement supérieure à celles enregistrées par Ahouanchédé [4] en saison sèche sur la rivière Klou mais très proche de celle trouvée par Hounaho [2] en saison pluvieuse sur cette même rivière. Les valeurs de pH ne sont pas conformes aux normes béninoises [5] au niveau des sites S4, S5 et S6 car elles sont inférieures à 6,5, contrairement à celles des échantillons des autres points. Cette

particularité observée au niveau de ces trois points proches de l'usine est due aux produits chimiques, notamment l'acide phosphorique, utilisés dans le processus de production de l'alcool.

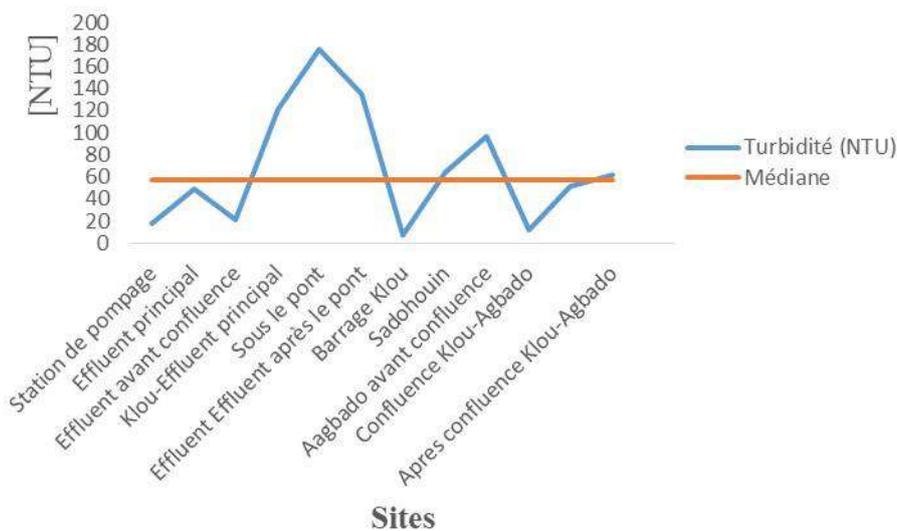
### 3.1.3. Conductivité électrique



**Figure 3:** Variations spatiales de la conductivité électrique

La conductivité électrique varie entre 120 µS/cm et 835 µS/cm avec une valeur médiane de 305,5 µS /cm. Les valeurs sont disparates avec un coefficient de variation égal à 73,32 dû aux fortes valeurs observées au niveau des sites S3, S4, S5, S6 et S8. Ces valeurs élevées se justifient pour les sites S3 et S4 par la présence des ions magnésium, bicarbonates et fer, contenus dans les eaux usées rejetées par l'usine. Au niveau des sites S5, S6 et S8, elles sont dues à la baisse du débit de la rivière en saison sèche, occasionnant l'accumulation des effluents de l'usine dans le lit du cours d'eau, avec pour conséquence une plus grande concentration d'ions. Les valeurs extrêmes enregistrées sont inférieures à celles obtenues par Ahouantchéde [4] au moment où l'usine était en fonctionnement à savoir 187,8µS/cm et 4640µS/cm. Néanmoins, toutes les valeurs notées sur l'ensemble de la zone d'étude sont inférieures à la valeur limite fixée par la réglementation égale à 1500 µS/cm [5].

### 3.1.4. Turbidité

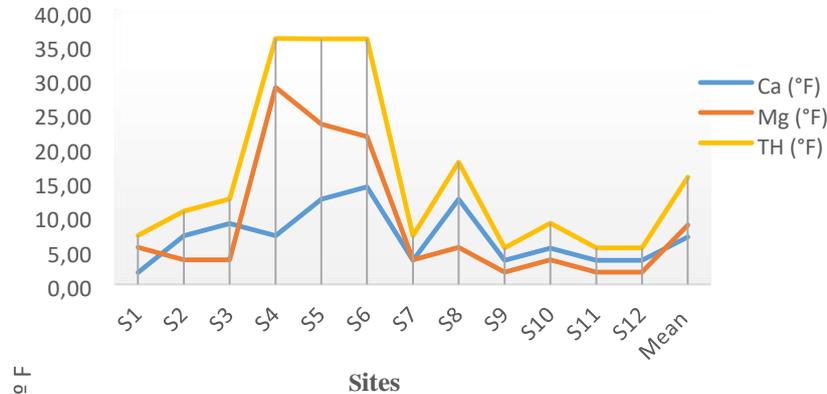


**Figure 4 :** Variations spatiales de la turbidité

La turbidité varie entre 6,31 NTU et 176 NTU avec une valeur médiane égale à 56,6 NTU. Les valeurs sont disparates avec un coefficient de variation égal à 80. dû aux fortes valeurs observées au niveau des sites S4, S5 et S6 au niveau desquels les valeurs sont largement supérieures à celle obtenue au site S7, réceptacle des eaux de la rivière Klou, juste avant la zone de confluence avec l'effluent principal de l'usine. Les valeurs élevées observées localement

pourraient être liées, soit à l'accumulation en saison sèche, des effluents chargés en MES dans le lit du cours d'eau, ou encore au tourbillonnement de l'eau au point de confluence entraînant la remontée en surface des sédiments. Toutes les valeurs sont également supérieures aux normes béninoises de qualité de l'eau potable dont la valeur limite est fixée à 5 NTU [6] ; malheureusement l'eau de la rivière est utilisée par certains riverains comme eau de consommation quelques fois sans aucun traitement adéquat.

### 3.1.5. Dureté de l'eau

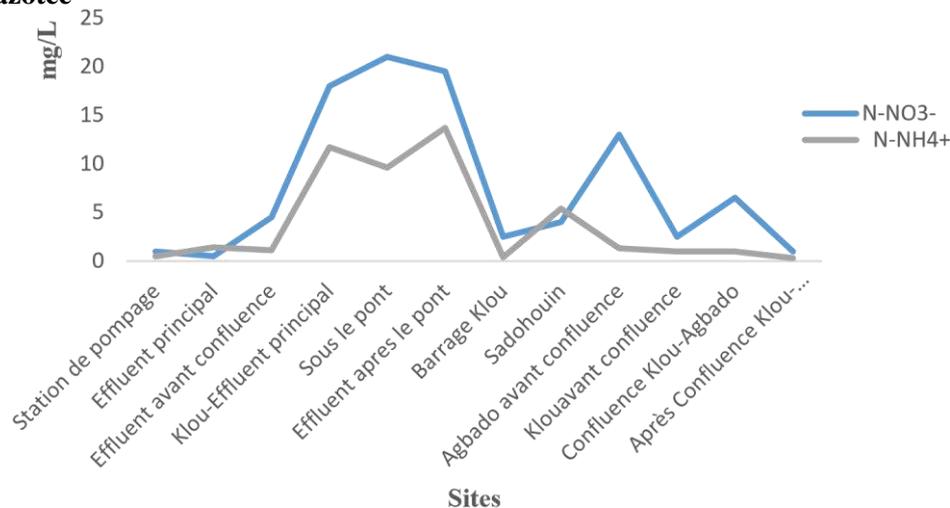


**Figure 5:** Variations spatiales de la dureté de l'eau

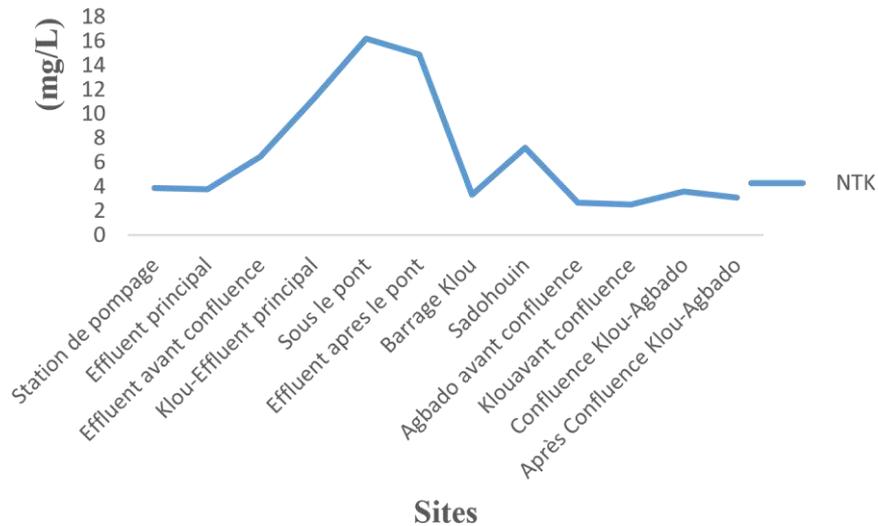
La comparaison des différentes duretés de l'eau aux normes béninoises en matière de qualité d'eau potable [6] permettent de déduire que :

- la valeur maximale de la dureté calcique est inférieure à la valeur limite fixée à 25°F tandis que la dureté magnésienne enregistrée au niveau du site S4 est supérieure au seuil fixé à 23,83°F ;
- toutes les valeurs obtenues pour la dureté totale à l'exception de celles des sites S4, S5 et S6 sont inférieures à la limite fixée à 20°F. Ces fortes valeurs résultant de l'accumulation des rejets des ions magnésium contenus dans les effluents de l'usine rendent les eaux de la rivière encore plus impropres à utiliser à des fins domestiques.

### 3.1.6. Pollution azotée



**Figure 6:** Variations spatiales des taux en ammonium et en nitrate



**Figure 7:** Variations spatiales des taux de l'azote total de Kjeldalh

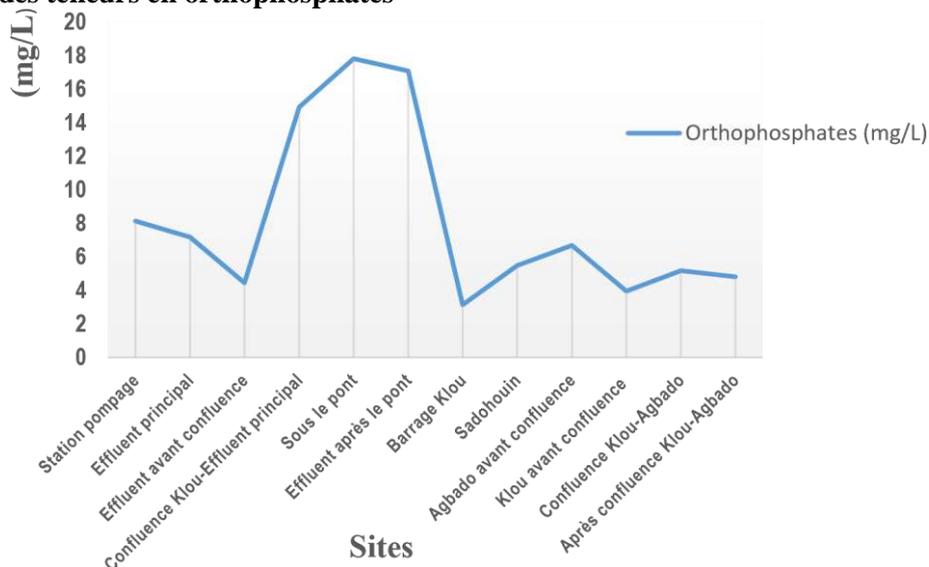
Signalons que les concentrations en nitrites sont toutes inférieures à 0,046 mg/L.

On note également que :

- les teneurs en nitrates varient entre 0,5 mg/L et 21 mg/L
  - les taux d'ions ammonium varient entre 0,3 mg/L et 13,7 mg/L
  - les valeurs de l'azote total de Kjeldahl oscillent entre 2,52 mg/L et 16,2 mg/L
- La disparité des valeurs constatée respectivement pour les teneurs en ion ammonium et en azote total de Kjeldahl sont dues aux fortes concentrations enregistrées au niveau des sites S4, S5, S6. Dans l'ensemble, les valeurs de NTK sont largement inférieures à la limite fixée à 200 mg/L par la norme béninoise en matière d'eaux résiduaires [5]. De même, toutes les valeurs relatives aux teneurs en nitrates et nitrites sont inférieures aux seuils recommandés par la norme de qualité de l'eau potable en République du Bénin [6] qui sont respectivement 45 mg/L et 3,2 mg/L.

De tout ce qui précède, on peut déduire que même si une forte pollution azotée de la rivière Klou n'est pas observée, la consommation continue de l'eau de la rivière par les populations riveraines n'est pas sans conséquences néfastes sur la santé des populations et expose la rivière à long terme, au phénomène d'eutrophisation.

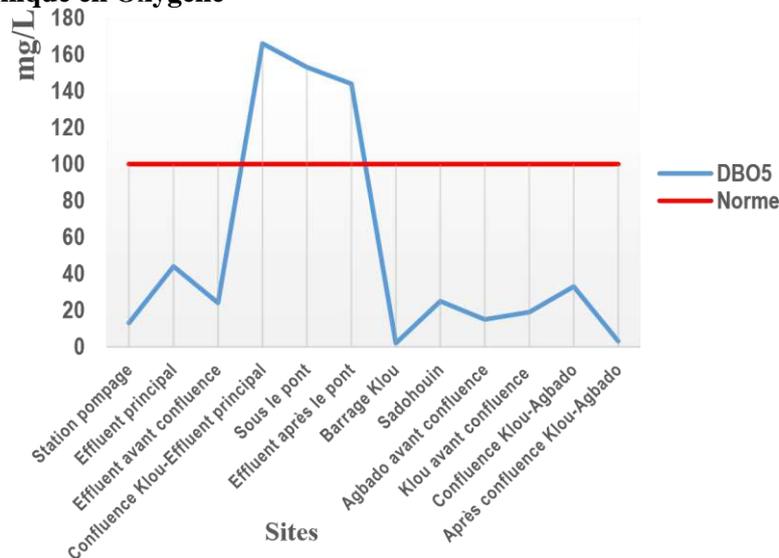
### 3.1.7. Variations des teneurs en orthophosphates



**Figure 11:** Variations spatiales des taux des ions orthophosphates

Les valeurs les plus élevées sont enregistrées au niveau des points où les effluents de l'usine se mélangent aux eaux de la rivière (S4, S5 et S6). Dans l'ensemble, les teneurs en orthophosphates sont toutes supérieures à la limite de rejet de phosphore fixée à 2 mg/L pour les milieux sensibles [5]. Les valeurs élevées des teneurs en phosphore enregistrées pourraient provenir, soit de l'accumulation dans les effluents des résidus des produits phosphatés utilisés comme agent de traitement des eaux des chaudières au sein de l'usine. Elles peuvent aussi provenir de l'infiltration d'eaux de ruissellement agricoles riches en engrais du fait de la proximité des terrains agricoles. Le surplus de phosphore présent pourrait également favoriser à long terme, l'eutrophisation de la rivière Klou en aval du point de rejet des effluents liquides de l'usine.

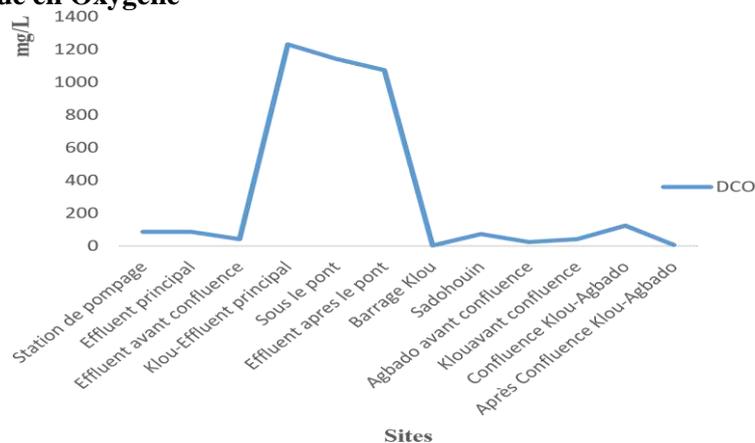
### 3.1.8. Demande Biochimique en Oxygène



**Figure 12:** Variations spatiales de la DBO

La DBO varie entre 2 mg/L et 166 mg/L. Les données sont cependant dispersées à cause des fortes valeurs observées au niveau des sites S4, S5 et S6 où les valeurs enregistrées sont supérieures à la limite de 100 mg/L fixée par la réglementation béninoise en matière d'eaux résiduaires [5]. Ces valeurs localement élevées seraient dues à la concentration, en saison sèche, de la matière organique suite à une accumulation des effluents de l'usine dans des poches d'eau.

### 3.1.9. Demande Chimique en Oxygène

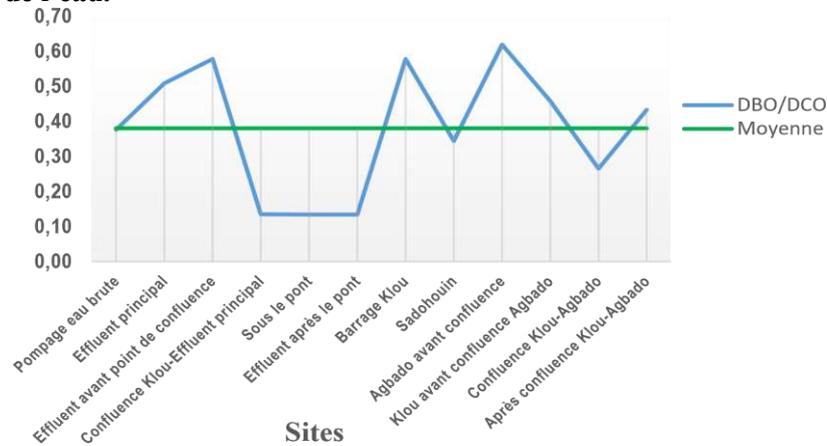


**Figure 13:** Variations spatiales de la DCO

La DCO est comprise entre 3,46 mg/L et 1231,31 mg/L et comme la DBO5, les données sont disparates à cause des valeurs élevées enregistrées au niveau des sites S4, S5 et S6 et qui témoignent de la présence d'importantes quantités de matières organiques dans la rivière. Ceci pourrait provenir des aires agricoles situées à proximité. Au Bénin, il n'existe pas encore de valeur limite pour la réglementation de la DCO des rejets industriels agroalimentaires.

Cependant, comparées au seuil de 300 mg/L fixé pour les autres industries [5], les valeurs obtenues permettent de conclure sur l'ensemble de la zone, que seules les valeurs enregistrées sur les sites S4, S5 et S6 sont largement supérieures à cette limite.

### 3.2. Biodégradabilité de l'eau.



**Figure 14:** Variations spatiales du rapport DBO/DCO

Le rapport DBO/DCO varie entre 0,13 et 0,62 avec une moyenne de  $(0,38 \pm 0,18)$ .

Sur l'ensemble de la zone d'étude, les eaux au niveau des sites S2, S3, S7 et S9 sont facilement biodégradables ( $DBO_5/DCO > 0,5$ ), celles des sites S1, S8, S10 et S12 difficilement biodégradables avec des souches bactériennes sélectionnées ( $0,33 < DBO_5/DCO$ ) alors qu'au niveau des sites S4, S5 et S6 elles sont non biodégradables ( $0 \leq DBO_5/DCO < 0,33$ ). Le caractère non biodégradable noté au niveau des sites précédents confirme leur importante charge en matière organique et par ricochet leur implication dans la pollution organique de la rivière Klou.

### Conclusion

De tout ce qui précède, on constate qu'après la cessation des activités de l'industrie YIBS, les concentrations de la plupart des différents paramètres physico-chimiques étudiées ont quelque peu régressé en comparaison aux résultats enregistrés au cours de la même saison et dans la même zone pendant que l'usine était en activité [4]. Cependant les résidus des polluants demeurent toujours présents dans des poches d'eau sur le trajet de l'effluent principal de l'usine et dans les cours d'eau réceptacle de cet effluent que sont la rivière Klou et le fleuve Agbado. Tout ceci est préjudiciable à la population riveraine dont une frange non négligeable utilise l'eau de ces cours d'eau pour la consommation et quelques fois malheureusement sans traitement initial adéquat.

### Références bibliographiques

- [1] Saisonou M. V .K . (2012). *Caractérisation physico- chimique des effluents de l'abattoir de Cotonou et leurs impacts sur la nappe phréatique. Proposition de filière de traitement.* Thèse de doctorat. Université d'Abomey- Calavi (Bénin). 221 p
- [2] Hounaho S.F., (2017). *Impacts environnementaux des rejets industriels de l'usine de production d'alcool alimentaire sur l'écosystème de la rivière Klou de Logozohè : cas des rejets liquides.* Mémoire de Master. Génie Rural et Maîtrise de l'Eau. Institut National de l'Eau (INE). Université d'Abomey-Calavi (UAC), 94p.
- [3] Rodier J., Legube B., and Merlet N., (2009). *L'analyse de l'eau.* Rodier. 9ème édition, 1579p.
- [4] Ahouantché H. S (2019). *Analyse environnementale du rejet des eaux usées industrielles dans la rivière Klou par l'usine de production d'alcool alimentaire à Logozohè.* Mémoire de Master. Institut de Géographie, d'Aménagement du Territoire et de l'Environnement (IGATE). Université d'Abomey-Calavi.
- [5] Décret n°2001-109 du 04 août 2001 fixant les normes de qualité des eaux résiduaires en République du Bénin
- [6] Décret n° 2001-094 du 20 février 2001 portant fixation des normes de qualité de l'eau potable en République du Bénin.



## Contrôle de qualité de l'eau minérale Miniji produite par la société espagnole MAPRAM SARL (Matières Premières Africaines et Mondiales) de Kabala-Mali

Bouare Y<sup>1</sup>, Togola M<sup>2</sup>, Cisse A<sup>3</sup>, Garcia-Blanch J<sup>4</sup>, Tolofoudye A<sup>5</sup>

BOUARE Yaya: Faculté des Sciences et Techniques/Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako BP : E 3206 Mali

TOGOLA Moussokoro: Faculté des Sciences et Techniques/Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako BP : E 3206 Mali

CISSE A: Faculté des Sciences et Techniques/Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako BP : E 3206 Mali

GARCIA-BLANCH JUAN: Société espagnole MAPRAM SARL Kabala-Mali

TOLOFOUDYE Adama: Faculté des Sciences et Techniques/Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako BP : E 3206 Mali

### Résumé :

L'approvisionnement de la population en eau potable est une stratégie de développement conçue et mise en œuvre pour atteindre les objectifs du développement durable. Bamako est approvisionné en eau potable de diverses sources. L'eau des forages comme toutes autres sources d'eau est susceptible de contenir des micro-organismes, des métaux ou des minéraux d'origine naturelle responsables de la persistance des maladies ou anomalies d'origine hydrique. Les eaux que nous consommons sont traitées avec les UV ou avec du chlore à risque cancérigène. Nos objectifs sont de produire l'eau potable sans produit chimique pour zéro maladie ou anomalie d'origine hydrique. Dans ce travail les qualités microbiologiques et physico-chimiques des eaux du forage sont évaluées. Vingt échantillons d'eau désinfectée par ozonation et deux d'eau brute sont contrôlés. L'analyse microbiologique révèle que les vingt échantillons n'étaient pas contaminés et les deux échantillons contenaient le pathogène *Pseudomonas aeruginosa*. L'analyse physico-chimique des eaux désinfectées indique un total de solides dissous 24,53 mg/L légère que 79,8 mg/L pour les eaux brutes. Le taux de Fe 1,44 ppm est élevé dans l'eau brute. Ces résultats montrent que Miniji est consommable sans danger sur la santé humaine. Cette innovation est en projet en milieu rural.

**Mots clés :** Eaux, Ozonation, Qualité, Potable.

## Quality control of Miniji mineral water produced by the Spanish company MAPRAM SARL (African and global raw materials) from Kabala-Mali

### Abstract

Providing the population with drinking water is a development strategy designed and implemented to achieve the objectives of sustainable development. Bamako is supplied with drinking water from various sources. Water from boreholes, like all other water sources, is likely to contain naturally occurring microorganisms, metals or minerals responsible for the persistence of water-borne diseases or anomalies. The water we consume is treated with UV rays or with chlorine with a carcinogenic risk. Our goals are to produce drinking water without chemicals for zero disease or waterborne anomalies. In this work, the microbiological and physicochemical qualities of the borehole water are evaluated. Twenty samples of water disinfected by ozonation and two of raw water are checked. Microbiological analysis revealed that all twenty samples were not contaminated and both samples contained the pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. The physico-chemical analysis of the disinfected water indicates a total of dissolved solids 24.53 mg / L light than 79.8 mg / L for the raw water. The level of Fe 1.44 ppm is high in raw water. These results show that Miniji is safe to consume for human health. This innovation is being planned in rural areas.

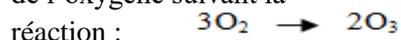
**Keywords:** Water, Ozonation, Quality, Potable.

### 1. Introduction

Certaines substances peuvent contaminer l'eau potable de votre puits. Leur présence peut être d'origine naturelle ou associée aux activités humaines. Les puits de surfaces sont plus exposés aux sources polluantes que les puits profonds. Cependant, l'eau des puits profonds est plus susceptible de contenir des métaux ou des minéraux d'origine naturelle. En tant que propriétaire de puits, et de surcroît producteur et vendeur d'eau potable, vous avez la responsabilité de vous assurer que votre eau est potable. La seule façon de vous assurer de la qualité de l'eau de votre puits est de la faire analyser régulièrement par un laboratoire [1]. L'objectif de l'analyse bactériologique d'une eau n'est pas d'effectuer un inventaire de toutes les espèces présentes, mais de rechercher soit celles qui sont susceptibles d'être pathogènes, soit celles qui sont indicatrices de contamination fécales.

L'analyse débute par l'acte de prélèvement qui doit mettre en œuvre des méthodes assurant l'absence de contamination et la survie bactérienne. Sont indiquées ensuite les méthodes générales d'examen bactériologique des eaux suivies des recherches de bactéries indicatrices de pollution et d'efficacité de traitement puis des bactéries spécifiques pathogènes. L'analyse des paramètres microbiologiques devrait se faire au moins deux fois par année et celle des contaminants chimiques au moins une fois pendant la période d'utilisation de votre puits. Les plus courants dans l'eau potable des puits sont les microorganismes (*Escherichia coli*, Coliformes fécaux ou totaux) et les

substances chimiques (Uranium ; baryum ; arsenic ; nitrates/nitrites ; fer, fluores ; manganèse etc ... [2]. Les trihalométhanes agissant sur les Nitrates/Nitrites dans l'eau sont des cancérigènes [3], l'arsenic, le Cyanure, provoquent des problèmes de cancer, de respiration et de circulation sanguine [4], le fer change le goût de l'eau, le plomb [5] a un effet neurologique. La méthode consistait à utiliser deux démarches approches: une approche microbiologique associée à une approche physico-chimique pour contrôler la qualité de l'eau Miniji. Le traitement de l'eau par ozonation est très intéressant vis-à-vis de la désinfection de l'eau. Il peut être utilisé pour des applications comme la potabilisation de l'eau ou encore le traitement des eaux de piscine. L'ozone est un puissant agent oxydant qui attaque la matière organique et les microorganismes. Ainsi l'ozone oxyde les microorganismes ce qui les rend inaptes à se développer, une désinfection de l'eau a donc lieu. De plus l'ozone permet de détruire les giardas, les cytosporidiums et les légionnelles là ou d'autres traitements sont inefficaces [6]. L'ozone doit être généré hors du bassin par décharge corona ou lumière UV [7]. La décharge corona comporte une source d'oxygène (air ambiant ou bonbonne d'oxygène), un filtre à poussière, un sècheur de gaz et un générateur d'ozone. L'ozone est produit à partir de l'oxygène suivant la



L'oxygène stimulé par des décharges électriques donne des radicaux d'oxygènes qui réagissent avec d'autres molécules d'oxygène pour donner l'ozone. L'ozone est transporté au niveau de l'eau à traitée. La dose d'ozone à produire dépend de la température de l'eau à la source, plus la température est élevée plus la dose d'ozone augmente [8]. Le traitement par ozonation a comme avantage la destruction des trichloramines et les trichlorométhanes, pas d'addition de produit chimique. La consommation d'énergie très élevée pour la création de l'ozone, gaz pur couteux pour éviter des réactions non voulues dans le générateur, le contrôle de la corrosion des métaux sont les inconvénients de l'ozonation. Les normes de l'OMS [9] de l'ISO 7218 [10] de la technique de Waterlot Christophe [11] et de la méthode du Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec [12] nous ont permis d'apprécier les qualité de l'eau Miniji

## 2. Matériel et méthodes :

Cette étude prospective analytique et longitudinale a eu lieu en 2019 dans les locaux du Laboratoire de Microbiologie Appliquée et du Centre de Mesures de la Faculté des Science et Techniques de l'Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako. Le site d'échantillonnage était l'usine de la Société MAPRAM.de Kabala Bamako-Mali. Le matériel de l'étude se compose en matériel de prélèvement, de mesure et d'analyse. Les matériels de prélèvement d'eaux étaient des sachets de 0,5 cl et de 0,333 cl. Les matériels d'analyse et de mesure composés de matériels de laboratoire microbiologique et physico-chimique utilisés pour rechercher les microorganismes, des subsistances minérales et les métaux lourds des échantillons d'eau. Les milieux de culture gélosés spécifiques étaient utilisés pour la recherche des salmonelles, Shigelles de Gram-, Streptocoques de Gram+, des coliformes totaux et fécaux Gram- des moisissures et levures. L'échantillonnage consistait à prélever de façon aléatoire deux sachets d'eau Miniji dont un de 500ml et le second de 333ml en temps réelle de 4 productions espacées en 4 temps (Août, Novembre, Février, Mai) en fonction du niveau d'eau souterrain en crue et en décrue. En tout 22 échantillons ont été prélevés dont vingt de Miniji et deux en eau brute.

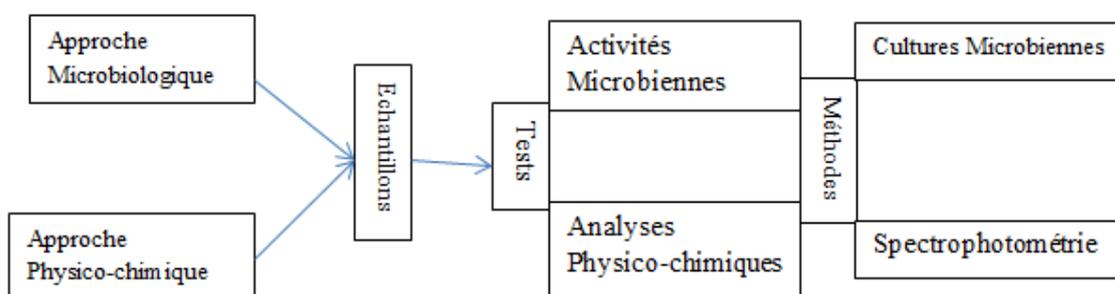


Fig 1: Diagramme des démarches.

Les paramètres évalués dans les échantillons étaient les des contaminants microbiologiques en UFC/ml (Unité Formant Colonie en millilitre), en espèces microbiennes par la méthode de culture microbienne, d'identification, et des éléments chimiques notamment les métaux lourds en ppm (partie par million) 1 ppm = 1 mg/kg par la méthode de spectrométrie. Les tests d'activités microbiologiques ont été réalisés par la méthode de culture microbienne en milieu solide gélosé de Salmonella Shigella agar, Streptococcal agar, Désoxycholate agar et de Sabouraud +

Chloramphénicol, pour la recherche respective des micro-organismes salmonella, Shigella Gram-, Streptocoques Gram+, des coliformes totaux et fécaux Gram- des moisissures et levures. Chloramphénicol éliminent les bactéries. Chaque milieu de culture solide en suspension a été pesé avec la balance, préparé selon les consignes du fabricant dans un bécher sur une plaque chauffante-agitante. Les milieux des flacons ont été stérilisés à 121°C pendant 15 minutes. Les milieux non autoclavables ont été surfusionnés dans le bain mari.

Dans chaque boîte de pétri 20 ml de milieu de culture stérilisé ont été distribués. 1000 µl d'échantillons d'eau homogénéisée avec le vortex étaient déposés sur le milieu et étalés avec le râteau sous la hotte.

Les milieux de cultures ensemencés étaient incubés dans des étuves réglés à 25°C, 37°C, et à 44°C pour la recherche respective de moisissures-levures, coliformes totaux, coliformes fécaux.

A 24 heures d'incubation, les colonies qui se sont développées à la surface étaient dénombrées avec le compteur colonie et par calcul standard après simple comptage en UFC/ml.

$$[N] = \frac{\sum C}{(n1+0,1n2) d.v}$$

Le calcul de la concentration en micro-organismes (ou UFC) [N] présents dans l'échantillon essai est une moyenne pondérée à partir des résultats de 2 dilutions successives. Pour que le calcul soit valable, il est nécessaire de compter sur au moins une boîte contenant au moins 15 colonies.

Σc la somme de toutes les colonies comptées sur toutes les boîtes retenues (et tel que au moins une des boîtes comptées contenait au moins 15 colonies).

V le volume inoculum appliqué à chaque boîte (en général exprimé en ml).

n1 le nombre de boîtes retenues à la première dilution (en général 2).

n2 le nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution (en général 2).

d le taux de dilution de la première dilution retenue pour les comptages sur boîte.

Arrondir le résultat calculé à deux chiffres significatifs.

La technique de simple coloration avec le bleu de méthylène, et de double coloration avec le violet de gentiane, Lugol, fuchsine, alcool, ont été utilisées pour déterminer le gramme et la morphologie des microorganismes observés au microscope sur lame avec huile d'immersion. Les paramètres physico-chimiques des 22 échantillons composés d'eaux traitées et d'eaux brutes dont les paramètres microbiologiques sont connus ont été déterminés selon le protocole défini par le centre d'expertise [12]. Les substances inorganiques dissoutes dans l'eau sont généralement: les chlorures, sulfates, carbonates, nitrates, les phosphates etc...

Les résultats étaient exprimés d'après l'équation :

$$E = \frac{(A - B) \times 1000}{D} \times 1000$$

Ou E : concentration des solides dissous contenus dans l'échantillon (mg/l) ;

A : poids de la capsule + solides (g) (après 105°C) ;

B : poids de la capsule vide (g)

D : volume d'échantillon utilisé (ml)

Pour les substances volatiles la différence est : A + solides avant calcination et B + solides après calcination.

Ceux-ci sont atomisés à l'aide d'une flamme alimentée d'un mélange de gaz ou d'un four électromagnétique. Le total des solides dissous dans l'eau ou concentration totale des substances dissoutes dans l'eau a été apprécié en fonction du tableau ci-dessous :

Elevé : effets esthétiques, cosmétiques et techniques

**Tableau I** : les valeurs de référence d'appréciation du total des solides dissous dans l'eau.

Moins de 300	Evaluation
300-600	Excellent
600-900	Bien
900-1200	Passable
Plus de 1200	Faible
	Inacceptable

Les métaux ont été quantifiés par spectrométrie d'absorption atomique, une technique servant à déterminer la concentration des éléments métalliques (métaux alcalins, alcalino-terreux, métaux de transition) ainsi que les métalloïdes dans un échantillon.

### 3. Résultats et discussion :

#### 3.1 : Résultats :

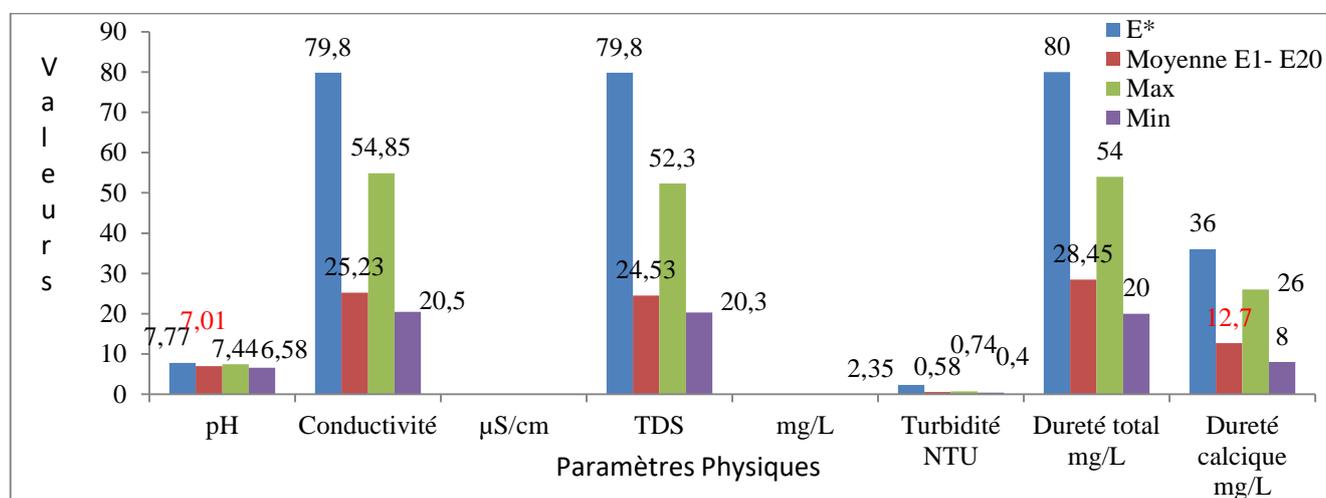
**3.1.1 : Résultats microbiologiques :** A 24 h d'incubation tous les milieux ensemencés avec les vingt échantillons d'eau désinfectée par ozonation étaient stériles, c'est-à-dire zéro colonie. Les milieux ensemencés avec les deux échantillons d'eau brute du forage étaient fertiles, C'est-à-dire présence de colonies microbiennes, en UFC/ml (ISO 7 218) soit 41 UFC/ml de *Salmonella Shigella*, 40 UFC/ml de Coliformes Totaux [10 /100ml], 22 UFC/ml de Coliformes Fécaux, zéro colonies de Streptocoques Fécaux et 10 UFC/ml de Moisissures, levures .La morphologie des microorganismes était des Bacilles et des coques de gram négatif. La présence de *Salmonella Shigella* suffit que l'eau brute ne soit conseillée à la consommation.

**Tableau II :** Résultats d'identification biochimique de certaines espèces de microorganismes de l'eau brute.

Colonies de Microorganismes	Caractéristiques Biochimiques	Nom des microorganismes
<i>Salmonella Shigella</i>	IND, MET, VP, CIT : -, +, -, +	<i>Salmonella enterica</i>
Coliformes Totaux	LDC, H <sub>2</sub> S, URE, TDA (-) : 3-3-4-7-7-7-3	<i>Enterobacter cloacae</i> ,
	URE TDA IND GLU 0-0-7-4-0-0-0	<i>Morganella morganii</i>
	ADH, CIT, GEL (+) reste (-) : 2-2-0-2-0-0-0	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	ONPG H <sub>2</sub> S URE TDA	<i>Providencia stuartii</i>
Coliformes Fécaux	LDC H <sub>2</sub> S TDA IND (-) reste (+) 3-3-1-7-7-7-3	Code non valide
Streptocoques Fécaux	Pas de colonies	Non réalisé
Moisissures, levures	nitra-nitri -, oxydase -, catalase +	<i>Actinobacter baumannii</i>

A partir des colonies microbiennes nous avons pu identifier sept espèces d'origine hydrique pathogène à l'homme. Ces microorganismes composés de bactérie et de moisissures sont responsables d'infection urinaire. Le tableau II montre les caractéristiques enzymatiques des espèces retrouvées. Les chiffres représentent la somme des numéros des puits positifs. Le résultat des caractères biochimiques obtenus avec les colonies de streptocoques fécaux ne code avec aucune espèce. Il faut plusieurs isolements

#### 3-1-2. Les résultats d'analyses des paramètres physiques de l'eau Miniji



**Fig 2 :** graphique des paramètres physiques de l'eau Miniji produite par MAPRAM  
E: échantillons, E\* : échantillons d'eau brute, MAX : maximum, Min : minimum

Le PH des échantillons d'eau brute est légèrement basique 7,77 par rapport à la moyenne de celui des échantillons d'eau Miniji de PH neutre 7,01. La conductivité moyenne des échantillons d'eaux traitées était 25,23 µS/cm de différence nettement significative à celles des eaux brutes 79,8 µS/cm, de turbidité 0,58 NTU. La moyenne E1-E20 d'un total de solides dissous TDS est 24,53 mg/L est inférieure à celles de l'eau brut (TDS = 79,8 mg/L). Ce qui donne la légèreté à Miniji, de dureté calcique 12,70 mg/L. Les échantillons d'eaux brutes témoins avaient une turbidité de 2,35NTU, et de dureté calcique 36 mg/L.

#### 3-1-3. Les résultats d'analyses des paramètres chimiques de l'eau Minidji

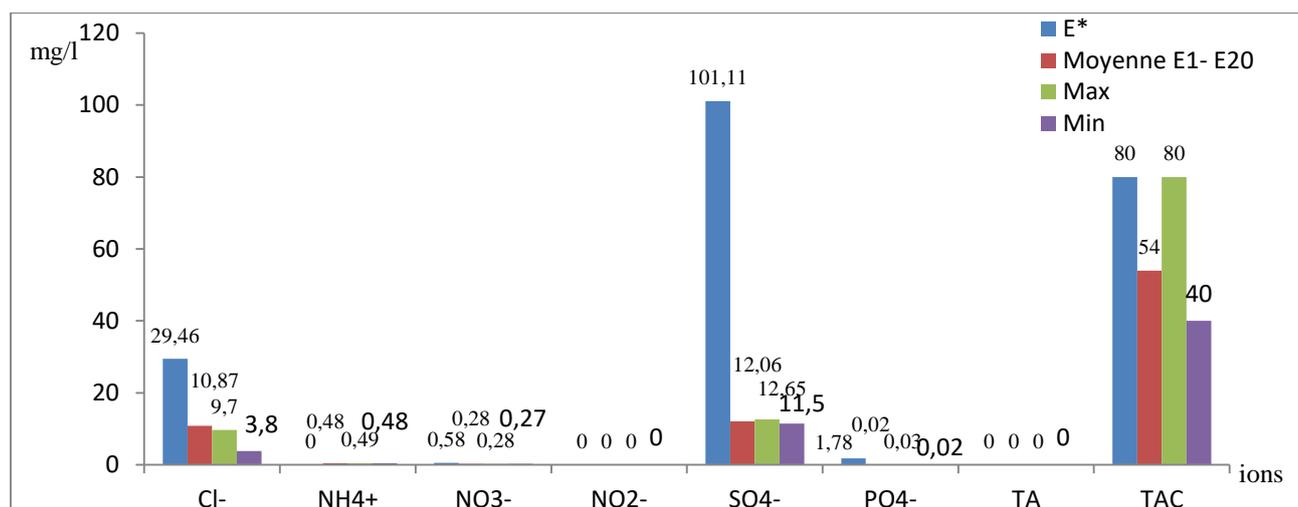


Fig 3 : graphique des paramètres chimiques de l'eau Miniji produite par MAPRAM.

La charge en ions exprimée en mg/l est beaucoup plus élevée dans l'eau brute que dans l'eau traitée par ozonation capable de détruire plusieurs corps. Cela peut expliquer la faible turbidité et de conductivité de Miniji.

### 3-1-4. Les résultats d'analyses des métaux lourds de l'eau Miniji

Tableau III a : les métaux lourds de l'eau MNIDJI traitée lot n°1.

	Fe	Zn	Cd	Sr	Ba	Cu	Ni	As
	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
E*	0,65	0,11	< 0,01	0,03	0,07	0,02	< 0,01	0
Moyen E1- E10	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Max E1- E10	0,025	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Min E1- E10	0,005	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Tableau III b : les métaux lourds de l'eau Miniji traitée lot n°1 (suite).

	Co	Pb	Mo	K	Mn	Cr	Al
	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
E*	< 0,01	< 0,01	< 0,01	1,44	0,04	0,01	0,11
Moyen E11- E20	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,56	0,02	< 0,01	< 0,01
Max E11- E20	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,69	0,05	< 0,01	< 0,01
Min E11- E20	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,22	0,01	< 0,01	< 0,01

Dans les tableaux III a et II b la charge en métaux lourds varie entre 0ppm d'arsenic As à 1,44 ppm de potassium K dans l'eau du forage non traitée. La moyenne de la teneur d'aucun métal lourd identifié et analysé ne dépassait sa norme sauf celle du Fe 0,65 ppm d'eau de forage non traitée. Ce qui donne une mauvaise appréciation du goût selon la stratégie québécoise [2] de l'eau exempt de bactéries siderophores. La teneur en métaux lourds des échantillons E1-E20 de Miniji produit par ozonation était en majorité < 0,01 ppm

### 3-2. Discussion :

Dans la méthode de contrôle de qualité de l'eau par culture microbienne, il y a deux milieux de dénombrement : solide et liquide et trois techniques d'ensemencement : incorporation, étalement, filtration. Nous avons choisi le milieu solide en fonction des produits et des matériels disponibles. Pour parfaire nos contrôles de qualité nous avons utilisé la méthode de spectrométrie. Zéro colonie dans les échantillons de Miniji, notifie l'efficacité de la désinfection par ozonation et protège les consommateurs aux infections causées par les entérobactéries pathogènes. L'identification de Pseudomonas aeruginosa est très bonne. Aucun échantillon n'avait une charge totale de

substances dissoute > à 1 200. Le taux faible nitrate [0,27- 0,20] de nos échantillons indique très peu de risque de cancer comme décrit par Claude G Gagnon [3]. La consommation de Miniji ne peut engendrer de problème de cancer, de respiration et de circulation sanguine avec un taux < 0,01 d'arsenic comme décrit par Manitoba et santé Manitoba [4]. La consommation de l'eau Miniji est recommandée aux femmes enceintes (fœtus), aux nourrissons et aux enfants avec un taux

< 0,01 en plomb à fin d'éviter les effets neurologiques à long terme, la réduction de la capacité intellectuelle, la difficulté de lecture (dyslexie) selon Quebec.ca [5]. Ce qui rassure les consommateurs de Miniji d'une faible bioaccumulation des métaux lourds et des substances dissoutes dans l'eau. Ces résultats exploités par les utilisateurs des résultats de recherches permettront de réduire les contaminations, d'éviter la persistance des maladies (infections urinaires), des anomalies physiologiques (calcul urinaire) et des allergies cosmétiques (lavage), d'origine hydrique. La différence des valeurs des autres métaux lourds de l'eau traitée et celle brute était significative de 0,02 à 1,44 en moyenne mais ne dépassaient pas les normes. Les résultats des microbiologiques et physico-chimique confirment que la désinfection de l'eau par ozonation semble être la plus efficaces.

#### 4. Conclusion :

Les résultats ajustés aux taux préconisés par l'O.M.S, attestent une consommation sans danger pour la santé. L'ozonation a montré une différence significative entre l'eau traitée et l'eau brute. Ajusté aux taux préconisés par l'O.M.S par ozonation aux niveaux des forages ruraux sont nos perspectives.

#### 5. Références bibliographiques :

- [1] Québec.ca 2001-2020. eau-potable/contamination-de-l'eau-potable-d-un-puits.
- [2] Environnement.gouv.qc.ca. 2018 – 2030. Stratégie québécoise de l'eau; 5,5 Mo. consulté :4/4/2020
- [3] Claude G Gagnon. Pollution. 6 février 2012. Nouvelle crise à Attawapiskat.
- [4] Manitoba et santé Manitoba. Mars 2011. Gestion des ressources hydriques, 3 pages.
- [5] Quebec.ca. 21 décembre 2018. Contamination de l'eau potable
- [6] -Lenntech, “ Ozone, désinfection d'eau de piscine : [http://www. Lenntech.fr/ozone-piscine.htm](http://www.Lenntech.fr/ozone-piscine.htm)
- [7] - Lenntech, “ Technologie Ozone, Générateur d'ozone : [http://www. Lenntech.fr/generateur-ozone.htm](http://www.Lenntech.fr/generateur-ozone.htm)
- [8] -Ethis Ingénierie, désinfection de l'eau à l'ozone, 11 Septembre 2008 [http://www. Piscine-online. Com/traitement- ozone-piscine-biozone.html](http://www.Piscine-online.Com/traitement-ozone-piscine-biozone.html)
- [9] Normes de l'OMS
- [10] – Fanny Demay mai 1996 BTS Bio Analyses & Contrôles Fiche Technique n°2 Norme ISO 7218 .3P
- [11]- Waterlot Christophe. 20210. << évaluation des effets d'une lampe à cathode creuse pulsée à courant variable sur les interférences spectrales de l'arsenic dans le dosage du cadmium par spectrophotométrie d'absorption atomique>>, Rev. Can. Génie civ.
- [12]- CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUEBEC. 05 -03 - 2001. Déterminations des solides dissous totaux et volatils dans les effluents : méthode gravimétrique, MA. 115 – S.D. 1.0, Ministère de l'environnement et des parcs du Québec, 11 p.

# Contribution à l'amélioration de la dépollution métallique de la lagune de Porto-Novo par phytoremédiation

SOACHIM 2021, République du Niger



## Contribution à l'amélioration de la dépollution métallique de la lagune de Porto-Novo par phytoremédiation



Mickaël Vitus Martin Kpessou Saisonou<sup>1</sup>, Léonce Firmin Comlan Dovonon<sup>1</sup>, Azim Mohamed Abibou<sup>2</sup>, Samson Agossou<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unité de Recherche en Ecotoxicologie et Etude de Qualité- Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie Appliquée- Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi-

<sup>2</sup>Département de Génie de l'Eau et Assainissement, Institut National de l'Eau- Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 2009 Cotonou, Bénin.

**Auteur correspondant :** Mickaël Vitus Martin Kpessou Saisonou- **Email :** kpessou67@hotmail.com

Groupe thématique : Eau, Mines et Environnement

### 1-Introduction

Les milieux aquatiques sont pollués par divers déchets domestiques et industriels contenant des métaux lourds dont l'accumulation atteint des seuils toxiques pour l'organisme humain. La lagune de Porto-Novo n'échappe pas à ce phénomène. Différentes plantes assurent la phytoremédiation de cette lagune avec des impacts environnementaux préoccupants. Dans le but de comprendre cette phytoremédiation, les facteurs de bioconcentration du plomb et du cuivre de 3 plantes aquatiques notées P1 (*Eichhornia Crassipes*, P2 (*Ipomoea aquatica*) et P3 (*Cyperus papyrus*) prélevées à différents points de cette lagune ont été déterminés et analysés.



Figure 1: Berges de la lagune de Porto-Novo

### 2-Matériel et méthodes



Figure 2: Culture des trois plantes dans l'eau de la

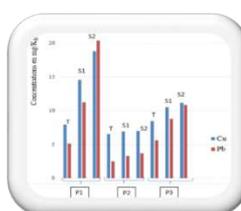


Figure 3: Variation des taux de Cu et Pb dans les 3 plantes dans E1

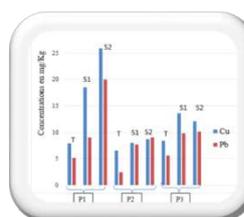


Figure 4: Variation des taux de Cu et Pb dans les 3 plantes dans E2

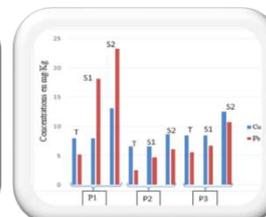


Figure 5: Variation des taux de Cu et Pb dans les 3 plantes dans E3

### 3-Résultats et discussion

Les 3 plantes sont récoltées directement sur la lagune dont l'eau est également prélevée, sur trois sites. Elles sont cultivées à la température ambiante et à l'ombre dans différents bassins de vingt-cinq litres environ et contenant chacun dix litres d'eau prélevée. Elles sont ensuite récoltées suivant une périodicité de 7 jours.

Les teneurs des ETM sont déterminées par spectrophotométrie à flamme et les facteurs de bioconcentration des métaux par les plantes sont calculés par la formule :  $FBC = [P]/[X]$  avec P et X les concentrations des ETM dans les plantes et dans l'environnement c'est-à-dire l'eau pour P1 et P2 (plantes flottantes) et les sédiments pour P3 (plante enracinée).

**Légende:**  
T: Jour du prélèvement; S1 et S2 : Semaines 1 et 2

Plante	ETM	Cu	Pb
P1		++++	+++
P2		+++	++
P3		+	+

Tableau 1: Facteur de bioconcentration du Cu et du Pb des 3 plantes

**Légende:**  
++++: FBC > 850; +++: 119 < FBC < 213;  
++: 20 < FBC < 80; +: FBC < 10

Le Cu et le Pb sont fortement bioconcentrés et bioaccumulés par P1, moyennement par P2 et faiblement par P3.

L'intensité de ces deux phénomènes dépend du degré de pollution de l'environnement aquatique (E1 ici plus pollué que E2 et E3) mais pas de la nature de la plante (P1 et P2 flottantes) (P3 enracinée).

### 4- Conclusion

*Eichhornia crassipes* (jacinthe d'eau) assure le mieux, la dépollution métallique (Cu et Pb) des eaux de surface mais compte tenu de sa nature envahissante, *Ipomoea aquatica* pourrait être utilisée en substitution. Mais avec moins d'efficacité.

### 5-Références bibliographiques

- Gnoghossou P., 2006, "La faune benthique d'une lagune ouest africaine (le lac Nokoué au Bénin), diversité, abondance, variations temporelles et spatiales, place dans la chaîne trophique. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse" 169p.
- Fergusson J., 1990, "The heavy elements: chemistry, environmental impact and health effects", Pergamon Press, Oxford, 614 p.
- Göthberg, Agneta & Greger, Maria & Bengtsson, Bengt-Erik, "Accumulation of heavy metals in water spinach (*Ipomoea aquatica*) cultivated in the Bangkok region, Thailand", Environmental toxicology and chemistry / SE-TAC., vol. 21, no 9, septembre 2002, p. 1934-1939

## Dépollution des effluents des industries de teinturerie de la ville d'Abidjan utilisatrices de colorants à travers une colonne d'adsorption à lit fixe de lichens désactivés

Kouassi Kouadio Dobi Brice\*, Yacouba Zoungnan, Ekou Lynda, Ekou Tchirioua

Université Nangui Abrogoua  
Laboratoire de Thermodynamique et de Physico-Chimie du Milieu  
(LTPCM) 02 Bp 801 Abidjan 02 – CÔTE D'IVOIRE

### Résumé

Les industries du textile et du cuir figurent parmi les principales et potentielles sources de pollution industrielle en Côte d'Ivoire car elles produisent environ 85% du volume de déchets [1], [2]. L'adsorption est une solution alternative aux méthodes coûteuses et inaccessibles de traitement des eaux usées. Elle utilise des adsorbants moins coûteux, abondants et disponibles. L'adsorption en mode continu permet de traiter de grands volumes d'effluents par rapport à l'adsorption en mode discontinu qui traite des petits volumes d'effluents [3]. La présente étude s'inscrit dans le cadre du traitement des eaux résiduaires des teinturerie artisanales à travers une colonne à lit fixe de lichens désactivés. Les eaux résiduaires traitées sont : Eau de Bassin Bleu, Eau de Jeans Bleu, Eau de Blouson en cuir Rouge, et Eau de Sac en Cuir Rouge à différentes concentrations. Les résultats de l'étude ont montré que les colorants bleus, et rouge ont été adsorbés par lichens désactivés. Les eaux résiduaires ayant des concentrations différentes de colorants, les résultats ont montré que quel que soit le colorant considéré, la quantité éliminée la plus élevée correspond à l'eau résiduaire la plus concentrée. Il serait intéressant de traiter les effluents des industries de teinturerie moderne.

**Mots clés :** Lichens désactivés, colonne d'adsorption, eaux usées, colorants.

## Depollution of effluents from the dyeing industries of the city of Abidjan using dyes through an adsorption column with a fixed bed of deactivated lichens

### Abstract

The textile and leather industries are among the main and potential sources of industrial pollution in Côte d'Ivoire because they generate around 85% of the volume of waste [1], [2]. Adsorption is an alternative to expensive and inaccessible wastewater treatment methods. It uses less expensive, abundant and available adsorbents. Adsorption in continuous mode makes it possible to treat large volumes of effluents compared to adsorption in discontinuous mode which treats small volumes of effluents [3]. This study is part of the treatment of wastewater from artisanal dyeing plants through a fixed bed column of deactivated lichens. The treated wastewater is: Blue Basin Water, Blue Jeans Water, Red Leather Jacket Water, and Red Leather Bag Water at different concentrations. The results of the study showed that the blue and red dyes were adsorbed by deactivated lichens. Since wastewater has different concentrations of dyes, the results have shown that whatever dye is considered, the highest quantity eliminated corresponds to the most concentrated wastewater. It would be interesting to treat the effluents from the modern dyeing industries.

**Key words:** Lichens deactivated, adsorption column, wastewater, dyes.

### 1 Introduction

En Côte d'Ivoire environ 60% à 85% de l'activité industrielle est concentrée dans la ville d'Abidjan en raison de la vitalité de ses infrastructures routières et portuaires [2] [3]. Cette activité industrielle couvre les secteurs d'activités du plastique, de l'alimentation, du cosmétique, du papier, de la pharmacie, du textile notamment de la teinturerie. Les unités industrielles, dans leurs fonctionnements utilisent de l'eau dans les processus de transformations et dans le nettoyage des installations et des outils. Malheureusement, environ 10 à 15% des effluents de ces industries sont rejetés sans aucun traitement préalable dans les milieux récepteurs [4]. Les industries du textile et du cuir figurent parmi les principales sources de pollution industrielle car produisant environ 85 % du volume des effluents industriels en Côte d'Ivoire [5], [6]. On y trouve des unités modernes comme artisanales. Ces industries utilisent une large gamme de colorants dans les processus de teinture des objets en coton et en cuir. Un grand nombre des colorant présents dans les effluents de ces industries ont des répercussions néfastes sur la santé [7], [8] et affectent négativement la photosynthèse [9] [10]. La présence de ces colorants dans les milieux récepteurs, accentuée par la floraison de teinturerie artisanales, constitue un problème aux plans sanitaire et environnemental. C'est pour faire face à cette pollution que la Côte d'Ivoire a ratifié des traités, des conventions et des lois visant à la protection de son environnement et de sa population urbaine [11]. Malheureusement, malgré l'existence d'une telle volonté politique, seul environ 1% des industries de la ville d'Abidjan, disposent de stations de traitements de leurs eaux usées avant rejet [3]. Certaines stations de traitement existantes sont en outre soit non fonctionnelles, soit mal gérées. La lagune Ebrié, principale réceptrice des eaux résiduaires de ces industries, a d'ailleurs fait l'objet de plusieurs études qui ont révélé une détérioration de la qualité de ses eaux en lien avec les rejets industriels [2], [3], [5], [12], [13]. Les données issues de ces études ont suscité certains chercheurs de la Côte d'Ivoire à effectuer des études supplémentaires portant sur l'élimination de polluants tels que : les éléments traces métalliques [14], les substances humiques [15] et les

phosphates [16]. En revanche peu de travaux en Côte d'Ivoire, ont été réalisés sur l'élimination de colorants issus des effluents d'activités de teintureries artisanales.

Cette étude est une approche de traitement des eaux usées de teintureries artisanales, contenant des colorants potentiellement toxiques. Cette approche utilise les lichens (*Parmotrema dilatatum*) désactivés comme lit fixe adsorbant dans une colonne. Les lichens sont des végétaux qui résultent d'une association symbiotique entre une algue et un champignon. Ce sont des végétaux qui constituent un exemple idéal de symbiose autoportante dans la nature. Ils peuvent survivre à une déshydratation extrême, même pendant des mois ou des années et peuvent également tolérer les conditions environnementales, d'où leur large répartition géographique. Ils se développent sur les surfaces rocheuses, les troncs d'arbres, les toits des maisons, les monuments et sur la surface du sol [17] [18]. Plusieurs études ont mis en évidence leur utilisations comme bioindicateurs de la qualité de l'air [19][20]–[25] et leur grande capacité d'adsorption de polluants tels que les éléments traces métalliques [26]–[32].

Dans la présente étude, l'espèce lichénique est utilisée pour évaluer sa capacité à servir comme lit adsorbant dans les processus d'adsorption en continue de colorants issus des eaux de rejet d'unités artisanales de teintureries.

## 2 Matériels et méthodes

### 2.1 Prélèvement

Les thalles du lichen *Parmotrema dilatatum* sont recueillis dans la réserve forestière de la station Le site de récolte est la réserve forestière de la station d'écologie de LAMTO (5,02°C Ouest et à 6,13°C Nord). Cette réserve est située à 174 km de la ville d'Abidjan (Côte d'Ivoire) sur la voie Abidjan-Yamoussokro, entre Singrobo et Taabo, et s'étend le long du fleuve Bandama [33]. Cet espace est une réserve naturelle de 2500 ha, avec un climat de type tropical. La température moyenne par année est de 28,28°C. La valeur des précipitations annuelles est de 1194 mm avec un taux d'humidité supérieur à 58% [34].

Le lichen prélevé a un thalle foliacé *Parmotrema dilatatum* lobé de 3-10 cm de large. En effet le thalle foliacé est le thalle le plus présent abondamment dans la végétation ivoirienne plus particulièrement dans la réserve de Lamto. Les lobes de l'espèce sont larges, subirréguliers, allongés et légèrement imbriqués avec une surface plane et un diamètre compris entre 10 et 20 mm. Les espèces du genre *Parmotrema* peuvent survivre dans des climats humides, arides ou semi-arides, elles possèdent une diversité géographique très importante [35].

Les prélèvements sont effectués sur des arbres adultes possédant des diamètres supérieurs à 20 cm avec des écorces ni crevassées, ni blessés, ni inclinés. Les lichens récoltés sont acheminés au laboratoire.

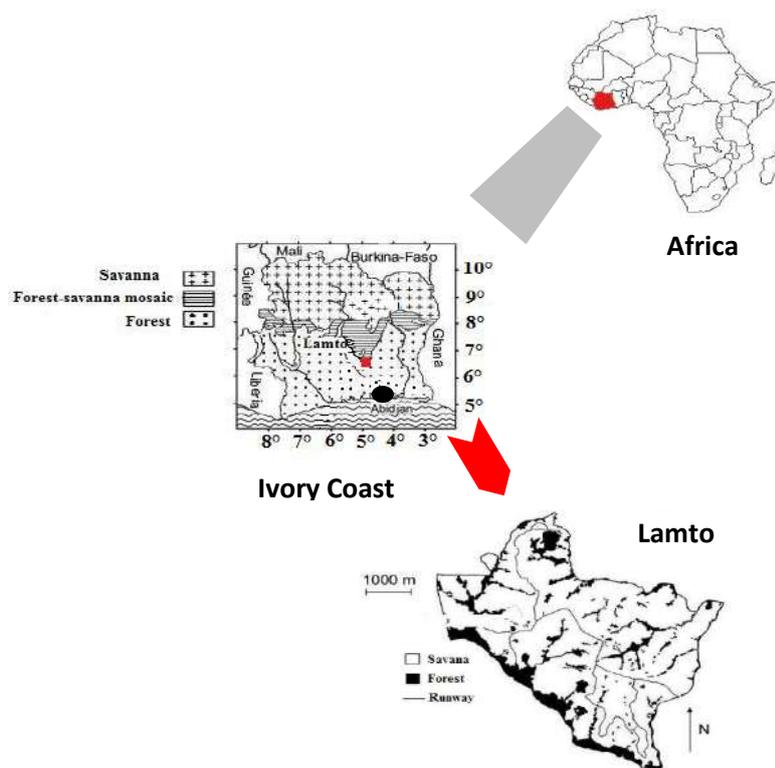


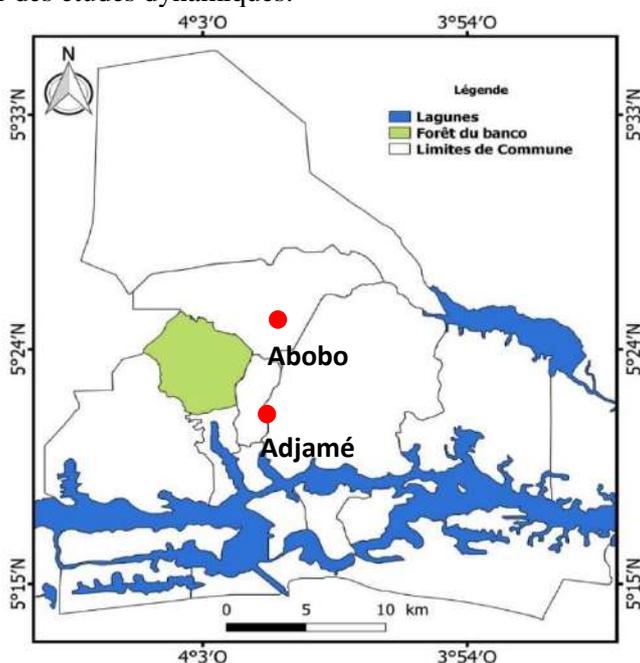
Figure 1 : Localisation de la réserve de Lamto [1] [2]

## 2.2 Désactivation et broyage des lichens

Au laboratoire, les lichens sont détachés de leurs substrats, puis nettoyés manuellement afin d'enlever les débris de sols, de feuilles, de poussières ou d'insectes. Les thalles sont ensuite lavés avec de l'eau distillée. Une quantité appropriée de lichens est placée à l'étuve à 80 °C pendant 48 heures pour les désactiver. Les lichens désactivés sont broyés et tamisés.

## 2.3 Sites de prélèvement des eaux résiduaires

Les échantillons d'eaux usées ont été recueillies sur des sites de teintureriers artisanales dans la ville d'Abidjan (5°19' Nord et 4°01' Ouest), précisément dans les quartiers Abobo et Adjamé. Ces deux quartiers ont été choisis en raison de l'importance des activités de teintureriers artisanales qu'ils enregistrent. Dans ces quartiers, les effluents des teintureriers artisanales, sont relégués directement dans l'environnement et acheminés dans les milieux aquatiques par les processus de drainage, d'infiltration. Le matériel de prélèvement est constitué de bidons en polyéthylène de 20L, disposés sur chaque site afin de recueillir durant 24 heures les eaux résiduelles. Les quantités prélevées sont acheminées au laboratoire pour des études dynamiques.



**Figure 2** : Situation géographique des quartiers abritant les sites de prélèvement dans la ville d'Abidjan

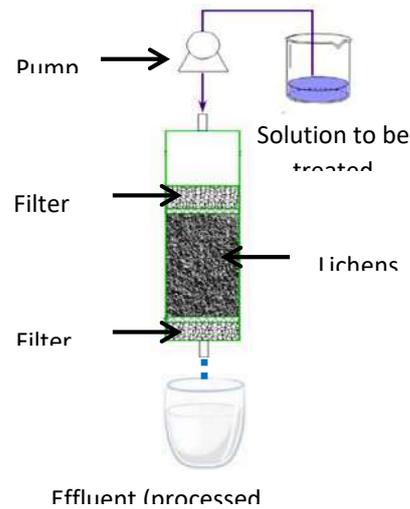
## 2.4 Traitement dynamiques des eaux usées

Les études dynamiques ont été réalisées à l'aide d'un dispositif constitué d'une colonne en verre de 8 cm diamètre interne et 22 cm de hauteur. Une pompe péristaltique a été utilisée pour pomper à débit souhaité le colorant à partir d'un récipient d'alimentation de 25 L. Un filtre en laine de verre de faible épaisseur a été utilisé pour éviter toute perte d'adsorbant. L'effluent est recueilli en sortie de colonne dans un bocal en verre.

Pour chaque stock d'eau résiduelle le pH est ajusté à 7 puis une quantité est placée dans le récipient d'alimentation de la colonne. La solution traitée ou effluent est récupérée en sortie de la colonne. Nos travaux antérieurs [3] ont permis de fixer les différents paramètres de la colonne. Ainsi le débit d'alimentation  $D$  est à 0,07 L/min, la masse  $m$  du lit de lichens désactivés à 100 g correspondant à une hauteur  $H$  de lit de 8 cm et le diamètre  $d$  des grains de lichens dans l'intervalle [125-250  $\mu\text{m}$ ]. Les eaux résiduaires, eau de bassin bleu en coton (EBB), eau de jeans bleu en coton (EJB), eau de blouson rouge en cuir (EBR), et eau de sac rouge en cuir (ESR) ont donc été traitées à travers la colonne. La densité optique de l'effluent en sortie de colonne, est lue par intervalle de temps de 5 min à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible (WFJ-752, Beijing, Chine). La concentration  $C_t$  obtenue avec la courbe d'étalonnage du colorant cible, construite en dissolvant le colorant commercial dans de l'eau distillée.



a) Photographie



b) Schema

Figure 3 : Photographie et schéma du dispositif de l'adsorption sur colonne au laboratoire [2]

La quantité  $Q_{ads}$  ( $mg.g^{-1}$ ) de colorant adsorbé par gramme de lichen est déterminée à l'aide de la relation ci-dessous [4].

$$Q_{ads} = \frac{DC_0 \int_0^{t_s} \left(1 - \frac{C_t}{C_0}\right) dt}{m}$$

Avec :

$C_0$  : La concentration initiale ( $mg/L$ ) du soluté ;

$C_t$  : La concentration du soluté ( $mg/L$ ) à l'instant  $t$  en sortie de colonne ;

$D$  : Le débit d'alimentation de la colonne ( $L/min$ ) ;

$t_s$  : Le temps de saturation ;

$m$  : La masse ( $g$ ) de lichens désactivés ;

L'intégrale dans l'équation (1) est la zone au-dessus de la courbe de percée de  $\frac{C_t}{C_0} = 0$  à  $\frac{C_t}{C_0} = 1$

La représentation graphique  $\frac{C_t}{C_0} = g(t)$  est appelée courbe de percée de la colonne.

Le taux ( $R$ ) d'élimination du colorant est donné est donnée par la relation suivante [38] :

$$R = \frac{\int_0^{t_s} \left(1 - \frac{C_t}{C_0}\right) dt}{t_s} \times 100$$

$Q_{ads}$  et  $R$  sont obtenus obtenue après intégration entre  $t=0$  et  $t=t_s$ , de la régression polynomiale de la fonction suivante :

$$1 - \frac{C_t}{C_0} = f(t)$$

Le temps correspondant à une sortie d'effluent à moins de 5 % de  $C_0$  est appelée temps de percé  $t_b$ . Il est fixé selon l'objectif de traitement. Il est fixé dans cette étude à 1% de  $C_0$  du colorant donné. À ce temps de percé, le lit n'est pas entièrement utilisé. La longueur équivalente de lit non utilisé est obtenue par l'équation (4) [39] :

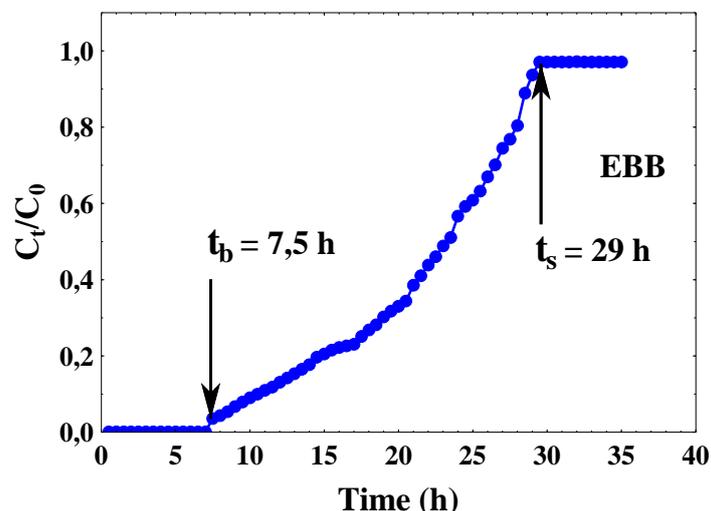
$$LUB = H \left(1 - \frac{t_b}{t_s}\right)$$

## 2.5 Traitement des données

La régression polynomiale a été réalisée à l'aide du logiciel **STATISTICA 8.0.360**

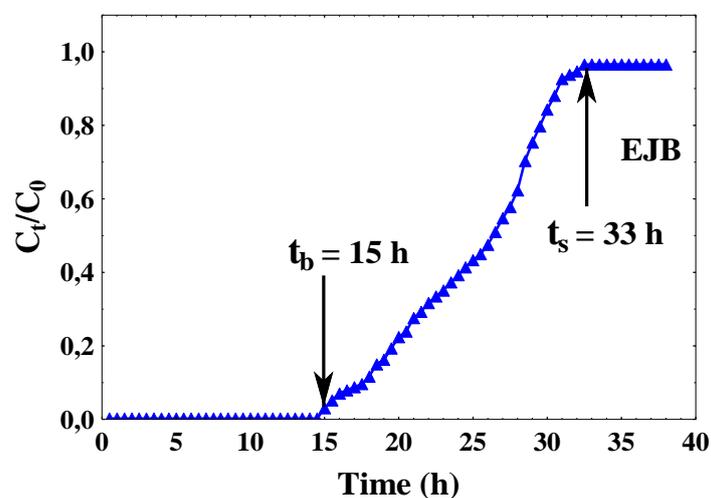
### 3 Résultats et discussions

La figure 4, est relative à la courbe de percée obtenue à l'issue du traitement de l'eau de basin bleu (EBB) introduite en colonne avec une concentration initiale  $C_0 = 35$  mg/L. La première sortie de solution traitée présentant une concentration non nulle, correspond à un temps de percé  $t_b = 7$  h 30 min. Partant de  $t_b$ , le colorant sature progressivement du haut vers le bas le lit de lichens désactivés dans la colonne jusqu'à la saturation complète au bout du temps  $t_s = 29$  h. La colonne est alors en équilibre et ne retient plus de colorant.



**Figure 4 :** Courbe de percée relative au traitement de l'eau résiduaire EBB.  
 $D = 0,07$  L/min;  $m = 100$  g;  $H = 8$  cm;  $d = [125-250 \mu\text{m}]$

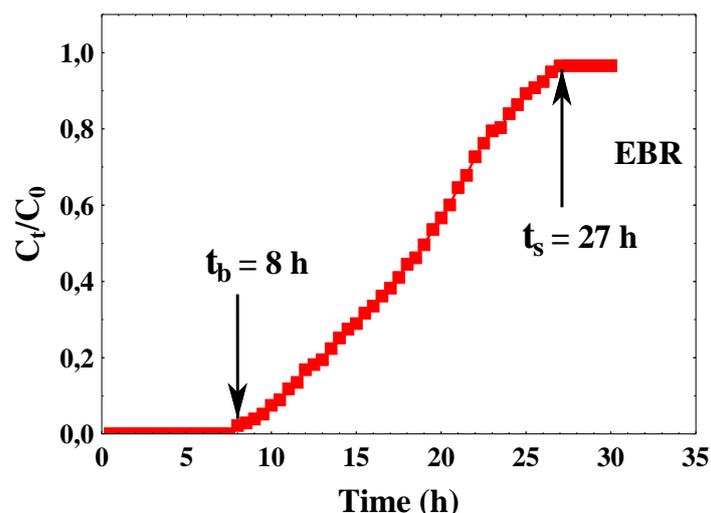
L'eau résiduaire de teinturerie de jeans bleu (EJB) est traitée à partir d'une concentration initiale  $C_0 = 24$  mg/L, l'évolution de sa courbe de percée est donnée par la figure 5.



**Figure 5 :** Courbe de percée relative au traitement de l'eau résiduaire EJB.  
 $D = 0,07$  L/min;  $m = 100$  g;  $H = 8$  cm;  $d = [125-250 \mu\text{m}]$

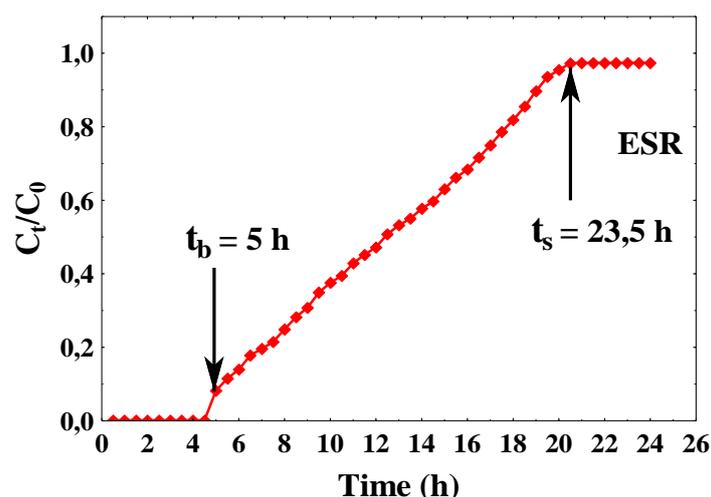
Cette figure révèle qu'au cours du traitement de EBR, le temps de percé  $t_b$  est de 15 h et le temps de saturation  $t_s$  a été obtenu au bout de 33h de fonctionnement de la colonne.

L'eau résiduaire de blouson rouge en cuir (EBR) a été traitée à partir d'une concentration initiale  $C_0 = 34$  mg/L. L'évolution de la courbe de percée est présentée sur la figure 6.



**Figure 6 :** Courbe de percée relative au traitement de l'eau résiduaire EBR.  
 $D = 0,07$  L/min;  $m = 100$  g;  $H = 8$  cm;  $d = [125-250 \mu\text{m}]$

Le temps de percé  $t_b$  pour ce traitement EBR est de 8 h et le temps de saturation  $t_s$  a été obtenu au bout de 27 h. Enfin la courbe de percée issue du traitement de l'eau résiduaire de sac rouge en cuir (ESR) à  $C_0 = 46$  mg/L, est présentée sur la figure 7.



**Figure 7 :** Courbe de percée relative au traitement de l'eau résiduaire ESR  
 $D = 0,07$  L/min;  $m = 100$  g;  $H = 8$  cm;  $d = [125-250 \mu\text{m}]$

L'examen de la figure 7 résultant du traitement de l'eau résiduaire ESR, montre qu'au bout de 5 h, l'on enregistre le temps de percé et celui de la saturation des sites du lit fixe de lichens désactivés est observée à  $t_s = 23$  h 30 min. Le volume de l'effluent  $V_{\text{eff}}$  à  $t_b$ , la longueur de lit inutilisé (LUB) et les paramètres temporels issus des différentes courbes de percée des eaux résiduaires des teintureriers artisanales de supports bleus en coton et rouge en cuir, sont enregistrés dans le tableau I.

**Tableau I :** Paramètres de la colonne relative au traitement des eaux résiduaires

	$C_0$ (mg/L)	$t_b$ (h)	$t_s$ (h)	$V_{\text{eff}}$ (L)	LUB (cm)
<b>EBB</b>	35	7,5	29	31,5	5,93
<b>EJB</b>	23	15	33	63	4,36
<b>EBR</b>	34	8	27	33,6	5,63
<b>ESR</b>	46	5	23,5	21	6,30

Les résultats enregistrés dans le tableau I montrent que le temps de percé est fonction de la concentration initiale du colorant dans l'eau résiduelle considérée. Plus la concentration initiale  $C_0$  est grande, plus  $t_b$  et  $V_{\text{eff}}$  sont faibles,

entraînant ainsi une saturation rapide du lit fixe de lichens désactivés. Cependant la longueur de lit inutilisée (LUB) à  $t_b$  augmente avec  $C_0$ . Ce résultat s'explique par la disponibilité des sites actifs du lit adsorbant. Pour des  $C_0$  proches (EBB et EBR), on observe des paramètres de colonnes sensiblement proches. La nature des objets teints n'influence donc pas les paramètres de la colonne. Ainsi l'élimination du colorant bleu dans EJB de  $C_0$  (23 mg/L) à 1% de  $C_0$  se fait durant 15h et permet d'obtenir 63 L d'effluent purifié mais en sollicitant une grande longueur du lit fixe de lichens désactivés. Ce résultat laisse suggérer que pour un objectif de traitement de EJB jusqu'au seuil de 1% de  $C_0$ , il est nécessaire de renouveler le lit de lichens désactivés au bout de 15 h de fonctionnement de la colonne.

Le taux d'élimination traduit le rapport entre la masse de colorant adsorbé par le lit (entre  $t_0$  et  $t_s$ ) et la masse totale de colorant ayant traversé la colonne (entre  $t_0$  et  $t_s$ ). Pour chaque eau résiduelle, la quantité de colorant adsorbé et le taux d'élimination sont enregistrés dans le tableau II.

**Tableau II** : Quantités de colorants adsorbés et taux d'élimination

	$C_0$ (mg/L)	$Q_{ads}$ (mg/g)	R(%)
<b>EBB</b>	35	41,449	0,972
<b>EJB</b>	23	30,547	0,958
<b>EBR</b>	34	37,467	0,972
<b>ESR</b>	46	44,444	0,979

Indépendamment de la couleur de teinture et de la nature de l'objet, les colorants des eaux résiduelles sont significativement éliminés à travers la colonne à lit fixe de lichens désactivés. La quantité adsorbée à l'équilibre et le taux d'élimination augmentent avec l'augmentation de la concentration initiale du colorant dans l'eau résiduelle. Ce résultat sur l'influence de la concentration initiale avait été observé au cours de nos récents travaux [36] sur l'adsorption des colorants cristal violet et rouge de méthyle dans une colonne à lit fixe. Les résultats de l'étude sont également en accord avec les travaux de Mojtaba et al.[40] sur l'adsorption de la tétracycline sur un lit fixe de charbon actif mésoporeux. Les auteurs avaient lié ce phénomène à l'augmentation du gradient de concentration qui entraîne une force motrice plus élevée pour le transfert rapide de masse. Le meilleur taux d'élimination est obtenu avec le traitement de ESR. Les fortes concentrations initiales provoquent un déplacement rapide de la zone de transfert de masse (MTZ) et une occupation plus dense des sites actifs du lit adsorbant. L'effet de gravité pourrait d'une part expliquer ce déplacement rapide mais aussi la compétition autour des sites actifs des lichens désactivés pourrait aboutir à une occupation plus compacte.

#### 4 Conclusion

La présente étude a examiné la performance de lichens désactivés en tant qu'adsorbants pour l'élimination dynamique dans une colonne, de colorants des eaux résiduelles de teinturerie artisanales. La colonne élaborée au laboratoire dans nos travaux antérieurs avait montré de bonnes performances théoriques pour l'élimination des colorants en solution aqueuse. Cette étude en situation réelle montre qu'il est possible d'éliminer efficacement les colorants des eaux résiduelles indépendamment de la nature des objets teints. Il est possible d'éliminer ou de réduire considérablement les concentrations des colorants dans les eaux résiduaires en dimensionnant des colonnes à lit fixe de lichens désactivés en vue de leur installation au niveau des exutoires des unités artisanales de teinturerie tout en assurant un écoulement par gravité.

#### 5 References bibliographiques

- [1] L. A. A. P. J. S. Piccin, G.L. Dotto, M. L. G. Vieira, "Kinetics and mechanism of the food dye FD&C red 40 adsorption onto chitosan.," J Chem Eng Data, vol. 56, pp. 3759–3765, 2011.
- [2] A. A. Adingra and Kouassi A. M, "Pollution en lagune ebrié et ses impacts sur l'environnement et les populations riveraines," F. Tech. Doc. Vulg., vol. 53, pp. 48–53, 2011.
- [3] K. R. Dongo et al., "Impacts des effluents liquides industriels sur l'environnement urbain d'Abidjan-Côte D'Ivoire," Int. J. Biol. Chem. Sci, vol. 7, no. 1, pp. 404–420, 2013.
- [4] H. Kono and R. Kusumoto, "Removal of anionic dyes in aqueous solution by flocculation with cellulose ampholytes," J. Water Process Eng., vol. 7, pp. 83–93, Sep. 2015.
- [5] A. M. Kouassi, N. Kaba, and B. S. Métongo, "Land-based sources of pollution and environmental quality of the Ebrié lagoon waters," Mar. Pollut. Bull., vol. 30, no. 5, pp. 295–300, May 1995.
- [6] Institut National de la Statistique INS, "Tableau de bord mensuel sur la situation socio-économique de la Côte d'Ivoire (TBSE No007).," Abidjan-Côte d'Ivoire, 2018.

- [7] C. F. I. Jabs and H. P. Drutz, "The role of intraoperative cystoscopy in prolapse and incontinence surgery," *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 185, no. 6, pp. 1368–1373, Dec. 2001.
- [8] R. A. Dulce, S. Kulandavelu, I. H. Schulman, J. Fritsch, and J. M. Hare, "Nitric Oxide Regulation of Cardiovascular Physiology and Pathophysiology," in *Nitric Oxide*, Elsevier, 2017, pp. 313–338.
- [9] H. Tahir, M. Sultan, N. Akhtar, U. Hameed, and T. Abid, "Application of natural and modified sugar cane bagasse for the removal of dye from aqueous solution," *J. Saudi Chem. Soc.*, vol. 20, pp. S115–S121, Sep. 2016.
- [10] J. M. Rosa, V. S. G. Garcia, N. F. Boiani, C. G. Melo, M. C. C. Pereira, and S. I. Borrelly, "Toxicity and environmental impacts approached in the dyeing of polyamide, polyester and cotton knits," *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 7, no. 2, p. 102973, Apr. 2019.
- [11] LE MINISTRE DE L'ENVIRONNEMENT ET DE LA FORET, "ARRETE N° 01164 du 04 Novembre 2008 Portant Réglementation des Rejets et Emissions des Installations Classées pour la Protection de l'Environnement.," Abidjan-Côte d'Ivoire, 2008.
- [12] M. C. Lavoie and P. Viens, "Water quality control in rural Ivory Coast," *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, vol. 77, no. 1, pp. 119–120, Jan. 1983.
- [13] P. A. G. M. Scheren, C. Kroeze, F. J. J. G. Janssen, L. Hordijk, and K. J. Ptasiński, "Integrated water pollution assessment of the Ebrié Lagoon, Ivory Coast, West Africa," *J. Mar. Syst.*, vol. 44, no. 1–2, pp. 1–17, Jan. 2004.
- [14] G. Soro et al., "Métaux lourds (Cu, Cr, Mn et Zn) dans les sédiments de surface d'une lagune tropicale africaine : cas de la lagune Ebrie (Côte d'Ivoire)," *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, vol. 3, no. 6, pp. 1408–1427, 2011.
- [15] C. Y. P. Ayekoe, D. Robert, and D. G. Lanciné, "Combination of coagulation-flocculation and heterogeneous photocatalysis for improving the removal of humic substances in real treated water from Agbô River (Ivory-Coast)," *Catal. Today*, vol. 281, pp. 2–13, Mar. 2017.
- [16] D. E. Kpannieu, M. Mallet, L. Coulibaly, M. Abdelmoula, and C. Ruby, "Phosphate removal from water by naturally occurring shale, sandstone, and laterite: The role of iron oxides and of soluble species," *Comptes Rendus Geosci.*, vol. 351, no. 1, pp. 37–47, Jan. 2019.
- [17] G. Schenk, *Moss gardening : including lichens, liverworts, and other miniatures*. Timber Press, 1997.
- [18] O. L. Gilbert, *Lichens*. HarperCollins, 2000.
- [19] P. Chatenet and M. Botineau, "Utilisation des lichens dans la mise en évidence des éléments traces présents dans les cours d'eau," *Cryptogam. Mycol.*, vol. 22, no. 3, pp. 225–237, 2001.
- [20] S. Will-Wolf, S. Jovan, and M. C. Amacher, "Lichen elemental content bioindicators for air quality in upper Midwest, USA: A model for large-scale monitoring," *Ecol. Indic.*, vol. 78, pp. 253–263, Jul. 2017.
- [21] M. A. López Berdonces, P. L. Higuera, M. Fernández-Pascual, A. M. Borreguero, and M. Carmona, "The role of native lichens in the biomonitoring of gaseous mercury at contaminated sites," *J. Environ. Manage.*, vol. 186, pp. 207–213, Jan. 2017.
- [22] K. I. A. Kularatne and C. R. de Freitas, "Epiphytic lichens as biomonitors of airborne heavy metal pollution," *Environ. Exp. Bot.*, vol. 88, pp. 24–32, Apr. 2013.
- [23] L. Seed, P. Wolseley, L. Gosling, L. Davies, and S. A. Power, "Modelling relationships between lichen bioindicators, air quality and climate on a national scale: Results from the UK OPAL air survey," *Environ. Pollut.*, vol. 182, pp. 437–447, Nov. 2013.
- [24] D. J. Tregidgo, S. E. West, and M. R. Ashmore, "Can citizen science produce good science? Testing the OPAL Air Survey methodology, using lichens as indicators of nitrogenous pollution," *Environ. Pollut.*, vol. 182, pp. 448–451, Nov. 2013.
- [25] "Measuring Air Quality using Lichen Mapping at Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM) Campus," *Procedia - Soc. Behav. Sci.*, vol. 59, pp. 635–643, Oct. 2012.
- [26] Y. Zoungranan, L. Ekou, T. Ekou, and K. K. D. Brice, "Lichen Comme Bioindicateur de la Qualité de l'air de la Ville d'Abidjan en Éléments Traces Métalliques," *Eur. J. Sci. Res.*, vol. 148, no. 4, pp. 501–511, 2018.
- [27] T. Ohnuki, H. Aoyagi, Y. Kitatsuji, M. Samadfam, Y. Kimura, and O. William Purvis, "Plutonium(VI) accumulation and reduction by lichen biomass: correlation with U(VI)," *J. Environ. Radioact.*, vol. 77, no. 3, pp. 339–353, Jan. 2004.
- [28] O. D. Uluozlu, A. Sari, and M. Tuzen, "Biosorption of antimony from aqueous solution by lichen (*Physcia tribacia*) biomass," *Chem. Eng. J.*, vol. 163, no. 3, pp. 382–388, Oct. 2010.
- [29] O. D. Uluozlu, A. Sari, M. Tuzen, and M. Soyak, "Biosorption of Pb(II) and Cr(III) from aqueous solution by lichen (*Parmelina tiliaceae*) biomass," *Bioresour. Technol.*, vol. 99, no. 8, pp. 2972–2980, May 2008.
- [30] A. Bingol, A. Aslan, and A. Cakici, "Biosorption of chromate anions from aqueous solution by a cationic surfactant-modified lichen (*Cladonia rangiformis* (L.)), " *J. Hazard. Mater.*, vol. 161, no. 2–3, pp. 747–752, Jan. 2009.
- [31] L. Ekou, Y. Zoungranan, T. Ekou, and K. V. A. Kouadio, "Bioaccumulation Capacity of Cu and Fe on Lichen *Parmotrema Dilatatum*," *Eur. J. Sci. Res.*, vol. 145, no. 3, pp. 346–353, 2017.
- [32] F. Ekmekyapar, A. Aslan, Y. K. Bayhan, and A. Cakici, "Biosorption of copper(II) by nonliving lichen biomass of *Cladonia rangiformis hoffm.*," *J. Hazard. Mater.*, vol. 137, no. 1, pp. 293–298, Sep. 2006.
- [33] Y. Zoungranan, E. Lynda, E. Tchirioua, and D. G. Bieri, "Effect of Metal Cations Pb<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> and Fe<sup>2+</sup> on Some Physiological Parameters of Lichen *Parmotrema dilatatum*," *Am. J. Environ. Prot.*, vol. 7, no. 1, pp. 24–33, 2019.
- [34] K. K. Dobi-brice, E. Lynda, Y. Zoungranan, and E. Tchirioua, "Theoretical Characteristics of Deactivated Lichens Fixed Bed Column for the Crystal Violet and," *Am. J. Water Resour.*, vol. 8, no. 2, pp. 69–77, 2020.

- [35] A. A. Spielmann and M. P. Marcelli, "Parmotrema s.l. (Parmeliaceae, lichenized Ascomycota) from Serra Geral slopes in central Rio Grande do Sul state, Brazil," *Hochnea*, vol. 36, no. 4, pp. 551–595, 2009.
- [36] K. K. Dobi-brice, E. Lynda, Y. Zoungnan, K. K. Sévariste, and E. Tchirioua, "Column adsorption of Violet Crystal and Methyl Red by deactivated lichen *Parmotrema dilatatum*," *Aust. J. Basic Appl. Sci.*, vol. 13, no. 5, pp. 26–34, 2019.
- [37] Adrián Bonilla-Petriciolet; Didilia Ileana Mendoza-Castillo; Hilda Elizabeth Reynel-Avila, *Adsorption Processes for Water Treatment and Purification*, Springer. México: Springer International Publishing, 2017.
- [38] G. L. Dotto, J. M. N. dos Santos, R. Rosa, L. A. A. Pinto, F. A. Pavan, and E. C. Lima, "Fixed bed adsorption of Methylene Blue by ultrasonic surface modified chitin supported on sand," *Chem. Eng. Res. Des.*, vol. 100, pp. 302–310, 2015.
- [39] H. D. S. S. Karunaratne and B. M. W. P. K. Amarasinghe, "Fixed Bed Adsorption Column Studies for the Removal of Aqueous Phenol from Activated Carbon Prepared from Sugarcane Bagasse," *Energy Procedia*, vol. 34, pp. 83–90, 2013.
- [40] M. H. Marzbali and M. Esmaili, "Fixed bed adsorption of tetracycline on a mesoporous activated carbon: Experimental study and neuro-fuzzy modeling," *J. Appl. Res. Technol.*, vol. 15, no. 5, pp. 454–463, Oct. 2017.

## Développement de nouveaux capteurs chimiques à base de verre chalcogénure spécifique aux ions plomb

Gaoussou Cisse<sup>1</sup>\*, Marc Essi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Université Felix Houphouët Boigny UFR-SSMT, LCMI, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

### Résumé

La pollution des eaux par les métaux lourds demeure un problème majeur [1,2]. En effet, les eaux sont un vecteur important du transfert des métaux de l'environnement vers l'organisme. Il est donc essentiel de disposer de moyens de mesure in situ et en continu. Les capteurs chimiques à base de verre chalcogénures sont des matériaux de choix pour la détection des ions lourds en solution [3,4]. L'objectif de notre étude est d'élaborer et de caractériser des capteurs à base de matériaux chalcogénures sensibles aux ions plomb (+II). Le système 25PbI<sub>2</sub>-40Ag<sub>2</sub>S-35As<sub>2</sub>S<sub>3</sub> (% at) est sélectionné. Les composés As<sub>2</sub>S<sub>3</sub>, Ag<sub>2</sub>S et PbI<sub>2</sub> sont pesés, broyés, mélangés puis introduits dans des tubes scellés sous vide secondaire. Les tubes sont ensuite placés dans un four. Le verre est obtenu après une trempe à l'eau glacée. La membrane montre un comportement nernstien dans la gamme (10<sup>-5.5</sup> - 10<sup>-3</sup> M) de concentration en ion Pb<sup>2+</sup>. La limite de détection est 10<sup>-6</sup> M. Ces résultats permettent de conclure la capacité du capteur à des mesures in situ et en continu. En perspective, il serait intéressant de comprendre les phénomènes à l'origine de la réponse du capteur en faisant une caractérisation à l'aide la spectroscopie d'impédance électrochimique.

**Mots Clés :** Capteurs chimiques, métaux lourds, verre chalcogénure, plomb.

## Development of new chemical sensors based on chalcogenide glass specific for lead ions

### Abstract

Water pollution by heavy metals remains a major problem [1,2]. Indeed, water is an important vector for the transfer of metals from the environment to the body. It is therefore essential to have in situ and continuous measurement means. Chemical sensors based on chalcogenide glass are the materials of choice for the detection of heavy ions in solution [3,4]. The objective of our study is to develop and characterize sensors based on chalcogenide materials sensitive to lead (+ II) ions. The 25PbI<sub>2</sub>-40Ag<sub>2</sub>S-35As<sub>2</sub>S<sub>3</sub> (% at) system is selected. The compounds As<sub>2</sub>S<sub>3</sub>, Ag<sub>2</sub>S and PbI<sub>2</sub> are weighed, ground, mixed and then introduced into sealed tubes under secondary vacuum. The tubes are then placed in an oven. The glass is obtained after quenching in ice water. The membrane shows a Nernstian behavior in the range (10<sup>-5.5</sup> - 10<sup>-3</sup> M) of Pb<sup>2+</sup> ion concentration. The detection limit is 10<sup>-6</sup> M. These results allow to conclude the capacity of the sensor for in situ and continuous measurements. In perspective, it would be interesting to understand the phenomena behind the sensor response by characterizing it using electrochemical impedance spectroscopy.

**Keywords:** Chemical sensors, heavy metals, chalcogenide glass, lead

### Introduction

La pollution des eaux par les métaux lourds demeure un problème majeur. En effet, les eaux sont un vecteur important du transfert des métaux de l'environnement vers l'organisme. 1,7 millions de décès par an sont liés à l'ingestion d'eau contaminée [5]. Cette statistique met le doigt sur une conséquence dramatique d'une pollution de l'eau de plus en plus importante. De ce fait, le contrôle de l'eau est donc une préoccupation majeure des pouvoirs publics. Le contrôle de la qualité de l'eau nécessite la mise au point de méthodes analytiques de plus en plus précises et sélectives. A ce jour, la quasi-totalité des contrôles des eaux se fait en laboratoire après prélèvement sur sites. Si les techniques d'analyse de laboratoire permettent des mesures fiables, l'étape d'échantillonnage peut être source d'erreur. De plus, le prélèvement étant parcellaire et ponctuel, il se pose la question de la représentativité de l'échantillon analysé. Il est donc nécessaire de concevoir des instruments mieux appropriés à cet usage. Les capteurs chimiques sont adaptés à la détection des ions. Les membranes chalcogénures sont des matériaux de choix pour la détection des ions lourds en solution [6–8]. Ces membranes chalcogénures présentent l'avantage d'être sensibles et sélectifs pour la détection de nombreux ions lourds en solution. Ce travail consiste à élaborer et caractériser un capteur massif à base de matériaux chalcogénures sensible aux ions Pb<sup>2+</sup> en solution. Sur la base de la littérature, nous avons choisi le système PbI<sub>2</sub>-Ag<sub>2</sub>S-As<sub>2</sub>S<sub>3</sub>.

### Matériaux et méthodes

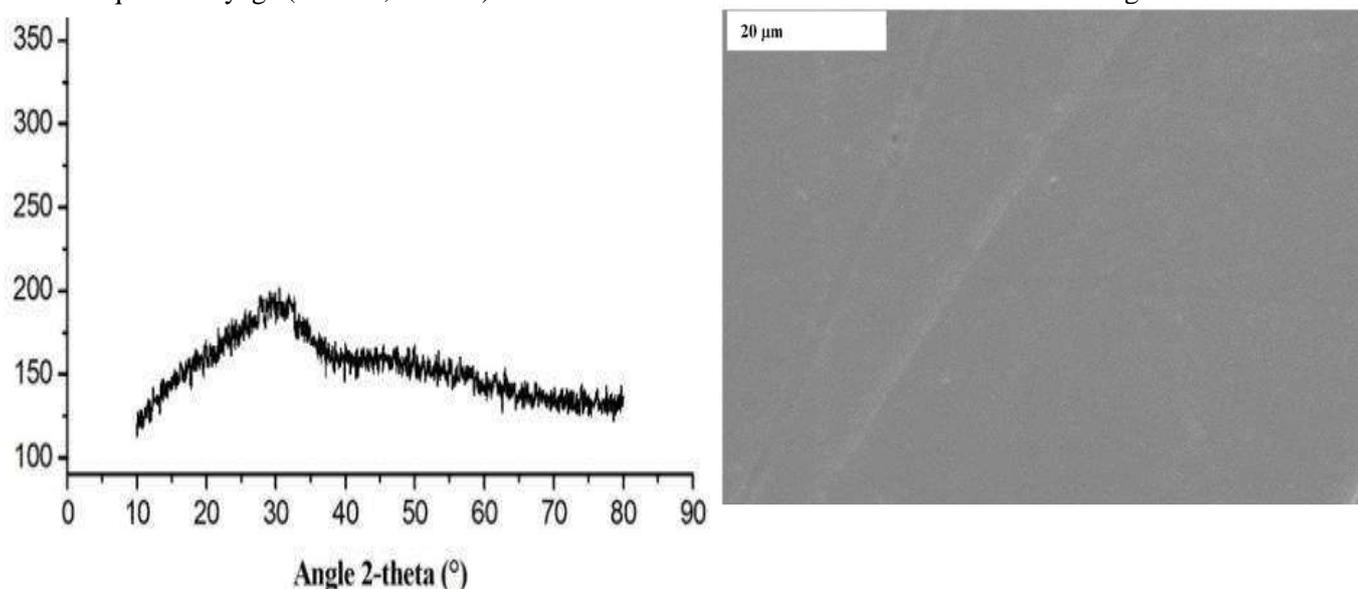
Le verre massif de chalcogénure 25PbI<sub>2</sub>-40Ag<sub>2</sub>S-35As<sub>2</sub>S<sub>3</sub> a été préparé à partir d'éléments de haute pureté (4N). Les proportions stœchiométriques sont pondérées, mélangées et scellé dans une ampoule de quartz sous vide. L'ampoule est ensuite chauffée à 1200 K pendant 24 h et trempée dans l'eau. Les tubes contenant la masse fondue ont été mis en rotation en continu pour assurer un mélange et une réaction complets. Un traitement thermique a été effectué à une température inférieure à la température de transition vitreuse pendant 2 h pour éliminer les contraintes de l'échantillon. Les électrodes à semi-conducteurs ont été construits en coupant les verres en plaques rectangulaires. Les deux faces ont été initialement polies à l'aide de papier au carbure de silicium. Ensuite, toutes les membranes ont

été soigneusement polies avec un spray de diamant de tailles décroissantes pour obtenir des plaques planes parallèles. Un contact en argent a été pulvérisé sur un côté comme référence interne et un fil métallique y a été attaché avec de la pâte d'argent. La surface non fonctionnelle (c'est-à-dire la référence interne et le contact électrique) a été isolée des milieux aqueux en les encapsulant à l'aide de la résine époxy.

Les électrodes sélectives d'ions sont des capteurs chimiques qui convertissent le signal ionique en un signal électronique mesurable. En tant que type de détection potentiométrique, l'ISE nécessite généralement l'utilisation d'une électrode de référence pour déterminer la concentration d'ions primaires. L'électrode de référence externe était une électrode Ag/AgCl commerciale utilisée avec une double jonction. Des mesures électrochimiques ont été effectuées à température ambiante avec un millivoltmètre à haute impédance. Une solution de  $\text{KNO}_3$   $10^{-1}\text{M}$  a été utilisée comme électrolyte de support afin d'assurer une force ionique constante dans des conditions stationnaires à agitation constante. Des solutions d'essai à des concentrations de  $10^{-2}$  à  $10^{-5}$  M ont été préparées par des dilutions successives de 10 fois d'une solution  $10^{-1}$  M de  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ .

## Résultats et discussions

Les caractéristiques structurales et l'homogénéité de l'alliage préparé ont été vérifiées par une analyse aux rayons X. Le résultat de la diffraction des rayons X (**Figure 1 (a)**) montre que la composition étudiée est un verre typique sans pics sur le diffractogramme. La morphologie de la membrane massive a été caractérisée par microscopie électronique à balayage (Hitachi, S-4800). L'observation MEB montre une surface lisse et homogène de l'échantillon.

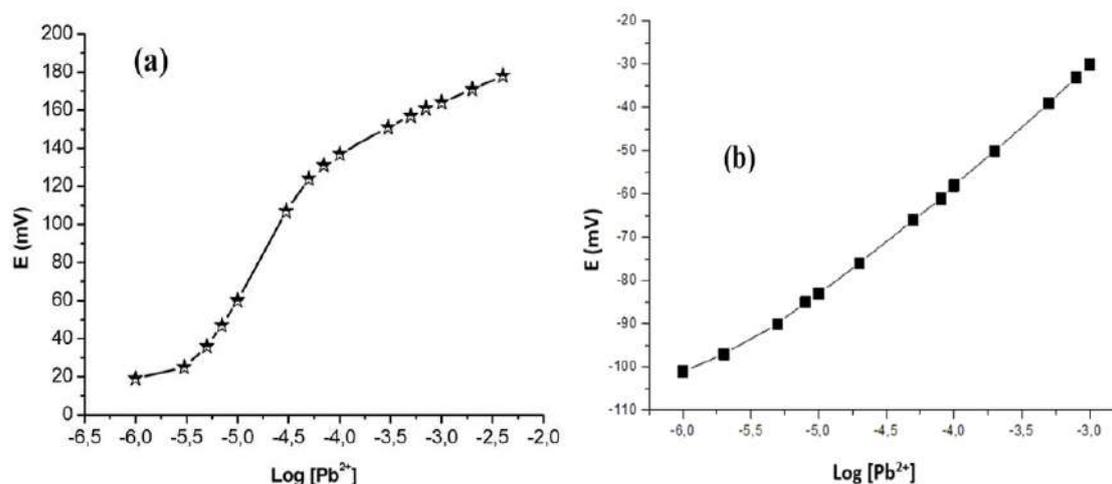


**Figure 45:** Courbes de calibration de la membrane  $25\text{PbI}_2\text{-}40\text{Ag}_2\text{S-}35\text{As}_2\text{S}_3$  (a) Etalonnage 1 et (b) Etalonnage 2.

La température de transition vitreuse étudiée déterminée par analyse thermique s'est avérée atteindre une valeur faible (c'est-à-dire  $152^\circ\text{C}$ ). Ceci est en accord avec l'étude DRX. Il est connu que le verre chalcogénure à très faible conductivité ne peut pas être utilisé avec succès comme membranes sensibles pour les capteurs chimiques [9]. En effet, il induit des temps de réponse très longs et un signal de sortie électrochimique instable. La conductivité électrique totale de la membrane synthétisée de composition  $25\text{PbI}_2\text{-}40\text{Ag}_2\text{S-}35\text{As}_2\text{S}_3$  a été étudiée par la méthode de spectroscopie d'impédance (GenRad 1693 RLC Digibridge TM) à température ambiante dans une gamme de fréquence de 200 kHz-12 Hz. La conductivité à température ambiante de l'échantillon étudié est  $1,5 \times 10^{-5} \text{ S.cm}^{-1}$ . Cette valeur semble suffisamment grande pour permettre des expériences in situ. De plus, une grande partie de la conduction ionique dans l'échantillon était notée.

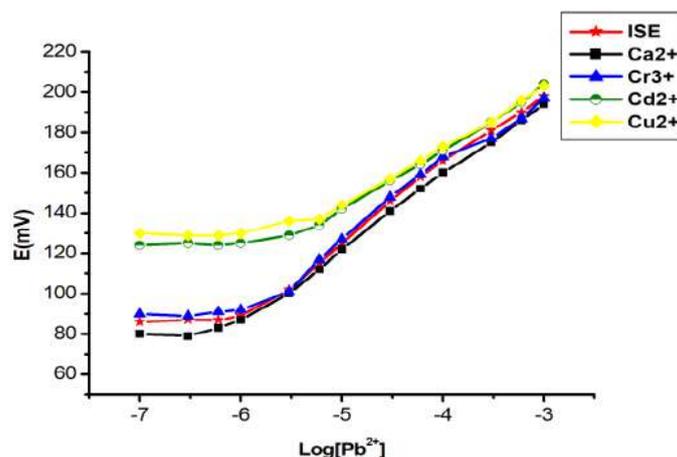
La sensibilité et la limite de détection de la membrane ont été déterminés. Les courbes d'étalonnage de la membrane de composition  $25\text{PbI}_2\text{-}40\text{Ag}_2\text{S-}35\text{As}_2\text{S}_3$  sont illustrées à la **figure 2**. Au premier étalonnage, le capteur indique une réponse sur-nernstienne aux faibles concentrations (**figure 2 (a)**). Cependant, sur l'intervalle de concentration allant de  $10^{-4}$  à  $10^{-2}$  M, la réponse est nernstienne. Ce comportement a été déjà rapporté par plusieurs auteurs. La pente sur-nernstienne est généralement observée dans les systèmes pauvres en élément métallique. Au deuxième étalonnage (**figure 2 (b)**), les caractéristiques du capteur sont plus stables. La réponse potentiométrique est quasiment nernstienne avec une pente d'environ 27 mV/pPb. Cette valeur est légèrement différente de la valeur théorique (29,6 mV/pPb) donnée par l'équation de Nernst. La limite de détection correspond au point d'intersection

des segments extrapolés du domaine de linéarité et des faibles concentrations de la courbe d'étalonnage (**figure 2 (b)**). Elle est de l'ordre de  $10^{-6}$  M. Le domaine de linéarité de la réponse de la membrane sensible se trouve dans la gamme de concentration allant de  $10^{-5,5}$  à  $10^{-3}$  M en ions  $Pb^{2+}$ .



**Figure 46:** Courbes de calibration de la membrane 25PbI<sub>2</sub>-40Ag<sub>2</sub>S-35As<sub>2</sub>S<sub>3</sub> (a) Etalonnage 1 et (b) Etalonnage 2.

La sélectivité du plomb-ISE vis-à-vis des ions interférents est vitale pour assurer une détection et une quantification fiables de la concentration en ions primaires. L'Union internationale de chimie pure et appliquée (IUPAC) a recommandé une méthode d'interférence fixe ou une méthode de solution séparée pour déterminer les coefficients de sélectivité [10]. Nous avons sélectionné le premier pour obtenir le coefficient de sélectivité non biaisé. Comme on peut le voir sur la **figure 3**, le Pb-SE était légèrement sensible aux ions  $Cd^{2+}$  et aux ions  $Cu^{2+}$  et pratiquement non sensible aux  $Cr^{3+}$  et aux  $Ca^{2+}$ . La capacité du capteur à distinguer les ions interférents de l'ion primaire peut être exprimée par le coefficient de sélectivité. Les coefficients de sélectivité déterminés sont présentés dans le **tableau 1**. Il est indiqué que Cd et Cu interfèrent légèrement avec la réponse de l'ISE à l'ion primaire. Nous n'avons observé aucune interférence par les autres ions étudiés puisque plus le coefficient, plus l'influence de l'ion interférant est faible. L'interférence principale  $Cu^{2+}$  est peut-être due à la forte compétition du cuivre avec le plomb dans le dépôt à l'électrode.

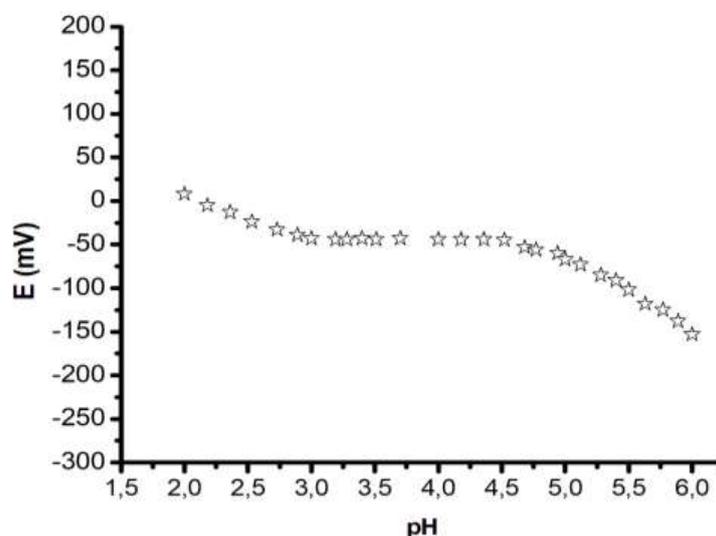


**Figure 47:** Sélectivité typique du capteur sensible aux ions plomb (+II) en présence des ions  $Ca^{2+}$ ,  $Cr^{3+}$ ,  $Cd^{2+}$  et  $Cu^{2+}$ .

**Tableau 15 :** Coefficients de sélectivité du capteur 25PbI<sub>2</sub>-40Ag<sub>2</sub>S-35As<sub>2</sub>S<sub>3</sub> en présence d'ions interférents.

Ions Interférents $M^{Z+}$	$K_{Pb^{2+},M^{Z+}}$
$Ca^{2+}$	$10^{-6}$
$Cr^{3+}$	$10^{-6}$
$Cd^{2+}$	$10^{-4}$
$Cu^{2+}$	$10^{-4}$

La plage de pH applicable est un autre paramètre important. La **figure 4** montre que le signal de sortie de l'électrode sensible reste stable dans la plage de pH = 3 - 5 indépendamment des changements de pH dans la solution de mesure. La réponse PbSE a diminué dans la plage de pH > 5 en raison de la précipitation de l'hydroxyde. La diminution est devenue plus prononcée à des valeurs de pH plus élevées. De plus, le capteur est sensible aux espèces H<sup>+</sup> dans la plage pH < 3.



**Figure 48:** Influence du pH sur le signal du capteur.

## Conclusions

La réponse du dispositif 25PbI<sub>2</sub>-40Ag<sub>2</sub>S-35As<sub>2</sub>S<sub>3</sub> par rapport à l'ion Pb<sup>2+</sup> a été étudiée. Le capteur a montré une sensibilité quasi nernstienne vis-à-vis des ions Pb<sup>2+</sup>. Le domaine de linéarité de la membrane était dans la plage 10<sup>-5,5</sup> - 10<sup>-3</sup> M avec une pente 27 mV / pPb et une limite de détection de l'ordre 10<sup>-6</sup>M. L'électrode a montré une parfaite sélectivité en présence de cations interférents Ca<sup>2+</sup> et Cr<sup>3+</sup> et une sélectivité relative en présence des ions Cd<sup>2+</sup> et Cu<sup>2+</sup>. L'étude de l'influence du pH a montré que l'intervalle de pH allant de 3,0 à 4,5 est une plage de travail appropriée de la membrane étudiée. En conclusion nous avons montré dans ce travail la capacité du capteur chimique à base de membranes chalcogénures à apporter des solutions intéressantes aux besoins actuels : dispositifs pouvant être utilisés en continu et in situ.

## Références bibliographiques

- [1] Nations Unies, Unesco, Rapport mondial des Nations Unies sur la mise en valeur des ressources en eau: les eaux usées, une ressource inexploitée, 2017.
- [2] D. Pooja, P. Kumar, P. Singh, S. Patil, eds., Sensors in Water Pollutants Monitoring: Role of Material, Springer Singapore, Singapore, 2020. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-0671-0>.
- [3] Y.G. Vlasov, E.A. Bychkov, Ion-selective chalcogenide glass electrodes, Ion-Selective Electrode Rev. 9 (1987) 5–93.
- [4] V. Vassilev, K. Tomova, S. Boycheva, Pb(II)-ion-selective electrodes based on chalcogenide glasses, Journal of Non-Crystalline Solids. 353 (2007) 2779–2784. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrsol.2007.05.022>.
- [5] World Water Assessment Programme (Nations Unies), Unesco, Rapport mondial des Nations Unies sur la mise en valeur des ressources en eau: les eaux usées, une ressource inexploitée, 2017.
- [6] A. Guessous, J. Sarradin, P. Papet, K. Elkacemi, S. Belcadi, A. Pradel, M. Ribes, Chemical microsensors based on chalcogenide glasses for the detection of cadmium ions in solution, Sensors and Actuators B: Chemical. 53 (1998) 13–18. [https://doi.org/10.1016/S0925-4005\(98\)00279-2](https://doi.org/10.1016/S0925-4005(98)00279-2).
- [7] A. Pradel, O. Valls, C. Cali, G. Taillades, A. Bratov, C. Dominguez, M. Ribes, Chalcogenide glasses as sensitive membranes for the detection of ions in solution, Journal of Optoelectronics and Advanced Materials. 3 (2001) 641–648.
- [8] M. ESSI, D. COT, STUDY OF IRON (III) SENSOR BASED ON CHALCOGENIDE GLASS, Journal of Non-Oxide Glasses Vol. 11 (2019) 65–71.
- [9] A. Pradel, N. Kuwata, M. Ribes, Ion transport and structure in chalcogenide glasses, J. Phys.: Condens. Matter. 15 (2003) S1561–S1571. <https://doi.org/10.1088/0953-8984/15/16/306>.
- [10] X. Tang, P.-Y. Wang, G. Buchter, Ion-selective electrodes for detection of lead (II) in drinking water: A mini-review, Environments. 5 (2018) 95.

## Traitement des ions nitrates par le procédé d'électrocoagulation: criblage et optimisation des paramètres par les plans d'expériences

Judicaël Ano<sup>1</sup>, Kopoin Adouby<sup>1</sup>, Drogui Patrick<sup>2</sup>, Benjamin Kouassi Yao<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny (Côte d'Ivoire), BP 1093, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire

<sup>2</sup>Institut National de la Recherche Scientifique (INRS Eau Terre et Environnement), Université du Québec, 490 rue de la Couronne, Québec

### Résumé

Les teneurs élevées en nitrates dans les eaux représentent de sérieux problèmes environnementaux et sanitaires s'ils ne sont pas éliminés efficacement. L'objectif de cette étude a été d'éliminer les nitrates par le procédé d'électrocoagulation. Les plans d'expérience ont été appliqués pour cribler et optimiser cinq facteurs : l'intensité du courant (0,5 - 2 A), le temps de traitement (20 - 60 min), le pH initial (4 - 10), le type d'électrode (Fe - Al) et le type d'électrolyte (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - NaCl). Le plan de Plackett et Burman a été d'abord utilisé pour cribler et déterminer les effets des facteurs. Les résultats ont montré qu'un courant élevé (2A), une longue durée (60 min), un pH bas (4) ainsi que l'aluminium sont favorables au traitement. Ensuite, le plan de Box-Behnken a été utilisé pour optimiser l'élimination des nitrates en minimisant l'ammonium généré et le coût de traitement. Les conditions optimales sont les suivantes: intensité 1,80A, temps 33,01 minutes et pH 8,73. Dans ces conditions, 73,8% de nitrate ont été éliminés contre 12,02 mg/L d'ammonium généré et un coût d'exploitation de 720,2 FCFA/m<sup>3</sup>. L'électrocoagulation a été efficace pour traiter les nitrates, cependant l'électrooxydation serait un couplage intéressant pour éliminer l'ammonium généré.

**Mots clés:** nitrate, electrocoagulation, Plan de Plackett et Burman, Plan de Box-Behnken

## Treatment of nitrate ions by electrocoagulation process: screening and optimization of parameters by experimental designs

### Abstract

The high levels of nitrates in waters represent serious environmental and health problems if they are not removed effectively. The objective of this study was to remove nitrates by electrocoagulation process. The experimental designs were applied to screen and optimize five factors: current intensity (0.5 - 2A), treatment time (20 - 60 min), initial pH (4 -10), electrode type (Fe - Al) and electrolyte type (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - NaCl). Plackett and Burman Design was first used to screen and determine the effects of factors. The results showed that high current (2A), long duration (60 min), low pH (4) as well as aluminum are favorable for the treatment. Then, Box-Behnken design was used to optimize the nitrate removal while minimizing ammonium generated and operating cost. The optimal conditions obtained are the following: intensity 1.80A, time 33.01 minutes and pH 8.73. Under these conditions, 73.8% of nitrate were eliminated against 12.02 mg/L of ammonium and operating cost of 720.2 FCFA/m<sup>3</sup>. Electrocoagulation was effective in treating nitrates, however electrooxidation would be an interesting coupling to remove the ammonium generated.

**Key words:** nitrate, electrocoagulation, Plackett and Burman design, Box Behnken design

### 1. Introduction

Le nitrate, provenant naturellement du cycle de dégradation de la matière organique, est présent à de faibles concentrations dans les eaux de surface et souterraine. Cependant, ses concentrations ont continuellement augmenté ces 20 dernières années [1]. Cela est dû à plusieurs sources anthropiques telles que les activités domestiques et industrielles ainsi qu'à l'utilisation intensive de fertilisants lors des pratiques agricoles [2]. Cette situation engendre des problèmes environnementaux dont le plus visible est l'eutrophisation [3]. Par ailleurs, une forte concentration dans les eaux de boisson constitue des risques sanitaires tels que la synthèse des composés N-nitrosés cancérigènes et la formation de la méthémoglobine chez les nourrissons et les femmes enceintes [4]. Il est donc nécessaire de traiter les effluents provenant de ces différentes activités. Plusieurs procédés existent tels que les procédés biologiques, les techniques membranaires, l'échange ionique et l'adsorption ... Cependant ces procédés présentent des limites dans leurs mises en œuvre.

Vu les limites des procédés précédentes, le procédé électrochimiques d'électrocoagulation connaît un regain d'intérêts ces dernières années car alliant efficacité, processus de réaction rapide, simplicité d'équipements, facilité d'automatisation etc) [5]. Contrairement à la coagulation-floculation chimique (CFC), le processus d'électrocoagulation (EC) implique la génération in situ des coagulants par oxydation d'électrodes en fer ou en aluminium suite au passage d'un courant électrique [6]. Les études existantes, portant sur le traitement du nitrate par EC, ont montré que la performance du procédé dépend des paramètres clés tels que l'intensité de courant, la durée de traitement, le pH initial, le type d'électrode etc... [7-9]. Les études ont aussi montré que le nitrate est éliminé par électroréduction en principalement azote ammoniacal et par adsorption sur les hydroxydes métalliques [10]. Bien

que les études aient donné des rendements très satisfaisants, les courants imposés sont généralement importants avec des temps de traitement longs entraînant ainsi un coût d'opération élevé. Aussi, la quantification et l'effet des paramètres sur la formation du sous-produit principal (azote ammoniacal) restent limités. Enfin, c'est la méthode traditionnelle (un facteur à la fois) [11] qui est la plus utilisée. Cette méthode présente des limites liées au nombre élevé d'expériences, à l'absence des effets d'interaction et à l'impossibilité de trouver les meilleures conditions optimales [12,13]. La méthodologie des plans expériences (MPE) est un outil parfait pour répondre à cette préoccupation. C'est un outil statistique basé sur le développement de modèles mathématiques permettant d'évaluer les effets principaux des facteurs ainsi que de leurs interactions avec un nombre limité d'essais. Il permet aussi de modéliser et d'optimiser les processus. A l'état actuel de nos connaissances, l'utilisation du plan de Plackett et Burman (PPB) pour cribler et étudier les effets des paramètres clés n'existe pas dans la littérature. Aussi, l'ammonium généré et le coût de l'opération ne sont généralement pas mesurés dans le but d'une optimisation technico-économique.

Ainsi, la présente étude s'est fixée comme objectif général de réaliser une optimisation technico-économique de l'élimination des ions nitrates par le procédé d'électrocoagulation via les plans d'expériences. De façon spécifique, il s'agira de (i) faire un criblage et étudier les effets des facteurs sur l'efficacité du procédé, (ii) modéliser les taux d'abattement du nitrate, l'ammonium généré et le coût du traitement et (iii) analyser la qualité des modèles quadratiques qui serviront à optimiser le processus.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Préparation de l'eau usée synthétique et analyse chimique

L'eau usée synthétique pendant cette étude contient  $120 \text{ mgL}^{-1}$  de nitrate et est préparé à partir du nitrate de potassium (Panreac, pureté : 99%). Le réactif est préalablement séché à l'étuve à  $105^\circ\text{C}$ , ensuite une masse de 1,5648g est dissous dans l'eau distillée pour préparer 8L de solution. Avec un pH-mètre (HANNA HI 98150), le pH initial est ajusté avec des solutions de NaOH (1M) ou HCl (1M). Pour améliorer la conductivité, 2g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ou NaCl (Prolabo, pureté : 99%) ont été ajoutés à la solution synthétique avant le traitement.

Dans cette étude, la détermination de la concentration résiduelle du nitrate et de l'ammonium généré est faite selon la norme AFNOR.

### 2.2. Dispositif expérimental et protocole

Le dispositif expérimental est composé d'une cellule électrolytique en plexiglass de capacité 1,7L contenant l'effluent à traiter. 10 électrodes plates ( $10\text{cm} \times 11\text{cm}$ ), montées en mode monopolaire et connectées à un générateur de courant continu, sont immergées dans l'effluent. L'ensemble est mis sous agitation à 700 rpm en mode batch. Un volume de travail de 1,7L de l'effluent synthétique a été ajouté dans le réacteur. Le traitement commence après avoir réglé les paramètres à la valeur désirée et le traitement se déroule pendant une durée déterminée. A la fin du traitement, l'eau traitée est transvasée dans une éprouvette de 2L pour une décantation naturelle pendant 24 heures. Une fois décanté, le surnageant est filtré sous vide à l'aide d'un Buchner. Le filtrat est recueilli pour déterminer les concentrations résiduelles des polluants. La détermination des paramètres physico-chimiques s'est faite suivant la norme AFNOR. La conductivité des effluents est améliorée en y ajoutant une masse de 2g de sulfate de sodium ou de chlorure de sodium.

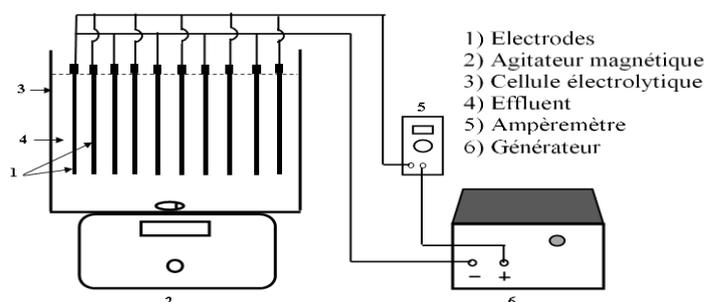


Figure 49 : schéma du dispositif expérimental

### 2.3. La méthodologie des plans d'expériences

Un plan de Plackett et Burman (PPB) a été d'abord utilisé pour le criblage et l'étude des effets principaux de cinq facteurs à savoir l'intensité de courant, le temps, le pH, le type d'électrode et le type d'électrolyte. Les valeurs codées et le domaine de variation des facteurs sont résumés dans le **Tableau 1**.

**Tableau 1:** Domaine expérimental du PPB

Variables codées (X <sub>i</sub> )	Variables réelles (U <sub>i</sub> )	Unité	Domaine expérimental	
			Niveau bas (-1)	Niveau haut (+1)
X <sub>1</sub>	Intensité de courant: U <sub>1</sub>	A	0,5	2,0
X <sub>2</sub>	Temps : U <sub>2</sub>	mg/L	20	60
X <sub>3</sub>	pH : U <sub>3</sub>	-	4	10
X <sub>4</sub>	Type electrodes: U <sub>4</sub>	-	Fe	Al
X <sub>5</sub>	Type électrolyte : U <sub>5</sub>		Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	NaCl

Ensuite, avec les facteurs sélectionnés par le PPB, un plan de Box-Behnken (PBB) a été utilisé pour modéliser et optimiser le processus. Les taux d'abattement des nitrates (Y<sub>1</sub>), la teneur en azote ammoniacal (Y<sub>2</sub>) et le coût du traitement (Y<sub>3</sub>) sont les réponses mesurées à la fin de chaque essai.

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Criblage et effet des facteurs sur l'abattement du nitrate

Pour comprendre le criblage des facteurs sur l'abattement, les coefficients des facteurs et leur écart-type ont été calculés et sont résumés dans le **Tableau 2**.

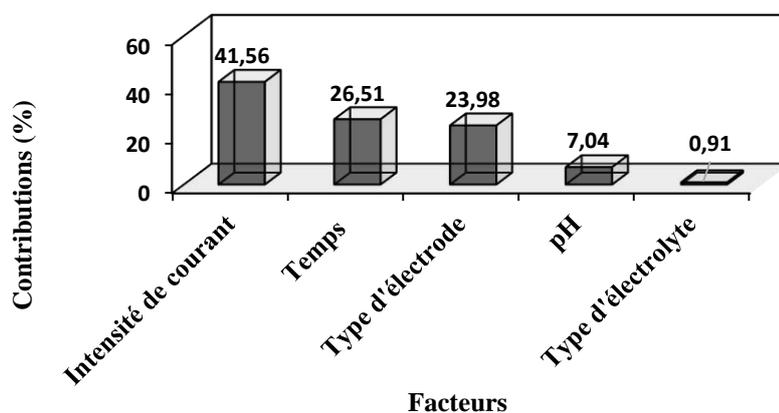
**Tableau 2 :** Coefficient des facteurs et écart-type

Nom	Valeurs	Significativité
b <sub>0</sub>	<b>41,591</b>	Significatif
b <sub>1</sub>	<b>12,219</b>	Significatif
b <sub>2</sub>	<b>9,759</b>	Significatif
b <sub>3</sub>	<b>-5,029</b>	Possible
b <sub>4</sub>	<b>9,281</b>	Significatif
b <sub>5</sub>	1,801	Non significatif
R <sup>2</sup>	0,911	
σ	4,191	

En comparant les coefficients de chaque facteur à l'écart-type  $\sigma = 4,191$ , quatre facteurs parmi les cinq sont significatifs. Il s'agit de l'intensité du courant (U<sub>1</sub>), le temps de traitement (U<sub>2</sub>), le pH de la solution (U<sub>3</sub>) et le type d'électrode (U<sub>4</sub>). La significativité des coefficients des effets est confirmée par le calcul des contributions des facteurs à travers la formule de Pareto :

$$P_i = 100 * \frac{b_i^2}{\sum b_i^2} \quad , \quad (i \neq 0) \quad (1)$$

Avec  $b_i$  : coefficients statistiques des différents facteurs. Les différentes contributions sont résumées sur le diagramme de Pareto à travers la **figure 2**.

**Figure 2 :** Diagramme de Pareto

D'après le diagramme de Pareto, il apparaît que l'intensité de courant a la plus forte contribution (41,56%) suivie du temps de traitement (26,51%) ensuite le type d'électrode (23,98%) et le pH (7,04%).

Les coefficients de l'intensité de courant ( $b_1 = +12,219$ ) et du temps ( $b_2 = +9,759$ ) sont positifs, cela signifie que l'augmentation du courant et du temps de traitement augmente l'efficacité du traitement. Le signe négatif

du pH (-5,029) signifie que l'augmentation du pH diminue l'efficacité du traitement. Un pH acide est donc favorable à l'élimination des nitrates. Enfin, le coefficient  $b_3$  positif (+ 9,281) signifie que l'Al est plus efficace que le fer. Ce résultat a également été observée par Govinda et al.(2015), qui expliquent ce fait par la capacité d'adsorption plus grande des hydroxide d'aluminium par rapport au fer [10].

### 3.2. Modélisation et optimisation du processus

Dans la deuxième étape, le processus a été modélisé à l'aide du PBB. Les réponses expérimentales (l'abattement du nitrate ( $Y_1$ ), l'ammonium généré ( $Y_2$ ) et le coût de l'opération ( $Y_3$ )), corrélées avec les facteurs d'influence, ont permis d'établir les modèles de second degré exprimées par les équations (2) – (4).

$$Y_1 = 70,913 + 5,964 X_1 + 9,100X_2 - 0,541X_3 - 4,177X_1^2 - 0,784X_2^2 + 1,778X_3^2 - 2,322X_1X_2 + 0,215X_1X_3 + 0,788X_2X_3 \quad (2)$$

$$Y_2 = 17,6533 + 3,1 X_1 + 5,625X_2 - 2,075X_3 - 5,7767X_1^2 + 1,0733X_2^2 + 2,0733X_3^2 + 1,25X_1X_2 - 0,45X_1X_3 + 0,8X_2X_3 \quad (3)$$

$$Y_4 = 567,11 + 271,39 X_1 + 297,22X_2 + 46,88 X_3 + 16,02X_1^2 - 10,71X_2^2 + 59,79X_3^2 + 127 X_1X_2 - 52,91X_1X_3 - 2X_2X_3 \quad (4)$$

Les valeurs des coefficients de détermination des quatre modèles ( $R^2 = 0,951$  pour  $Y_1$ ,  $R^2 = 0,955$  pour  $Y_2$  et  $R^2 = 0,985$  pour  $Y_3$ ) sont supérieures à 0,8 et les valeurs de probabilité (0,566 ; 0,165 et 0,03 respectivement pour  $Y_1$ ,  $Y_2$  et  $Y_3$ ) sont inférieures à 5%, ce montre une bonne corrélation entre les valeurs expérimentales et théoriques [14].

L'ultime étape est l'optimisation du procédé. L'optimisation technico-économique du processus consiste à déterminer les valeurs de l'intensité de courant, du pH initial et du temps de traitement permettant de maximiser le taux d'élimination du nitrate tout en minimisant l'ammonium généré et le coût de l'opération. Les conditions optimales prédites par les modèles sont indiquées dans le **Tableau 3**.

Pour confirmer l'adéquation et la validité du modèle, trois expériences ont été réalisées dans des conditions de fonctionnement optimales prédites par les modèles. Le rendement d'élimination obtenus est de  $73,8 \pm 1,05$  % (88,56 mg.L<sup>-1</sup> de nitrate éliminé), l'ammonium généré de  $12,02 \pm 2,2$  mg.L<sup>-1</sup> et le coût d'exploitation de  $720,2 \pm 110,8$  FCFA/m<sup>3</sup>. Les valeurs issues des vérifications expérimentales sont très proches de celles obtenues par les modèles. Cela prouve la bonne corrélation existant entre les données prédites et expérimentales, confirmant ainsi l'éligibilité des modèles dans leur capacité à prédire les réponses expérimentales. Après vérification des conditions optimales suggérées par le logiciel NemrodW, l'efficacité d'élimination (73,8%) donne une concentration finale de 31,44 mg/L. Cette concentration résiduelle de nitrate est inférieure à la limite recommandée par l'OMS (50 mg.L<sup>-1</sup>). Bien que l'élimination des nitrates entraîne la formation de l'azote ammoniacal, il est possible d'atteindre des niveaux de nitrate en dessous des limites de l'OMS en minimisant la formation de l'azote ammoniacal et le coût du traitement.

**Tableau 3** : Conditions optimales et réponses prédites

Facteurs ( $U_i$ )			Condition optimale prédite				Désirabilité
$U_1$ (A)	$U_2$ (min)	$U_3$ -	$Y_1$ (%)	$Y_2$ (mg/L)	$Y_3$ (g)	$Y_4$ (FCFA/m <sup>3</sup> )	
1,80	33,01	8,73	70,58	13,78	1,68	663,14	100%

### 4. Conclusion

Il ressort de cette étude que le processus d'électrocoagulation, utilisant des électrodes en fer et en aluminium a permis de réduire le nitrate à des valeurs inférieures à la norme de l'OMS. La méthode traditionnelle a été substituée par la méthodologie des plans d'expériences. Les résultats obtenus concordent avec ceux de la littérature. Le PPB a permis d'identifier les facteurs influents ainsi que leurs effets sur l'abattement. Il apparait que l'intensité de courant et le temps ont un effet positif tandis que le pH a un effet négatif. Les résultats ont aussi révélé que l'aluminium est plus efficace que le fer. Le plan de Box-Behnken a été utilisé pour modéliser l'abattement du nitrate, l'ammonium généré et le coût du traitement. L'optimisation technico-économique a permis d'éliminer 73,8% avec 12,02mgL<sup>-1</sup> et un coût de traitement de 720,2 FCFA/m<sup>3</sup>. En perspective, il serait intéressant de coupler l'électrooxydation à l'EC afin de convertir l'ammonium généré en azote gazeux. En outre, il serait intéressant d'appliquer les conditions optimales sur une matrice réelle.

### 5. Bibliographies

[1] E. Karamati-Niaragh, M.R. Alavi Moghaddam, M.M. Emamjomeh, E. Nazlabadi, Evaluation of direct and alternating current on nitrate removal using a continuous electrocoagulation process: Economical and environmental approaches through RSM, Journal of Environmental Management. 230 (2019) 245–254.

- [2] R. Kamaraj, A. Pandiarajan, S. Jayakiruba, Mu. Naushad, S. Vasudevan, Kinetics, thermodynamics and isotherm modeling for removal of nitrate from liquids by facile one-pot electrosynthesized nano zinc hydroxide, *Journal of Molecular Liquids*. 215 (2016) 204–211.
- [3] M. Majlesi, S.M. Mohseny, M. Sardar, S. Golmohammadi, A. Sheikhmohammadi, Improvement of aqueous nitrate removal by using continuous electrocoagulation/electroflotation unit with vertical monopolar electrodes, *Sustainable Environment Research*. 26 (2016) 287–290.
- [4] C.-P. Huang, H.-W. Wang, P.-C. Chiu, Nitrate reduction by metallic iron, *Water Research*. 32 (1998) 2257–2264.
- [5] D.T. Moussa, M.H. El-Naas, M. Nasser, M.J. Al-Marri, A comprehensive review of electrocoagulation for water treatment: Potentials and challenges, *Journal of Environmental Management*. 186 (2017) 24–41.
- [6] J.N. Hakizimana, B. Gourich, M. Chafi, Y. Stiriba, C. Vial, P. Drogui, J. Naja, Electrocoagulation process in water treatment: A review of electrocoagulation modeling approaches, *Desalination*. 404 (2017) 1–21.
- [7] M. Malakootian, N. Yousefi, A. Fatehizadeh, Survey efficiency of electrocoagulation on nitrate removal from aqueous solution, *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 8 (2011) 107–114.
- [8] J. Lakshmi, G. Sozhan, S. Vasudevan, Recovery of hydrogen and removal of nitrate from water by electrocoagulation process, *Environmental Science and Pollution Research*. 20 (2013) 2184–2192.
- [9] M. Amarine, B. Lekhlif, M. Sinan, A. El Rharras, J. Echaabi, Treatment of nitrate-rich groundwater using electrocoagulation with aluminum anodes, *Groundwater for Sustainable Development*. (2020) 100371.
- [10] K. Govindan, M. Noel, R. Mohan, Removal of nitrate ion from water by electrochemical approaches, *Journal of Water Process Engineering*. 6 (2015) 58–63.
- [11] J. Ano, A.S. Assémian, Y.A. Yobouet, K. Adouby, D. Patrick, Electrochemical removal of phosphate from synthetic effluent: A comparative study between iron and aluminum by using experimental design methodology, *Process Safety and Environmental Protection*. (2019).
- [12] A.S. Assémian, K.E. Kouassi, A.E. Zogbé, K. Adouby, P. Drogui, In-situ generation of effective coagulant to treat textile bio-refractory wastewater: Optimization through response surface methodology, *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 6 (2018) 5587–5594.
- [13] A.S. Assémian, K.E. Kouassi, P. Drogui, K. Adouby, D. Boa, Removal of a Persistent Dye in Aqueous Solutions by Electrocoagulation Process: Modeling and Optimization Through Response Surface Methodology, *Water Air Soil Pollut.* 229 (2018) 184.
- [14] B.G.H. Briton, L. Duclaux, Y. Richardson, K.B. Yao, L. Reinert, Y. Soneda, Optimization of total organic carbon removal of a real dyeing wastewater by heterogeneous Fenton using response surface methodology, *Desalination and Water Treatment*. 136 (2018) 186–198.

## Influence de la température de calcination du matériau d'anode de RuO<sub>2</sub> sur l'oxydation du méthanol

Kambire Ollo<sup>1</sup>, Kouya Tyeoula Monnequimond Arnaud<sup>2</sup>, Pohan Lemeyonouin Aliou Guillaume<sup>3</sup> And Ouattara Lassiné<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>*UFR Sciences et Technologies, Université de Man, BP 20 Man, Côte d'Ivoire*

<sup>2</sup>*Laboratoire de constitution et réaction de la matière, UFR SSMT, Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody, Abidjan, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire*

<sup>3</sup>*UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo Gon Coulibaly de Korhogo, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire.*

### Résumé

L'électrode de dioxyde de ruthénium (RuO<sub>2</sub>) préparée thermiquement à 400 °C a montré son efficacité dans le traitement des eaux usées. Cependant dans l'objectif d'augmenter l'efficacité de cette électrode, l'influence de la température de calcination de RuO<sub>2</sub> sur l'oxydation du méthanol a été étudiée. Cette étude a été réalisée à l'aide de l'interprétation des voltammogrammes des électrodes. La caractérisation par diffraction de rayons X a montré la présence RuO<sub>2</sub> sur la surface des électrodes préparées à différentes températures (400 °C, 600 °C, 750 °C et 900 °C). On note un mélange de deux formes d'oxyde de ruthénium pour les électrodes préparées à 750 °C et 900 °C. On note également que l'oxydation du méthanol se manifeste dans le domaine correspondant à la décomposition électrochimique de l'eau pour toutes les électrodes préparées. Avec les températures inférieures ou égales à 750 °C, l'oxydation du méthanol nécessite les intermédiaires réactionnels formés par la décomposition de l'électrolyte. Cette étude a révélé que l'oxydation du méthanol est plus rapide avec l'électrode préparée à 600 °C. L'électrode préparée à 600 °C possède également la plus grande charge voltamétrique. En perspective, des investigations seront menées, sur le traitement des eaux usées avec ces électrodes.

**Mots-clés** : oxydation, RuO<sub>2</sub>, température, méthanol.

## Influence of the calcination temperature of RuO<sub>2</sub> anode material on the oxidation of methanol

### Abstract

The ruthenium dioxide (RuO<sub>2</sub>) electrode thermally prepared at 400 °C has shown its effectiveness in wastewater treatment. However, with the aim of increasing the efficiency of this electrode, the calcination temperature influence of RuO<sub>2</sub> on the methanol oxidation has been studied. This study was performed using the interpretation of electrode voltammograms. The characterization by X-ray diffraction showed the presence of RuO<sub>2</sub> on the surface of the electrodes prepared at different temperatures (400 °C, 600 °C, 750 °C and 900 °C). A mixture of two forms of ruthenium oxide is noted for the electrodes prepared at 750 °C and 900 °C. It is noted that the methanol oxidation is manifested in the area corresponding to the electrochemical decomposition of water for all the electrodes prepared. With temperatures below or equal to 750 °C, the methanol oxidation requires reaction intermediates formed by the decomposition of the electrolyte. This study found that the methanol oxidation is faster with the electrode prepared at 600 °C. The electrode prepared at 600 °C also has the greatest voltammetric load. In perspective, investigations will be carried out on the wastewater treatment with these electrodes.

**Keywords**: oxidation, RuO<sub>2</sub>, temperature, methanol.

### 1. Introduction

Les problèmes environnementaux, économiques et politiques ont poussé plusieurs scientifiques, durant ces dernières années, dans le domaine de l'électrochimie, à la recherche de nouvelles électrodes [1-3]. Ainsi, les recherches se sont tournées vers l'obtention de dépôt électrocatalytique et stable sur les supports en titane. Le milieu des années 1970 a vu l'introduction des anodes dimensionnellement stables (DSA) par H. Beer. Les électrodes à base d'oxyde métallique ont ainsi vu leur importance technologique s'accroître. Nous pouvons citer l'électrode d'oxyde d'Iridium, l'électrode d'oxyde d'Etain et l'électrode d'oxyde de Ruthénium (RuO<sub>2</sub>) [4-6]. Leur performance dépend de leur préparation [7, 8]. Dans l'utilisation des DSA, particulièrement le RuO<sub>2</sub>, très peu de travaux sont réalisés sur l'influence de la température pour leur réponse électrochimique dans l'oxydation des matières organiques. Depuis l'introduction des DSA, les électrodes à base d'oxyde métallique telle que l'électrode d'oxyde de ruthénium ont vu leur importance technologique s'accroître. Aujourd'hui, le développement de ces électrodes est devenu un sujet très important en électrochimie pour des applications diverses dans les domaines tels que le traitement des eaux, les piles à combustibles [9]. L'utilisation des électrodes dans ces domaines les engage dans des processus réactionnels où la surface de l'électrode à travers l'interface électrode/électrolyte, y participe énormément. Plusieurs études sont réalisées à l'interface électrode/électrolyte, afin d'élucider des mécanismes réactionnels se déroulant à cette interface du fait de sa complexité [4, 8]. De même, pour déterminer la structure des électrodes impliquées dans les processus réactionnels, les méthodes physiques telles que la microscopie électronique à balayage, la diffraction des rayons X sont généralement employées [10, 11].

L'intérêt que suscite le développement de nouvelles électrodes, la détermination de la structure superficielle ainsi que l'étude de leur comportement électrochimique à travers une méthode voltamétrique simple ont motivé ce travail.

Il s'agira dans ce travail, de préparer électrodes  $\text{RuO}_2$  par voie thermique à différentes températures et d'étudier l'influence de la température sur leur comportement électrochimique. Cette étude sera réalisée à l'aide de voltamétries cycliques et linéaires.

## 2. Matériel et méthodes

Les électrodes ont été préparés à partir des solutions précurseurs de  $\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  (Fluka). Les précurseurs ont été dilués dans l'isopropanol (Fluka). Ensuite les électrodes ont été préparées en appliquant par pinceau la solution précurseur obtenue sur la surface des supports en titane préalablement sablé. Le sablage permet de rendre la surface des supports rugueuse afin de faciliter l'adhésion des solutions précurseurs. De façon détaillée, la préparation des électrodes se déroule comme suit : (i) Application de la solution au pinceau, sur la face traitée ; (ii) Etuvage à  $80^\circ\text{C}$  durant 10 minutes pour évaporer le solvant ; (iii) Thermolyse au four à  $400^\circ\text{C}$ ,  $600^\circ\text{C}$ ,  $750^\circ\text{C}$  ou  $900^\circ\text{C}$  durant 15 minutes ; (iv) Retrait du four et refroidissement. La succession d'opérations allant de (i) à (iv) constitue le protocole de dépôt pour une couche. D'une manière générale, on procédera au dépôt d'un certain nombre de couches afin d'obtenir l'épaisseur désirée. Plus de trois couches séquentielles sont toujours déposées pour assurer une bonne couverture du substrat. L'étape finale consiste en une calcination à  $400^\circ\text{C}$  durant une heure sous atmosphère ambiante du four.

Les mesures électrochimiques ont été effectuées avec un Autolab Potentiostat de ECHOCHEMIE (PGSTAT 20) connecté par interface à un ordinateur. Ces mesures ont été réalisées avec une cellule électrochimique comportant 3 électrodes. Les électrodes utilisées sont constituées de l'électrode de travail (matériau préparé), d'une contre électrode en platine (fil de platine enroulé) et d'une électrode de référence normale d'hydrogène (ENH). L'électrode de référence est mise dans un luggin capillaire dont l'extrémité est placée très proche de l'électrode de travail afin de s'affranchir de la chute ohmique. L'aire de la contre-électrode est au moins cent fois plus importante que celle de l'électrode de travail dont la surface est de  $1\text{ cm}^2$  afin de ne pas modifier la concentration molaire de l'espèce électroactive lors de l'étude électrochimique. Les produits chimiques utilisés pour l'étude électrochimique sont :  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Suprapur Merck) et  $\text{NaOH}$  (Fluka). Toutes les solutions ont été préparées avec de l'eau distillée et les expériences ont été réalisées à température ambiante à  $25^\circ\text{C}$ .

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Analyse des électrodes par DRX

Les surfaces des électrodes non utilisées ont été analysées par diffraction de rayon X. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 1. Cette figure montre qu'à  $400^\circ\text{C}$  et à  $600^\circ\text{C}$ , les pics se trouvent au même angle  $2\theta$ . Les pics sont plus fins à  $600^\circ\text{C}$  comparativement à  $400^\circ\text{C}$ . La position de ces pics est caractéristique du  $\text{RuO}_2$  de type rutile. La cristallinité du  $\text{RuO}_2$  augmente avec la température. Ceci est confirmé avec la finesse des pics à  $750^\circ\text{C}$  et  $900^\circ\text{C}$ . Les pics supplémentaires sont observés à  $750^\circ\text{C}$  et à  $900^\circ\text{C}$ . La présence de ces pics laisse penser à un changement de la nature du film de  $\text{RuO}_2$ . Un mélange probablement de deux formes d'oxyde de ruthénium.

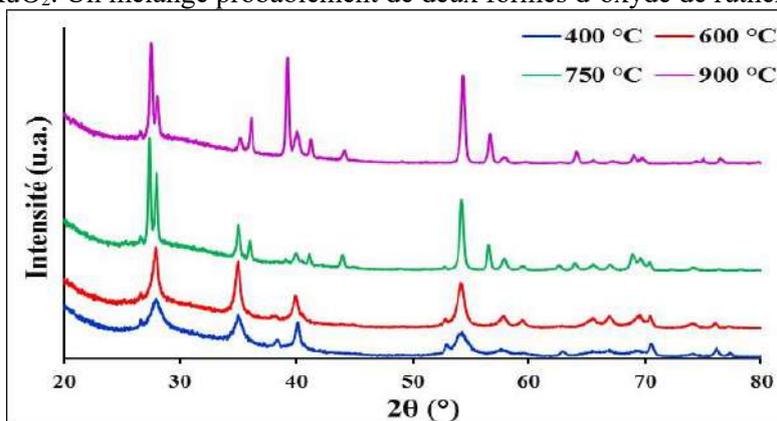
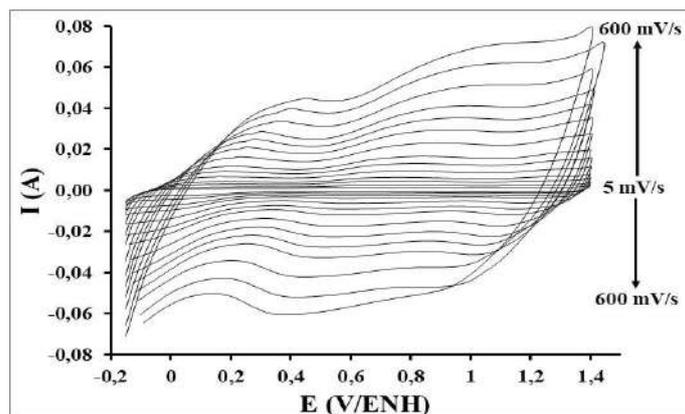


Figure 1 : Spectres DRX des électrodes

### 3.2. Comportement électrochimique des électrodes en milieu acide sulfurique

#### 3.2.1. Charge voltamétrique des électrodes en milieu acide sulfurique

Des mesures voltamétriques ont été réalisées sur les différentes électrodes dans leur domaine de stabilité en milieu  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5 M à différentes vitesses de balayage en potentiel. Les résultats obtenus avec l'électrode préparée à  $600^\circ\text{C}$  sont présentés sur la figure 2.



**Figure 2 :** Voltammogrammes réalisés à différentes vitesses de balayage en potentiel dans le domaine de stabilité de l'électrolyte support sur les électrodes de RuO<sub>2</sub> préparées à 600 °C, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M

La figure 2 montre que la forme générale des voltammogrammes est indépendante de la vitesse de balayage en potentiel. Tous les voltammogrammes sont quasi-symétriques dans le domaine de potentiel exploré. Néanmoins, pour des vitesses de balayage en potentiel en dessous de 30 mV/s et au-dessus de 150 mV/s, l'aspect des courbes change notablement. Ce changement est dû aux phénomènes relativement lents se déroulant à la surface des électrodes aux faibles vitesses de balayage en potentiel et à la chute ohmique non compensée dans la solution pour les fortes vitesses de balayage en potentiel. Des résultats similaires ont été obtenus avec toutes les électrodes préparées.

L'activité électrochimique de l'oxyde de ruthénium peut être caractérisée par la charge voltamétrique ( $q$ ) des voltammogrammes entre les potentiels de dégagement de H<sub>2</sub> et de O<sub>2</sub>. Cette charge est obtenue par intégration des surfaces des voltammogrammes. Cette intégration a conduit à la détermination des charges totales  $q$  présentées en fonction de la vitesse de balayage en potentiel pour chacune des électrodes sur figure 3. Les résultats obtenus montrent que pour une vitesse de balayage en potentiel donnée,  $q$  varie d'une électrode à une autre. On note que  $q$  croît de 400 à 600 °C. Ensuite  $q$  décroît lorsque la température de calcination des électrodes passe de 600 à 900 °C. Cela montre qu'il y a un changement de la nature du film de RuO<sub>2</sub> pour les températures supérieures à 600 °C. Ces résultats indiquent que  $q$  la plus élevée a été obtenue avec l'électrode préparée à 600 °C. Quelle que soit la vitesse de balayage en potentiel, l'ordre décroissant des charges voltamétriques est :  $q(600^\circ\text{C}) > q(400^\circ\text{C}) > q(750^\circ\text{C}) > q(900^\circ\text{C})$ .

La figure 3 montre une diminution rapide des charges voltamétriques pour les faibles vitesses de balayage (de 5 mV/s à 30 mV/s). Cette décroissance rapide se stabilise aux vitesses de balayage en potentiel élevées. La dépendance des charges voltamétriques de la vitesse de balayage en potentiel [12] s'explique par le fait qu'il existe des régions de la surface contenant des sites actifs qui sont moins accessibles que d'autres. Ces sites actifs d'accès difficile sont progressivement accessibles au fur et à mesure que les vitesses de balayage en potentiel diminuent, ce qui occasionne une augmentation de  $q$ .

Aux vitesses de balayage en potentiel élevées, les différents processus sont des phénomènes de surface (couche externe) tandis qu'aux faibles vitesses de balayage en potentiel les processus se déroulent dans les couches internes et externes des électrodes.

Le tracé des courbes  $q = f(v^{-1/2})$  permet de déterminer les valeurs des charges externes ( $q_{\text{ext}}$ ) des électrodes. L'équation  $q = f(v^{-1/2})$  est une droite affine. En s'appuyant sur le modèle de Trasatti et collaborateurs [13], l'équation 1 permettra la détermination de la charge externe de l'électrode. Pour une vitesse infinie correspondant à la valeur extrême (la plus grande) de la vitesse de balayage en potentiel,  $q(v) = q_{\text{ext}}$  est l'ordonnée à l'origine.

$$q(v) = q_{\text{ext}} + k_1 v^{-1/2} \quad (1)$$

Où :  $k_1$  est une constante ;  $v$  est la vitesse de balayage en potentiel ;  $q(v)$  est la charge voltamétrique mesurée ;  $q_{\text{ext}}(v)$  est la charge voltamétrique externe (surfactive).

Seuls les points qui résultent des vitesses de balayage en potentiel élevées (50 mV/s à 250 mV/s) sont utilisés pour la détermination des charges externes avec  $q_{\text{ext}} \geq 0$ .

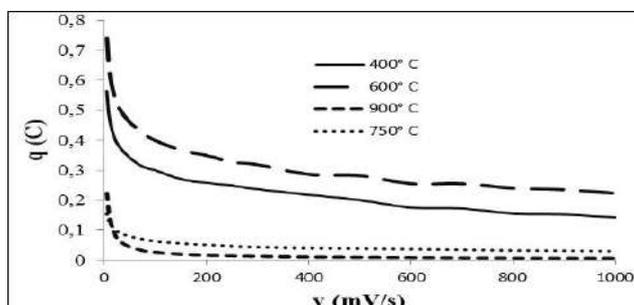
Le tracé des courbes  $\frac{1}{q(v)} = f(v^{1/2})$  permet de déterminer les valeurs des charges totales ( $q_{\text{tot}}$ ) des électrodes.

L'équation  $\frac{1}{q(v)} = f(v^{1/2})$  est une droite affine. Pour une vitesse correspondant à la vitesse de balayage en potentiel nulle (extrême inférieure)  $\frac{1}{q(v)} = \frac{1}{q_{\text{tot}}}$  est l'ordonnée à l'origine. Pour obtenir la charge interne, Trasatti et collaborateurs ont proposé une autre relation.

$$\frac{1}{q(v)} = \frac{1}{q_{tot}} + k_2 v^{1/2}. \quad (2)$$

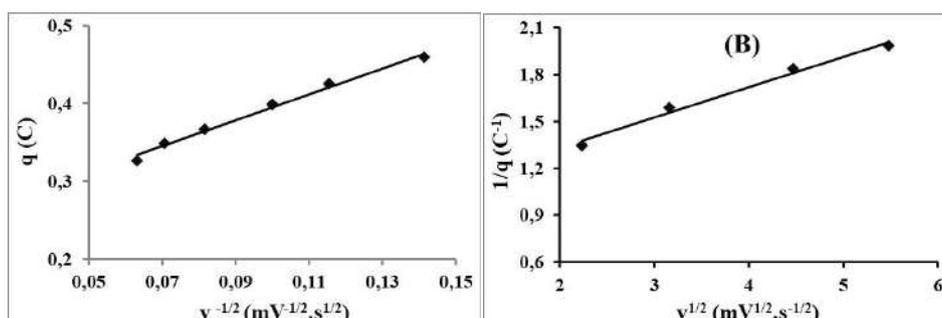
Où :  $k_2$  est une constante ;  $v$  est la vitesse de balayage en potentiel ;  $q(v)$  est la charge voltamétrique mesurée ;  $q_{tot}(v)$  est la charge voltamétrique totale (surfactive + interne).

Les points correspondants aux faibles vitesses de balayage (de 5mV/s à 30 mV/s) sont utilisés pour la détermination des charges totales avec  $q_{tot} \geq 0$ .



**Figure 3 :** Evolution de la charge voltamétrique en fonction de la vitesse de balayage en potentiel

Dans le cadre de ces travaux, les courbes  $q(v) = f(v^{-1/2})$  et  $\frac{1}{q(v)} = f(v^{1/2})$  ont été réalisées pour les différentes électrodes préparées. Les courbes obtenues avec l'électrode préparée à 600 °C sont représentées sur les figures 4A et 4B. Des résultats similaires ont été obtenus avec les autres électrodes (courbes non présentées). Ces courbes ont permis de déterminer les charges internes et externes des électrodes. Les résultats obtenus sont présentés sur le tableau I.



**Figure 4.** Courbes  $q(v) = f(v^{-1/2})$  et  $\frac{1}{q(v)} = f(v^{1/2})$  réalisées dans  $H_2SO_4$  0,5 M sur l'électrode préparée à 400 °C

Dans le cadre de ces travaux, les rapports de la charge interne et de la charge totale ( $\alpha = q_{int}/q_{tot}$ ) ont été calculés pour les différentes électrodes préparées et ces rapports définissent le facteur de porosité ou morphologique des électrodes [14]. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau I ci-dessous. Ce tableau montre que les charges internes sont supérieures à 0 ( $q_{int} > 0$ ) pour les électrodes préparées à 400 °C, 600 °C et 750 °C et inférieure à 0 ( $q_{int} < 0$ ) pour l'électrode préparée à 900 °C. Dans le cas de l'électrode préparée à 900°C, les valeurs négatives des charges obtenues par extrapolation montre la quasi inexistence des pores sur cette électrode. Par conséquent, une valeur de charge équivalente à 0 sera attribuée à la porosité. Ce résultat nous permet d'indiquer que les électrodes préparées à 400 °C, 600 °C et 750 °C sont poreuses alors que celles préparée à 900 °C sont très faiblement poreuses. Il apparaît que les surfaces à l'intérieur des pores participent aux processus de charge et décharge à l'interface électrode/solution électrolytique. Ce tableau montre que les charges internes, externes et totales augmentent lorsqu'on passe de 400 °C à 600 °C puis diminuent à partir de 750 °C. Cela montre que l'électrode préparée à 600 °C possède le plus grand nombre de sites actifs.

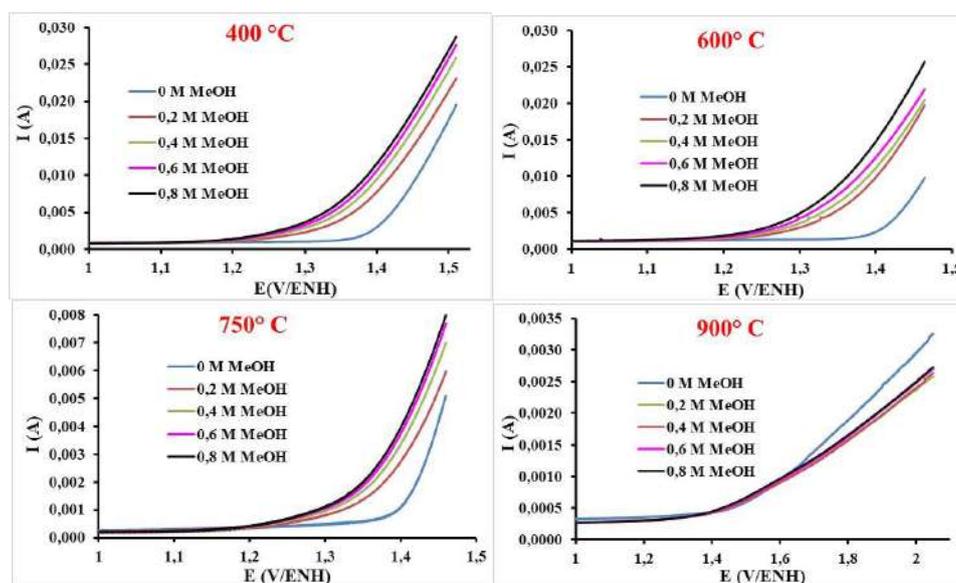
Tableau I : Valeurs extrapolées des charges

Electrodes	$q_{tot}$	$q_{ext}$	$q_{int}$	Porosité
400 °C	0,820681165 C	0,1743 C	0,646381165 C	poreux
600 °C	1,058761249 C	0,2283 C	0,830461249 C	poreux
750 °C	0,274258131 C	0,0256 C	0,248658131 C	poreux
900 °C	- 0,304191762 C	- 0,0088 C	- 0,295391762 C	≈ 0

### 3.2.2. Etude voltamétrique de l'oxydation du méthanol

Les mesures de voltamétries linéaires ont été réalisées sur les électrodes préparées en milieu  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5 M contenant ou non de la matière organique. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 5. On note que les potentiels de début de dégagement du dioxygène sont 1,39 V ; 1,35 V ; 1,34 V et 1,45 V respectivement avec les électrodes préparées à 400°C, 600°C, 750°C et 900°C.

L'examen des voltamogrammes montre que toutes les courbes se superposent pratiquement dans le domaine de stabilité de l'électrolyte support. Aucune oxydation du méthanol ne se produit sur les électrodes dans ce domaine car aucune modification n'est observée sur les voltamogrammes en l'absence et en présence de composés organiques. Cela indique un comportement non électrocatalytique de ces électrodes à l'oxydation de la matière organique dans ce domaine. Par contre, une modification est observée lorsque la gamme de potentiel explorée est proche du potentiel de dégagement d'oxygène. Lorsque la concentration du méthanol augmente, l'intensité du courant augmente et le potentiel de dégagement d'oxygène diminue pour les électrodes préparées à 400 °C, 600 °C et 750 °C (tableau II).



**Figure 5 :** Voltamogrammes linéaires réalisés sur les électrodes de  $\text{RuO}_2$  en fonction de la concentration en méthanol : 400 °C (a), 600 °C (b), 750 °C (c), 900 °C (d) à 25 mV/s.

En effet, la diminution de la surtension de dégagement d'oxygène observée lors de l'oxydation du méthanol sur les électrodes préparées à 400 °C, 600 °C et 750 °C montre que les espèces formées lors de la décomposition électrochimique de l'eau seraient partiellement consommées par l'oxydation de ces composés. Ceci montre que le chemin réactionnel de l'oxydation de ces composés nécessite des intermédiaires réactionnels formés lors de la décomposition de l'électrolyte support. Selon la littérature, la décomposition de l'eau conduit à des radicaux hydroxyles qui réagissent avec  $\text{RuO}_2$  conduisant à l'oxyde supérieur  $\text{RuO}_3$  [15].

Avec l'électrode préparée à la température de 900°C, lorsque la concentration du méthanol augmente, l'intensité du courant diminue et le potentiel de dégagement d'oxygène augmente. Le tableau II, présente les variations des potentiels de dégagement d'oxygène pour chacune des électrodes pour chaque concentration de Méthanol. Ce tableau montre que la différence de potentiel ( $\Delta E$ ) entre le potentiel de dégagement d'oxygène en l'absence et en présence de méthanol pour une concentration donnée de méthanol varie d'une électrode à une autre. On note que  $\Delta E$  décroît en valeur absolue de 400 °C à 600 °C puis croît en valeur absolue de 750 °C à 900 °C. Ce tableau montre également que  $\Delta E$  augmente en valeur absolue avec la concentration en méthanol pour les électrodes calcinées à 400 °C et 750 °C. Cela montre que l'augmentation de la concentration de méthanol favorise son oxydation. Cependant  $\Delta E$  diminue en valeur absolue quand la concentration en méthanol augmente pour l'électrode de 900 °C.

**Tableau II :** Variations ( $\Delta E$ ) des potentiels de dégagement de  $\text{O}_2$  sur les différentes électrodes à  $I = 1,77 \cdot 10^{-2}$  A

Electrodes	MEOH 0,2 M	MEOH 0,4 M	MEOH 0,6 M	MEOH 0,8 M
400° C	-0,031128	-0,049286	-0,054474	-0,062256
600° C	-0,06485	-0,062246	-0,063816	-0,088196
750° C	-0,02075	-0,03891	-0,046692	-0,0597
900° C	0,007782	0,036315	0,02594	0,020750

#### 4. Conclusion

Dans ce travail, la préparation et la caractérisation des électrodes RuO<sub>2</sub>/Ti préparées à 400 °C, 600 °C, 750 °C et 900 °C à partir de précurseurs appropriés ont été effectuées. Ces électrodes ont été ensuite utilisées pour l'oxydation du méthanol.

Les surfaces des électrodes non utilisées ont été analysées par diffraction de rayon X. Les résultats obtenus ont montré la présence RuO<sub>2</sub> sur la surface des électrodes. La cristallinité du RuO<sub>2</sub> augmente avec la température. On note un mélange de deux formes d'oxyde de ruthénium pour les électrodes préparées à 750°C et 900°C

En présence du méthanol le comportement voltamétrique a montré que l'oxydation du méthanol se manifeste dans le domaine correspondant à la décomposition électrochimique de l'eau. L'oxydation du composé organique nécessite donc des intermédiaires (radicaux hydroxyles) résultant de la décomposition électrochimique de l'eau. Aux faibles vitesses de balayage en potentiel c'est-à-dire en régime quasi-stationnaire, l'oxydation du méthanol est plus importante du fait de la contribution des surfaces externes et internes (pores) des électrodes. Cette étude a révélé que les performances maximales se situaient pour des électrodes RuO<sub>2</sub>/Ti préparées à 600°C.

#### 5. Bibliographie

- [1] Sagiv, M.C.; Eliaz, N. et Gileadi, E. *Electrochimica Acta* (2013) 88;240-250.
- [2] Ardizzzone, S. ; Fregonara, G. et Trasatti, S. *Electrochimica Acta* (1990) 35 (1) ; 263-267.
- [3] De Pauli, C.P. et Trasatti, S. *Journal of Electroanalytical Chemistry* (1995) 396 ; 161-168.
- [4] Kambiré, O. ; Pohan, L.A.G ; Sadia, S.P. ; Kouadio, K.E. et Ouattara, L. *Mediterranean Journal of Chemistry* (2020) 10(8) ; 799-808.
- [5] Appia, F.T.A. ; Gnamba, C.Q.-M. ; Kambiré, O. ; Berté, M ; Sadia, S.P. ; Sanogo, I. et Ouattara, L. *J. Electrochem. Sci. Technol.* (2016) 7(1) ; 82-89.
- [6] Berté, M. ; Appia, F.T.A. ; Sanogo, I. et Ouattara, L. *Int. J. Electrochem. Sci.* (2016) 11 ; 7736 – 7749.
- [7] Kambire, O. ; Pohan, L.A.G. ; Kondro, K.H. et Ouattara, L. *J. Electrochem. Sci. Eng.* (2020) 10(4) ; 347-360.
- [8] Kambiré, O.; Pohan, L.A.G.; Kouakou, Y.U.; Kimou, K.J.; Koffi, K.S.; Kouadio, K.E. et Ouattara, L. *International Journal of Innovation and Applied Studies* (2020) 31(3); 655-667.
- [9] Pipi, A.R.F. ; Neto, S.A. et De Andrade, A.R. *J. Braz. Chem. Soc.* (2013) 24; 1259-1266.
- [10] Patel, P.S.; Bandre, N.; Saraf, A. et Ruparelia, J.P. *Procedia Engineering* (2013) 51; 430-434.
- [11] Kambiré, O.; Alloko, K.S.P.; Pohan, L.A.G.; Koffi, K.S. et Ouattara, L. *International Research Journal of Pure & Applied Chemistry* (2021) 22(4): 23-35,
- [12] Baronetto, D.; Krstajic, N. et Trasatti, S. *Electrochim. Acta* (1994) 39; 2359-2362.
- [13] Trasatti, S. *Electrochim. Acta* (1991) 36; 225-241.
- [14] Spinolo, G. ; Ardizzzone, S. et Trasatti, S. *J. Electroanal. Chem.* (1997) 423 ; 49-57.
- [15] Ouattara, L. ; Diaco, T. ; Duo, I. ; Panizza, M. ; Foti, G. et Comninellis, C. *J. Electrochem. Soc.* (2003) 150 ; D41-D45.

## Détermination de la composition des déchets et estimation de leurs potentiels énergétiques récupérables comme outil essentiel pour améliorer le plan de gestion des déchets : cas de l'université Nangui Abrogoua en Côte d'Ivoire

Kouakou Adjoumani Rodrigue<sup>1</sup> ; Abolle Abollé<sup>1</sup> ; Kouadio Marc Cyril<sup>2</sup> ; Kouassi Konan Edmond<sup>1</sup> Et Akotto Gaëtan Achiepo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Thermodynamique et Physico-Chimie du Milieu (LTPCM), UFR-SFA, Université Nangui Abrogoua, 02 BP 801 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

<sup>2</sup> Institut de Recherche sur les Energies Renouvelables (IREN), Université Nangui Abrogoua, 02 BP 801 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

### Résumé

L'énergie récupérable produite à partir de déchets est une source majeure d'énergie écologiquement durable qui n'est pas encore explorée en Côte d'Ivoire. Cette étude a donc évalué le potentiel de récupération d'énergie à partir des déchets, en utilisant des déchets produits dans une université comme modèle d'étude. Il s'agit de l'Université Nangui Abrogoua. Il a été utilisé comme modèle d'étude en raison de son système de gestion des déchets. Les déchets solides générés dans ce modèle ont été caractérisés en leurs différentes composantes. Le potentiel énergétique récupérable des déchets a été ensuite évalué. Le pouvoir calorifique supérieur a été utilisé pour prévoir la disponibilité énergétique équivalente des déchets en kWh et en tonnes équivalentes de pétrole. Les résultats de l'étude montrent un potentiel énergétique non négligeable qui pourrait atteindre 5687,1 MJ par jour, soit 1579,8 kWh ou 0,4 tonne d'équivalent pétrole par jour. Ces résultats suggèrent la nécessité de développer un système de gestion des déchets imprégné d'une politique de valorisation énergétique, à partir des déchets, pour compléter les besoins énergétiques et obtenir d'autres avantages sociaux découlant de la mise en œuvre d'une telle politique.

### 1. Introduction

La quantité importante de déchets produits et la grande difficulté à les éliminer, demeurent des problèmes majeurs dans le monde (**Ibáñez-Forés et al.,2019**). Ces déchets présentent un risque pour la santé et l'environnement surtout dans les pays en voie de développement (**Rodrigues et al.,2019**). La crise énergétique mondiale est davantage ressentie par les pays en développement, comme la Côte d'Ivoire, où le manque d'énergie adéquate a été identifié comme la source de la pauvreté sociale et économique (**Kra et al.,2020**). Par ailleurs, les universités sont considérées des modèles dans les études de gestion des déchets solides, étant donné qu'elles ont plusieurs bâtiments et la consommation d'énergie est très élevée (**Gallardo et al.,2016**). C'est pourquoi les universités doivent donner une valeur ajoutée aux déchets solides qu'elles génèrent comme la production d'énergie (**Moqbel,2018**). Ainsi, la valorisation énergétique des déchets solides a été identifiée dans des études comme une source d'énergie durable pour compléter les besoins énergétiques communautaires, réduisant ainsi la dépendance à l'égard des sources de combustibles fossiles (**Gallardo et al.,2016**). La production d'énergie à partir de déchets est une solution qui permet non seulement de réduire les coûts énergétiques, mais aussi d'obtenir des avantages connexes, notamment la réduction de l'espace nécessaire aux décharges et des émissions écologiques néfastes (**Kouakou et al.,2018**). La valorisation énergétique des déchets solides peut également constituer une source d'approvisionnement en énergie. L'université Nangui Abrogoua est située dans la ville d'Abidjan, capitale économique, entre les communes d'Abobo et d'Adjamé. C'est la deuxième université publique d'Abidjan avec une superficie estimée à 138 hectares. Elle abrite quatre grands départements, une école préparatoire de la santé, un centre de santé, plusieurs bâtiments administratifs. Elle compte environ 13000 étudiants et deux cents enseignants. Puisque tous les humains produisent des déchets, l'université Nangui Abrogoua est une potentielle source de production de déchets solides. Par conséquent, il est nécessaire de valoriser l'énergie de cette source. Pour valoriser les déchets solides, il faut commencer par connaître leurs compositions, leurs caractéristiques physico-chimiques et estimer leurs potentiels énergétiques. En raison du manque d'étude sur la composition, la caractérisation physico-chimique et l'estimation du potentiel énergétique des déchets solides de l'Université Nangui Abrogoua, indispensable à la promotion du développement durable, il nous est paru nécessaire de réaliser cette étude.

L'objectif de cette étude est de déterminer la composition des déchets solides ainsi que leurs caractéristiques physico-chimiques et d'estimer leur potentiel énergétique récupérable.

### 2. Matériels et Méthodes

#### 2.1. Prélèvement des déchets et composition

La composition des échantillons a été analysée selon la méthode MODECOM sur la base d'une collecte aléatoire effectuée sur deux jours différents dans six sites (tableau1) entre mai et septembre 2020 (**ADEME, 1993**). Tous les déchets solides pendant les échantillonnages ont été séparés en différents composants comme les tissus, les sacs en polyéthylène, les matières plastiques, les articles en verre, la mousse, les autres matériaux d'emballage, le carton, les

métaux et les matériaux en bois, etc. Ils ont ensuite été pondérés pour obtenir la fraction des différents composants des déchets solides de l'université.

## 2.2. Détermination des paramètres physico-chimiques des déchets solides

### 2.2.1. Masse volumique

Un récipient de 16 litres est rempli de déchets sans tassement puis pesé. Les masses volumiques sont calculées par la formule suivante :

$$\rho = \frac{M}{V} \quad (1)$$

$\rho$ : Masse volumique en  $\text{kg.m}^{-3}$

M : poids obtenu en kg

V : volume du récipient en  $\text{m}^3$

### 2.2.2. Humidité et Teneur en masse sèche

L'Humidité a été déterminée le plus rapidement possible pour limiter les pertes par évaporation. La mesure est faite selon la norme NF M03-002 (MODECOM,1993) qui recommande un séchage à  $105^\circ\text{C}$  dans une étuve pendant 24 heures et jusqu'à obtenir une masse constante (ADEME, 1993). Une masse variant de 10 à 100 g de chaque fraction a été séchée, les teneurs en masse sèches (MS) et Humide (H) sont calculées selon les équations

$$\%H = \frac{M_o - M_1}{M_o} \cdot 100 \quad (2)$$

$$\%MS = 100 - \%H \quad (3)$$

Où % H : pourcentage d'humidité

$M_o$  : masse initiale de l'échantillon avant séchage

$M_1$  : masse finale de l'échantillon après séchage.

### 2.2.3. Matière organique

La matière organique est déterminée par perte au feu c'est-à-dire par calcination de la matière sèche à  $550^\circ\text{C}$ , le temps de calcination est de quatre heures dans un four. La matière organique (MO) est obtenue par différence de pesée entre la masse du déchet sec ( $M_1$ ) et la masse du déchet calciné à  $550^\circ\text{C}$ . Elle est déterminée selon la norme NF EN 13039 (ADEME, 1993).

$$\%MO = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \cdot 100 \quad (6)$$

%MO : pourcentage de la matière organique

$M_1$  : masse obtenue après passage à l'étuve

$M_2$  : masse obtenue après passage dans le fou

W = % humidité total.

### 2.2.4. Pouvoir calorifique inférieur

Le pouvoir calorifique inférieur des déchets solides est déterminé à partir de la formule :

$$PCI = (35,19P + 36,24T + 71,17R + 48,26G + 42,21F + 44H) \frac{100 - W}{100} - 6W \quad (7)$$

PCI en kcal/kg, avec :

R = % des plastique (en masse sèche) ;

P = % papier-carton (en masse sèche) ;

H = % Autres déchets (en masse sèche) ;

Ru = % caoutchouc et cuir (en masse sèche) ;

T = % textiles (en masse sèche) ;

F = % déchet alimentaire (en masse sèche) ;

G = % bois et feuilles (en masse sèche) ;

W = % humidité total.

### 2.2.5. Estimation du potentiel énergétique récupérable

Les pouvoirs calorifiques des déchets, tels que proposés par (Shepherd *et al.*, 2003) et (Smith *et al.*, 2005) ; ont été utilisés pour estimer le potentiel énergétique récupérable de chaque déchet caractérisé (Chang *et al.*, 2007). Le pouvoir calorifique pour chaque catégorie des déchets utilisé dans l'estimation est présenté dans le tableau 2.

Le potentiel énergétique récupérable  $E$  en MJ/jour pour chaque caractérisation des déchets a été obtenu à partir des données du tableau 2 par l'équation suivante (Okeniyi, *et al.*, 2012)

$$E = PCI_i \cdot M_i \quad (8)$$

où :  $PCI_i$  = Pouvoir calorifique de chaque déchet caractérisé

$M_i$  : masse de la catégorie de déchet  $i$  par jour

L'énergie totale équivalente en MJ/jour ( $E_t$ ) a été obtenue pour les  $n$  nombres de catégories de déchets par l'équation suivante :

$$E_t = \sum_i^n PCI_i M_i \quad (9)$$

$PCI_i$  : pouvoir calorifique inférieur de la catégorie  $i$

$M_i$  : masse de la catégorie de déchet  $i$  par jour

L'énergie équivalente en kWh/jour est déterminée par la formule suivante

$$E_q = \frac{E_t}{3,6 \cdot 10^6} \quad (10)$$

L'énergie journalière par tonne d'équivalent pétrole (tep) est déterminée par l'équation suivante

$$tep = \frac{E}{4000} \quad (11)$$

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Composition des déchets

Les déchets ont été collectés sur deux périodes : une période de travail et une période de vacances. Les résultats sont résumés par les figures 1 et 2 respectivement pour la période de travail et de vacances. Quant à la figure 3, elle donne la composition globale des déchets pendant les deux périodes. Ces déchets sont composés essentiellement de déchets de feuille ; de déchets alimentaires ; de déchets de papiers/cartons ; de déchets plastiques ; de déchets textiles ; de déchets des caoutchoucs ; de déchets des verres ; de déchets métal ; de déchets dangereux et de reste de déchet.

Les déchets alimentaires sont constitués des épiluchures de banane, d'igname et d'orange, des déchets de graine de palme, de citron, et de reste de nourriture (reste d'attiéké, de riz, de poisson, de viande banane, et d'igname). La figure 1 montre que pendant la période de travail, la masse des déchets alimentaires varie de 0 (site 6) à 143,5 kg/jour (site 5). Elle correspond à 56% de la masse totale des déchets (figure 3a). La valeur maximale observé sur le site 6 en période de cours pourrait s'expliquer par la grande quantité de déchet produite par le restaurant principale du Centre Régional des Œuvres Universitaire. Quant à la figure 2, elle montre que pendant la période de vacances, la masse des déchets alimentaires varie de 0 (site 6) à 101, 5 kg/jour (site 4). Elle correspond à 52% de la masse totale des déchets (figure 3b). La valeur maximale observé sur le site 4 pourrait s'expliquer par la présence des restaurants proche de ce site. Les valeurs élevées de masse des déchets alimentaires observées sur les sites pendant les périodes de travail pourrait s'expliquer par la reprise des activités du restaurant du Centre Régional des Œuvres Universitaire.

Concernant les déchets papiers/carton, la masse des déchets varie de 0 (site 6) à 52 kg/jour (site 3) pendant la période de travail (figure 1). Elle contribue à 18% de la masse totale des déchets (figure 3a). La valeur moyenne de la masse des déchets papiers/carton la plus élevée est observée sur le site 3 quel que soit la période. Cette masse élevée de déchet papier/carton sur le site 3 pourrait s'expliquer par la présence des salles de cours autour de ce site. Pendant la période de vacances (figure 2), la masse des déchets papiers/cartons varie de 0 (site 6) à 36 kg/jour (site 1). Elle correspond à 25% de la masse totale des déchets produits en période de grève (figure 3a).

Les déchets de plastique occupent la troisième fraction la plus importante dans la répartition en pourcentage des déchets quelques soit la période. L'analyse des résultats montre que la masse des déchets de plastique varie de 0 kg (site 6) à 23,1 kg/jour (site 3) pendant la période de vacances (figure 2). Elle correspond à 12% de la masse total des déchets (figure 3a). En période de travail (figure 1), la masse des déchets de plastique varie de 0 kg/jour (site 6) à 63,4 kg/jour (site 3). Celle-ci représente 15% de la masse totale des déchets pendant la période de cours (figure 3a). Les déchets plastiques étaient constitués principalement de sachet plastique grise, et noir, des bidons de sucreries de

0,33 cl, et des emballages plastiques. La présence des déchets de plastique sur le site 3 pourrait être dû aux activités commerciales de jus de beignet, de pain, de lait, d'eau et de sucrerie devant les Amphithéâtres A et C.

S'agissant des déchets de textile, ils sont essentiellement concentrés au niveau du (site 2) avec des masses de 9,75 kg/jour et de 4,2 kg/jour respectivement pendant la période de vacances et de travail. Ces masses représentent 4% de la masse totale des déchets (figure 4). La présence de ces déchets dans ce site est due à la proximité des villas des professeurs qui constituent des résidences pour certains étudiants.

La fraction des autres déchets est de 7% en période de vacances (3% reste des déchets, 2% caoutchouc, 1% métal, 0,99% verre et 0,1% déchets dangereux) et de 8% en période de travail (5% reste des déchets, 1% déchets de caoutchouc, 1% déchets de métal, 0,99% de verre et 0,1% déchets dangereux). Pendant la période de travail et la période de vacances, les déchets dangereux sont produits principalement sur les sites 1 et 2, les déchets dangereux sont constitués des déchets de métal et de verre piquent et coupant, des déchets solides de médicament non utilisé, et des déchets de laboratoire. La masse des déchets dangereux observée sur les sites 1 et 2 provient respectivement des laboratoires et du centre de santé. Les déchets de métaux pendant les deux périodes proviennent du site 1, du site 3 et du site 5. Les déchets de métal étaient en grande partie constitués de boîte de conserve et de fer. Les déchets de métal observé sur le site 5, pourrait provenir du restaurant du Centre Régional des Œuvres Universitaire. La figures 3 montre aussi que la proportion des déchets de verre est sensiblement égale sur les deux périodes. Les déchets de verre sont issus du site 1 et du site 3. Ils sont majoritairement constitués de bouteille de boisson et de la verrerie inutilisable.

## 3.2. Paramètres physico-chimiques

### 3.2.1. Masse volumique

La masse varie de quelques dizaines de kg/m<sup>3</sup> à plusieurs kg/m<sup>3</sup>. Elle est de 625 kg/m<sup>3</sup> pour les déchets alimentaires ; de 487 kg/m<sup>3</sup> pour le textile, de 137,5kg/m<sup>3</sup> pour le papier/carton ; de 375 kg/m<sup>3</sup> pour les déchets de feuille et de 112,5 kg/m<sup>3</sup> pour les déchets de plastique. La valeur globale est de de 406 kg/m<sup>3</sup>. Cette valeur élevée est due à la forte teneur des putrescibles. En effet, la masse volumique des putrescibles est comprise entre 250 et 500 kg/m<sup>3</sup>. La masse volumique global de ces déchets correspond bien à celle des pays en voie de développement (**Otchere et al., 2015**).

### 3.2.2. Humidité et Matière organique

Les déchets alimentaires et les déchets de feuille représentent, globalement, les fractions les plus humides avec des pourcentages d'humidité qui sont respectivement de 73% et de 96% (figure 4). Quant à la matière organique, elle est la plus élevée dans les déchets alimentaires (figure 4). L'humidité et la matière organique optimale pour un traitement biologique des déchets permettant une activité microbienne, sont respectivement supérieur à 50% et 40% (**Janajreh et al., 2013**). De ce fait, les déchets alimentaires et les déchets d'herbe seront favorables à tous traitement biologique et défavorable à tous traitement thermique.

### 3.2.3. Pouvoir calorifique inférieur des déchets

La détermination du Pouvoir Calorifique Inférieur (PCI) des déchets s'est faite empiriquement à partir de l'équation 7. Le PCI est donc calculé en fonction de la teneur des catégories suivantes : papier/carton, textiles, déchets alimentaire, plastiques, déchets de bois et de feuille, et Autres déchets. Le résultat donne un PCI égal à 3573 kcal/kg dans les deux périodes. Le traitement thermique des déchets avec récupération d'énergie est donc possible. En effet, la combustion des déchets avec récupération d'énergie est conditionnée par un PCI supérieur ou égal à 1200 kcal/kg (**Janajreh et al., 2013**).

## 3.3. Estimation du potentiel d'énergie récupérable

La valeur estimée du potentiel énergétique récupérable par jour pour chaque déchet caractérisé est présentée dans le tableau 3. La valeur calculée de l'énergie totale équivalente ( $E_t$ ), en utilisant l'équation 9 est de 5687,1 MJ par jour. De même, en utilisant l'équation 10, l'énergie totale produite ( $E_q$ ) est de 1579,8 kWh par jour. À partir de l'équation 11, la tonne d'équivalent pétrole ( $tep$ ) est de 0,4 tonnes par jour.

Bien que les déchets alimentaires biodégradables possèdent la valeur de PCI la plus faible (14,7 MJ/ kg), ils ont le potentiel énergétique récupérable le plus élevé (1889,3 MJ par jour) de tous les déchets solides (tableau 3). Ce qui représente 44,7 % de l'énergie récupérable de tous les déchets caractérisés. On peut aussi observer une part importante des déchets les plastiques (33,2 %). Il s'agit notamment de déchets non biodégradables tels que les sacs en polyéthylène, les bouteilles en plastique, les emballages alimentaires en plastique et les emballages alimentaires en polystyrène.

Le potentiel énergétique récupérable des déchets caractérisés s'élève à 5687,1 MJ par jour. Cela peut produire une énergie équivalente à 1579,8 kWh par jour. Avec ce potentiel d'énergie récupérable, environ 1000 membres du personnel de l'institution pourraient cuisiner avec une cuisinière électrique de 1000 W pendant une heure et trente minutes par jour (Okeniyi, *et al.*, 2012). Cependant, environ 20 à 50 % de cette énergie peut être récupérable, en fonction de la quantité d'énergie extractible (Shepherd *et al.*, 2003). Ainsi, l'énergie récupérable à 50 % (équivalent à 789,5 kWh par jour) suffira encore pour quarante minutes de cuisson par jour pour le même nombre de personnel tandis que pour l'énergie récupérable à 20 % (équivalent à 316 kWh) alimentera un 1/8 de cheval-vapeur (0,09321 kW) unité de réfrigération pour environ 5 h de la journée pour chacun des 1000 membres du personnel.

La récupération de l'énergie à partir des déchets solides produits dans la communauté universitaire d'étude et dans des communautés similaires telles que les établissements d'enseignement supérieur, les villes à forte densité de population et même les communautés rurales pourrait conduire à la mise à disposition d'un bonus énergétique. Avec une technologie de récupération de l'énergie des déchets, ce bonus énergétique disponible pourrait être ajouté aux besoins énergétiques des communautés. De plus, cette approche de l'énergie récupérable pourrait également être une voie pour réduire les déchets non biodégradables des matières plastiques qui, bien que non respectueux de l'environnement, constituent la majeure partie des déchets qui sont naturellement et généralement éliminés en tant que déchets dans une communauté (Okeniyi, *et al.*, 2012). Ceci est d'autant plus important que l'alternative du recyclage de ces déchets thermoplastiques pourrait être difficile car ils pourraient contenir différents types de polymères.

#### 4. Conclusion et recommandations

Dans cette étude, la caractérisation des déchets a été réalisée en utilisant les déchets produits à l'université Nangui Abrogoua comme une communauté modèle. Cette caractérisation a été utilisée pour évaluer le potentiel énergétique récupérable des déchets. Les conclusions suivantes peuvent être tirées.

La détermination de la composition des déchets a permis d'identifier les déchets alimentaires biodégradables comme étant la fraction la plus importante (52 à 56% de masse totale des déchets solides).

Le pouvoir calorifique inférieur de l'ensemble des déchets solide (PCI = 3573 kcal/kg) a révélé que le traitement thermique des déchets avec récupération d'énergie est possible. Toute fois, l'humidité et la matière organique ont montré que les déchets alimentaires biodégradables sont favorables à tous traitement biologique. Malgré leur PCI relativement faible, ces déchets alimentaires présentent le potentiel énergétique récupérable le plus élevé (2540 MJ /jour). Quant aux déchets plastiques, l'estimation du potentiel énergétique récupérable est de 1889,3MJ par jour.

Ces résultats montrent un important potentiel d'énergie récupérable des déchets caractérisés. Ce potentiel est de 5687,1 MJ par jour. Ce qui équivaut à 1579,8 kWh par jour ou 0,4 tonne d'équivalent pétrole par jour.

Ces résultats révèlent la nécessité d'intégrer la politique de valorisation énergétique des déchets solides dans la politique de gestion des déchets et de l'énergie. Cela pourrait améliorer l'approvisionnement énergétique actuel à partir des ressources de déchets non exploitées dans le pays. En outre, il est recommandé de construire des installations de conversion d'énergie, visant à maximiser la récupération d'énergie à partir des déchets produits dans les villes. L'énergie récupérée à partir de ces systèmes peut alors être utilement annexée pour compléter les besoins énergétiques du pays. Cette approche du système de récupération d'énergie, si elle est bien développée, présente des avantages environnementaux en termes de création d'emplois et de réduction du volume des déchets qui auraient pu être mis en décharge. Ainsi, la transformation des déchets en énergie constitue un grand avantage pour la réalisation d'une économie et d'un environnement durable.

**Tableau 1 :** Site d'échantillonnage

Site d'échantillonnage	Localisation
Site 1	Bâtiment de l'IREN et bâtiment du laboratoire LTPCM
Site 2	Résidence des professeurs et le bâtiment SIMDCI
Site 3	Amphithéâtre A et Amphithéâtre B
Site 4	Au marché de l'UFR SFA
Site 5	Restaurant du CROU
Site 6	Déchets de jardin

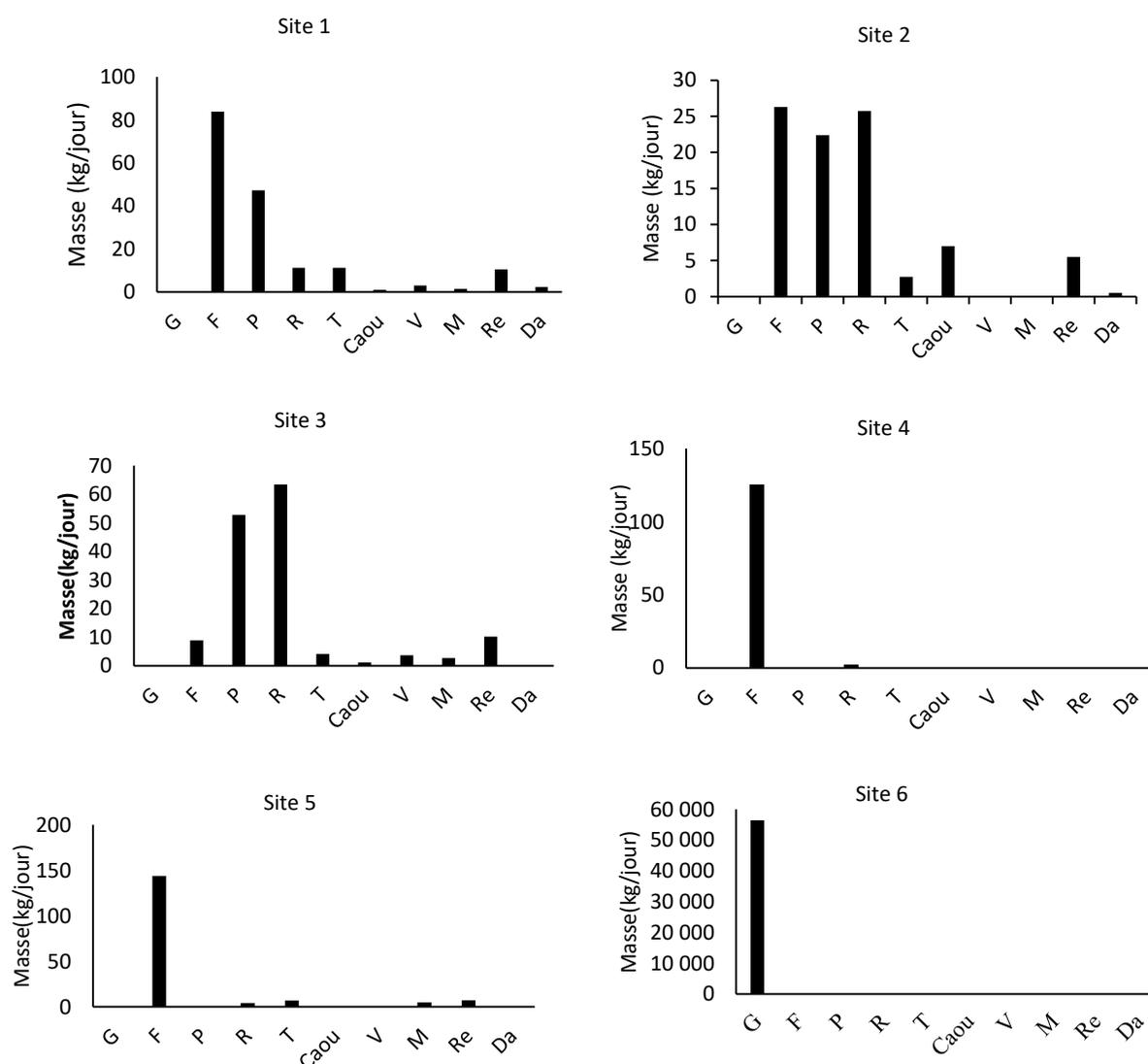
**Tableau 2 :** Pouvoirs calorifiques utilisés pour l'estimation de la valeur énergétique des déchets

Catégories de déchets	Pouvoir calorifique (MJ/kg)
Papier et carton	14,7
Plastique et caoutchouc	29,8
Textile	15,2

Déchets alimentaires	17,7
Autres	18,4

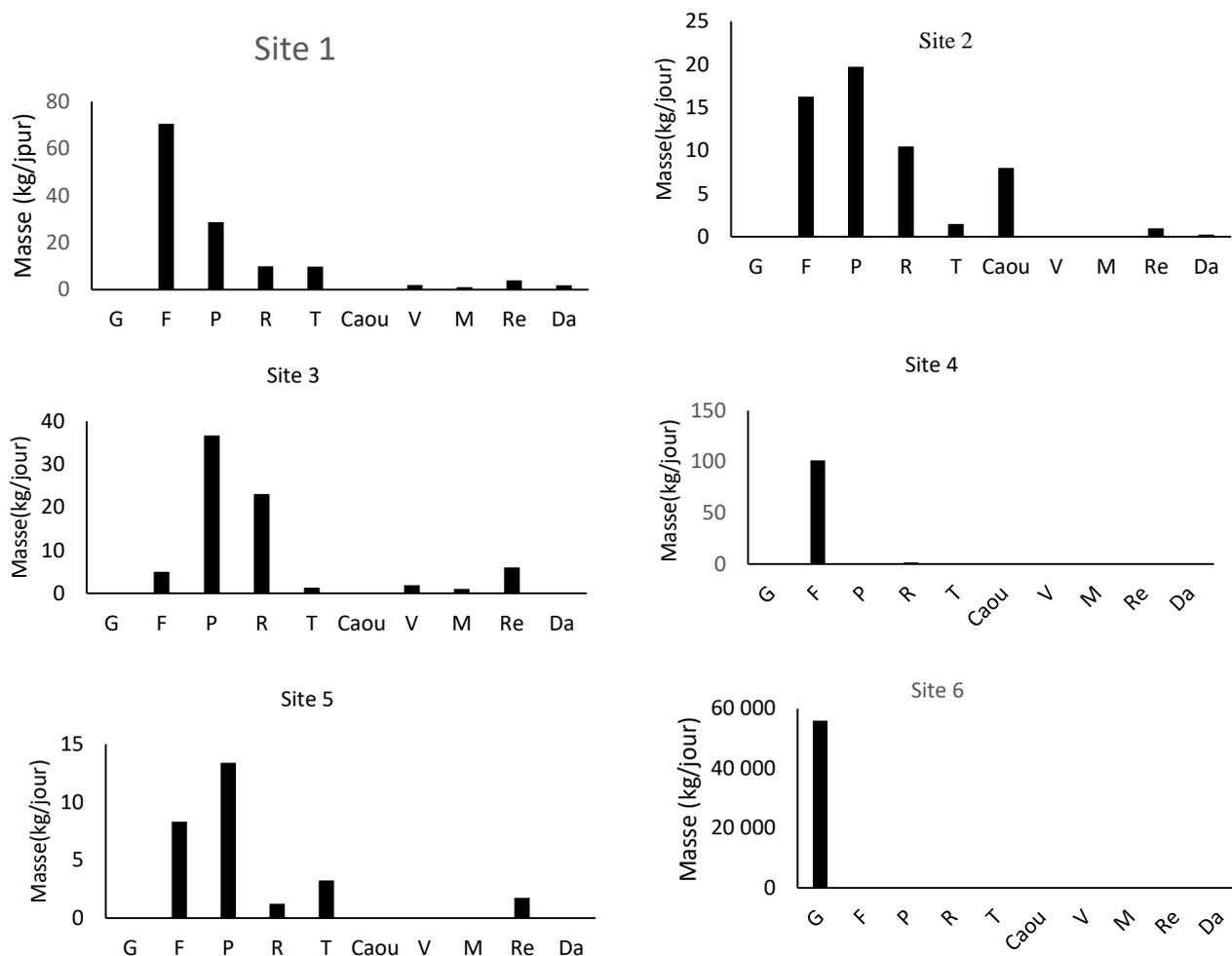
**Tableau 3** : Estimation du potentiel énergétique récupérable de l'UNA

Catégories de déchets	Potentiel énergétique récupérable (MJ/jour)	Potentiel comparatif de contribution énergétique (%)
Papier et carton	764,4	13,4
Plastique et caoutchouc	1889,3	33,2
Textile	148,2	2,6
Déchets alimentaires	2540,0	44,7
Autres	345,2	6,1
Energie totale équivalente	5687,1	



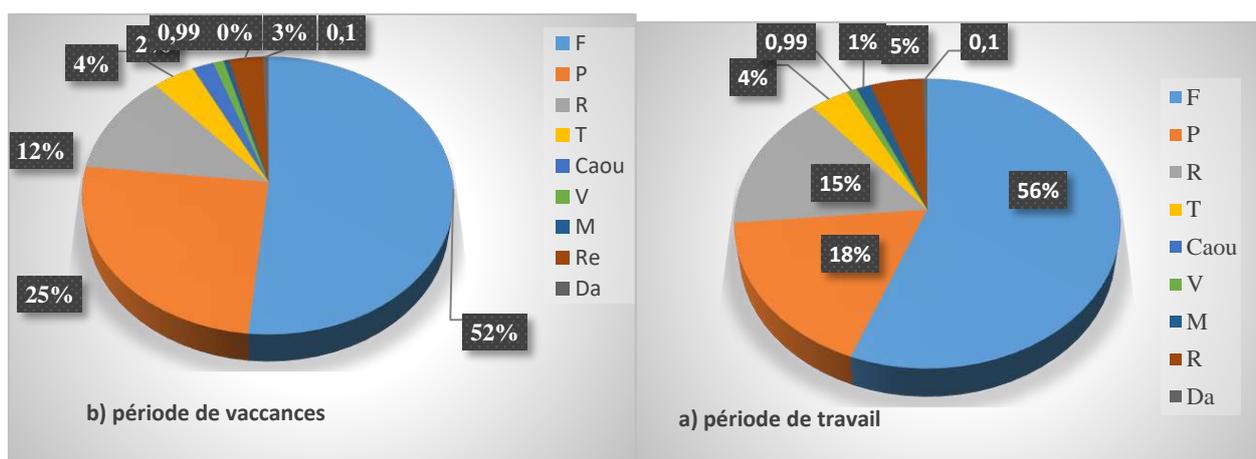
**Figure 1** : Composition des déchets solides pendant la période de travail.

**G** : déchets de feuille ; **F** : déchets alimentaires ; **P** : déchets de papiers/cartons ; **R** : déchets plastiques ; **T** : déchets textiles ; **Caou** : déchets des caoutchoucs ; **V** : déchets des verres ; **M** : déchets métal ; **Da** : déchets dangereux ; **Re** : reste des déchets



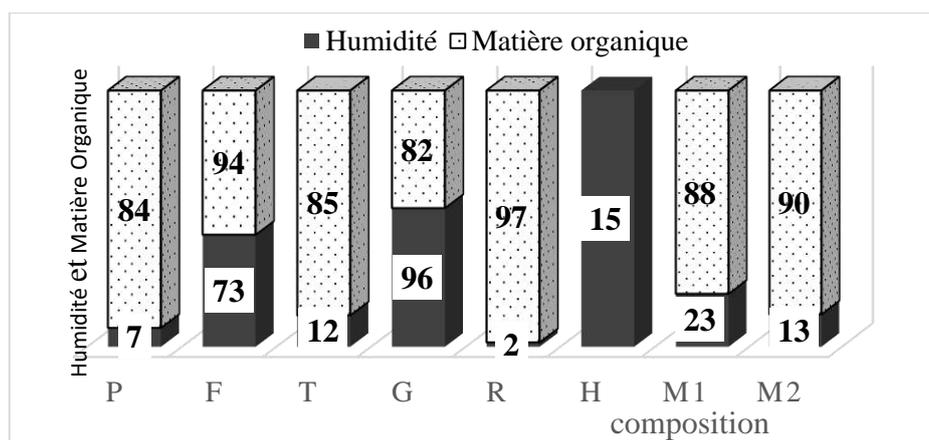
**Figure 2 :** Composition des déchets solides pendant la période de vacances

**G :** déchets d’herbes ; **F :** déchets alimentaires ; **P :** déchets de papiers/cartons ; **R :** déchets plastiques ; **T :** déchets textiles ; **Caou:** déchets des caoutchoucs ; **V :** déchets des verres ; **M :** déchets métal ; **Da :** déchets dangereux ; **Re:** reste des déchets



**Figure 3 :** Composition globale des déchets solides.

**G :** déchets d’herbes ; **F :** déchets alimentaires ; **P :** déchets de papiers/cartons ; **R :** déchets plastiques ; **T :** déchets textiles ; **Caou:** déchets des caoutchoucs ; **V :** déchets des verres ; **M :** déchets métal ; **Da :** déchets dangereux ; **Re:** reste des déchets.



**Figure 4 :** Humidité et matière organique selon la composition de déchets

**G** : déchets de feuilles ; **F** : déchets alimentaires ; **P** : déchets de papiers/cartons ; **R** : déchets plastiques ; **T** : déchets de textile ; **H** : autres déchets (2% de déchet de caoutchouc, 1% de déchet de verre, 1% de déchets et 11% reste de déchets) ; **M1** : Echantillon mixte regroupant tous les déchets ; **M2** : Echantillon mixte regroupant tous les déchets sauf les déchets de feuille.

## Détermination de la demande en chlore de l'eau des puits traditionnels du quartier marais de Daloa.

Kouamé Victor Kouamé\*, Marie Jeanne Ohou-Yao, Kouakou Séraphin Konan, Bini Kouamé Dongui.

*Laboratoire des Sciences et Technologies de l'Environnement, Université Jean Lorougnon Guédé, Daloa, Côte d'Ivoire, BP 150 Daloa.*

**Résumé :** L'eau destinée à la consommation humaine ne doit contenir ni substances chimiques dangereuses, ni micro-organismes. A Daloa, 95,7 % des ménages des quartiers précaires font recours aux puits traditionnels car ils ne sont pas raccordés au réseau d'eau potable. Ce travail a pour objectif d'évaluer la demande en chlore des eaux de puits du quartier Marais de Daloa. A cet effet, 25 puits ont été échantillonnés et des analyses physico-chimiques et microbiologiques ont été effectuées avant de déterminer la demande en chlore. Les résultats ont montré que les valeurs moyennes du pH et de la conductivité étaient respectivement  $5,45 \pm 0,79$  et  $868,99 \pm 269,78$   $\mu\text{s/cm}$ . Les concentrations de calcium, de magnésium et de chlorures sont respectivement  $45,88 \pm 19,17$  mg/L,  $29,81 \pm 13,26$  mg/L et  $33,4 \pm 14,64$  mg/L. Quant aux Coliformes Totaux et Coliformes Fécaux, le nombre enregistré était supérieur à la valeur guide de l'OMS. La dose au break-point et le chlore résiduel variaient respectivement de 2 à 3 mg/L et de 0,3 à 1,7 mg/L pour une demande en chlore comprise entre 0,3 et 1,8 mg/L. Ces eaux requièrent donc une désinfection au chlore avec un minimum de 2 mg/L avant leur consommation. Cependant, une évaluation de l'influence saisonnière sur la demande en chlore est nécessaire.

**Mots clés :** Eaux de puits, contamination microbienne, chloration, chlore résiduel.

## Determination of chlorine demand of the water from traditional wells in Marais neighborhood in Daloa district.

**Abstract :** Water intended for human consumption must not contain dangerous chemicals or microorganisms. In Daloa, 95.7% of households in precarious neighborhoods use traditional wells because they are not connected to the drinking water network. The present study aimed to assess the chlorine demand in well water in the Marais district of Daloa. 25 water samples were taken from 25 wells and physicochemical and microbiological analyzes were carried out before determining the chlorine demand. The results showed that pH and conductivity values were  $5.45 \pm 0.79$  and  $868.99 \pm 269.78$   $\mu\text{s/cm}$  respectively. The means concentrations of calcium, magnesium and chlorides were  $45.88 \pm 19.17$  mg/L,  $29.81 \pm 13.26$  mg/L and  $33.4 \pm 14.64$  mg/L respectively. As for Total Coliforms and Fecal Coliforms, the number recorded was higher than the WHO guideline value. The dose at the break-point and residual chlorine ranged from 2 to 3 mg/L and from 0.3 to 1.7 mg/L respectively. The chlorine demand was between 0.3 and 1.8 mg/L. The unsuitability of these waters requires disinfection with chlorine with a minimum of 2 mg/L before consumption. However, an assessment of the seasonal influence on chlorine demand is necessary.

**Keywords :** Well water, microbial contamination, chlorination, residual chlorine.

### 1. Introduction

L'eau potable est cruciale pour la bonne nutrition et la santé humaine. D'après un rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé [1], cinq millions de nourrissons et d'enfants meurent chaque année de maladies diarrhéiques dues à la contamination des aliments ou de l'eau de boisson. L'eau destinée à la consommation humaine ne doit donc contenir ni substances chimiques dangereuses, ni micro-organismes nocifs pour la santé. Ainsi, le maintien de la qualité de l'eau de consommation demeure une préoccupation constante et majeure de tous les acteurs de traitement et de distribution d'eau potable [2]. Par ailleurs, selon un rapport commun de l'OMS et l'UNICEF [3], 30 % de la population mondiale n'ont pas accès à des services d'alimentation domestique en eau potable et surtout dans les pays en développement. Dans ces pays, les infrastructures des services de base ne suivent pas la croissance démographique couplée à une urbanisation anarchique. En Côte d'Ivoire, plus de 8 millions de personnes soit 43 % de la population manquent d'installations sanitaires de base et plus de 4 millions de personnes boivent encore de l'eau provenant de sources non améliorées [4]. A Daloa, chef-lieu de la région du Haut Sassandra, 95,7 % des ménages des quartiers précaires ne sont pas raccordés à la Société de Distribution d'Eau de Côte d'Ivoire [5]. Ces populations font usage de l'eau de puits traditionnel dont la qualité n'est pas garantie [6], c'est le cas du quartier Marais où la faible profondeur des nappes et l'environnement malsain des puits traditionnels constituent des sources de pollution des eaux de ces ouvrages. La qualité de ces eaux étant constamment menacée, il est nécessaire d'effectuer un traitement adapté avant leur consommation [7]. L'un des objectifs visés par ce traitement est l'élimination des micro-organismes présents dans ces eaux par la désinfection. Cette méthode permet d'obtenir une eau minéralogiquement potable tout en y maintenant un résiduel de désinfectant pour empêcher la survie des micro-organismes et prévenir ainsi le risque de contamination potentiel [8]. Elle est assurée par des oxydants chimiques tels que le chlore, le dioxyde de chlore, l'ozone et par des procédés physiques comme l'utilisation du rayonnement Ultra-Violet [9]. En raison de son efficacité, de sa rémanence et pour des questions économiques, le chlore est utilisé préférentiellement aux autres

oxydants. Ainsi, les populations utilisent le plus souvent la chloration avec l’hypochlorite de calcium ou l’hypochlorite de sodium. Or l’utilisation de ces produits à des doses non modérées peut engendrer des effets néfastes sur la santé humaine. L’objectif de ce travail est d’évaluer la quantité de chlore nécessaire pour neutraliser l’ensemble des micro-organismes pathogènes dans les eaux de puits tout en gardant une dose de chlore résiduel afin d’assurer la protection de ces eaux contre d’éventuelles contaminations.

## 2. Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé dans la ville de Daloa, située au centre ouest de la Côte d’Ivoire dans la région du Haut-Sassandra entre 6°53 de latitude nord et 6°27 de longitude ouest. Cette ville s’étend sur une superficie de 5305 km<sup>2</sup> et est constituée de 33 quartiers dont le quartier Marais. L’identification et la sélection des puits ont été faites après une enquête de terrain portant sur les caractéristiques socioéconomiques des ménages, l’accès à l’eau potable, les modes d’utilisation des eaux de puits, l’entretien de ces ouvrages, leur position par rapport aux fosses septiques, leur profondeur ainsi que les traitements appliqués à ces eaux. Au total, 25 puits numérotés P1 à P25 ont été retenus et échantillonnés (figure 1). Les prélèvements ont été effectués le matin à l’aide d’une puisette muni d’une corde graduée. Ces échantillons ont été conservés dans des flacons en polyéthylène de 500 mL préalablement rincés à l’eau distillée puis avec l’eau du milieu. Ils ont été par la suite transportés au laboratoire dans une glacière contenant de la glace pour les analyses. Le pH, la température et la conductivité ont été mesurés in situ au cours de l’échantillonnage à l’aide d’un multi paramètre de marque PHYWE. Au laboratoire, la dureté totale, les concentrations des ions calcium, magnésium et chlorures ont été dosés par la méthode titrimétrique à l’EDTA. La turbidité a été également mesurée à l’aide d’un turbidimètre de marque PANNA. Les coliformes totaux, les coliformes thermotolérants, les streptocoques, les Salmonella et les Anaérobies sulfite réducteurs ont été dénombrés avant la détermination de la demande en chlore par la méthode du break-point décrite par Rodier [10]. Quant au chlore résiduel, il a été déterminé par la méthode iodométrique.

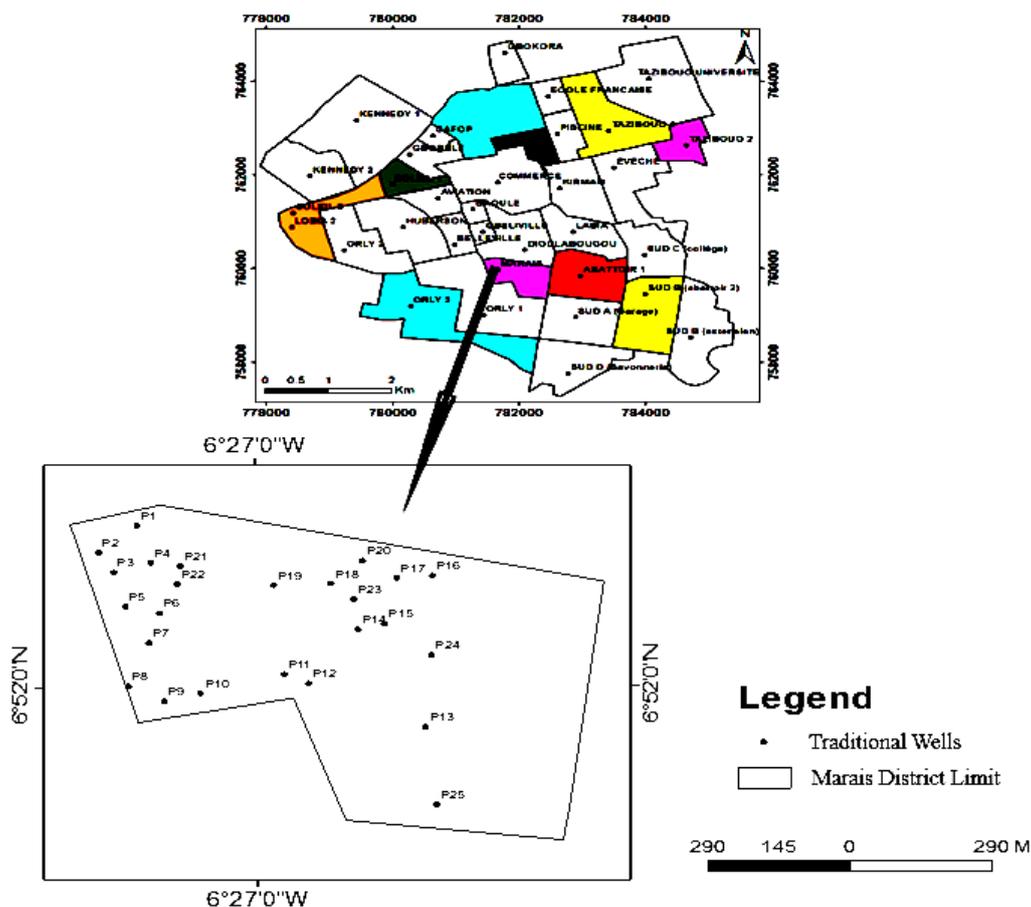


Figure 1: Localisation des puits échantillonnés.

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1 Caractéristiques physiques et chimiques des eaux de puits

Les caractéristiques générales des puits étudiés révèlent que 84 % d'entre eux ont un niveau inférieur à 10 m de la surface du sol. Les margelles de 96 % des puits sont cimentées mais 68 % ont une couverture en bois. 72 % de ces puits sont à moins de 15 m des latrines. Cette proximité aux latrines ou fosses septiques couplée à la faible profondeur des puits renforce leur vulnérabilité et favorise la prolifération des germes microbiologiques dans l'eau selon Konohin *et al.* [11]. Les caractéristiques physicochimiques sont présentées dans le tableau I. Les valeurs moyennes de la température, du pH, de la conductivité, de la turbidité et de la dureté totale sont respectivement  $27,97 \pm 0,33^\circ\text{C}$ ,  $5,45 \pm 0,79$ ,  $868,99 \pm 269,78 \mu\text{s/cm}$ ,  $8,64 \pm 3,91 \text{ NTU}$  et  $7,68 \pm 3,56^\circ\text{f}$ . Contrairement à la température qui varie très peu d'un puits à un autre, la conductivité électrique et la dureté totale des eaux varient significativement d'un puits à un autre. La valeur de la température est influencée par celle du milieu ambiant. Cette forte température indique que les eaux de ces puits constituent un bon milieu de culture pour les micro-organismes. Concernant les ions calcium, ions magnésium et ions chlorures, les valeurs moyennes enregistrées sont  $45,88 \pm 19,17 \text{ mg/L}$  pour les ions calcium,  $29,81 \pm 13,26 \text{ mg/L}$  pour les ions magnésium et  $33,4 \pm 14,64 \text{ mg/L}$  pour les ions chlorures. Les concentrations en ces ions varient significativement d'un puits à un autre. Les teneurs obtenues sont inférieures aux valeurs maximales admissibles qui sont de  $100 \text{ mg/L}$  pour le calcium,  $50 \text{ mg/L}$  pour le magnésium et  $200 \text{ mg/L}$  pour les chlorures.

Tableau 1 : Caractéristiques physicochimiques des eaux de puits

Paramètres	Minimum	Maximum	Moyenne
Température ( $^\circ\text{C}$ )	27,00	29,50	$27,97 \pm 0,33$
pH	3,60	6,60	$5,45 \pm 0,79$
Conductivité ( $\mu\text{s/cm}$ )	352,90	1423,50	$868,99 \pm 269,78$
Turbidité (NTU)	5,52	24,27	$8,64 \pm 3,91$
Dureté totale ( $^\circ\text{f}$ )	6,14	15,50	$7,68 \pm 3,56$
Calcium (mg/L)	12,00	121,00	$45,88 \pm 19,17$
Magnésium (mg/L)	9,24	56,00	$29,81 \pm 13,26$
Chlorures (mg/L)	11,72	74,54	$33,4 \pm 14,64$

Quant au pH, la valeur moyenne enregistrée traduit le caractère acide des eaux. Les valeurs enregistrées pour les eaux de puits du quartier Marais de Daloa sont similaires à celles obtenues par Ligban *et al.* [12] lors de l'étude du processus hydrogéochimiques et origine des sources naturelles dans le degré carré de Daloa. En plus de la température et du pH, la turbidité renseigne sur la pollution en matière en suspension et colloïdale de ces eaux. Ainsi, la valeur moyenne obtenue montre que la turbidité peut avoir des effets importants sur la qualité de ces eaux. En effet, une turbidité élevée favorise l'augmentation en nombre de certaines bactéries dans l'eau, tel que démontré par Power et Nagy [13] qui ont mis en évidence une corrélation entre ce paramètre et le développement des bactéries hétérotrophes aérobies et anaérobies facultatives. Relativement à la conductivité, les valeurs indiquent que les eaux de puits étudiées sont minéralisées bien qu'elles soient inférieures à  $2000 \mu\text{s/cm}$  qui est la valeur recommandée par l'OMS [14].

#### 3.2 Caractéristiques microbiologiques des eaux de puits

L'examen de la contamination microbienne, à partir du dénombrement de quelques germes indicateurs de contamination fécale et les germes potentiellement pathogènes pour le consommateur, montre que les concentrations des coliformes totaux et coliformes fécaux sont presque constantes dans les eaux de puits échantillonnés. Le nombre moyen de coliformes totaux et fécaux est inférieur à 15 tandis que celui des streptocoques fécaux et des anaérobies sulfite réducteurs est inférieur à 1 (tableau II). Ces valeurs sont supérieures à la valeur guide des eaux potables qui sont  $10 \text{ CT}/100 \text{ mL}$  pour les coliformes totaux et  $0 \text{ CF}/100 \text{ mL}$  pour les coliformes fécaux [1].

Cette contamination pourrait provenir des activités domestiques et serait également due à l'exposition directe des puits aux eaux de ruissellement chargées en microorganismes. Les streptocoques fécaux sont quasiment absents. On les retrouve à l'état de trace. Quant aux Salmonelles, elles sont totalement absentes. De façon générale, la qualité biologique des eaux de puits en Afrique révèle que la plupart des puits traditionnels sont pollués. Des études portant sur les eaux de puits au Burkina-Faso, au Rwanda, au Bénin et en Guinée Conakry montrent que respectivement 70 % des puits traditionnels au Burkina-Faso, 55 % des sources captées au Rwanda, 96 % des puits traditionnels au Bénin et 100 % des puits traditionnels et sources captées en Guinée sont pollués [15]. La position des puits traditionnels par rapport aux sources de pollution (dépotaires de déchets, points des eaux usées et les fosses

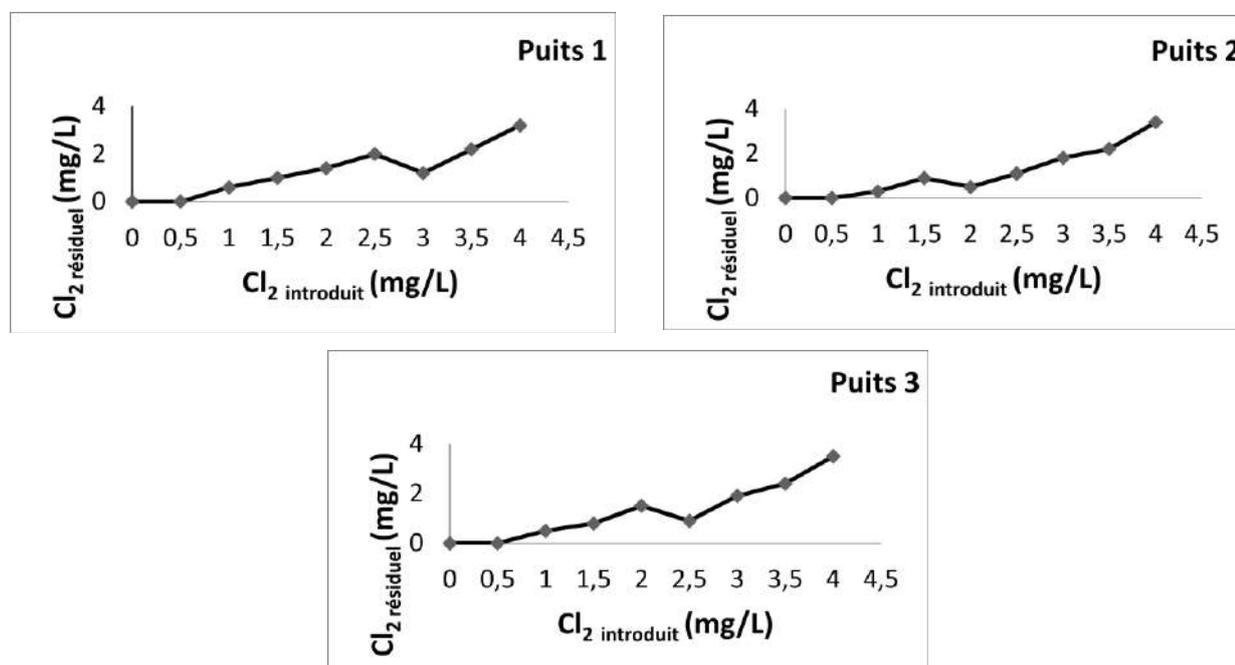
d'aisances), le mauvais aménagement des puits (absence de margelle et de périmètre de protection) et la faible profondeur des puits sont des facteurs qui expliquent la présence de germes microbiologiques dans les puits de Daloa.

**Tableau II** : Concentration des germes microbiens dans les eaux de puits.

Germes	Coliformes Totaux et Coliformes Fécaux	Streptocoques Fécaux et Anaérobies Sulfite Réducteur	Salmonelles
Nombre moyen dans 100 mL	<15	<1	Absence

### 3.3 Demande en chlore

Relativement à la désinfection de ces eaux, les valeurs des doses au break-point montrent que les puits étudiés peuvent être regroupés en trois catégories (figure 2). La première catégorie a une dose au break point de 2 mg/L. Elle est constituée de 6 puits (P2, P6, P15, P17, P19, P23). La seconde catégorie est constituée de 9 puits (P3, P4, P5, P9, P12, P13, P16, P20, P25) et a une dose au break-point de 2,5 mg/L. La troisième catégorie a une dose au break-point de 3 mg/L et est constituée de 10 puits (P1, P7, P8, P10, P11, P14, P18, P21, P22, P24). Les doses de break-point enregistrées varient de 2 à 3 mg/L. Cette variation est due à la présence de composés minéraux qui élèvent les valeurs au break-point [10].



**Figure 2:** Courbe de break-point de quelques puits

La demande immédiate en chlore n'est pas nulle (0,5 mg/L). Selon Tampo *et al.* [16], la demande immédiate en chlore est la quantité de chlore consommée avant sa réaction avec les composés azotés. Après l'élimination des composés inorganiques, les chloramines minérales se forment et agissent comme du chlore résiduel. Lorsque tous les composés azotés ont réagi avec le chlore, le chlore ajouté entraîne une destruction des chloramines formés jusqu'à l'atteinte d'un minimum. Le point de rupture ou break-point est ainsi atteint. Les doses supplémentaires du chlore entraînent par la suite un accroissement de la quantité de chlore déjà disponible. La demande en chlore des eaux de puits du quartier marais pourrait être liée aux composés minéraux. Selon Harrat [7], la présence d'ions chlorures provoque aussi une diminution de potentiel de consommation en chlore.

La figure 3 présente le résumé du processus de la demande en chlore des eaux de puits du quartier marais. A partir des doses ajoutées au break-point, les concentrations en chlore résiduel des eaux sont comprises entre 0,3 à 1,7 mg/L et les doses consommées par les micro-organismes et les minéraux varient de 0,3 à 1,8 mg/L.

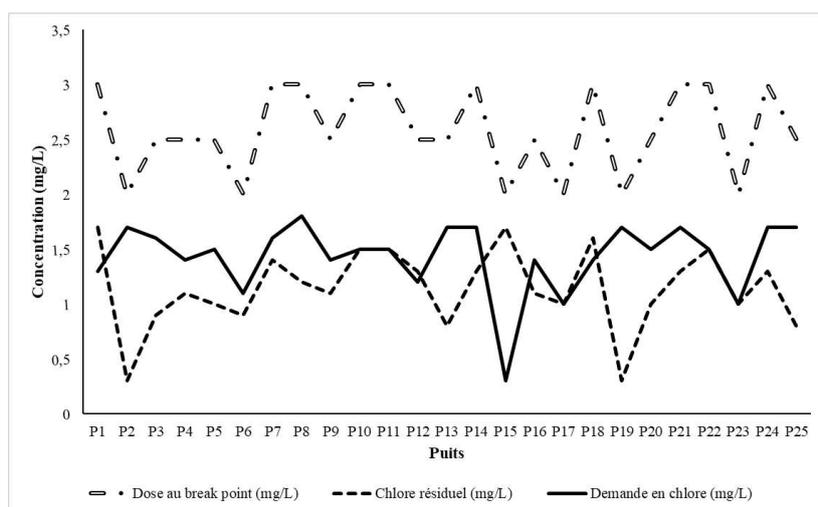


Figure 3: Variation de la demande en chlore des eaux de puits

#### 4. Conclusion

L'évaluation de la demande en chlore des eaux de puits du quartier Marais de Daloa montre qu'elles requièrent une désinfection au chlore avec un minimum de 2 mg/L avant leur consommation. Cependant, une évaluation de cette demande en chlore par saison climatique est nécessaire afin de tenir compte de l'effet des saisons sur les paramètres pouvant influencer la consommation du chlore dans les eaux.

#### 5. References

- [1] OMS (1987). Technologie de l'approvisionnement en eau et de l'assainissement dans les pays en développement : rapport d'un groupe d'étude de l'OMS. 742, Genève, 42.
- [2] Sibile, I. (1998). Stabilité biologique des réseaux de distribution d'eau potable. *L'Année Biologique*, 37 (3) : 117-161
- [3] OMS et UNICEF (2017). Progrès en matière d'eau, d'assainissement et d'hygiène. Rapport du Programme commun de suivi de l'approvisionnement en eau et de l'assainissement, 116 p. et nombre de pages.
- [4] UNICEF (2008). Manuel de Qualité de l'Eau de l'UNICEF, 42 p
- [5] INS (1998). Recensement Générale de la Population et de l'Habitat. 95 p
- [6] Awomon, A.D.F., Coulibaly, M., Niamke, G.M. et Santos, D.S. (2019). La problématique de l'approvisionnement en eau potable et le développement des maladies à transmission hydrique dans les quartiers d'extension Orly de la ville de Daloa (Côte d'Ivoire). *Revue espace territoires société et santé*, 1 (2) : 91–108.
- [7] Hounsounou, E.O., Agassounon, D.T.M., Kelome, N.C., Vissin, E.W., Mensah, G.A. et Agbossou, E. (2017). Pollution des eaux à usages domestiques dans les milieux urbains défavorisés des pays en développement : Synthèse bibliographique. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10 (5) : 2392-2412.
- [8] Somani, S.B.; Ingole, N.W. et Kulkarni, N.S. (2011). Disinfection of water by using sodium chloride (NaCl) and sodium hypochlorite (NaOCl). *J. Eng. Res. Stud.* 2011, 2, 40-43.
- [9] Cardot, C. (2010). Les traitements de l'eau - Procédés physico-chimiques et biologiques. Elsepses, 320 p.
- [10] Rodier, J., Legube, B. et Merlet, N. (2009). *L'analyse de l'eau*. Dunod, Paris, 1600 p.
- [11] Kanohin, F., Otchoumou, E., Yapo, O.B., Dibi, B. et Bonny, A.C. (2018). Caractérisation physico-chimique et bactériologique des eaux souterraines de Bingerville. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(5) : 2495-2509.
- [12] Ligban, R., Gone, L.D., Kamagate, B., Saley, M.B. et Biemi, J. (2009). Processus hydrogéochimiques et origine des sources naturelles dans le degré carré de Daloa (Centre ouest de la Côte d'Ivoire). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3 (1) : 37–47.
- [13] Power, K.N. et Nagy, L.A. (1999). Relationship between bacterial regrowth and some physical and chemical parameters within Sydney's drinking water distribution system. *Water Research*, 33 : 741-750.
- [14] OMS (2004). Directives de qualité pour l'eau de boisson. Genève, 110 p.
- [15] pS-Eau (2018). Guide pratique de conservation et traitement de l'eau à domicile. 72 p.
- [16] Tampo, L., Ayah, M., Kodom, T., Tchakakla, I., Boguido, P., Bawa, L. et Djaneye, B. (2014). Impact de la demande en chlore et de la chloration sur la désinfection des eaux de puits des quartiers de Lomé : cas des quartiers de Démakpoé et d'Agbalépédogan (Togo). *Journal of Applied Biosciences*, 75 (1) : 6272
- [17] Harrat N, (2013). Elimination de la matière organique naturelle dans une filière conventionnelle de potabilisation d'eaux de surface. Thèse De Doctorat, université Biskra (Algérie), 168 p.

## Evaluation des risques sanitaires liés aux nitrates dans les eaux de puits consommées : cas de la ville de M'bahiakro (Centre-Est de la Côte d'Ivoire).

N'cho Achié Hervé<sup>1</sup>, Kouame Kouassi Innocent<sup>1</sup>, Baï Ruth<sup>1</sup>, Konan Kouakou Séraphin<sup>2</sup>, Kouassi Konan David<sup>1</sup>, Kouassi Kouakou Lazare<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Laboratoire de Géosciences et Environnement, UFR SGE, Université Nangui Abrogoua, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

<sup>2</sup>Laboratoire du Génie de l'Eau et de l'Environnement, UFR Environnement, Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire

### Résumé

La contamination des eaux souterraines par les nitrates est un problème mondial, en particulier dans les pays agricoles. L'exposition à des quantités élevées de nitrates dans les eaux souterraines peut contribuer aux effets néfastes sur la santé des résidents qui utilisent les eaux souterraines pour la consommation. Cette étude vise à évaluer le risque sanitaire lié à l'ingestion des nitrates dans les eaux de puits dans la ville M'Bahiakro. Des cartes des risques sanitaires ont été créées sur la base des quotients de dangers (QD) pour quantifier le risque potentiel pour la santé des résidents en utilisant le modèle d'évaluation des risques pour la santé de l'Agence américaine de protection de l'environnement (USEPA). Les résultats indiquent que les résidents des quartiers de Koko, Dougouba et de Baoulekro, quel que soit leur âge, sont potentiellement exposés aux effets toxiques des NO<sub>3</sub><sup>-</sup> au cours de la prise quotidienne des eaux de puits contaminées par les nitrates en référence aux quotients de dangers (QD) supérieur à 1. Ainsi, il convient de contrôler les concentrations des nitrates dans la nappe phréatique afin de prévenir leurs effets néfastes sur la santé de la population et garantir son utilisation dans l'exercice de l'activité rizicole de M'bahiakro.

**Mots clés :** Nitrate, Puits, Risques sanitaires, M'bahiakro

### Abstract

Nitrate contamination of groundwater is a worldwide problem, particularly in agricultural countries. Exposure to high levels of nitrates in groundwater can contribute to adverse health effects in residents who use groundwater for drinking. The purpose of this study was to assess the health risk associated with the ingestion of nitrates in well water in M'Bahiakro City. Health risk maps were created based on hazard quotients (HQ) to quantify the potential health risk to residents using the U.S. Environmental Protection Agency (USEPA) health risk assessment model. The results indicate that residents of the Koko, Dougouba and Baoulekro neighborhoods, regardless of age, are potentially exposed to the toxic effects of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> during daily intake of nitrate-contaminated well water with reference to hazard quotients (HQ) greater than 1. Thus, nitrate concentrations in the groundwater should be controlled to prevent adverse health effects on the population and to ensure its use in the rice-growing activity of M'bahiakro.

**Keywords:** Nitrate, Well, Health risks, M'bahiakro.

### 1. Introduction

L'eau a toujours figurée au premier plan des ressources naturelles primordiales pour la vie de l'Homme. Cependant, la dégradation sans cesse accrue des ressources en eau en particulier des eaux souterraines dans la plupart des pays agricole constitue une des dimensions environnementales les plus préoccupantes du XXI<sup>ème</sup> siècle [1]. Une dégradation généralement d'origine anthropique, fortement liée non seulement aux agents pathogènes, mais également aux substances chimiques notamment les nitrates pouvant provoquer des effets toxiques sur la santé humaine [2].

En Côte d'Ivoire, la localité de M'bahiakro n'échappe pas à ce constat. En effet cette localité bénéficie depuis les années 2010 d'un Projet National Riz (PNR) et où la cadence d'urbanisation a nettement augmenté avec une popularisation du centre-ville. Il en résulte une consommation d'eau de plus en plus importante. Selon les travaux menés par [3], plus de 90% des familles de la ville sollicite les eaux de puits pour pallier le manque potentiel d'eau potable, ou les utilise comme principales sources d'eau de consommation tout au long de l'année. Or des études réalisées sur la nappe phréatique de M'Bahiakro par [4], ont montré que plus de 70% des eaux de puits consommées ont des concentrations en nitrates supérieures au seuil de potabilité des eaux de boisson. Ce qui pourrait augmenter le risque de méthémoglobinémie [5] ou du lymphome non hodgkinien à long terme [6] ; [7]. Cette étude vise à évaluer le risque potentiel de santé lié à l'ingestion des nitrates dans les eaux de puits de la ville de M'Bahiakro.

### 2. Matériel et méthodes

La zone d'étude fait partie de la région de l'Iffou, située dans le Centre-Est de la Côte d'Ivoire. Elle s'étend sur une superficie de 5,538 km<sup>2</sup> et est divisé en 4 quartiers notamment : Koko (nord), Baoulekro (est), Dougouba (ouest) et N'Gattakro (sud). Les points d'eau relevés pour cette étude sont tous représentés par des puits traditionnels situés dans les cours des habitations au niveau des quatre quartiers. Ces puits sont exempts de périmètres de protection et les plupart proches des ouvrages d'assainissement (fosses septiques, latrines à fosse, puits perdus) (Figure 1).

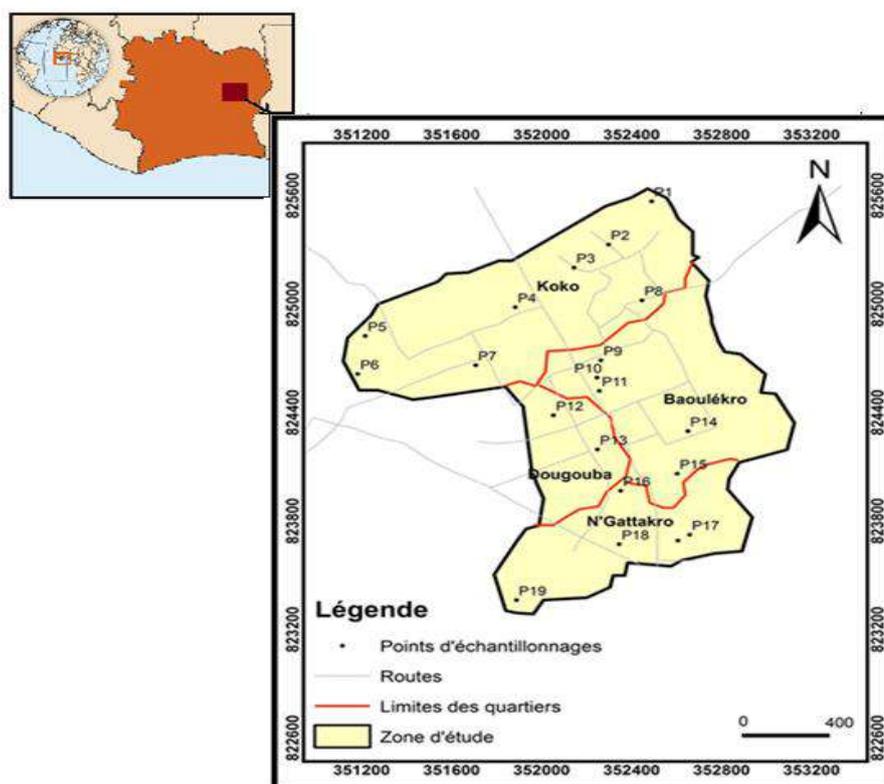


Figure 1 : Présentation de la zone d'étude

L'échantillonnage des eaux a été effectué dans dix-neuf puits en petite saison pluvieuse (Octobre 2018), période à laquelle une augmentation de la concentration des nitrates dans les eaux de puits de M'Bahiakro a été relevée par les travaux de [4]. Les échantillons d'eau ont été prélevés dans des bouteilles en polyéthylène de 500 mL. Chaque bouteille est rincée trois fois de suite avec l'eau de prélèvement, puis remplie à refus et fermée hermétiquement avant d'être transporté à froid (4 °C) dans une glacière jusqu'au laboratoire. Au laboratoire l'analyse des nitrates dans les échantillons, a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre selon la norme standard AFNOR NFT 90-013.

Les concentrations des nitrates déterminées ont permis d'évaluer le risque de santé associé aux nitrates des consommateurs (enfants et adultes) à partir de la quantification du quotient de danger. Selon [8], en raison de l'insuffisance des preuves de la cancérrogénicité du nitrate dans l'eau potable chez les humains, seuls les effets non cancérigènes sur la santé découlant d'une exposition à long terme au nitrate dans l'eau potable sont quantifiés en termes de quotient de danger (QD) à l'aide du modèle d'évaluation des risques pour la santé de l'EPA des États-Unis, comme le montre l'équation (1).

$$QD = \frac{DJM}{RfD} \quad (1)$$

Où la RfD (Dose de Référence) est la valeur seuil de toxicité du nitrate qui selon [9] est de 1.6 mg/kg/jour. En effet, sur la base des travaux de [10], [11] retenant pour effet les premières manifestations cliniques de la méthémoglobinémie chez l'enfant, une DSENO (Dose Sans Effet Nocif Observé) a été fixée à 1,6 mg/kg p.c./j. Cela correspond à une concentration en nitrates de 44 mg/L avec une ingestion quotidienne d'eau de 0,64 L soit 0,16 L/kg p.c./j. Cette limite est aussi la Dose de Référence sans application d'un facteur d'incertitude supplémentaire puisque l'USEPA considère qu'il s'agit de l'effet toxique « critique » de la population la plus sensible [12]. La DJM est la Dose Journalière Moyenne d'exposition du nitrate ingérée directement à partir de l'eau, tel qu'indiqué dans l'équation (2).

$$DJM_{ing} = \frac{C * IR * EF * ED * CF}{BW * AT} \quad (2)$$

Où, les différents paramètres permettant l'estimation de l'exposition DJM par voie orale selon le modèle USEPA sont donnés par le tableau 1.

**Tableau 1** : Paramètres d'évaluation de l'exposition du nitrate par voie orale.

Paramètres	Unités	Valeurs orales		Références
		Enfants	Adultes	
C (concentration du nitrate)	mg/L			Zone d'étude
IR (taux d'absorption)	L/j	1	2.2	[13]
EF (fréquence d'exposition)	j/an		365	
ED (durée d'exposition)	an	6	30	
CF (facteur de conversion)	kg/mg	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-6</sup>	[2]
BW (poids corporel)	kg	15	60	
AT (temps moyen)	j	6 x 365	30 x 365	

Dans cette étude la valeur QD de chaque point d'échantillonnage a été calculée et utilisée pour simuler le niveau de risque pour la santé des consommateurs sur l'ensemble de la zone d'étude. La version ArcGIS 10.2 avec l'extension Geostatistical Analyst a été utilisée pour générer une zone de risque prédictive à partir des QD sous la forme de cartes utilisant la méthode d'interpolation de krigeage ordinaire.

Comparativement aux travaux de [2], le niveau de risque a été classé en trois classes :

- classe 1 ( $0 \leq QD \leq 1$ ) risque non significatif, correspondant aux zones non cancérigène acceptable ;
- classe 2 ( $1 < QD \leq 2$ ) risque modérément significatif et classe 3 ( $QD > 2$ ) risque très significatif, représentant les zones non cancérigène inacceptable.

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Concentrations des nitrates

Les concentrations moyennes des nitrates dans les eaux de puits des quatre quartiers de la ville de M'Bahiakro sont présentées par le tableau 2. Dans la ville l'ensemble des eaux de puits présentant les concentrations de nitrates supérieures au niveau acceptable sont observés dans les quartiers de Koko, Baoulékro et de Dougouba où les concentrations moyennes étaient respectivement de 83.7±53.4, 58.5±23.8 et 90.1±29.8 mg/L de NO<sub>3</sub>. L'enrichissement de ces eaux de puits en nitrate serait majoritairement lié aux rejets des eaux usées domestiques (latrine, fosse septique) dans la nappe phréatique selon [3]. Le test de Kruskal-Wallis a aussi montré que la différence du niveau de contamination des eaux de puits par les nitrates dans les différents quartiers est statistiquement significative ( $p$ -value = 0.03974 < 0,05) (tableau 2). En se rapprochant des travaux menés par [4], on peut alors dire que les propriétés physiques du sol des différents quartiers de M'Bahiakro représenteraient des facteurs déterminants dans la pollution des eaux de puits par les nitrates. En effet, selon ces auteurs la partie Sud de la ville caractérisée par les sables grossiers et des pentes plus faibles (0 à 3%) contrairement aux autres parties Nord, Ouest et Est, est plus favorable à la recharge de la nappe. Ainsi les faibles concentrations des nitrates observées dans le quartier de N'gattakro contrairement à Koko, Baoulékro et Dougouba pourraient être liées au phénomène de dilution des concentrations des nitrates dans les eaux de puits tel que souligné également dans les travaux de [14].

Par ailleurs selon les auteurs [2] et [15], les fortes concentrations des nitrates observées dans les eaux des puits captant la nappe phréatique dans chaque quartier de la ville indiquent que la qualité de la nappe se détériore et que la santé de la population qui la consomme pourrait être affectée.

**Tableau 2** : concentration de nitrates dans les eaux de puits.

Quartiers	Nombre d'échantillons (n)	médiane	moy±ecartype	min	max	<i>p-value</i>
		mg/L NO <sub>3</sub>	mg/L NO <sub>3</sub>	mg/L NO <sub>3</sub>	mg/L NO <sub>3</sub>	
Koko (nord)	7	63.1	83.7±53.4	10.91	114.3	0.03974
Baoulékro (est)	4	59.4	58.5±23.8	32.3	83	
Dougouba (ouest)	3	52.6	90.1±29.8	92.6	110.7	
N'gattakro (sud)	4	16.3	17.9±9.1	10.3	28.8	

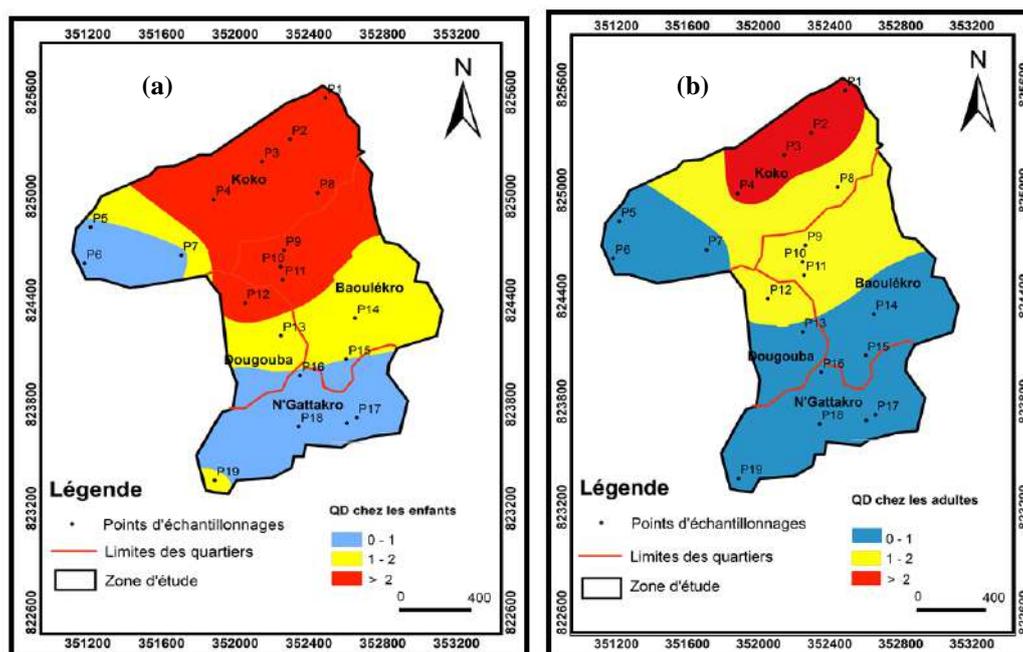
#### 3.2. Risque sanitaire lié à la présence de nitrates dans les eaux puits

L'évaluation du risque de santé lié à l'exposition par ingestion des nitrates dans les eaux de puits a ainsi montré qu'une partie de la zone d'étude avait un QD > 1, ce qui indique que les résidents de cette zone seraient sujets aux effets néfastes des NO<sub>3</sub><sup>-</sup> au cours de la prise quotidienne des eaux de puits contaminées par les nitrates. Cette partie de la zone d'étude concerne les quartiers de Koko, Dougouba et de Baoulékro. Il a été observé dans ces quartiers que le QD pour les adultes et les enfants dus aux NO<sub>3</sub><sup>-</sup> étaient supérieurs à 1 (QD > 1) avec des valeurs respectives de 1,27

(Koko), 1,09 (Dougouba), 1,22 (Baoulekro) et de 2,59 (Koko), 2,44 (Dougouba), 2,17 (Baoulekro) (tableau 3). Selon [16], cela signifie que, quel que soit leur âge, les habitants de cette partie de la zone étudiée sont potentiellement exposés à des effets sanitaires non cancérogènes associés aux  $\text{NO}_3^-$ . Contrairement aux autres quartiers, le quartier de N’Gattakro dans la partie Sud de la ville et caractérisée par un  $\text{QD} < 1$ , indique que cette zone est à un niveau de risque non cancérigène acceptable sur la santé. Il a été observé dans le quartier de N’Gattakro que le QD pour les adultes et les enfants dus aux  $\text{NO}_3^-$  est inférieur à 1 ( $\text{QD} < 1$ ) avec des valeurs respectives de 0,37 et 0,75. En effet, selon [8], les effets toxiques potentiels sur la santé humaine au cours de la vie sont faibles ou nuls dans cette partie de la zone d’étude. Les valeurs  $\text{QD} > 1$  observées dans l’ensemble des quartiers de la zone de M’Bahiakro présentent des risques relativement plus élevés chez les enfants que chez les adultes (Figure 2). Les cartes des risques pour la santé ont montré que 74% (Figure 2.b) et 44% (Figure 2.a) de la zone d’étude sont à un niveau de risque non cancérigène inacceptable respectivement chez les enfants et les adultes ( $\text{QD} > 1$ ), tandis que 26% (Figure 2.a) et 56% (Figure 2.b) de la zone d’étude avec des  $\text{QD} > 1$ , sont à un niveau de risque non cancérigène acceptable chez les enfants et les adultes respectivement. Ces résultats se rapprochent de ceux de [17] et [15], car pour ces auteurs les enfants sont plus vulnérables aux effets non cancérogènes des polluants que les adultes.

**Tableau 3** : Quotient de Danger des eaux de puits dans les différents quartiers de M’Bahiakro.

		Koko	Baoulékro	Dougouba	N’gattakro
	RfD	1.6	1.6	1.6	1.6
enfants	CDI	4.05	3.9	3.47	1.2
	$\text{QD} \pm \text{ecartype}$	$2.53 \pm 2.23$	$2.44 \pm 0.99$	$2.17 \pm 1.24$	$0.75 \pm 0.38$
adultes	CDI	2.02	1.95	1.74	0.6
	$\text{QD} \pm \text{ecartype}$	$1.27 \pm 1.11$	$1.22 \pm 0.50$	$1.09 \pm 0.62$	$0.37 \pm 0.19$



**Figure 2** : Carte des risques sanitaires liés à l’ingestion des nitrates : (a) enfants, (b) adultes.

#### 4. Conclusion

La nappe phréatique de la ville de M’Bahiakro est une réserve importante pour les populations défavorisées qui pourraient voir leur nombre augmenté pendant la mise en œuvre du projet de la riziculture irriguée. Cependant l’évaluation du risque de santé lié à l’exposition par ingestion des nitrates dans les eaux de puits indique que les résidents des quartiers de Koko, Dougouba et de Baoulekro, quel que soit leur âge, sont potentiellement exposés aux effets toxiques des  $\text{NO}_3^-$  au cours de la prise quotidienne des eaux de puits contaminées par les nitrates en référence aux quotients de dangers (QD) supérieur à 1. Ainsi, il convient de traiter et de contrôler les ions nitrates dans la nappe phréatique afin de prévenir leurs effets néfastes sur la santé de la population dans le contexte de l’utilisation de cette nappe pendant la mise en œuvre du projet de la riziculture irriguée de M’Bahiakro.

## 5. References

- [1] Zgheib S. Flux et sources des polluants prioritaires dans les eaux urbaines en lien avec l'usage du territoire. Hydrologie. Ecole des Ponts ParisTech. Français (2009).
- [2] Wongsanit J., Teartisup P., Kerdsueb P., Tharnpoophasiam P. and Worakhunpiset S. Contamination of nitrate in groundwater and its potential human health: a case study of lower Mae Klong river basin, Thailand. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22(15), pp.11504-11512
- [3] Kouamé I., Konan S., Kouassi L., Brou D., Moussa S., Savané I., Dago G. Assessment of wells water quality and their suitability for drinking in M'bahiakro city (Côte d'Ivoire). *Inter. J. Conserv. Sci.* V. 3 (2012): 289-300.
- [4] Dibi B., Kouassi L., Kouamé I., Konan S., Soumahoro M., Konan B., Gnakri D. Evaluation de la vulnérabilité à la pollution des aquifères des formations altérites à partir des méthodes drastique et syntacs: cas de la ville de M'bahiakro, centre de la Côte d'Ivoire. *Inter. J. Innov. Appl. Stud.* (2013) ISSN 2028-9324 Vol. 2 No: 464-476.
- [5] Sadeq M., Moe L. C., Attarassi B., Cherkaoui I., ElAouad R. Drinking water nitrate and prevalence of methemoglobinemia among infants and children aged 1-7 years in Moroccan areas. *International journal of hygiene and environmental health* 211 (5-6), 546-554, 2008.
- [6] Weyer J. P., Cerhan R. J., Kross C. B., Hallberg R. G., Kantamneni J. Municipal drinking water nitrate level and cancer risk in older women: the lowa women's Health Study. *Epidemiology*, 327-338, 2001.
- [7] Wolfe H. A., Patz A. J. Reactive nitrogen and human health: acute and long-term implications. *A journal of the human environment* 31 (2), 120-125, 2002.
- [8] USEPA (2013). Basic information about nitrate in drinking water. <http://water.epa.gov/drink/contaminants/basicinformation/nitrate.cfm>.
- [9] IRIS (2012). Integrated Risk Information System, Nitrate (CASRN 14797-55-8) <http://www.epa.gov/iris/subst/0076.htm>.
- [10] Walton G. Survey of literature relating to infant methemoglobinemia due to nitrate-contaminated water. *American Journal of Public Health and the Nations Health* 41 (8\_Pt\_1), 986-996, 1951.
- [11] Bosch M. H., Rosenfield B. A., Huston R., Shipman R. H., Woodward L. F. Methemoglobinemia and Minnesota well supplies. *American Water Works Association* 42 (2), 161-170, 1950.
- [12] Bronson J. R. Integrated Risk Information System. Medical reference services quarterly 10 (2), 73-85, 1991.
- [13] Wu J., Sun Z. Evaluation of shallow groundwater contamination and associated human health risk in an alluvial plain impacted by agricultural and industrial activities, *Mid-west China. Expo. Health*, 8(3), (2016) 311–329.
- [14] Ketchemen-Tandia B., Boum-Nkot N. S., Ebondji S. R., Nlend B. Y., Emvoutou H., Nzegue O. Factors Influencing the Shallow Groundwater Quality in Four Districts with Different Characteristics in Urban Area (Douala, Cameroon). *Journal of Geoscience and Environment Protection*, (2017) 5, 99-120.
- [15] Anim-Gyampo M., Anornu KG, Appiah-Adjei KE, Agodzo KS. Quality and health risk assessment of shallow groundwater aquifers within the Atankwidi basin of Ghana. *Groundwater for Sustainable Development*, (2019) 9, 100217.
- [16] Căilean D., Teodosiu C., Volf I., Ciobanu. Occurrence and associated risk of nitrates/nitrites in the ground waters from the north-eastern part of Romania. In: Simeonov LI, Hassanien MA (eds) Exposure and risk assessment of chemical pollution – Contemporary methodology. *Springer the Netherlands*, 2009, pp 383–397.
- [17] Su X., Wang H., Zhang Y. Health risk assessment of nitrate contamination in groundwater: a case study of an agricultural area in Northeast China. *Water Resour Manag* 27 (2013) :3025–3034.

## Etats des lieux des sols pollués par l'exploitation artisanale et semi mécanisée de l'or à Nebiah

Rose Yamma<sup>1</sup>, Jocelyne B Sawadogo<sup>2</sup>, Martine Diallo/Kone<sup>1</sup>, Arsène H Yonli<sup>2</sup>, Adrien Wanko<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centre National de Recherche Scientifique et Technologique (CNRST)/Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies (IRSAT), 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso ;

<sup>2</sup>Université Joseph KI-ZERBO<sup>2</sup>, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso ;

<sup>3</sup>Université de Strasbourg<sup>3</sup>, 4 rue Blaise Pascal, CS 90032, F-67081 Strasbourg cedex, France

L'exploitation artisanale et semi-mécanisée de l'or connaît un regain ces dernières années au Burkina Faso avec son corollaire de pollution des sols et des eaux. En effet, en plus des impacts visibles, elle génère des rejets riches en éléments traces métalliques et des acides <sup>[1]</sup>. Cette pollution présente des conséquences environnementales importantes rendant ainsi ces terres inexploitable <sup>[2]</sup>.

Ce projet vise à faire un état des lieux des sites pollués par l'orpaillage à Nebiah. Deux sites ont été retenus : le site actif de l'exploitation artisanale semi mécanisée et un récent site abandonné de cyanuration. Des prélèvements de sols ont été effectués à différents point des sites et ont été soumis à des analyses de laboratoire.

Le site de cyanuration est plus pollué en cyanure libre avec des teneurs comprise entre 60 à 1390mg/kg largement supérieures à la norme nationale tolérée (0,5mg/kg). Le site actif est le moins pollué en cyanure libre (valeurs comprises entre 0,69 à 0,80mg/kg). Ces teneurs en mercure sont de (1 à 8mg/kg), en Arsenic (9 à 15mg/kg) et en plomb (15 à 34mg/kg) sont beaucoup plus important. Les résultats attestent une problématique environnementale qui nous interpelle à expérimenter des techniques de dépollutions en vue de récupérer les sols pollués <sup>[3]</sup>.

**Mots clés :** Pollution - Sol – Orpaillage

### Abstract

Artisanal and semi-mechanized gold mining has experienced a resurgence in recent years in Burkina Faso with its corollary of soil and water pollution. Indeed, in addition to the visible impacts, it generates emissions rich in metallic trace elements and acids <sup>[1]</sup>. This pollution has significant environmental consequences, making these lands unusable <sup>[2]</sup>.

This project aims to make an inventory of the sites polluted by gold mining in Nebiah. Two sites were selected: the active site of semi-mechanized artisanal mining and a recent abandoned cyanidation site. Soil samples were taken at various points on the sites and were subjected to laboratory analyzes.

The cyanidation site is more polluted with free cyanide with contents of between 60 to 1390 mg / kg far higher than the tolerated national standard (0.5 mg / kg). The active site is the least polluted with free cyanide (values between 0.69 to 0.80 mg / kg). These mercury contents are (1 to 8mg / kg), Arsenic (9 to 15mg / kg) and lead (15 to 34mg / kg) are much more important. The results attest to an environmental problem which calls on us to experiment with depollution techniques with a view to recovering polluted soils <sup>[3]</sup>.

**Keywords:** Pollution – Soil - Gold panning

### 1. Introduction

L'exploitation des ressources minérales est par essence non renouvelables et peut paraître contradictoire avec le concept de développement durable <sup>[4]</sup>. En effet, il est utopique de ne pas compromettre les besoins des générations futures en exploitant des ressources naturelles de façon irréversible. Depuis les années 1990, nous assistons à un développement important du secteur minier en Afrique de l'Ouest en général et particulièrement au Burkina Faso. Ainsi, le Burkina Faso a connu une explosion de sa production d'or dans les années 2000-2010. Après la forte croissance du prix de ce minerai, en cinq ans, le pays est devenu le quatrième exportateur d'or au niveau continental <sup>[1]</sup>. Cette explosion de la production s'est traduite par une multiplication des mines artisanales qui est un canal significatif contribuant à réduire la pauvreté et les inégalités de revenus dans les zones d'orpaillage et le milieu rural au Burkina Faso. C'est ainsi donc que l'orpaillage constitue une stratégie de subsistance voire une opportunité incontournable en milieu rural et, une occupation économique presque au même titre que l'agriculture et l'élevage <sup>[6]</sup>. Mais, la pratique de l'exploitation minière artisanale se fait de façon rudimentaire et parfois de manière informelle engendrant d'énormes préoccupations environnementales croissantes. Elle est source de la pollution des eaux, la dégradation de la biodiversité et des sols, et à des effets remarquables sur la santé publique. Le problème qui se pose est le non-respect des normes et réglementations en matière d'exploitation des sols arabes, d'utilisation des produits chimiques et la mauvaise gestion des résidus miniers produits par les exploitants artisanaux.

L'utilisation anarchique du cyanure et du mercure pour amalgamer et capter l'or qui se trouve dans les minerais a pris des proportions dangereuses engendrant une pollution chimique des sols. C'est ainsi que cette étude entend faire un état des lieux des sites pollués par l'orpaillage à Nebiah.

## 2. Matériel et Méthodes

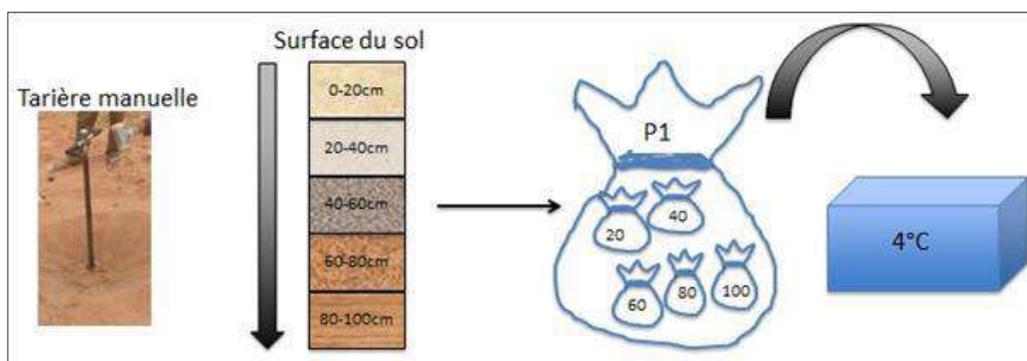
Le site de l'étude a été choisi après examen des informations obtenues à l'Agence National d'Encadrement de l'Exploitation Minière Artisanales et Semi-mécanisé (ANEEMAS) à travers son département technique qui s'occupe de la réhabilitation des sites artisanaux et semi mécanisés. Ainsi les sites du village de Nebiah situé à 6km du chef-lieu de la commune de Dassa ont été choisis pour les plus fortes d'affluences due à la nature du sol qui est sablonneux donc plus facile à creuser. Il s'agit d'un site d'exploitation artisanal et semi mécanisé de l'or sans autorisation. Deux zones ont été retenus pour cette étude : le site actif de l'exploitation artisanale semi mécanisée et un récent site abandonné de cyanuration.

Les échantillons d'eau et de sol ont été prélevés pour évaluer le niveau de pollution en mercure et en cyanure. Au total 10 échantillons de sols ont été prélevés sur le site semi-mécanisé et 5 échantillons sur le site de cyanuration en raison de 3échantillons par point de prélèvement. Les échantillons ont été prélevés sur les sites et dans ses alentours. Ils ont été prélevés à des points jugés très sensibles susceptibles de fournir au mieux des informations utiles sur la dispersion des polluants chimiques. Les prélèvements ont été faits d'amont en aval des sites et dans le sens d'écoulement des eaux de surface.

L'échantillonnage a été fait au jugé-aléatoire. C'est une technique qui combine l'échantillonnage au jugé basé sur l'examen visuel ou technique des points de prélèvement et l'échantillonnage aléatoire simple qui est fait de façon aléatoire simple. En effet sur la base des observations sur le site, les prélèvements ont été faits à des points jugés sensibles (zone de brûlage d'amalgame, bassin de cyanuration, cours d'eau...). Cette technique permet d'avoir en même temps la dispersion des polluants chimiques sur les sites mais aussi sur les endroits spécifiques jugés sensibles. Pour le sol, des échantillons de 1kg ont été prélevés à l'aide d'une tarière selon le type de sol, d'une pelle, d'une truelle et d'une pioche et mis dans des sachets plastiques polyéthylène puis conservés dans une glacière en dessous de 25°C.

Le prélèvement des échantillons de sols a été effectué par carottage à chaque horizon de 20 cm jusqu'à 1 m de profondeur à l'aide d'une tarière manuelle. La couche superficielle du sol a été choisie car c'est une zone qui entre en contact direct avec le cyanure. Le prélèvement a été effectué par carottage à l'aide d'une tarière manuelle. La tarière est graduée avec un pas de 10cm jusqu'à 100 cm et sa moitié est creuse. Elle est enfoncée dans le sol à l'aide d'une force manuelle exercée au niveau d'un marteau. Le sol entre dans la partie creuse durant le moment de tapage à l'aide du marteau. Au fur et à mesure que la tarière entre en profondeur, un mouvement de rotation est appliqué afin d'assurer qu'elle ne soit pas bloquée dans le sol. La profondeur maximale atteinte par la tarière est notée avant de la faire sortir. Cette profondeur définit le nombre d'échantillons disponibles à chaque point de prélèvement. En absence des obstacles, cinq (03) échantillons (horizon de 0-10cm ; 10-20cm, 20-30cm) ont été obtenus à chaque prélèvement. Les échantillons ont été emballés dans un sachet plastique portant le numéro du point de prélèvement. Ce sont des sachets plastiques de couleur noir qui ont été utilisés pour tous les échantillons afin d'éviter la photo dégradation du cyanure face aux rayons lumineux solaires<sup>[5]</sup> (RAZANAMAHANDRY, 2017).

Ces échantillons ont été conservés dans une glacière à 4°C pour maintenir ses propriétés physico-chimiques. La **figure 1** montre les étapes de collecte des échantillons du sol



**Figure 1** : Procédure d'échantillonnage de sol (Lovaso Christine)

Les échantillons de sols ont été séchés à température ambiante du laboratoire pendant 24h puis broyer mécaniquement et tamiser à l'aide d'un tamis de 2mm de diamètre. 5g de chaque échantillon a ensuite été prélevé et introduit dans un tube à centrifuger contenant puis homogénéiser au mixer pendant 30mn. Les tubes ont ensuite été centrifugé et le surnageant a été recueilli pour analyse

La méthode d'analyse du cyanure est la pyridine-pyrazalone. Le dosage a été effectué par spectrophotométrie avec la DR3900 en utilisant les réactifs cyaniver 3,4 et 5. Le principe de cette méthode est qu'en présence de cyanure, on observe une coloration rose qui est détectable par spectrophotométrie d'absorption moléculaire. Le mercure a été analysé par la méthode de ICP

### 3. Résultats et discussion

La figure 2 présente les résultats en cyanure libre du site de cyanuration. Le site de cyanuration est plus pollué en cyanure libre avec des teneurs comprise entre 60 à 1390mg/kg largement supérieures à la norme nationale tolérée (0,5mg/kg). Ces teneurs en mercure sont de (1 à 8mg/kg), en Arsenic (9 à 15mg/kg) et en plomb (15 à 34mg/kg) sont beaucoup plus important. Ceci trouve une explication dans la procédure du traitement de l'or qui passe d'abord par la cyanuration et ensuite par l'amalgame au mercure afin de récupérer tout l'or<sup>[6]</sup> (ROAMBA, 2014).

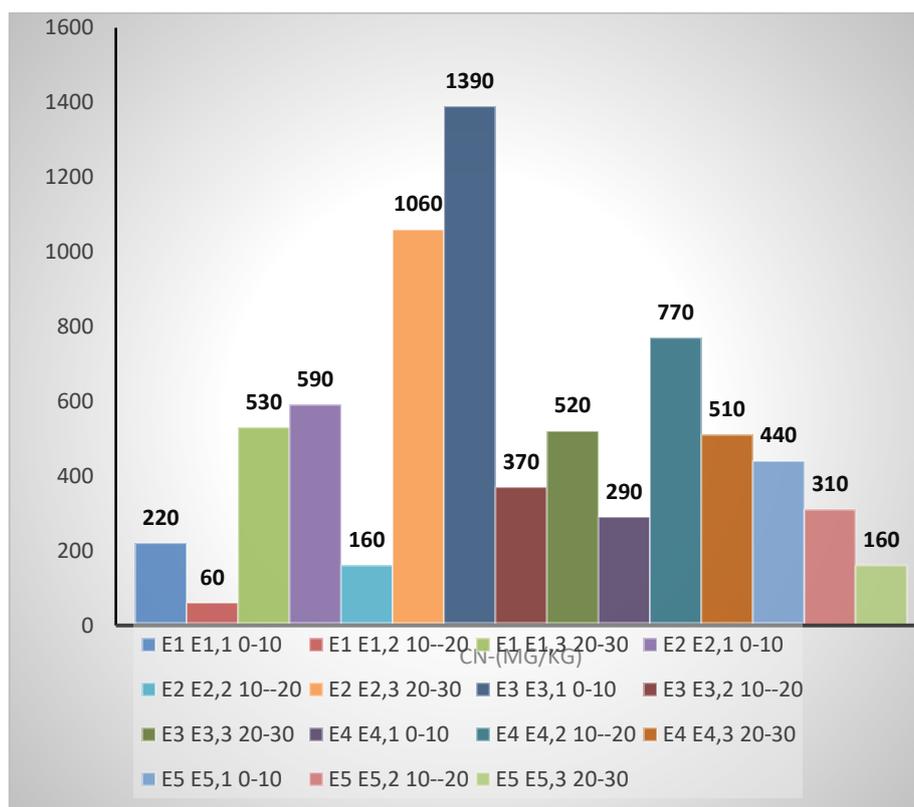


Figure 2 : Teneur en Cyanure libre du site de cyanuration

Par ailleurs, le site d'exploitation semi-mécanisé est beaucoup moins pollué que celui de cyanuration avec des valeurs de cyanure comprises entre 0,04 et 0,80 mg/kg. Le site actif est le moins pollué en cyanure libre (valeur comprise entre 0,69 à 0,80mg/kg). La teneur en métaux lourds est respectivement comprise entre 6 et 15 mg/ kg pour l'arsenic ; entre 1,11 et 8 mg/kg pour le mercure. Le sol est beaucoup plus concentré en plomb avec des valeurs comprises entre 15 et 48mg/ kg par contre il ne contient pas de cadmium comme l'atteste la figure 3 ci-dessous.

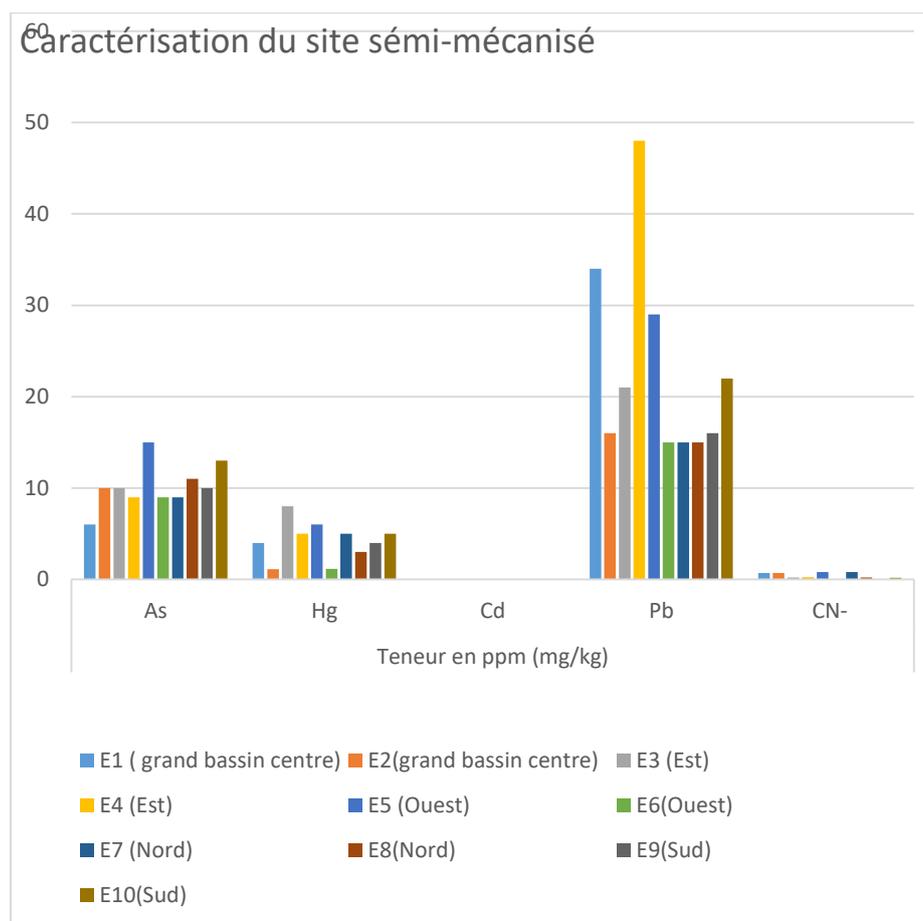


Figure 3 : Teneur en métaux lourds et en arsenic du site semi-mécanisé

#### 4. Conclusion

Cette étude a permis de confirmer la pollution des sols dû à l'orpaillage. En effet, malgré l'interdiction de l'utilisation des produits chimiques, le mercure et le cyanure sont toujours très utilisés dans le processus. Le manque d'une réglementation spécifique et d'institutions fiables de gestion des produits chimiques favorisent l'entrée et la commercialisation de ces produits sur le marché burkinabé. Les résultats attestent une problématique environnementale qui nous interpelle à expérimenter des techniques de dépollutions en vue de récupérer ces sols pollués. Ainsi, la phytoremédiation qui est une technologie verte relevant de l'ingénierie écologique, peu onéreuse et ayant déjà fait ces preuves dans d'autres contrées est une alternative pour assurer la dépollution et la récupération de ces sites qui seront de nouveaux exploitables à d'autres fins pour un développement durable.

#### 5. Bibliographie

- [1] Bohbot, Joseph. 2018. "L'orpaillage Au Burkina Faso : Une Aubaine Économique Pour Les Populations, Aux Conséquences Sociales et Environnementales Mal Maîtrisées." *EchoGéo*, no. 42: 0–19. doi:10.4000/echogeo.15150.
- [2] Maradan, David, Boukary Ouédraogo, Noel Thiombiano, Taladidia Thiombiano, and Karim Zein. 2011. "Analyse Économique Du Secteur des Mines - Liens Pauvreté et Environnement," 1–69.
- [3] Origo, Nadia, Stanislas Wicherek, and Micheline Hotyat. 2012. "Réhabilitation Des Sites Pollués Par Phytoremédiation." *Vertigo - La Revue Électronique En Sciences de l'environnement* 12.
- [4] RAZANAMAHANDRY, L. C. (2017). Pollution environnementale par le cyanure et potentialités de la biorémédiation dans des zones d'extraction aurifère en Afrique Subsaharienne: Cas du Burkina Faso.
- [5] ROAMBA, J. (2014). Risques environnementaux et sanitaires sur les sites d'orpaillage au Burkina Faso : Cycle de vie des principaux polluants et perceptions des orpailleurs (cas du site Zougnazagmligne dans la commune rurale de Bouroum, Région du Centre-Nord). In *Katalog BPS*. [http://www.americanbanker.com/issues/179\\_124/which-city-is-the-next-big-fintech-hub-new-york-stakes-its-claim-1068345-1.html](http://www.americanbanker.com/issues/179_124/which-city-is-the-next-big-fintech-hub-new-york-stakes-its-claim-1068345-1.html) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15003161> <http://cid.oxfordjournals.org/lookup/doi/10.1093/cid/cir991> <http://www.scielo>

## Caractérisation et quantification des ordures ménagères de la ville de Sokodé (Togo)

Xossou Dansou, Tomgouani Kao, Gnon Baba

*Laboratoire d'Assainissement Sciences de l'Eau et Environnement  
Département de Chimie, Université de Kara, B.P 404 Kara (Togo)*

**Résumé :** La gestion des Ordures Ménagères (OM) est le principal défi à relever par les Pays en Développement (PED). Cette gestion nécessite la connaissance de la composition et des quantités d'OM générées. Cette étude a pour but de réactualiser les données quantitatives et qualitatives sur la génération des OM de la ville de Sokodé. A cet effet, huit campagnes de quantification et deux campagnes de caractérisations physiques ont été réalisées. Les ménages retenus ont été choisis de façon aléatoire dans différents quartiers de la ville, leur nombre étant défini sur la base de densité de la population de sorte à couvrir au moins le centième de cette population. Le tri des déchets est fait suivant la MODECOM (1993) modifiée. Les résultats révèlent un ratio journalier moyen de 0,44 kg.hab<sup>-1</sup>. Mais ce ratio varie selon les quartiers. La détermination des paramètres physico-chimiques a montré que les OM de Sokodé sont lourdes avec une masse volumique élevée (0,34 t/m<sup>3</sup>) à cause de la forte proportion des fines. L'humidité élevée des OM de cette ville est de (26,7 %).

**Mots clés :** Déchets, ménages, ratio journalier, habitant

## Characterization and quantification of household waste in the city of Sokodé (Togo)

**Abstract :** The management of household waste (HW) is the main challenge to be taken up by developing countries. This management requires knowledge of the composition and quantities of HW generated. The purpose of this study is to update quantitative and qualitative data on the generation of HW in the city of Sokode. To this end, eight quantification campaigns and two physical characterization campaigns were carried out. The selected households were randomly selected from different parts of the city, their number being defined on the basis of population density so as to cover at least one hundredth of this population. Waste sorting is done according to the modified MODECOM (1993). The results reveal an average daily ratio of 0.44 kg.hab<sup>-1</sup>. But this ratio varies from neighbourhood to neighbourhood. The determination of physico-chemical parameters showed that sokode HW are heavy with a high density (0.34 t/m<sup>3</sup>) because of the high proportion of fines. The high humidity of the HW of this city is (26.7%).

**Keywords :** Waste, households, daily ratio, inhabitant

### Introduction

La production des déchets dans les Pays En Développement (PED) est en constante évolution. Cette évolution n'est pas accompagnée d'une gestion durable. Les conséquences sont l'existence des dépotoirs sauvages, les pollutions environnementales et la menace de la santé publique. A ce titre, les déchets solides sont considérés parmi les dangereux problèmes environnementaux car elles contribuent significativement à polluer les éléments de l'environnement (air, eau et sol). Le Togo l'un des PED se trouve confronté à ce problème ainsi que sa troisième ville (Sokodé), après Lomé et Kara. Situé entre 8°57' et 9°03' de Latitude Nord et 1°05' et 1°11' de Longitude Est à 346 Km au Nord de Lomé, Sokodé est demeuré depuis longtemps, la capitale régionale de la zone septentrionale et surtout le deuxième centre de peuplement du pays. Bien que la gestion des déchets soit aujourd'hui un point central de la politique urbaine qui souhaite mettre l'accent sur la diminution des ordures, leur traitement et leur valorisation, celle-ci est loin d'être performante surtout en saison pluvieuse (Koledzi et al., 2011). La valorisation des déchets ménagers constitue à l'heure actuelle la préoccupation majeure et s'impose directement pour la maîtrise des coûts de gestion et la préservation de l'environnement (Maguiri et al., 2004).

Dans les années antérieures, des études menées dans le cadre de la gestion des déchets dans la ville de Sokodé par (Krou et al., 2019) ne reflètent plus à la réalité car non seulement ce travail a été centralisé sur deux grands quartiers Kpangalam et Tchawanda, mais aussi de l'augmentation de la population. Avec une croissance rapide de la population entraînant une augmentation significative de la quantité de déchets, les structures mises en place par les municipalités peinent à assurer la gestion de ces déchets (Kondoh et al., 2019).

Ainsi, cette étude menée à l'appui du projet PEAT-2 a porté sur la caractérisation et la quantification des ordures ménagères de la ville de Sokodé en vue de déterminer les ratios par ménage et par habitant.

L'objectif global assigné à cette étude était de rendre disponible les données quantitatives et qualitatives sur la génération des OM de cette ville afin d'améliorer la gestion des déchets solides.

### MATERIEL ET METHODES

#### Méthodologie d'échantillonnage

Pendant chaque campagne, les déchets des ménages retenus au terme de l'enquête ont été recueillis suivant des modalités et un plan d'action précis. C'est la méthode de récupération en amont au niveau des ménages qui a été utilisée pendant les deux campagnes (Ngnikam et al., 2017)

➤ **Matériel de disposition des déchets solides ménagers**

Les ménages choisis pour l'échantillonnage ont reçu chacun huit sachets poubelles et devaient disposer leurs déchets solides ménagers sauf hétéroclites dans des poubelles adéquates que nous leur avons fournies à cet effet. Chaque poubelle et l'habitation correspondante ont été correctement encodées (en rouge dans les secteurs S<sub>1</sub> et S<sub>4</sub>, vert dans S<sub>2</sub>, noire dans S<sub>3</sub>), de façon à en assurer la traçabilité et faciliter l'exploitation des données recueillies.

➤ **Durée**

La durée de remplissage des poubelles dans les ménages était de trois jours consécutifs. Les poubelles étaient distribuées dans ces ménages la veille et les consignes concernant le remplissage sont données. Les ménages devaient donc disposer dans ces poubelles tous les déchets produits pendant trois jours et le quatrième jour, tôt le matin, ces poubelles étaient récupérées et acheminées vers la décharge intermédiaire de DIDAOURE, où elles étaient directement quantifiées et caractérisées. Cette opération a été faite deux fois afin de couvrir six jours différents de la semaine (Tableau 1). Le dépôt, le remplissage et le jour de ramassage se font dans les 4 secteurs et les 33 quartiers de la ville le même jour. Cette opération a duré 4 semaines. Huit (8) campagnes de quantification et deux (2) campagnes de caractérisation sont réalisés.

**Tableau 1 : Plan de collecte des déchets**

Semaines	DEPÔT	REPLISSAGE	RAMASSAGE
	V	S, D, L	Ma
Ma	Me, J, V	S	

V= vendredi, S= samedi, D= dimanche, L= lundi, Ma= mardi, Me= mercredi, J= jeudi

➤ **Matériel de transport des déchets solides ménagers**

Toutes les poubelles récupérées le quatrième jour par les agents de collecte, étaient acheminées au moyen d'un tricycle (Figure 1) vers la décharge intermédiaire de DIDAOURE en vue de leur caractérisation. Les agents de terrain chargés au sein des quartiers ont procédé au même moment au dépôt des poubelles dans les ménages. Les acteurs ont été équipés des Equipements de Protection Individuelle (EPI).

➤ **Caractérisation et quantification**

Tous les déchets solides provenant des ménages choisis ont été pesés. Pour les pesées, 2 balances à crochet de 100 kg ± 0,5 chacune ont été utilisés. Les potences d'accrochages de ces balances sont solides toute la durée des travaux. Chaque sachet poubelle pris dans un ménage devrait être entièrement pesé (Figure 2). Les bacs de capacité 50 L et 100 L ont été utilisés.



Figure 1 : Moyen de transport des déchets solides



Figure 2 : Système de pesée

➤ **Opérations de séparation par taille**

Elle est effectuée à l'aide d'une table de tri de 2 m de long sur 1m de large respectant des diamètres de maille 100 mm et 20 mm permettant de distinguer plusieurs types de matériaux après avoir trié les hétéroclites (Figure 3) : - gros : > 100 mm ; - moyen : 20 < x < 100 mm ; - fins : < 20 mm, qui sont ensuite séparés en deux sous catégories : fins : 10 < X < 20 mm et extra fins : < 10 mm (Aina et al., 2006 ; MODECOM, 1993 ; (Koledzi et al., 2011).



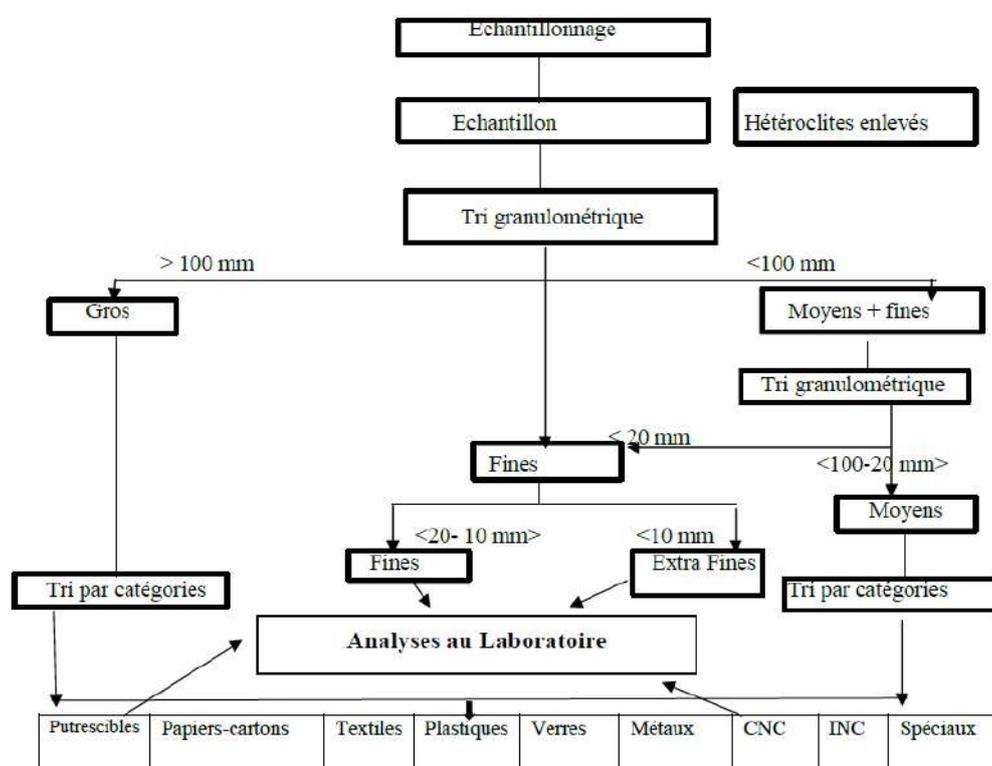
Figure 3 Séparation par taille

➤ **Opérations de séparation par catégorie**

Selon les pays et les objectifs poursuivis, plusieurs types de composants (catégories) de déchets sont identifiés : la norme XP X30 – 408 d'octobre 1996 (AFNOR, 1996) recommande 13 catégories. Mais dans cette étude seulement 9 catégories, putrescibles, papiers-cartons, textiles-textiles sanitaires, plastiques, CNC (Combustibles Non Classés), verres, métaux, INC (Incombustibles Non Classés) et déchets spéciaux, ont été identifiées.

Le tri a été effectué manuellement sur le contenu brut de déchets sortant directement dans les ménages. 125 kg de déchets constitués au hasard dans chacun des quatre secteurs ont été mélangés pour avoir un échantillon représentatif de 500 kg pour le tri après quartage. Les déchets sont répartis en 9 catégories (Figure 4). Chaque catégorie a été pesé dans un premier temps pour les fractions grossières ; dans un deuxième temps pour les fractions moyennes ; et dans un dernier temps les fines et extrafin

Figure 4 : Schéma descriptif et synthétique du protocole de caractérisation des déchets



**Ratio par habitant et par ménage**

La masse de production journalière par habitant et par ménage (ratio) et celle extrapolée pour toute la ville en 30 jours que couvre les 8 campagnes de quantification sont respectivement déterminées à partir des équations suivantes :  
 Ratio par habitant ( $\text{kg.hab}^{-1}.\text{j}^{-1}$ )      Ratio par ménage  $\text{kg.ménage}^{-1}.\text{j}^{-1}$

$R = \frac{M}{N * nj}$        $R' = R * E_{fm}$

R = ratio par habitant par jour      R' = ratio par ménage par jour

- M : masse totale de déchets durant la campagne
- N : nombre d'habitant dans le ménage
- nj : nombre de jour des poubelles dans le ménage
- $E_{fm}$  : effectifs moyen dans le ménage

**Analyses des paramètres physico-chimiques**

➤ **Masse volumique**

Elle a été mesurée au fur et à mesure du tri en remplissant sans tassement des seaux de 20 litres de volume et en pesant ces seaux chargés de déchets (Koledzi, 2011). Dix mesures ont été réalisées pour l'ensemble des déchets bruits issus des ménages. Cette grandeur est calculée par l'équation 5.

**Equation 5 :  $\rho = m/v$  (kg/L ou T/m<sup>3</sup>)**

m = masse de l'échantillon en kg ou en T ;

V = volume du seau en L ou en m<sup>3</sup>.➤ **Humidité**

L'humidité (H %) est déterminée dès la réception des déchets afin de limiter les pertes par évaporation. L'humidité est déterminée par séchage à  $105 \pm 2$  °C (Aloueimine et al., 2006a); Koledzi, 2011) dans une étuve jusqu'à stabilisation du poids d'un échantillon reconstitué sur les déchets triés pendant 24 h. La masse de déchets à sécher varie de quelques dizaines à quelques centaines de grammes (Aloueimine et al., 2006a)

Les combustibles et les spéciaux dont la contribution à la teneur en eau des déchets a été estimée négligeable n'a pas été réalisé. Le taux d'humidité est exprimé en % de la masse humide des déchets et est calculé d'abord par catégorie typologique, ensuite par taille, puis pour le déchet reconstitué (Ségbéaya et al., 2018).

**RESULTATS ET DISCUSSION**➤ **Echantillonnage et quantification**

Il était nécessaire de constituer un échantillon représentatif de la zone et duquel, les données obtenues pourraient être facilement extrapolées à la population globale, tout en minimisant les erreurs de 2.5 %. Ainsi, sur base du principe d'échantillonnage de Nordtest (Aloueimine et al., 2006b). Il revenait donc, pour atteindre un niveau de confiance de 97,5 %, à échantillonner 336 ménages sur toute l'étendue de la ville de Sokodé. Un certain nombre de ménage a été retenu dans chaque quartier en fonction de sa densité. Le nombre de personne dans un ménage a aussi été un facteur déterminant. Le Tableau 2 donne plus de précision.

**Tableau 2 : Répartition du nombre de ménage et du nombre d'habitant par quartier**

Secteur	Quartier	Echantillon Hab.	Ménages	Secteur	Quartier	Echantillon Hab.	Ménage
S1	Boloibo	115	10	S3	Komah I	181	18
	Nima	103	9		Komah II	151	18
	Kpangalam Chateau	86	8		Komah III	92	11
	Ataworo	121	15		Bourè koufouloumdè	216	22
	Macca	64	6		Gendamérie	30	4
	Kedia	163	13		Assomption	45	7
	Kpangalam Centre	162	19		<b>TOTAL</b>	<b>715</b>	<b>80</b>
	<b>TOTAL</b>	<b>814</b>	<b>80</b>		Kouloumdè	530	43
	Kwawuwo	116	7		Kpalokpalo	44	6
	Zongo	41	5		Tchavadi II	55	4
S2	Kpangalam Zaïre	98	8	S4	Alhamdou	70	6
	Kossobio	67	6		Kpondjodjo	25	3
	Lom-nava	28	4		Avadidè	93	4
	Bamabodolo	54	8		Salimdè	195	13
	Kagnididè	74	5		Nada	28	3
	Tchawanda	193	22		Bariki	12	2
	Barrière	64	8		Didaoure	69	6
	Akamandè	140	13		<b>TOTAL</b>	<b>1121</b>	<b>90</b>
	<b>TOTAL</b>	<b>875</b>	<b>86</b>				

➤ **Estimation du ratio de production des déchets dans la ville de Sokodé**

Les résultats des campagnes de quantification des OM ont permis d'avoir des ratios du tableau 3

**Tableau 3 : Moyenne des ratios de production dans chaque secteur**

Secteur	Ratio (kg.bab <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> )			Ratio moyen (kg.ménage <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> )
	Min	Max	Moyenne	
S1	0,31	0,47	0,39	3,85
S2	0,30	0,62	0,46	4,37
S3	0,35	0,50	0,43	3,56
S4	0,31	0,64	0,48	4,76

Globalement, la valeur moyenne la plus élevée ( $0,48 \text{ kg.hab}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ) est obtenue dans le secteur 4 (Tableau 2) et la plus faible ( $0,39 \text{ kg.hab}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ) dans le secteur 1. Soit une moyenne de  $0,44 \text{ kg.hab}^{-1}.\text{j}^{-1}$  dans la ville de Sokodé, une valeur élevée au vue du niveau de vie de la population. En ce qui concerne les ménage, on a globalement, la moyenne la plus élevée  $4,76 \text{ kg.ménage}^{-1}.\text{j}^{-1}$  est obtenue dans le secteur 4 et la plus faible dans le secteur 3. Soit une moyenne de  $4,16 \text{ kg.ménage}^{-1}.\text{j}^{-1}$ . Ces ratios élevés montrent que Sokodé est une ville à forte production de quantité d'OM. Les variations de production observées dans les secteurs pourraient être liées au niveau de vie (haut, moyen et bas standing tout confondue) qui n'est pas homogène sur toute l'étendue des secteurs qui ont fait l'objet de notre étude. Il s'en suit une certaine nécessité de matériels et d'acteurs pour le transport et le traitement de ces déchets. En se basant sur une étude comparée des ratios des villes des PED, le tableau 4 montre que le ratio journalier par habitant de Sokodé, se situe dans la gamme des ratios des villes des pays en développement ( $0,21\text{-}0,89 \text{ kg.hab}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ).

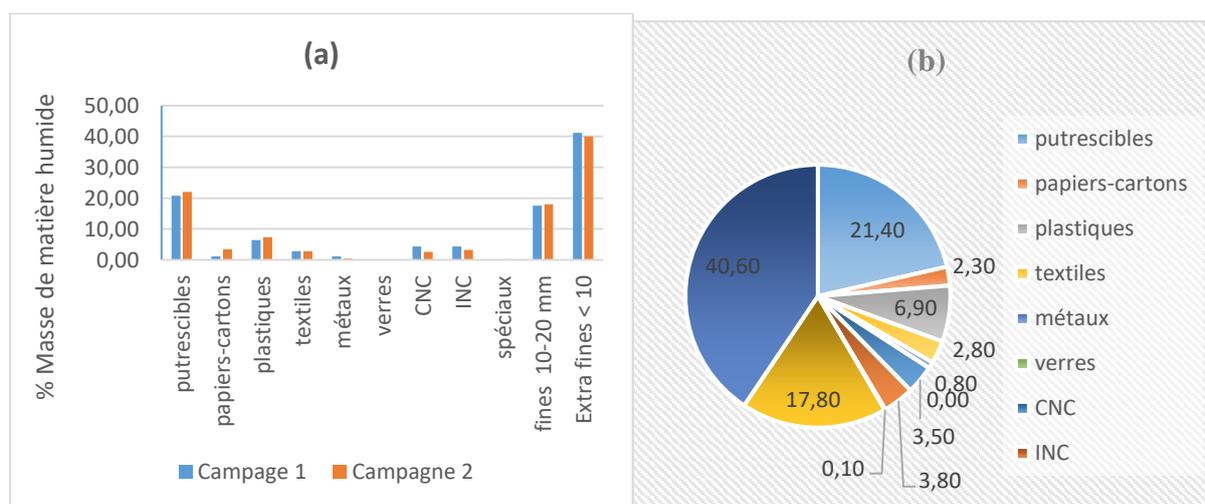
**Tableau 16** : Comparaison des ratios de production des OM de Sokodé (Togo) avec ceux d'autres villes de différents PED

Ville	Pays	Ratio ( $\text{kg.hab}^{-1}.\text{j}^{-1}$ )	Références
Kara	Togo	0,41	Bonah, 2018
Sokodé	Togo	<b>0,44</b>	<b>Présente étude</b>
Lomé	Togo	0,80	Kpabou, 2017
Nouakchott	Mauritanie	0,21	Aloueimine, 2006
Bujumbura	Burundi	0,31	Setemu, 2005
Yaoundé	Cameroun	0,60	Ngnikam, 2017
Abomey-Calavi	Bénin	0,89	Topanou, 2012

Outre l'aspect quantitatif, la connaissance des caractéristiques des OM en termes de composition est essentielle pour la mise en valeur des déchets valorisables.

### Composition Granulométrique des déchets ménagers de la Ville de Sokodé

Une comparaison de la composition des deux campagnes est réalisée en vue de mettre en exergue les différences dans la composition moyenne des catégories pendant les deux campagnes. Les valeurs sont consignées dans le Figure 5



**Figure 550** : Composition globale et composition moyenne globale des OM

Les pourcentages des extrafines sont en moyenne  $40,6 \pm 0,85$  % pour les campagnes 1 et 2. Les putrescibles sont  $21,4 \pm 0,85$  %. Les fines sont suivies  $17,8 \pm 0,28$  %. Les plastiques sont non négligeables  $7,05 \pm 0,92$  %. Les autres catégories (les INC, les CNC, les textiles, les papiers-cartons, les métaux et les spéciaux) sont suivies dans cet ordre avec des proportions respectives en moyenne de  $3,80$  % ;  $3,20$  % ;  $2,80$  % ;  $2,30$  % ;  $0,80$  % ;  $0,10$  %.

Le pourcentage non négligeable  $6,7 \pm 0,92$  % en moyenne des plastiques dans le déchet serait lié à l'existence d'une forme de récupération et de réutilisation de certains objets notamment les bouteilles et les bidons en plastique dans les ménages. Les sachets plastiques sont quant à eux souvent utilisés comme combustibles pour activer la combustion du charbon de bois utilisé pour la cuisson. Une autre alternative est l'abandon de cette catégorie dans les marchés et boutiques surtout que cette population est majoritairement commerçante.

Les déchets spéciaux sont moins représentés, ce qui permet d'émettre l'hypothèse d'une faible utilisation ou d'une conservation des produits à caractère dangereux par les ménages considérés dans cette étude.

Le taux de la matière humide (fermentescibles, papiers et cartons) qui est en moyenne de 23,70 % est inférieur à celui des fines (fines et extra-fines) qui est de 58,40 % en moyenne. Cette forte proportion des fractions de petite taille est en partie due à la gestion et au mode de ramassage de déchets à la source. En effet, dans la plupart des ménages où les espaces libres ne sont pas cimentés, les restes de nourriture, les épluchures, les emballages, les sachets plastiques sont en général jetés par terre et se chargent alors d'une part importante de sables et de graviers fins.

### Caractérisation physique

#### ➤ Masse volumique

La masse volumique globale varie entre 0,27 et 0,43 t/m<sup>3</sup> en campagne 1 soit une moyenne de 0,35 t/m<sup>3</sup> puis entre 0,26 et 0,38 t/m<sup>3</sup> en campagne 2 soit 0,32 t/m<sup>3</sup>. La moyenne de la masse volumique au cours de la période de cette étude est environ 0,34 t/m<sup>3</sup>. Ces masses volumiques sont dans la fourchette des valeurs des villes des PED pour les déchets entrants : 0,25 - 0,60 t/m<sup>3</sup> (Aina, 2006). Elles sont élevées en raison de la forte proportion des extrafines. Une réduction des fins à la source rendrait les déchets de Sokodé moins lourds à transporter.

#### ➤ Humidité

Le résultat du taux d'humidité est consigné sur la figure 6.

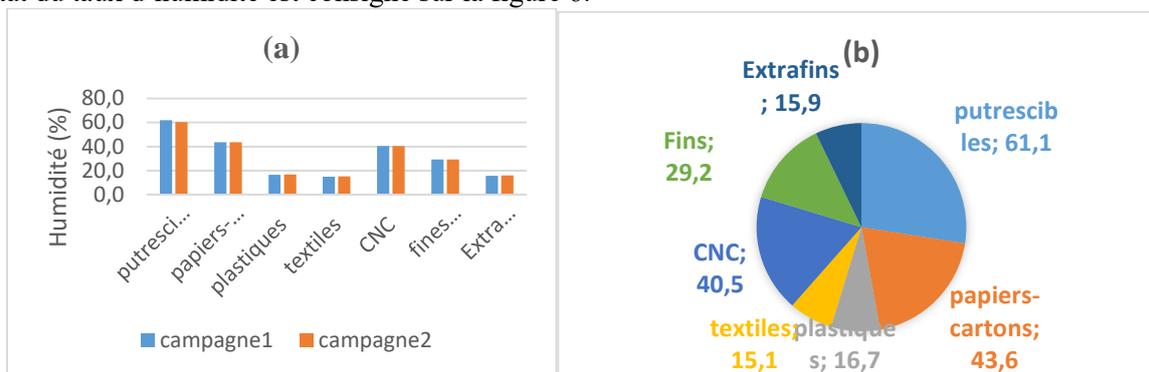


Figure 6 : Humidité globale des différentes catégories

Les catégories les plus humides sont les putrescibles  $61,1 \pm 1,6$  % et les papiers-cartons  $43,6 \pm 0,1$  % suivie des CNC 40,5 %. Malgré la forte proportion des fins et extrafines, leur taux d'humidité n'a pas beaucoup influencé sur le taux d'humidité des déchets de la ville de Sokodé. Cela explique le faible taux d'humidité globale des OM de la ville de Sokodé qui est de  $28,7 \pm 0,57$  %. L'humidité globale est incluse dans la fourchette des valeurs des PED : 11-80 % (Aloueimine, 2006) Ce résultat est possiblement dû au climat aux vents secs de la région centrale et à la forte proportion massique des fins, fractions les moins humides.

#### Conclusion

Les deux campagnes ont permis la quantification journalière par ménage et par habitant. Les données ainsi obtenues représentent la base même de toute politique de gestion durable des OM. Mais il faut noter que dans une ville d'un PED similaire à celui de Sokodé où tous standings confondus (Haut, Moyen et Bas standing), la caractérisation des OM doit être abordée sous plusieurs considérations. Une réduction des fins à la source rendrait les déchets de Sokodé moins lourds à transporter conformément à leur masse volumique.

Ces résultats ne sont que le reflet de la période de la présente étude. Idéalement on peut le faire sur un an en continu. De même l'amélioration de l'état de sachets poubelles faciliterait la tâche aux collecteurs.

#### Bibliographie

- Aina, M. P. (2006). Expertises des centres d'enfouissement des déchets urbains dans les PED : Contributions à l'élaboration d'un guide méthodologique et à sa validation expérimentale sur sites [PhD Thesis]. Limoges.
- Aloueimine, S. (2006). Méthodologie de caractérisation des déchets ménagers à Nouakchott (Mauritanie) : Contribution à la gestion des déchets et outils d'aide à la décision [PhD Thesis]. Limoges.
- Aloueimine, S., Matejka, G., Zurbrugg, C., & Mohamed, M. S. (2006a). Caractérisation des ordures ménagères à Nouakchott. Déchets sciences et techniques, 44, 4-8.
- Aloueimine, S., Matejka, G., Zurbrugg, C., & Mohamed, M. S. (2006b). Caractérisation des ordures ménagères à Nouakchott. Déchets sciences et techniques, 44, 4-8.
- El Maguiri, A., Fawaz, N., Abouri, M., Idrissi, L., Taleb, A., Souabi, S., & Vincent, R. (2004). Caractérisation physique et valorisation des déchets ménagers produits par la ville de Mohammedia, Maroc. Population, 1, 61.
- Koledzi, K. E. (2011). Valorisation des déchets solides urbains dans les quartiers de Lomé (Togo) : Approche méthodologique pour une production durable de compost [PhD Thesis]. Limoges.

- Koledzi, K. E., Baba, G., Feuillade, G., & Guy, M. (2011). Caractérisation physique des déchets solides urbains à Lomé au Togo, dans la perspective du compostage décentralisé dans les quartiers. *Déchets Sciences et Techniques*, 59, 14-22.
- Kondoh, E., Bodjona, M. B., Aziable, E., Tchegueni, S., Kili, K. A., & Tchangbedji, G. (2019). Etat des lieux de la gestion des déchets dans le Grand Lomé. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13(4), 2200-2209.
- Krou, N. M., Baba, G., Martín-Pascual, J., & Toro, M. Z. (2019). Stabilization by co-composting dry drain sludge with fermentescible fractions of household garbage from the city of Sokodé (Togo). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13(7), 3234-3246.
- Ngnikam, E., Naquin, P., Oumbe, R., & Djietcheu, K. B. (2017). Evolution des caractéristiques des déchets solides ménagers dans la ville de Yaoundé au Cameroun (1995-2015). *Déchets Sciences et Techniques*, 74, 1-16.
- Ségbéaya, K. N., Akpaki, O., Kolédzi, K. E., & Baba, G. (2018). Comment le mode de gestion des déchets solides municipaux peut impacter négativement la qualité des eaux de surface Cas de la rivière Kara. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 45, 10-24.
- Topanou, A. (2012). Gestion des déchets solides ménagers dans la ville d'Abomey-Calavi (Bénin) : Caractérisation et essais de valorisation par compostage [PhD Thesis]. Aix-Marseille.

## La détermination des éléments traces métalliques par la voltamétrie à redissolution anodique

Mijitaba Sahirou B\*, Laouali M. S., Ayouba Mahamane A, Souley Kallo M

Laboratoire Matériaux-Eaux-Environnement, Faculté des Sciences et Techniques,  
Université Abdou Moumouni de Niamey (UAM),  
Bp 10662 Niamey-Niger

### Résumé

La contamination de l'environnement par les métaux toxiques est actuellement un problème majeur. Il en résulte une demande croissante en moyens d'analyse de polluants métalliques présents dans l'environnement à des niveaux de traces. Les techniques analytiques disponibles sont des méthodes onéreuses. Ces dernières années la détermination des métaux lourds par voie électrochimique a connu un essor important et permet d'accéder à des niveaux de sensibilité comparables à ceux atteints par les techniques spectroscopiques [1-2]. Ce travail étudie le dosage individuel et simultané du cuivre, plomb et zinc dans l'eau par la voltamétrie à redissolution anodique utilisant des électrodes à films minces de bismuth. Ces dernières sont préparées par l'électrodéposition simultanée du bismuth et des éléments métalliques à la surface de l'électrode de travail en carbone vitreux à partir des cations de ces métaux [3-4]. Les paramètres du travail ont été optimisés. Les limites de détection de 0,48 ; 0,25 et 0,75  $\mu\text{g.L}^{-1}$  ont été calculées respectivement pour le cuivre, le plomb et le zinc. Une bonne linéarité est observée dans la gamme de 0-20  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Finalement la méthode a été appliquée avec succès dans des échantillons réels de l'eau des robinets.

**Mots clés** : éléments traces métalliques, voltamétrie, film de bismuth, eau du robinet

## Determination of metallic trace elements by anodic stripping voltammetry

### Abstract

Contamination of the environment with toxic metals is a major problem today. The result is an increasing demand for the means to analyze metallic pollutants present in the environment at trace levels. The analytical techniques available are expensive methods. In recent years, the determination of heavy metals by electrochemical means has grown significantly and provides access to levels of sensitivity comparable to those achieved by spectroscopic techniques [1-2]. This work studies the individual and simultaneous determination of copper, lead and zinc in tap water by anodic redissolution voltammetry using bismuth thin film electrodes. These are prepared by the simultaneous electrodeposition of bismuth and metallic elements on the surface of the glassy carbon working electrode from the cations of these metals present and / or added to the reaction medium [3-4]. working parameters have been optimized. The detection limits of 0.48; 0.25 and 0.75  $\mu\text{g.L}^{-1}$  were calculated for copper, lead and zinc, respectively. Good linearity is also observed in the range of 0-20  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Eventually the method was successfully applied in real tap water samples.

**Key words**: metallic trace elements, voltammetry, dosage, tap water

### 1. Introduction

La contamination de l'environnement par les métaux toxiques est actuellement un problème majeur. Il en résulte alors une demande croissante en moyens d'analyse de polluants métalliques, présents dans l'environnement à des niveaux de traces et d'ultra-traces [1]. Mais, les techniques analytiques traditionnelles disponibles actuellement pour le contrôle des éléments traces métalliques (ETMs) telles que la **chromatographie** (la chromatographie en phase gazeuse, couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), la chromatographie liquide haute performance (HPLC), couplée à la **spectrométrie** de masse (HPLC-MS), la spectrométrie d'absorption atomique (SAA) ou encore la spectrométrie à plasma inductif (ICP-MS) et la **fluorescence X** sont des méthodes onéreuses et demandent un prétraitement laborieux [5](March *et al.*, 2015).

Ces dernières années, la détermination des ETMs par la voie électrochimique a connu un essor important et permet d'accéder à des niveaux de sensibilités comparables à ceux atteints par les méthodes spectroscopiques. Cette détermination s'effectue à l'aide des capteurs électrochimiques qui sont des dispositifs transformant le signal chimique en un signal électrique facilement exploitable. Ils sont en général constitués d'une couche sensible, et d'un système transformant en signal électrique les modifications physico-chimiques induites dans la couche sensible. Les couches sensibles impliquent les électrodes de travail pouvant être solides ou liquides, modifiées ou non. C'est le cas des électrodes à goutte de mercure et des électrodes à base des substrats solides modifiées ou non. Certaines électrodes solides sont modifiées à leur surfaces à l'aide des nanostructures ou nanoparticules comme les nanotubes de carbone, les nanoparticules d'or ou autre matériaux innovants tels que le diamant dopé au bore [6]. D'autres voies permettant de donner plus de fonctionnalité à l'électrode de travail sont celles d'utiliser les polymères conducteurs. C'est le cas de polypyrrole, polythiophène, polyaniline et le polynaphtalène [5]. D'autres électrodes solides sont modifiées à leur surface par un film métallique comme le film de mercure, le film d'Or, le film de bismuth etc [5, 7, 8]. D'autres électrodes sont fabriquées à base des substrats métalliques du cuivre, du bismuth, d'Or ou alliage étain-bismuth etc. [9-11].

Les électrodes à film de mercure (MFEs) se sont révélées des outils précieux pour l'électroanalyse. Leurs performances sont dues à leur capacité à former un amalgame avec les métaux cibles pendant l'étape d'accumulation. Cependant, l'usage du mercure se limite à cause de sa toxicité et donc de son incidence potentielle sur l'environnement. Donc, la préoccupation était de développer de nouvelles électrodes respectueuses vis-à-vis de l'environnement. Ainsi une nouvelle électrode à film de bismuth (BiFE) a été développée après son introduction par Wang *et al.*, (2000) pour l'analyse électrochimique pendant ces deux dernières décennies [12-14].

Cette électrode repose sur la formation d'un film de bismuth à la surface d'une électrode solide. De ce fait, une électrode constituée d'un film du bismuth déposé sur un substrat de cuivre a permis la quantification du Cd<sup>2+</sup> dans l'extrait des plantes aquatiques de l'ordre de 10<sup>-7</sup> mol.L<sup>-1</sup> et du Pb et Cd dans l'eau naturelle [7, 15]. En plus, les électrodes à film de bismuth déposées à la surface des électrodes de carbone vitreux ont aussi été testées avec succès pour la détection du Cd<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Tl<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, In<sup>3+</sup> dans plusieurs matrices environnementales telles que l'eau du robinet, le cheveux humain, l'engrais phosphaté, les effluents synthétiques [2, 16-18]. En outre, plusieurs auteurs ont augmenté la surface active de l'électrode de travail en déposant le bismuth sur les électrodes à pâte de carbone et a permis la détermination du Cd(II) et Pb(II) de 10<sup>-8</sup> à 10<sup>-6</sup> M dans l'eau du robinet [19, 20]. Aussi, une électrode de graphite recouvert d'un film de bismuth a servi à la détermination simultanée du Cd(II), Pb(II) et Zn(II) dans un milieu aqueux avec une bonne sensibilité [4]. D'autre part, une électrode composite de graphite et une électrode à base d'oxyde de graphite modifiées par un film de bismuth ont été respectivement appliquées pour une détermination simultanée du Zn(II), Cd(II), Pb(II), Cu(II), Hg(II) et du Cd, Pb, Zn dans l'eau du robinet [6, 21]. Par ailleurs, une électrode à encre de carbone et celle au film de carbone modifiées par un film de bismuth ont servi aussi à une détermination simultanée du Pb(II), Cd(II) et Zn(II) dans des échantillons d'eau avec des résultats satisfaisants [22-24].

Ainsi, ces électrodes à film de bismuth représentent l'une des dernières perspectives dans le développement de nouveaux capteurs électrochimiques permettant la détermination d'éléments traces métalliques avec des sensibilités remarquables. Il est rapporté que ce type d'électrodes offre des performances similaires à celles des électrodes à film mince de mercure. Notamment, une forte sensibilité, une excellente résolution entre les pics voisins (Cd, Pb, Tl), une large gamme de potentiel cathodique [1, 25]. L'avantage le plus significatif des BiFEs réside sur la faible toxicité du bismuth et de ses sels, une préparation simple et l'insensibilité à l'oxygène dissous contrairement aux électrodes à film mince de mercure [14].

Par ailleurs, la voltamétrie à redissolution anodique a été reconnue comme une technique très performante pour les mesures voltamétriques des éléments traces métalliques. Combinée à la voltamétrie à impulsion différentielle (DPV) ou à la voltamétrie à onde carrée (SWV), cette technique présente une haute sensibilité et permet une détermination simultanée de plusieurs ETMs. Cette technique offre aussi une possibilité de mesures en temps réel grâce à sa souplesse et son faible coût. Cependant, peu d'études ont présenté une détermination simultanée du Cu, Pb et Zn à cause d'un recouvrement des pics du cuivre et celui du bismuth. Anastasiadou et ses collaborateurs ont présenté une méthode de détermination simultanée du Cu, Pb et Zn à l'aide d'une électrode de carbone vitreux modifiée par un film de bismuth en décalant le pic du Cu vers les potentiels plus positifs par ajout d'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) à 0,02% dans la solution [17]. Mais une variation du volume de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> perturbe la mesure. Cette étude présente une méthode simple qui ne nécessite pas l'ajout de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et qui permet une bonne séparation des pics du Cu et celui du Bi pour une détermination individuelle et simultanée de Cu, Pb et Zn avec une bonne sensibilité.

## 2. Matériels et méthode

### 2.1. Appareillage

Les mesures voltamétriques ont été effectuées en utilisant un potentiostat de marque DropSens µstat 400. Ce potentiostat est piloté par un logiciel DropView depuis un ordinateur de bureau de marque Hp. L'électrode de carbone vitreux (OD : 6mm ; ID : 3mm) a servi de support pour la préparation de l'électrode à film de bismuth. L'électrode Ag/AgCl, KCl saturé (012167 RE-1B) a servi de référence et l'électrode de fil de platine (5 cm) est utilisé comme auxiliaire. Toutes ces électrodes proviennent de ALS Japan. Un mini agitateur magnétique Hanna 052049 HI 190M de 100 à 1000 tr.min<sup>-1</sup> et un barreau aimanté ont été utilisés pour l'agitation de la solution. Un papier abrasif alumina polishing pad et un autre diamond polishing pad (ALS Japan) sous forme des disques ont été utilisés pour le polissage de la surface de l'électrode de travail. Une cellule électrochimique de 20 millilitres conçue au laboratoire a été utilisée pour contenir les solutions électrolytiques.

### 2.2. Réactifs et solutions

Toutes les solutions ont été préparées avec de l'eau distillée. Les solutions de stock des cations métalliques du cuivre, plomb et bismuth sont préparées à partir de sels de ces métaux. La solution tampon acétate est préparée en faisant

interagir l'acide acétique  $\text{CH}_3\text{COOH}$  avec une quantité appropriée de l'hydroxyde de sodium  $\text{NaOH}$ . La solution du stock du zinc est une solution standard 1000 ppm pour absorption atomique provenant de SCP Science Canada. L'acide nitrique  $\text{HNO}_3$  65-68% provenant de Fine Chemical Industry CO., LTD/Chine est utilisé pour acidifier les solutions et les échantillons. Le nitrate de bismuth pentahydraté  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  99,999% provient de Acros organics / République Czech. Le chlorure de plomb,  $\text{PbCl}_2$  98% Merck et le chlorure de cuivre  $\text{CuCl}_2$  98% Alfa Aesar proviennent de Germany. L'acide acétique  $\text{CH}_3\text{COOH}$  100% provient de Prolabo. L'hydroxyde de sodium  $\text{NaOH}$  96% provient de Wagtech International LTD. La suspension d'alumine  $\text{Al}_2\text{O}_3$  0,05  $\mu\text{m}$  et celle de diamant de 1  $\mu\text{m}$  de diamètre provenant de ALS Japon sont appliquées sur leur disque de polissage respectifs lors de polissage de l'électrode de travail.

### 2.3. Echantillons

La technique a été appliquée avec succès sur des échantillons synthétiques et sur des échantillons réels d'eau des robinets. Aucun prétraitement des échantillons n'a été nécessaire. La mesure des échantillons d'eau des robinets se fait par un mélange de 20 millilitres de l'échantillon et 1 millilitre de la solution tampon acétate 2 M pH 4,45.

### 2.4. Procédure analytique

Les mesures voltamétriques ont été effectuées d'abord par une co-déposition *in situ* d'un film de bismuth avec l'(les) élément(s) métallique(s) à analyser à la surface d'une électrode de travail de carbone vitreux (GCE) en utilisant la voltamétrie à redissolution anodique à impulsion différentielle (DPASV) en présence de l'oxygène dissous. Avant chaque mesure, la GCE suit soigneusement un polissage sur un papier abrasif sous la forme d'un disque en présence des suspensions de diamant 1  $\mu\text{m}$  puis sur un autre papier abrasif contenant des suspensions d'alumine de 0,05  $\mu\text{m}$  de diamètre. Ce polissage est effectué afin de renouveler la surface de l'électrode de travail. Les trois électrodes sont, ensuite, introduites dans la cellule électrochimique de 20 mL contenant 0,1 M d'une solution tampon acétate pH 4,45 en présence de 100 ou 200  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  de bismuth en fonction de l'élément métallique à analyser et en fonction de sa teneur. La procédure commence par une étape de préconcentration ; c'est-à-dire une électrodéposition du bismuth et de l'analyte à la surface de l'électrode du travail. Ceci implique l'application d'un potentiel de préconcentration de -1,4 V pour la détermination du plomb, zinc et la détermination simultanée du Cu, Pb et Zn et de -0,9 V pour la détermination du cuivre. Cette pré-concentration se fait pendant un temps (de préconcentration) dépendant de l'élément à analyser et de sa teneur. Ensuite, l'agitation est mise en marche pendant 2 min avant la préconcentration pour homogénéiser la solution et puis pendant la formation du film. Après la formation du film et le dépôt de l'analyte, un temps d'équilibre de 10 secondes est observé afin que la mesure s'effectue dans une solution calme et stable. Ainsi, le voltamogramme  $i = f(E)$  est enregistré par application d'un balayage des potentiels dans le sens anodique c'est-à-dire vers des potentiels plus positifs que celui de préconcentration. Les éléments métalliques pré-concentrés sont alors ré-oxydés dans la solution. Pour chaque élément métallique, il apparaît alors un courant d'oxydation proportionnel à sa teneur. Avant une autre mesure, une phase de nettoyage électrochimique est implémentée en appliquant un potentiel de + 0,35 V plus positif que les potentiels d'oxydation des quatre éléments métalliques pendant 60 s. L'objectif de cette phase est de réoxyder éventuellement les résidus métalliques à la surface de l'électrode de travail non encore oxydés. Toutes les mesures sont effectuées à la température de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ .

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Effet des paramètres de la différentielle pulse

Dans le sens d'obtenir une bonne sensibilité et une bonne reproductibilité, l'influence des paramètres de la voltamétrie à impulsion différentielle a été étudiée. Ainsi, le temps de pulsation a été varié de 2 à 20 ms. L'intensité du pic du courant diminue progressivement. Mais on obtient une bonne résolution du pic à 4 ms. Celui-ci a été retenue pour la suite du travail. L'effet de la vitesse de balayage a été étudié entre 0,005 et 0,060  $\text{V} \cdot \text{s}^{-1}$ . L'intensité du pic du courant augmente progressivement jusqu'à 0,02  $\text{V} \cdot \text{s}^{-1}$  puis diminue. Cette vitesse a été retenue comme vitesse de balayage pour la suite du travail. L'influence du pas d'incrément a aussi été évaluée en le variant de 0,001 à 0,010 V. Le pas de 0,040 V est celui auquel le pic du courant le plus élevé est obtenu. Il est alors choisi pour les prochaines mesures. Le potentiel de pulsation a été varié de 0,020 à 0,100 V pour évaluer son influence sur le pic du courant d'oxydation des éléments métalliques. L'intensité du pic du courant augmente jusqu'à 0,100 V, mais le potentiel de pulsation choisi est de 0,060 V. Car le pic du courant obtenu est le plus élevé que ceux obtenus pour les potentiels de pulsation inférieurs à 0,060 V d'une part et d'une part la courbe  $i=f(E)$  est la mieux résolue comparativement aux courbes obtenue pour les potentiels de pulsation supérieurs à 0,060 V.

### 3.2. Effet du temps d'équilibre

Le temps d'équilibre est implémenté après l'étape de pré-concentration pour que la mesure voltamétrique soit effectuée dans une solution stable. L'effet du temps d'équilibre a été étudié entre 0 et 60 s. Le pic du courant le plus élevé est obtenu après un temps d'équilibre de 10 s. celui-ci a été retenu pour toutes les mesures.

### 3.3. Effet du potentiel de dépôt

Le potentiel d'accumulation est un paramètre important et possède une influence non négligeable sur la sensibilité de la détermination des métaux lourds. L'effet du potentiel d'accumulation sur l'intensité du pic du plomb a été évalué dans la gamme de potentiel qui variant entre -1,4 et -0,7 V. Les résultats obtenus montrent qu'il y a une augmentation de l'intensité du pic quand le potentiel est de plus en plus négatif. Le courant atteint le maximum à -1,4 V pour le Pb et le Zn, et à -0,9 V pour le Cu. Ces derniers ont été choisis comme potentiel d'accumulation dans la suite du travail.

### 3.4. Effet du temps de dépôt

La figure 1 présente l'influence du temps d'accumulation sur l'intensité du pic de courant d'oxydation du plomb à  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  dans une gamme comprise entre 0 et 480 s. Une augmentation progressive de l'intensité du pic du courant en fonction du temps de dépôt est observée. Un temps d'accumulation entre 120 et 180 s est retenu pour la suite de cette étude.

### 3.5. Effet de la vitesse d'agitation

L'effet de la vitesse d'agitation a été étudié pendant le dépôt entre 0 et  $1000 \text{ tr.min}^{-1}$ . Le résultat montre une augmentation de l'intensité du pic du courant d'oxydation du plomb lorsque la vitesse d'agitation augmente jusqu'à  $600 \text{ tr.min}^{-1}$ . Ainsi la vitesse d'agitation de  $600 \text{ tr.min}^{-1}$  a été retenue pour la suite du travail pour Cu, Pb et Zn.

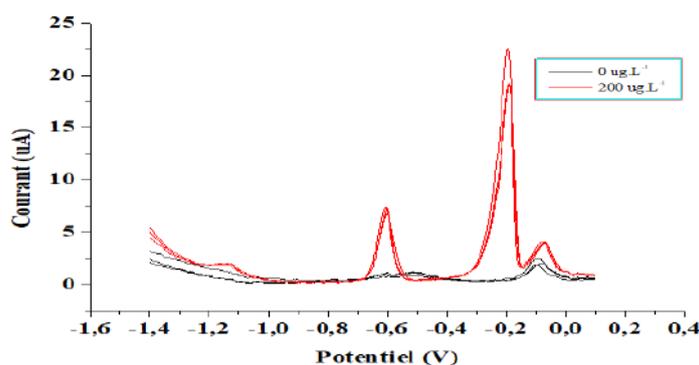
### 3.6. Linéarité

Pour le Pb la gamme de linéarité a été étudiée de entre 0 et  $16 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Le résultat a montré une bonne corrélation de 2 à  $8 \mu\text{g.L}^{-1}$  ( $R^2 = 0,9973$ ) et de 4 à  $16 \mu\text{g.L}^{-1}$  ( $R^2 = 0,9963$ ). La mesure du courant d'oxydation a été effectuée trois fois après chaque ajout. Pour le Cu, une bonne linéarité est observée entre 0 et  $8 \mu\text{g.L}^{-1}$ , la corrélation est de 0,9943. Pour le Zn une corrélation de  $R^2 = 0,9979$  est observée entre  $12\text{-}24 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

### 3.7. Détermination simultanée du cuivre, zinc et plomb

#### 3.7.1. L'influence du bismuth

La figure 1 présente le voltamogramme du Zn, Pb et Cu en absence et en présence du bismuth par la voltamétrie à redissolution anodique. La présence du bismuth dans le milieu permet une bonne amélioration de la sensibilité du système. Les pics sont bien définis, mieux résolus et plus hauts. Le pic du Cu se rapproche de celui du Bi. Ce rapprochement serait dû à une compétition entre le cuivre et le bismuth lorsqu'ils sont co-dépôtés à la surface de l'électrode du travail (Anastasiadou *et al.*, 2011).

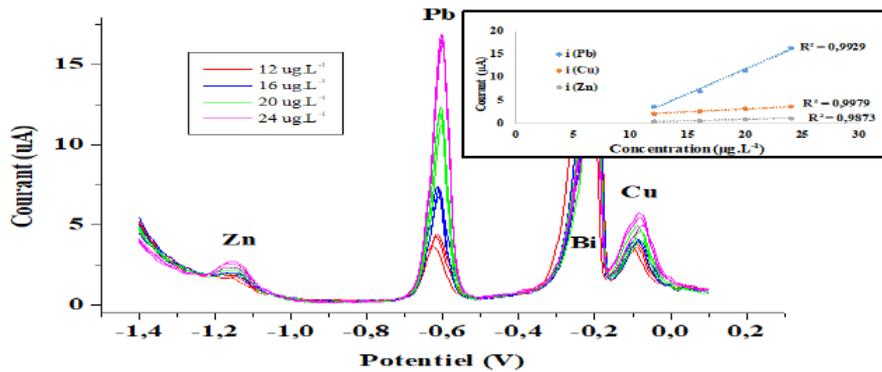


**Figure 1 :** Effet du Bi à 0 et  $200 \mu\text{g.L}^{-1}$  par la voltamétrie à redissolution anodique à impulsion différentielle. Cu, Pb et Zn à  $20 \mu\text{g.L}^{-1}$  chacun. Le temps du dépôt 120 s. L'électrolyte support est le tampon acétate 0,1 M pH 4,40 ; potentiel du dépôt -1,4 V ; Vitesse d'agitation  $600 \text{ tr.min}^{-1}$ .

#### 3.7.2. Linéarité de 12 à $24 \mu\text{g.L}^{-1}$

La figure 2 présente la réponse de l'électrode après ajouts successifs de  $4 \mu\text{g.L}^{-1}$  du Zn, Pb et Cu de 12 à  $24 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Il y a une bonne corrélation entre l'intensité du pic du courant d'oxydation et l'augmentation de la concentration pour

chaque élément métallique. Mais la pente du plomb est plus élevée par rapport à celle du cuivre et du zinc. Ce qui signifie une plus grande sensibilité du système pour la détection du plomb que pour la détection du cuivre et du zinc.



**Figure 2 :** Etude de la linéarité de 12 à 24 µg.L<sup>-1</sup> par DPASV. Le temps du dépôt 120 s. L'électrolyte support est le tampon acétate 0,1 M pH 4,40 ; potentiel du dépôt -1,4 V ; Vitesse d'agitation 600 tr.min<sup>-1</sup>.

### 3.8. Reproductibilité

La reproductibilité de la méthode a été évaluée pour des concentration en analytes de 5, 20 et 50 µg.L<sup>-1</sup>

**Tableau I :** Détermination individuelle et simultanée par DPASV du cuivre, plomb et zinc dans des échantillons d'eau.

Analytes	Ajouté (µg.L <sup>-1</sup> )	Détermination individuelle		Détermination simultanée	
		Déterminé (µg.L <sup>-1</sup> )	R (%)	Déterminé (µg.L <sup>-1</sup> )	R (%)
Cu	5	4,94±1,06	98,89	5,85±2,85	117,05
	20	24,96±1,42	124,81	15,56	77,82
	50	54,25±4,97	108,51	58,52±	117,05
Pb	5	2,57±0,52	51,59	4,36±0,22	87,24
	20	18,71±5,44	93,59	14,85±	74,29
	50	52,78±3,91	105,57	43,62±2,20	87,24
Zn	5	7,09±0,05	141,80	3,77±0,2	75,45
	20	19,82±8,37	99,12	13,63	68,15
	50	54,64±0,48	109,28	37,72±2,03	75,45

### 3.9. La limite de détection (LDM)

C'est la plus petite concentration mesurable par une méthode analytique. Elle est calculée par la relation suivante :

$$LDM = 3 * s$$

Avec  $s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{x} - x_i)^2}{n-1}}$  et  $\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$

s : écart type

$\bar{x}$  : moyenne arithmétique de n mesures

x<sub>i</sub> : mesures individuelles

n : nombre de données sur lesquelles s'appuient les calculs;

Pour le calcul de la LDM les 10 répliques des mesures sont effectués sur les solutions de concentration de 1,2 µg.L<sup>-1</sup> pour le Pb ; 4,2 µg.L<sup>-1</sup> pour le Zn et 0,86 µg.L<sup>-1</sup> pour le Cu.

**Tableau II :** Les limites de détection calculées pour la détermination simultanée sont présentées dans le tableau suivant

Analytes	Détermination individuelle			Détermination simultanée		
	Cu	Pb	Zn	Cu	Pb	Zn
LDM (µg.L <sup>-1</sup> )	0,48	0,25	0,75	0,18	0,12	0,14
RSD (%)	2,31	2,95	2,91	2,67	2,24	2,92

#### 4. Conclusion

Le dosage individuel et simultané du cuivre, plomb et zinc dans des échantillons d'eaux synthétiques et dans les échantillons d'eau des robinets a été effectué avec succès par l'application de la voltamétrie à redissolution anodique à impulsion différentielle. Les électrodes à films minces de bismuth sont préparées par l'électrodéposition simultanée du bismuth et des éléments métalliques à la surface de l'électrode de travail en carbone vitreux à partir des cations de ces métaux. Les limites de détection de 0,48 ; 0,25 et 0,75  $\mu\text{g.L}^{-1}$  ont été calculées respectivement pour le cuivre, le plomb et le zinc pour la détermination individuelle et 0,12 ; 0,18 ; 0,18 ; 0,14  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Une bonne linéarité est observée dans la gamme de très faibles concentrations 0-20  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . La détermination du Cuivre ne nécessite pas l'ajout de  $\text{H}_2\text{O}_2$  dans les conditions définies.

#### 5. Références

- [1] Adraoui I., Amine A. Détermination des métaux lourds par voie électrochimique, les Technologies de Laboratoire, 2007, volume 2, pp. 16-21.
- [2] Kefala G., Economou A., Voulgaropoulos A., Sofoniou M. A study of bismuth-film electrodes for the detection of trace metals by anodic stripping voltammetry and their application to the determination of Pb and Zn in tapwater and human hair. *Talanta*, 2003, volume 61, pp. 603-610.
- [3] Silva N. A. F., Leitao R. A. E., and Matos M. J. Bismuth as an electrode material in the simultaneous determination of Pb (II) and Cd (II) in poplar (populus) leaves by SWASV. *Portugaliae Electrochim. Acta*, 2006, volume 24, pp. 283-293.
- [4] Rehacek V., Ivan Hotovy I., Vojis M., Mika F. Bismuth film electrodes for heavy metals determination, *Microsystem Technologies*, 2008, volume 14, pp. 491-498. DOI 10.1007/s00542-007-0432-z
- [5] March G., Nguyen T. D., Piro B. Modified Electrodes Used for Electrochemical Detection of Metal Ions in Environmental Analysis. *Biosensors*, volume 5, 2015, pp. 241-275. doi:10.3390/bios5020241
- [6] Cesarino I., Gouveia-Caridade C., Pauliukaite R., Cavalheiro E. T. G., Brett C. M. A. Characterization and Application of Bismuth-Film Modified Graphite-Polyurethane Composite Electrodes. *Electroanalysis*, volume 22, numéro 13, 2010, pp. 1437-1445. DOI: 10.1002/elan.200970003
- [7] Legeai S., Soropogui K., Cretinon M., Vittori O., De Olivera A. H., Barbier F., Grenier-Loustalot M-F. Economic bismuth-film microsensor for anodic stripping analysis of trace heavy metals using differential pulse voltammetry. *Anal Bioanal Chem*, volume 383, 2005, pp. 839-847. DOI 10.1007/s00216-005-0083-9
- [8] Kang W., Pei X., Yue W., Bange A., Heineman Z. R., Papautsky I. Lab-on-a-Chip Sensor with Evaporated Bismuth Film Electrode for Anodic Stripping Voltammetry of Zinc. *Electroanalysis*, volume 25, numéro 12, 2013, pp. 2586-2594. doi:10.1002/elan.201300349
- [9] Armstrong K. C., Tatum C. E., Dansby-Sparks R. N., Chambers J. Q., Xue Z. Individual and simultaneous determination of lead, cadmium, and zinc by anodic stripping voltammetry at a bismuth bulk electrode. *Talanta*, volume 82, numéro 2, p 675-680. doi:10.1016/j.talanta.2010.05.031
- [10] Mirceski V., Hocevar S. B., Ogorevc B., Gulaboski R., Drangov I. Diagnostics of Anodic Stripping Mechanisms under Square-Wave Voltammetry Conditions Using Bismuth Film Substrates. *American Chemical Society*, volume 84, 2012, 4429-4436. dx.doi.org/10.1021/ac300135x
- [11] Jothimuthu P., Wilson R. A., Herren J., Pei X., Kang W., Daniels R., Wong H., Beyette F., Heineman W. R., Papautsky I. Zinc Detection in Serum by Anodic Stripping Voltammetry on Microfabricated Bismuth Electrodes. *Electroanalysis*, volume 25, numéro 2, 2013, pp. 1-14. doi:10.1002/elan.201200530.
- [12] Hocevar S. B., Wang J., Deo R. P., Ogorevc B. Potentiometric Stripping Analysis at Bismuth-Film Electrode. *Electroanalysis*, volume 14, numéro 2, 2002, pp. 112-115.
- [13] Economu A. Bismuth-film electrodes: recent developpements and potentialities for electroanalysis. *Trends in analytical chemistry*, volume 24, numéro 4, 2005, pp. 334-340. Doi:10.1016/j.trac.2004.11.006
- [14] Jovanovski V., Hocevar S. B., Ogorevc B. Bismuth electrodes in contemporary electroanalysis. *Current Opinion in electrochemistry*, volume 3, 2017, 114-122. http://dx.doi.org/10.1016/j.jcoelec.2017.07.008
- [15] Figueiredo-Filho L. C. S., Janegitz B. C., Fatibelilo-Filho O., Marcolino-Junior L. H., Banks C. E. Inexpensive and disposable copper mini-sensor modified with bismuth for lead and cadmium determination using square-wave anodic stripping voltammetry. *Anal. Methods*, volume 5, 2013, pp. 202-207. DOI: 10.1039/c2ay26078f
- [16] Charalambous A., Economou A. A study on the utility of bismuth-film electrodes for the determination of In(III) in the presence of Pb(II) and Cd(II) by square wave anodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, volume 547, 2005, pp. 53-58. doi:10.1016/j.aca.2004.12.048
- [17] Anastasiadou Z. D., Sipaki I., P. D. Jannakoudakis P. D., Girousi S. T. Square-Wave Anodic Stripping Voltammetry (SWASV) for the Determination of Ecotoxic Metals, Using a Bismuth-Film Electrode, *Analytical Letters*, volume 44, numéro 5, 2011, pp. 761-777. DOI: 10.1080/00032711003790023
- [18] Saturno J., Valera D., Carrero H., Fernández L. Electroanalytical detection of Pb, Cd and traces of Cr at micro/nano-structured bismuth film electrodes. *Sensors and Actuators B*, volume 159, 2011, pp. 92-96. doi: 10.1016/j.snb.2011.06.055

- [19] Baldrianova L., Svancara I., Economou A., Sotiropoulos S. Anodic stripping voltammetry at *in situ* bismuth-plated carbon and gold microdisc electrodes in variable electrolyte content unstirred solutions. *Analytica Chimica Acta*, volume 580, 2006, pp. 24-31. doi: 10.1016/j.aca.2006.07.051
- [20] Baldrianova L., Svancara I., Sotiropoulos S. Anodic stripping voltammetry at a new type of disposable bismuth-plated carbon paste mini-electrodes. *Analytica Chimica Acta*, volume 599, 2007, pp. 249-255. doi: 10.1016/j.aca.2007.07.067
- [21] Pokpas K., Zbeda S., Jahed N., Mohamed N., Baker P. G., Iwuoha E. I. Electrochemically Reduced Graphene Oxide Pencil-Graphite *in situ* Plated Bismuth-film Electrode for the Determination of Trace Metals by Anodic Stripping Voltammetry. *Int. J. Electrochem. Sci.*, volume 9, 2014, pp. 736-759.
- [22] Pauliukaite R., Brett C. M. A. Characterization and Application of Bismuth-Film Modified Carbon Film Electrodes. *Electroanalysis*, volume 17, 2005, pp. 15-16. DOI: 10.1002/elan.200403282
- [23] Gouveia-Caridade C., Pauliukaite R, Brett C. M. A. Influence of Nafion Coatings and Surfactant on the Stripping Voltammetry of Heavy Metals at Bismuth-Film Modified Carbon Film Electrodes. *Electroanalysis*, volume 18, numéro 9, 2006, pp. 854-861. DOI: 10.1002/elan.200603482
- [24] Chuanuwatanakul S., Dungchai W., Chailapakul O., Motomizu S. Determination of trace heavy Metals by Sequential Injection-anodic Stripping Voltammetry using Bismuth Film Screen-printed Carbon Electrode. *Analytical Sciences*, volume 24, 2008, pp. 589-594.
- [25] Svancara I., Prior C., Hocevar S. B. Wang J. A Decade with Bismuth-Based Electrodes in Electroanalysis. *Electroanalysis*, 2010, volume 22, no 13, p. 1405-1420. DOI: 10.1002/elan.200970017

## Etude du marché de faisabilité de mise en place d'une station de traitement des boues de vidange dans la commune de Kozah 1

Piyabalo Kodom<sup>1</sup>, Edem Komi Koledzi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Sanitation, Water Science and Environment (LASEE), Faculty of Science and Technology, University of Kara; PO.BOX 404 Kara-Togo.

<sup>2</sup>Laboratory of Management, Treatment and valuation of Waste (GTVD), Department of Chemistry, University of Lomé, P.O. Box 1515 Lomé, Togo

**Résumé :** Face à la problématique de gestion des déchets municipaux en particulier les boues de vidange (BV), une étude de tous des paramètres entrant dans la filière de traitement des boues s'avère nécessaire. Cet article a pour objectif de fournir des bases de données scientifiques pour une implantation d'une station de traitement des boues de vidange dans la commune de Kazah 1. Pour atteindre le but fixé, une enquête dans les concessions et auprès des différentes structures de gestion des boues de vidange ainsi qu'une étude scientifique à travers la recherche documentaire pour avoir une meilleure connaissance sur les différents précédés de traitement des BV a été faite. Pour connaître la composition physico-bio-chimique des paramètres entrant dans la gestion des boues de vidange, plusieurs échantillons ont été prélevés pour des analyses au laboratoire. Les résultats de l'enquête révèlent que les conditions sont favorables pour cette mise en œuvre. La pollution organique (DCO et DB<sub>5</sub>) présente des valeurs moyennes respectivement 779 mgO<sub>2</sub>/L et 343 mgO<sub>2</sub>/L, 994,5 mgO<sub>2</sub>/L et 360,5 mgO<sub>2</sub>/L, 736,5 mgO<sub>2</sub>/L et 130 mgO<sub>2</sub>/L pour les LS, FSD et FSP pris dans cet ordre respectivement. Ces ratios montrent que les boues sortant des LS, FSD et FSD ont atteint leur stade de minéralisation ; donc leur potentiel biodégradable se stabilise. Les coliformes fécaux ont des nombres variant dans l'intervalle [5,00E+01 UFC/100mL - 5,00E+01 UFC/100mL] ; [4,00E+04 UFC/100mL - 2,02E+05 UFC/100mL] et [1,54E+06 UFC/100mL - 5,67E+06 UFC/100mL] avec 6,03E+03 UFC/100mL ; 1,21E+05 UFC/100mL ; 3,61E+06 UFC/100mL UFC/100mL comme nombre moyen respectivement pour les LS, FSD et FSP. La pluviométrie atteint sa valeur maximale 220,4 mm en août. L'insolation et l'évaporation sont proportionnelle et atteignent leurs valeurs maximales 265,6 h/j et 346,6 mm en décembre janvier.

**Mots clés :** Boues de Vidange, caractérisation, quantification, Kozah1.

## Feasibility market study for setting up a faecal sludge treatment plant in the municipality of Kozah 1

**Abstract:** Faced with the problem of municipal waste management, in particular faecal sludge (BV), a study of all the parameters entering into the sludge treatment process is necessary. The aim of this article is to provide scientific databases for the establishment of a faecal sludge treatment plant in the municipality of Kazah 1. To achieve the set goal, a survey in the concessions and with the various faecal sludge management structures and a scientific study through documentary research to gain a better knowledge of the different treatment precedents for FS was carried out.. The results of the survey show that the conditions are favorable for this implementation. Organic pollution (COD and DB<sub>5</sub>) has mean values respectively 779 mgO<sub>2</sub> / L and 343 mgO<sub>2</sub> / L, 994.5 mgO<sub>2</sub> / L and 360.5 mgO<sub>2</sub> / L, 736.5 mgO<sub>2</sub> / L and 130 mgO<sub>2</sub> / L for LS, FSD and FSP taken in that order respectively. These ratios show that the sludge leaving the LS and DES FSD has reached its mineralization stage; therefore their biodegradable potential is reached. . Fecal coliforms have numbers varying in the range [5.00E + 01 CFU / 100mL - 5.00E + 01 CFU / 100mL]; [4.00E + 04 UFC / 100mL - 2.02E + 05 UFC / 100mL] and [1.54E + 06 UFC / 100mL - 5.67E + 06 UFC / 100mL] with 6.03E + 03 UFC / 100mL; 1.21E + 05 CFU / 100mL; 3.61E + 06 UFC / 100mL UFC / 100mL as the average number respectively for LS, FSD and FSP. The rainfall reaches its maximum value 220.4 mm in August. Insolation and evaporation are proportional and reach their maximum values 265.6 h / d and 346.6 mm in December January.

**Keywords:** Faecal sludge, characterization, quantification, Kozah1.

### 1. Introduction

Assurer un assainissement sûr, adéquat, efficace et durable est un défi mondial, en particulier dans les pays en développement (Makununika, 2016). La gestion des boues de vidange constitue une problématique de santé publique dans de nombreuses villes moyennes africaines (KODOM et al., 2021), où l'assainissement autonome apparaît comme la solution la mieux adaptée selon le contexte local de la ville (Ftimbé LARE, 2019). Longtemps, la gestion des boues de vidange est considérée comme une opération annexe du traitement des déchets municipaux ; mais à l'heure actuelle elle ne peut plus ne peut plus défini être à la légère. Par exemple, au Togo dans la mouvante de la décentralisation, les municipalités doivent faire face à des productions croissantes de déchets notamment les ordures ménagères et les boues de vidange(KODOM et al., 2021), alors que les moyens dédiées à leur gestion restent insuffisants à tous les niveaux qu'ils soient humains, financiers, matériels, organisationnels ou techniques. A cette difficulté, vient s'ajouter l'absence/l'insuffisance d'expériences réussies(KODOM et al., 2021). Cette insuffisance critique des bases de données locales et actualisées sur les boues de vidange émises accroît les risques d'échec des projets visant leur gestion. Par ailleurs, chaque commune souhaitant mettre en place un processus de gestion de ses

déchets solides ou liquide, devrait donc disposer, au préalable de leur typologie ainsi qu'une bonne connaissance de leurs propriétés physico-bio-chimiques. L'aptitude à recycler les boues de vidange génère une économie sans précédente (Mallory et al., 2019), mais les plusieurs paramètres doivent être mis en jeu tels que la perception du produit fini, les infrastructures existantes... Les procédés de traitement des boues d'épuration visent à réduire la teneur en matières organiques biodégradables, la concentration d'organismes pathogènes et l'humidité afin d'obtenir un matériau qui ne présente pas de risque pour la santé environnementale et qui être utilisé à des fins agricoles. En ce sens, cette étude vise à évaluer l'effet du séchage sur les caractéristiques microbiologiques et physicochimiques des boues de vidange (Santos et al., 2017).

Parmi les différentes technologies de traitement des boues de vidange, les lits de séchage constituent les procédés usuellement (Kouawa, 2016), en une seule étape ou en association. Cette technologie, bien que robuste et efficace, nécessite une conception précise et bien adaptée à des conditions selon la zone géographique, notamment les caractéristiques des boues à traiter et le climat. La technologie des lits non plantés et plantés connaît une montée interminable pour le traitement des boues.

L'objectif de cette étude est de faire une étude diagnostique pour la mise en place d'une station de traitement des boues de vidange dans la commune de Kozah 1. Pour atteindre le but fixé, une enquête dans les concessions et auprès des différentes structures de gestion des boues de vidange et une étude scientifique à travers la recherche documentaire pour avoir une meilleure connaissance sur les différents procédés de traitement des BV a été faite. Pour connaître la composition physico-bio-chimique des paramètres entrant dans la gestion de BV, plusieurs échantillons ont été prélevés pour des analyses au laboratoire.

## 2. Matériel et Méthodes

### 2.1. Etat des lieux de la gestion des boues de vidange dans la commune de Kozah 1

La recherche documentaire, des enquêtes, des visites de terrain et l'échantillonnage ont été effectués pour faire un état des lieux de la GBV dans la commune de Kozah 1.

- ✓ La recherche documentaire effectuée le long de cette étude a permis de :
  - Collecter les informations à la gestion et à l'assainissement autonome en Afrique subsaharienne en général, et au Togo en particulier ;
  - Comparer les résultats de cette étude avec ceux des travaux antérieurs sur la même thématique ;
  - Analyser les données secondaires de la commune en consultant toutes les bases de données liées à la gestion et à l'assainissement.
- ✓ les enquêtes et des visites de terrain ont été effectuées auprès des concessions, des structures hautement fréquentées et des opérateurs en charge de la vidange mécanique dans la commune de Kozah 1.
- ✓ Echantillonnage : la méthode utilisée pour les différentes enquêtes est celle probabiliste qui est basée sur la sélection aléatoire et systématique des unités de population.

L'équation (1) a permis de déterminer la taille de l'échantillon (Ftimbé LARE, 2019, Durand, 2002).

$$n = \frac{p*(1-p)+e^2/Z^2}{\left(\frac{e^2}{Z^2} + P*(1-p)/N\right)} \quad \text{Equation (1)}$$

Où :

**n**: Est la taille de l'échantillon ; **p**: Est la proportion attendue d'une réponse de la population, elle est souvent fixée à 0,5 par défaut ; **e**: Est la marge d'erreur ; elle est prise égale à 5% ; **Z**: Est l'intervalle de confiance d'échantillonnage, il est égal à 1,96 pour un intervalle de confiance de 95 % selon la loi normale centrée réduite ; **N**: Est le nombre de concessions.

### 2.2. Quantification des boues de vidange

Cette étude fait appel à deux méthodes de quantification : la méthode basée sur la production spécifique et celle basée sur le routage de camion.

- ✓ **Méthode basée sur la production spécifique** : cette méthode est basée sur le coefficient spécifique de production, le nombre d'utilisateurs par ouvrage et le type d'ouvrage. Le volume total a été évalué par l'équation (2) (KODOM et al 2021 ; Talla et al 2017 ; KOANDA, 2006)

$$Q = 365 * \sum P_i * \frac{q_i}{1000} \quad \text{Equation (2)}$$

Où :

**Q** Est le volume total ; **P<sub>i</sub>** Est le nombre d'utilisateurs par ouvrage **i** et **q<sub>i</sub>** est le coefficient de la production spécifique de l'ouvrage **i**.

- ✓ **Méthode basée sur le routage des camions vidangeurs**

Durant huit semaines (08), la capacité des citernes des camions vidangeurs, le nombre de tour par camion a été évalué. Le volume de boues vidangées au cours de cette période est estimé par l'équation (3) (KODOM et al 2021 ; Talla et al 2017 ; KOANDA, 2006).

$$Q = \sum_i V_{ij} \cdot \eta_{ij} \quad \text{Equation (3)}$$

Où :

$Q$  ( $m^3$ /month) est la quantité totale collectée,  $V_{ij}$  ( $m^3$ /rotation) est le volume évacué par rotation d'ouvrage  $i$  par jour  $j$  ;  $\eta_{ij}$  (rotations/truck) est le nombre de type d'ouvrage  $i$  par rotation et par jour  $j$ .

## 2.3. Caractérisation physico-bio-chimique des BV

### 23.1. Echantillonnage

La méthode décrite par Klingel et al 20002 a été adoptée dans cette étude. Etant donné que les boues sont fortement chargées, il est conseillé de faire des prélèvements au début au milieu et à la fin pour former un échantillon composite. La figure (1) présente la méthode d'échantillonnage (KODOM et al 2021)

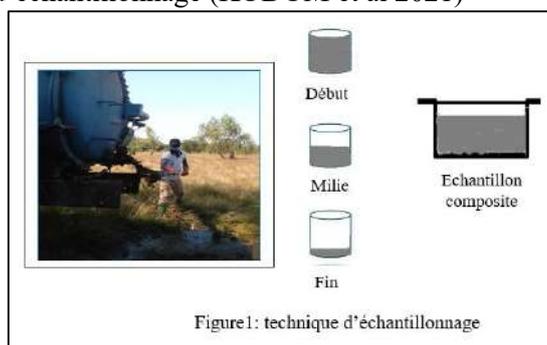


Figure 1: technique d'échantillonnage

Au total 30 échantillons ont été prélevés à savoir 10 pour les Fosses Sèches (FS), 10 pour les Fosses Septiques Domestiques (FSD) et 10 pour les Fosses Septiques Publiques (FSP).

### 2.3.2. Analyse des paramètres physico-bio-chimique

Le matériel utilisé pour cette étude est: le pH-mètre de marque PT-10 SARTORIUS ; le conductimètre de marque HANNA HI 99300WTW ; Hydro-distillateur de l'azote Kjeldahl ; humidimètre ; le spectromètre d'absorption moléculaire ; le DBO-mètre l'Oxidirect de Tintometer (Lovibond), AL606 et l'ensemble des verreries. Les méthodes standards ont été utilisées pour les différentes analyses (Rodier et al 2009, APHA, 1998 et AFNOR).

In situ, les mesures du pH, la conductivité (Cond) et du potentiel redox (Eh) ont été évalués par le pH-mètre de marque PT-10 SARTORIUS, le conductimètre de marque HANNA HI 99300WTW, WTW-350i. Au laboratoire les paramètres globaux de pollution tels que le pH, la température, la siccité, des matières en suspension (MES), des matières volatiles (MN), la mesure de la demande chimique en oxygène (DCO), la demande biochimique en (DBO<sub>5</sub>), AGV, les nitrates (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), les nitrites (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) et l'ammonium (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), des ortho-phosphates (P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) et du phosphate total (PT), les E.coli, des streptocoques fécaux (SF) et des coliformes totaux (CT) ont été analysés.

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Analyse des données météorologiques

Les valeurs moyennes de l'insolation, l'évaporation la température et les pluviométries enregistrées dans la commune au cours des cinq dernières années sont représentées par la figure (2).

On observe une variation moyenne annuelle des précipitations, l'insolation, l'évaporation et la température. Les mois les plus pluvieux sont juillet, août et septembre, avec des quantités maximales 220,4 mm en août. L'insolation est observée tout au long de l'année mais elle est plus accrue pour les mois de janvier, février, mars, avril, mai, novembre et décembre avec son pic maximal 265,6 h/j en décembre. L'évaporation est proportionnelle à l'insolation et atteint sa valeur maximale 346,6 mm en janvier. Ces différentes valeurs climatiques sont des données phares dans le traitement des boues de vidange. Ces valeurs montrent que le procédé par lit de séchage non planté serait le mieux adapté.

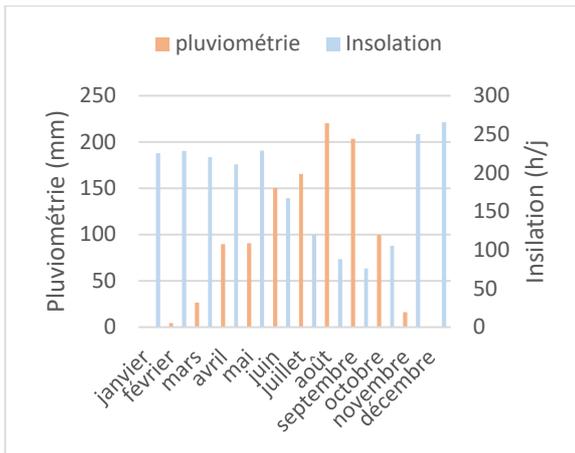


Figure 2a : pluviométrie/insolation

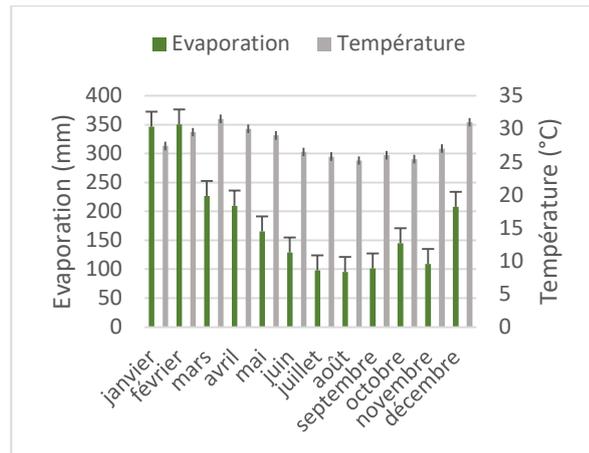


Figure 2a : évaporation/ température

Figure 2 : Données météorologiques de 2015 à 2020

### 3.2. Analyse des données de l'enquête

- ✓ Nombre d'utilisateurs par fosse : la notion du Nombre d'utilisateur dans le cadre de gestion des BV est notion purement différente de celle des ordures ménagère, donc il n'y a pas de fosse par ménage mais par concessions. Cependant, les enquêtes révèlent que le nombre de personnes partageant la même fosse dans une concession est en moyenne de **11** personnes/fosse.
- ✓ Type d'ouvrage d'assainissement : d'après les résultats des enquêtes, le taux de possession des ouvrages est réparti comme le montre la figure la 3.

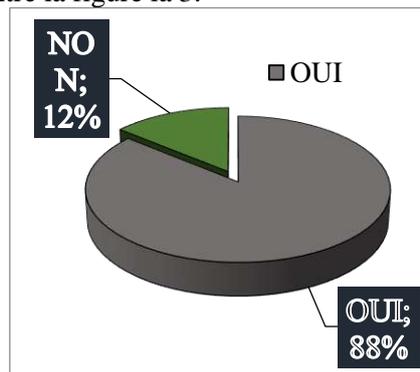


Figure 3 : possession des ouvrages d'assainissement

L'analyse montre que 12 % des concessions n'en disposent de lieux d'aisances et donc font la défécation à l'air libre. Parmi des 88 %, seul 8 % font de la vidange manuelle et donc 80 % des fosses effectuent la vidange mécanique. Ces résultats annoncent une prévision de la quantité des boues à traitées par semaine ou par an. Cette proportion importante de la vidange mécanique serait due à la disponibilité des camions vidangeurs opérant dans la commune et à leur bonne prestation. La fréquence de vidange est présentée par la figure 4.

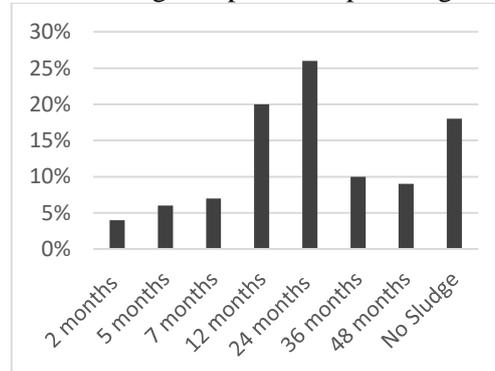


Figure 4 : fréquence de vidange

Cette figure révèle que 63 % des ménages vidangent leurs fosses au bout de 2 ans, 18 % des ouvrages n'ont pas encore été vidangés et 19 % des ouvrages sont vidangés au-delà de 2 ans. Il faut noter que pour cette étude, aucun vidangeur manuel n'a pu être contacté mais les enquêtes ont révélé leurs présences. Dans les secteurs d'activité de grande surface comme le marché, l'Université, le Camp, les centres hospitaliers (CHU et CHR), les écoles pratiquent la vidange mécanique et de manière régulière.

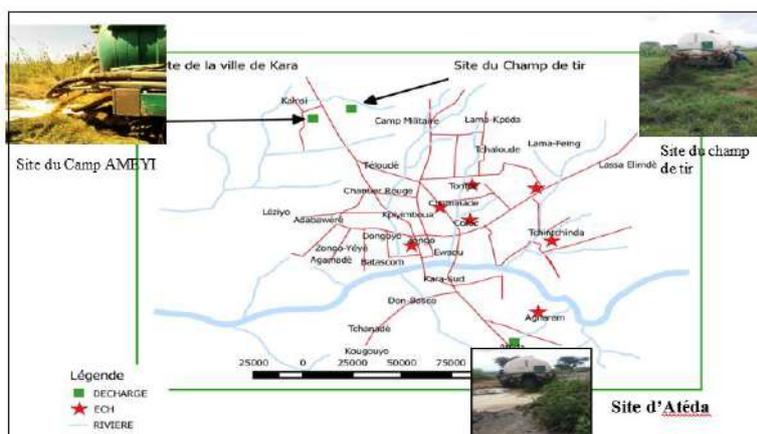
✓ **Dispositifs de collecte et transport des boues**

Dans la commune de Kara, cinq operateurs sont en charge de la gestion des BV. Au total, il existe cinq (05) camions vidangeurs de capacité unitaire variant entre 6 à 10 m<sup>3</sup>. Le tarif de vidange fixé par la mairie est de 18000F CFA pour les concessions et 15000 CFA pour les latrines publiques, mais en fonction de la distance, le prix peut varier. Les caractéristiques de ces camions sont consignées dans le tableau 1.

**Tableau 1 : Caractéristiques des engins de vidange.**

Opérateurs	Caractéristique de l'engin	Année d'achat	Durée	Volume	Etat de l'engin
Mairie	Camion Spiros de marque ISUZU, RTGN7956	1989	28 ans	6 m <sup>3</sup>	Mauvais état
	Camion Spiros de marque NISSAN, RTG, 9225	1996	21ans	6 m <sup>3</sup>	Mauvais état
FAT	Spiros de marque ISUZU, RTG 7956	2004	14 ans	6 m <sup>3</sup>	Bon état
Essouezam		2015	3 ans	10 m <sup>3</sup>	Bon état
Douceur	Marque MULLER	2016	2 ans	6m <sup>3</sup>	Très bon état

✓ Site de dépotage : dans la commune, Il n'existe pas de sites aménagés, clôturé et surveillé pour le dépotage des boues comme celui d'Attidjin à Lomé et dans les autres villes des pays de la sous-région. Néanmoins, il existe un site officiel situé au sud de la ville non loin de la douane. Ce site connaît aujourd'hui d'énormes problèmes à cause de son état accidenté et la voie d'accès à ce site pendant la saison pluvieuse est vraiment dramatique. Pour pallier à ce problème, d'autres sites comme ceux du camp et du Champ de tir ont été créé. A l'heure actuelle, une station de traitement des est en chantier



**Figure 5 : site de dépotage des boues**

**3.3. Quantité de boue produite et évacuée**

**Tableau 2: Estimation de la quantité de boues selon la méthode de production spécifique.**

Type de latrines	Taux de concession	Nombre de concession	Population	Production spécifique (L/j/hbt)	Quantité (m <sup>3</sup> /j)	Quantité (m <sup>3</sup> : an)
FS	80 %	9450	96000	1	96	35040
LT	8 %	945	9600	0,3	2,88	1051,2
Sans installation	14%	1418	14400	1	14,4	5256
Total	100 %	11812	120000		113,28	41347,2

Cette première méthode permet de faire une estimation grossière du volume de boues potentiellement produites dans les ménages. Sur la base des hypothèses établies dans la méthodologie, la quantité de boues produite par jour est de 113,28 m<sup>3</sup>/j soit 41347,2 m<sup>3</sup>/an. La quantité effectivement vidangé par la méthode de routage des camions

vidangeurs est évaluée à 14.616 m<sup>3</sup>/an. Le ratio de ces deux valeurs montre que seul 35 % des boues produites sont effectivement vidangées, d'où la contamination des eaux de consommation et de santé publique.

### 3.4. Analyse des paramètres physico-bio-chimique des trois types d'ouvrage

Les trois types d'ouvrage présentent une très grande variabilité pour les différents paramètres. Le tableau 3 fait le récapitulatif de tous les paramètres analysés.

**Tableau 3 :** Caractéristiques physico-bio-chimiques des boues sortant des trois types de fosses

Paramètres	Unités	LS			FSD			FSP		
		Minimum	Maximum	Moyenne	Minimum	Maximum	Moyenne	Minimum	Maximum	Moyenne
CND	( $\mu\text{s}/\text{cm}$ )	214	2014	1114	245	9879	5062	12450	21450	16950
pH	***	7 $\pm$ 0,01	8 $\pm$ 0,01	7,5 $\pm$ 0,01	7,5 $\pm$ 0,01	7,8 $\pm$ 0,01	7,65 $\pm$ 0,01	8 $\pm$ 0,01	7,8 $\pm$ 0,01	7,9 $\pm$ 0,01
Siccité	%	20	50	35	16	99	57,5	120	65	92,5
MES	mg/L	56	102	79	98	555	326,5	454	785	619,5
T (°C)	°C	35	38	36,5	32	56	44	25	75	50
DCO	mgO <sub>2</sub> /L	354	1204	779	987	1002	994,5	4782	9800	7291
DBO <sub>5</sub>	mgO <sub>2</sub> /L	230	456	343	234	487	360,5	564	909	736,5
AGV	(10 <sup>-3</sup> ) mg/L CH <sub>3</sub> COOH	9	87	48	10	40	25	59	201	130
NTK	mg/L	402	1789	1095,5	986	9875	5430,5	1450	8420	4935
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	mg/L	210	800	505	451	960	705,5	400	1400	900
P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	mg/L	3	64	33,5	201	400	300,5	654	927	790,5
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	mg/L	10	56	33	36	99	67,5	6	109	57,5
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	mg/L	23	100	61,5	47	89	68	22	206	114
E.coli	UFC/100mL	0,00E+00	7,00E+04	3,50E+04	5,00E+04	5,40E+05	2,95E+05	5,00E+06	9,90E+05	3,00E+06
CF	UFC/100mL	5,00E+01	1,20E+04	6,03E+03	4,00E+04	2,02E+05	1,21E+05	1,54E+06	5,67E+06	3,61E+06
SF	UFC/100mL	4,50E+04	1,50E+04	3,00E+04	1,80E+06	2,60E+06	2,20E+06	4,40E+05	6,00E+05	5,20E+05

NB : LS : Latrine Sèche ; FSD : Fosse Septique Domestique ; FSP : Fosse Septique Publique

Les paramètres physico-biochimiques montrent des valeurs très variables pour chaque paramètre au sein d'une même fosse que dans les autres types d'ouvrage. En effet le pH varie de 7 à 8 avec une valeur moyenne 7,5  $\pm$  0,01. Pour les latrines sèches. Les fosses septiques domestiques et publiques présentent des moyenne de respectivement 7,65  $\pm$  0,01; 7,9 $\pm$  0,01. La conductivité varie de [214  $\mu\text{s}/\text{cm}$  - 2014  $\mu\text{s}/\text{cm}$ ] avec une valeur moyenne de 1114  $\mu\text{s}/\text{cm}$  ; [245  $\mu\text{s}/\text{cm}$  - 9879  $\mu\text{s}/\text{cm}$ ] avec une valeur moyenne de 5062  $\mu\text{s}/\text{cm}$  , [12450  $\mu\text{s}/\text{cm}$  - 21450  $\mu\text{s}/\text{cm}$ ] avec une valeur moyenne 16950  $\mu\text{s}/\text{cm}$  respectivement pour le LS, FSD et FSP. Pour la pollution organique, les matières en suspensions ont des teneurs qui varient d'une fosse à une autre avec des valeurs moyenne de 79 mg/L, 326,5 mg/L et 619,5 mg/L respectivement pour les LS, FSD et FSP. La DCO et la DB<sub>5</sub> présentent des valeurs moyennes respectivement 779 mgO<sub>2</sub>/L et 343 mgO<sub>2</sub>/L, 994,5 mgO<sub>2</sub>/L et 360,5 mgO<sub>2</sub>/L, 736,5 mgO<sub>2</sub>/L et 130 mgO<sub>2</sub>/L pour les LS, FSD et FSP pris dans cet ordre respectivement. Le ratio de la valeur moyenne de DCO/DB<sub>5</sub> respectivement 2,27 ; 2,78 et 5,67. Ces ratios montrent que les boues sortant des LS et DES FSD ont atteint leur stade de minéralisation ; donc leur potentiel biodégradable est atteint. Ces valeurs sont concordance avec les travaux de Kouawa, 2016. Quant aux espèces bactériennes, le nombre de E.coli évolue dans l'intervalle [0,00E+00 UFC/100mL - 7,00E+04 UFC/100mL] ; [5,00E+04 UFC/100mL - 5,40E+05 UFC/100mL] ; [5,00E+06 UFC/100mL - 9,90E+05 UFC/100mL] et le nombre moyen est de 3,50E+04 UFC/100mL ; 2,95E+05 UFC/100mL ; 3,00E+06 UFC/100mL respectivement pour les LS, FSD et FSP. Les coliformes fécaux ont des nombres variant dans l'intervalle [5,00E+01 UFC/100mL - 5,00E+01 UFC/100mL] ; [4,00E+04 UFC/100mL - 2,02E+05 UFC/100mL] et [1,54E+06 UFC/100mL - 5,67E+06 UFC/100mL ] avec 6,03E+03 UFC/100mL ; 1,21E+05 UFC/100mL ; 3,61E+06 UFC/100mL UFC/100mL comme nombre moyen respectivement pour les LS, FSD et FSP.

## 4. Conclusion

La commune de Kozah Iconnait une croissance exponentielle de sa population avec une augmentation des besoins dans le domaine d'assainissement plus particulièrement la gestion des boues de vidange. Les ouvrages d'assainissement autonomes sont les plus promus dans les villes Africaines. Mais la gestion des sous-produits reste indésirable due leurs impacts sur la santé et sur l'environnement. Les différentes enquêtes révèlent des conditions favorables pour la mise en œuvre de la station de traitement des boues de vidange tant sur le plan climatique, physico-bio-chimique que organisationnel et technique. Les analyses des paramètres physico-bio-chimiques montrent que en matière organique, en nutriments (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, PT) mais également des microorganismes pathogènes.

## Références

APHA (1998). Standard methods for the examination of water and wastewater. 20<sup>th</sup>. Edition. Washington, DC: American Public Health Association.

Alory, G. (2002). *Redistribution zonale et méridienne de masse aux échelles ENSO et décennale dans le Pacifique tropical* [PhD Thesis]. Université Paris 6.

KODOM, P., KOLEDZI, E. K., KROU, N. M., SEGBEAYA, K. N., & BISSANG, B. T. (2021). Quantification and characterization of faecal sludge produced in Kara. *African Journal of Biotechnology*, 20(5), 194-201.

Kouawa, T. (2016). *Traitement des boues de vidange par lits de séchage sous climat soudano-sahélien* [PhD Thesis].

Makununika, B. S. N. (2016). *Thermal drying of faecal sludge from vip latrines and characterisation of dried faecal material*. [PhD Thesis].

Mallory, A., Crapper, M., & Holm, R. H. (2019). Agent-Based Modelling for simulation-based design of sustainable faecal sludge management systems. *International journal of environmental research and public health*, 16(7), 1125.

Santos, D. S., Teshima, E., Dias, S. M. F., Araújo, R. A., & Silva, C. M. R. da. (2017). Efeito da secagem em leito nas características físico-químicas e microbiológicas de lodo de reator anaeróbio de fluxo ascendente usado no tratamento de esgoto sanitário. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 22(2), 341-349.

Kouawa T., Wanko A., Beck C., Mose R., Maïga A. (2016). Feasibility study of faecal sludge treatment by constructed wetlands in Sahelian context: Experiments with *Oryza longistaminata* and *Sporobolus pyramidalis* species in Ouagadougou. *Ecological engineering*. 84, 390–397, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecleeng.2015.09.021>.

Jean RODIER, Bernard LEGUBE, Nicole MERLET et coll (2009). *Analyse de l'Eau*. 9<sup>ème</sup> édition.

Flimbe LARE (2019). *Etude de la mise en place d'une station de traitement des boues de vidange dans la commune d'ANEHO au Togo*.

Federal Institute for Water Supply, Wastewater Treatment and Water Protection (EAWAG) (2006). *Towards an improved management of faecal sludge* P 32.

Gnagne T, Kouame YF, Tenena M (2019). Sizing, operation and operation of Unsaturated Flow Drying Beds (LSENS) for the treatment of faecal sludge from septic tanks. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 13(5):114-121. DOI: [http://dx.doi.org/10.4314:ijbcs.v13i.9S](http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v13i.9S).

Kajyibwami (2018). *Sustainable management of faecal sludge in Bobo- dioulasso (Burkina-Faso)* P 99.

Katukiza AY, Ronteltap M, Niwagaba CB, Foppen JWA, Kansime F, Lens PNL (2012). *Sustainable sanitation technology options for urban slums*. *Biotechnology Advances* 30(5):964-978.

## Evaluation de l'efficacité du traitement chimique des effluents hospitaliers universitaires du département du littoral en République du Bénin

Judicaël NounagnonTodedji<sup>1</sup>, Justin Somadje Okambawa<sup>2</sup>, Waris Kéwouyèmi Chouti<sup>2,3†</sup>, Comlan Cyriaque Degbey<sup>1</sup>, Achille Dedjiho<sup>2</sup> et Daouda Mama<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institut Régional de Santé Publique, Université d'Abomey-Calavi, Ouidah, Bénin*

<sup>2</sup>*Laboratoire d'Hydrologie Appliquée, Institut National de l'Eau (INE), Université d'Abomey-Calavi 01 BP : 526 Cotonou, Bénin.*

<sup>3</sup>*Laboratoire de Chimie Inorganique et de l'Environnement, Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Université d'Abomey-Calavi BP : 4521 Cotonou, Bénin.*

### Résumé :

L'objectif de la présente étude est d'évaluer le système de traitement des effluents produits par les deux grands centres hospitaliers du département du littoral au Bénin à savoir le Centre National Hospitalier et Universitaire –Hubert Koutoukou Maga (CNHU –HKM) et Centre Hospitalier Universitaire de Mère et de l'Enfant (CHU-MEL). Les analyses ont porté principalement sur les Eléments Traces Métalliques. Les résultats ont montré que le traitement des effluents n'est pas efficace par endroit et que leurs rejets dans les eaux de surface peuvent constituer une source de pollution. Les valeurs de DCO et DBO ne respectent pas les normes de qualité de rejet des eaux usées en République du Bénin. Les éléments traces métalliques, l'arsenic et les ions fluorures respectent les normes de rejets des eaux usées. Néanmoins la pollution enregistrée par la présente étude est très dommageable au milieu récepteur. De tout ce qui précède, le système est peu efficace et mérite d'être renforcé afin de limiter les risques toxiques et infectieux. La construction de stations de traitement et d'épuration efficace dans tous les Centres Hospitaliers Universitaires du département du Littoral par les autorités est nécessaire et très urgente afin de réduire les risques sanitaire et environnemental.

**Mots-clés :** éléments traces métalliques, effluents hospitaliers, pollution, épuration, traitement

## Evaluation of the efficiency of the chemical treatment of university hospital effluents from the coastal department in the Republic of Benin

### Abstract:

The objective of this study is to assess the effluent treatment system produced by hospitals in the coastal department in Benin, in particular the two major centers, namely the National Hospital and University Center - Hubert Koutoukou Maga (CNHU –HKM) and the University Hospital Center of Mother and Child (CHU-MEL). Analyzes focused mainly on the metallic trace elements. The results showed that the treatment of effluents is not effective in places and that their discharges into surface waters can constitute a source of pollution. The COD and BOD values do not meet the quality standards for wastewater discharge in the Republic of Benin. Trace elements, arsenic and fluoride ions meet the standards for discharge of waste water at the outlet. However, the pollution recorded by this study is very damaging to the receiving environment. From all of the above, the system is ineffective and deserves to be strengthened in order to limit the toxic and infectious risks. The construction of efficient treatment and purification stations in all the University Hospitals of the Littoral department by the authorities is necessary and very urgent in order to reduce the health and environmental risks of these hospital effluents.

**Keywords:** metallic trace elements, hospital effluents, pollution, purification, treatment

---

<sup>†</sup> Auteur correspondant ; E-mail : [warichouti@fast.uac.bj](mailto:warichouti@fast.uac.bj); Tél : +229 97 48 73 20

## 1. Introduction

Dès le début du XXI<sup>e</sup> siècle, le développement de l'accès aux soins de santé et à la sécurité sociale a été à l'origine de la progression considérable de l'espérance de vie dans le monde. Bien que le développement et la consommation des médicaments aient largement contribué à ces progrès, il n'en demeure pas moins que l'utilisation croissante des produits pharmaceutiques et de soins personnels à travers le monde, ait favorisé l'émergence d'un nouveau problème environnemental lié au rejet dans la nature des contaminants émergents que constituent les résidus médicamenteux<sup>[1]</sup>. Les hôpitaux constituent aujourd'hui un grand consommateur d'eau dont la valeur moyenne passe de 400 L à 1200 L par jour à cause de la croissance démographique<sup>[2]</sup>.

Les effluents générés par les activités hospitalières peuvent présenter un danger potentiel pour l'homme et son environnement compte tenu de la nature et de l'importance des substances spécifiques qu'ils contiennent (résidus médicamenteux, réactifs chimiques, antiseptiques, détergents, révélateurs et fixateurs de radiographies...)<sup>[2-4]</sup>. Ces effluents peuvent contenir plus de polluants que les eaux usées urbaines<sup>[5,6]</sup>. Les pollutions microbiologiques, toxicologique et génotoxique (substances cancérigènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction), ajoutées à l'importance des volumes d'effluents produits (de l'ordre de 1 m<sup>3</sup>/jour/lit actif) amènent à se poser plusieurs questions sur leur risque potentiel pour l'homme et son environnement. Ces effluents sont parfois rejetés sans prétraitement compte tenu de la défaillance ou de l'inexistence des STEP.

Par ailleurs, Cotonou comme la plupart des villes africaines est confrontée à de nombreux problèmes environnementaux en particulier les inondations, le rejet des déchets solides et ménagers dans la nature, le déversement anarchique des matières de vidange et la pollution de l'air. Une étude a révélé que le Centre National Hospitalier et Universitaire Koutoukou Hubert Manga (CNHU-HKM), qui est le plus grand centre du département du Littoral au Bénin, rejette 621,6 m<sup>3</sup>/jour d'eau usée avec une concentration moyenne en DBO<sub>5</sub> de 212 mg/L ; en DCO de 266 mg/L et en NTK de 30 mg/L, qui sont largement au-dessus des normes de rejet en vigueur au Bénin<sup>[7]</sup>. Il faut également ajouter que la nappe phréatique est à moins 3 mètres du sol dans le Littoral, ainsi, de telle quantité d'eau usées à fortes charges polluantes rejetées constitue un problème environnemental et sanitaire grave.

Face à ces menaces, des solutions efficaces doivent être entreprises surtout concernant les déchets produits par les structures hospitalières qui constituent un danger alarmant du point de vue sanitaire et environnemental. C'est ainsi que, pour améliorer l'hygiène de l'environnement hospitalier au bénéfice des populations et assurer une meilleure protection de la nature, les autorités du Bénin ont procédé à la mise en place des centres de traitement par incinération dans certains centres de santé. En 1992, les gestionnaires du Centre National Hospitalier et Universitaire Koutoukou Hubert Manga (CNHU-HKM) et du Centre Hospitalier et Universitaire de la Mère et de l'Enfant-Lagune (CHU-MEL) ont construit une station d'épuration à boue activée à aération prolongée suivie d'une réfection de tout le réseau d'évacuation des déchets liquides. Malgré ces dispositions, force est de constater que beaucoup de difficultés subsistent dans le traitement des déchets générés par les deux centres.

Afin de palier à ce drame qui mine dangereusement la santé publique, la présente étude se propose donc d'évaluer le système de traitement par la caractérisation physico-chimique des eaux usées avant et après traitement des deux grands centres hospitaliers universitaires (CNHU HKM ; CNHU MEL) du département de Littoral au Bénin et de proposer des solutions.

## 2. Matériel et Méthodes

### 2.1 Présentation des sites d'étude

L'étude s'est effectuée dans les deux grandes Centres Hospitaliers Universitaires du Département du Littoral au Bénin, il s'agit du Centre National Hospitalier et Universitaire Koutoukou Hubert Manga (CNHU-HKM) et du Centre Hospitalier et Universitaire de la Mère et de l'Enfant-Lagune (CHU-MEL). Le choix de ces deux sites est motivé par leur diversité d'offre de prestations de soins et services. Ils constituent des hôpitaux de référence dans le traitement spécialisé et dans les traitements de soins curatifs, préventifs, promotionnels et réadaptatifs. Le contexte hydrogéologique de la région du CNHU-HKM et du CHU-MEL se caractérisent par une nappe souterraine peu profonde et affleurant en saison de pluie (jusqu'à 15 cm au-dessus du terrain naturel) avec un sol sablonneux très perméable.

La station de traitement des eaux usées du CNHU-HKM a une capacité de 6000 m<sup>3</sup> avec un débit de dimensionnement au départ de 350 m<sup>3</sup>/jour. C'est un système à boue activée à aération prolongée et de type hors sol. Cet ouvrage est utilisé de manière séquentielle avec une phase d'alimentation de l'ordre de quatre

heures et une phase de finition du traitement incluant la décantation, la vidange de l'eau traitée et l'extraction des boues en excès le tout pour une durée totale de quatre heures. La station fonctionne suivant un mode cyclique repartis en trois phases (aération, décantation et évacuation). L'aération est assurée par deux aérateurs suppresseurs d'air d'une puissance de 2 kW chacun, qui assurent le brassage de la masse liquide et l'insufflation d'air sous forme de microbulles. L'évacuation de l'effluent est assurée en surface par une pompe flottante de 80 m<sup>3</sup>/h. L'effluent est traité au chlore avant son rejet par une pompe doseuse de 3,3 litres de solution chlorée par heure, soit une concentration en chlore de 5 mg par litre d'effluent. Après 6 à 8 mois de fonctionnement de la station, la concentration des bactéries dans la cuve est de 50 à 60%, il faut alors extraire 30% de boue. Les effluents obtenus après traitement sont ensuite déversés dans le réseau d'assainissement pluvial (caniveaux) de la ville de Cotonou.

La station de traitement des eaux usées du CHU-MEL a une capacité de 450 m<sup>3</sup> avec un débit de dimensionnement au départ de 250 m<sup>3</sup>/jour. Elle est basée sur le un système de lagunage. Les effluents traités sont déversés dans le Chenal de Cotonou (un milieu à grande potentialité halieutique grâce à son contact avec la mer).

## 2.2 Prélèvement des échantillons

Les prélèvements ont été effectués à l'entrée et à la sortie des deux stations (CNHU-HKM et CHU-MEL). En addition à ces deux sites, des prélèvements ont été également effectués à l'entrée et à la sortie de la Buanderie CHU-MEL dans l'optique d'effectuer une comparaison de ces effluents avec ceux de la station CHU-MEL. Les flacons en plastique utilisés pour l'échantillonnage des effluents sont préalablement bien lavés, rincés et séchés au laboratoire. Ces effluents ont été bien homogénéisés avant le prélèvement. Pour l'échantillonnage, le flacon est déballé et est plongé dans les fosses septiques à l'aide d'une corde. Les échantillons ainsi obtenus sont conservés dans des glacières maintenues à une température comprise entre 2°C et 8°C pendant le transport pour garder l'intégrité des échantillons.

## 2.3 Analyse des échantillons

Il a été utilisé un multiparamètre pour les paramètres in-situ (température et pH). Au laboratoire, les échantillons sont analysés selon des méthodes et techniques standardisées. Le dosage de la Demande Biochimique en Oxygène après 5 jours (DBO<sub>5</sub>) est réalisé par la méthode Respirométrique avec des manomètres OXYTOP et VEL P. La Demande Chimique en Oxygène (DCO) est dosée par la méthode Colorimétrique. Le dosage des matières phosphorées est fait par la méthode d'acide ascorbique après minéralisation des échantillons par spectrophotomètre d'absorption DR 3000. Les Eléments Traces Métalliques (ETM) tels que : le plomb, le cadmium, le fer, le manganèse, le cuivre, le zinc, le Nickel, le cobalt, le chrome hexa valent, le chrome total et l'arsenic ont été également mesurés. Le fluorure et le sulfure ont été également pris en compte. Au total 20 paramètres ont été pris en compte au niveau des trois sites retenus.

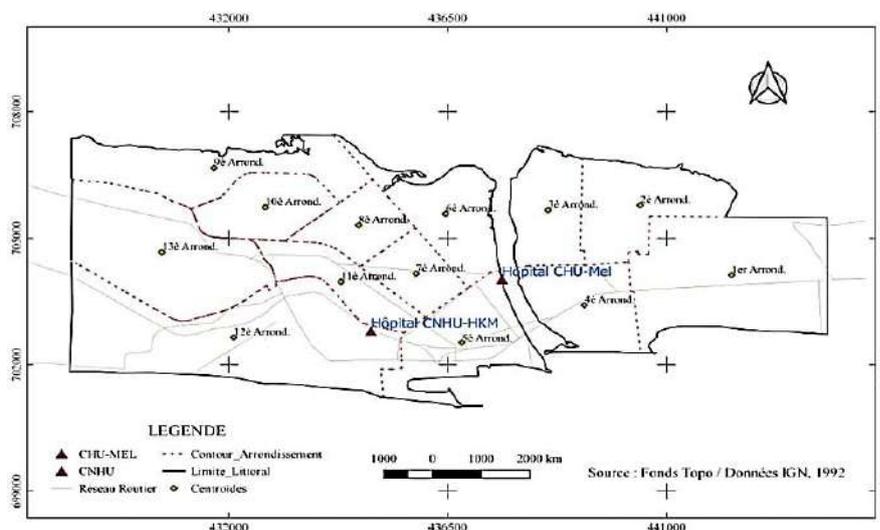


Figure 1 : Carte de localisation du CNHU-HKM et de CHU-MEL

## 2.4 Analyse des données

Les données issues de l'analyse au laboratoire ainsi que celles prises ou mesurées sur le terrain ont fait l'objet d'une analyse statistique descriptible des données des différents sites étudiés. L'outil Excel du Microsoft Office a été également utilisé pour la construction des graphiques. L'Analyse en Composante Principales Focalisée a été effectuée avec le logiciel R à l'aide des Package « Psy » et « corrplot » pour la mise en relation des variables hors-normes.

## 3. Résultats

### 3.1 Les paramètres in-situ

Le tableau I présente la variation de la température et du pH à l'entrée et à la sortie des sites d'échantillonnage. De l'analyse du tableau, il ressort que la température varie entre 29,1 et 31,1°C à l'entrée et entre 29,1 et 30°C à la sortie. Les valeurs de température des effluents après le traitement n'excèdent pas celui des milieux récepteurs de 5°C respectant ainsi les conditions de rejet des effluents hospitaliers selon la norme béninoise. Quant au potentiel d'hydrogène elle est comprise entre 6,58 et 7,26 à l'entrée et entre 6,44 et 7,05 à la sortie. Ces valeurs sont globalement comprises dans l'intervalle admis par la norme béninoise concernant les conditions de rejet des effluents hospitaliers.

### 3.2 Les matières en suspensions

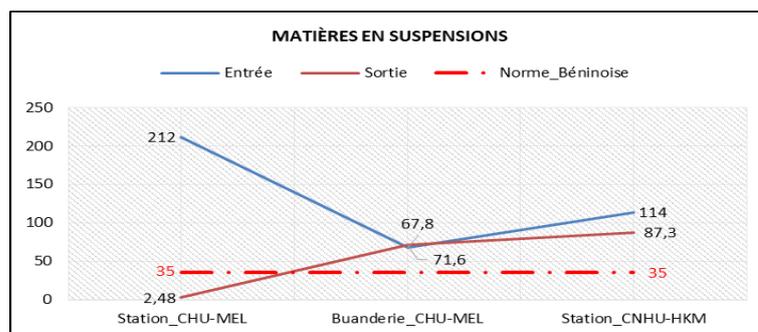
La figure 2 présente la variation de MES au niveau des sites d'échantillonnage. De l'analyse du graphique, il ressort que les teneurs en MES varient entre 71,6 et 212 mg/L avant le traitement et entre 2,48 et 87,3 après le traitement. Seuls les effluents à la sortie de la station du CHU\_MEL respectent la norme béninoise concernant les conditions de rejet des effluents hospitaliers.

### 3.3 Les éléments phosphorés et azotés

La figure 3 présente la variation de l'ortho-phosphate et de l'azote total Kjeldahl sur les sites d'échantillonnage. De l'analyse du graphique, il ressort que la charge en ortho-phosphate à diminuer sur tous les trois sites après traitement avec un contraste qui varie entre 0,82 et 1,56 mg/L dont le minimum enregistré à la buanderie CHU-MEL et le maximum à la station CNHU-HKM. Concernant la variation de l'azote total Kjeldahl sur les sites, il ressort que les différentes valeurs observées avant les traitements sont au-dessus de la limite admissible par la norme béninoise en matière d'effluent hospitaliers alors qu'après traitement elles sont toutes en dessous de ladite limite.

**Tableau I : Variations de la température et du pH**

PARAMETRES	CHU-MEL		BUANDERIE		CNHU		Normes
	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	
Température (°C)	31,1	30	29,5	29,7	29,1	29,1	(+ 5°C)/milieu récepteur
pH	7,26	7,05	6,58	6,44	7,06	6,8	6,5 - 8,5



**Figure 2 : Variation des matières en suspension à l'entrée et à la sortie des sites**

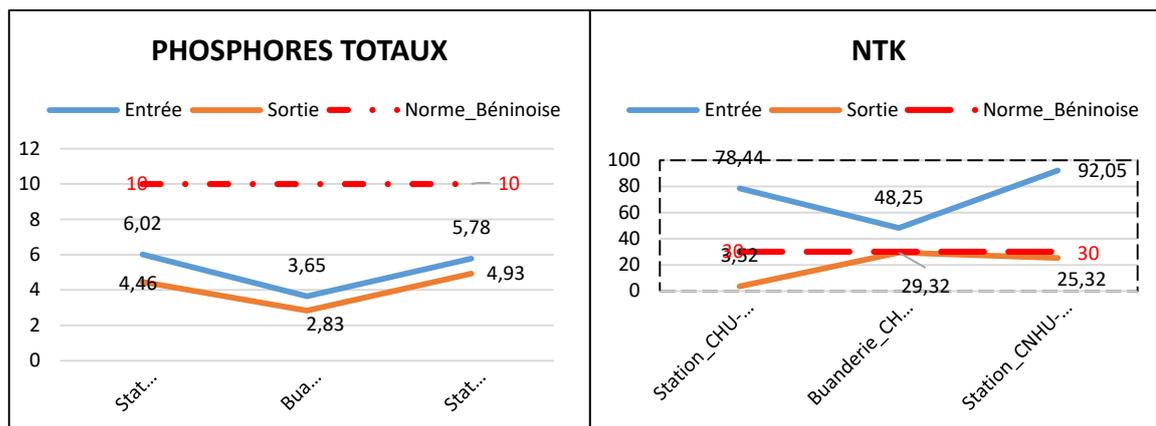


Figure 3 : Variation des valeurs du phosphore total et de NTK

### 3.4 La demande chimique et biochimique en oxygène

Le tableau II et la figure 4 présentent respectivement la variation de la DBO<sub>5</sub> et de la DCO, et du rapport DCO/DBO<sub>5</sub>. Les valeurs prises par la DBO<sub>5</sub> avant le traitement sont toutes supérieures à la norme béninoise en matière de rejet d'effluent hospitaliers. Après traitement, seule la charge en DBO<sub>5</sub> observée à la station CHU-MEL est en dessous de la limite admissible par la norme béninoise. Quant à la DCO, la charge avant et après traitement au niveau de la station CHU-MEL sont en dessous de la norme béninoise. Par contre, les valeurs obtenues avant et après traitement au niveau des deux autres sites sont toutes au-dessus de la norme béninoise en matière d'effluent hospitaliers. Le rapport DCO/DBO<sub>5</sub> donne une première estimation de la biodégradabilité de la matière organique d'un effluent. L'analyse du graphique ressort que les faibles valeurs dudit rapport sont enregistrées au niveau de la station CHU-MEL.

### 3.5 Les éléments traces métalliques

Les figures 5 au 9 présentent la variation des Éléments Traces Métalliques à l'entrée et à la sortie des sites d'échantillonnage. De l'analyse des graphiques, il ressort que les valeurs de plomb, de cadmium, de zinc, de nickel, de chrome hexa valent, de chrome total et d'arsenic sont toutes inférieures à la limite admissible par la norme béninoise concernant le rejet des effluents hospitaliers que ce soit à l'entrée ou à la sortie des sites. Il faut également noter qu'après les traitements la charge de ces éléments ont diminué comparativement à l'entrer. Quant au cuivre, après traitement, seuls les effluents de la station CNHU-HKM dépasse la norme béninoise. Les charges en cobalt observées sur les trois sites après traitement sont toutes relativement faibles. Les valeurs du fer varient entre 8,65 et 23,88 mg/L à l'entrée et entre 8,47 et 20,84 mg/L à la sortie avec les maximas obtenues à la station CHU-MEL. Les teneurs en Fer sont élevées. Compte tenu de l'inexistence d'une norme Béninoise par rapport à ce paramètre, elle dépasse cependant la valeur admissible par la norme Egyptienne pour les rejets d'eau usée dans la nature soit 1,5mg/L. Les valeurs de manganèse obtenues sont relativement faibles (tous < 0,2 mg/L) avec le minimum obtenu à la station CHU-MEL.

Tableau II : Variation de DCO et de DBO<sub>5</sub>

	CHU MEL		Buanderie		CNHU		
<b>DCO</b>	49,74	34,43	351,97	359,63	428,49	191,29	<b>125</b>
<b>DBO<sub>5</sub></b>	31	28	90	95	109	70	<b>30</b>

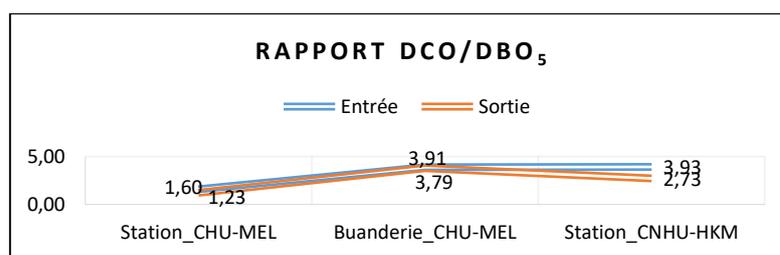


Figure 4 : Rapport DCO/DBO<sub>5</sub> à l'entrée et à la sortie des sites

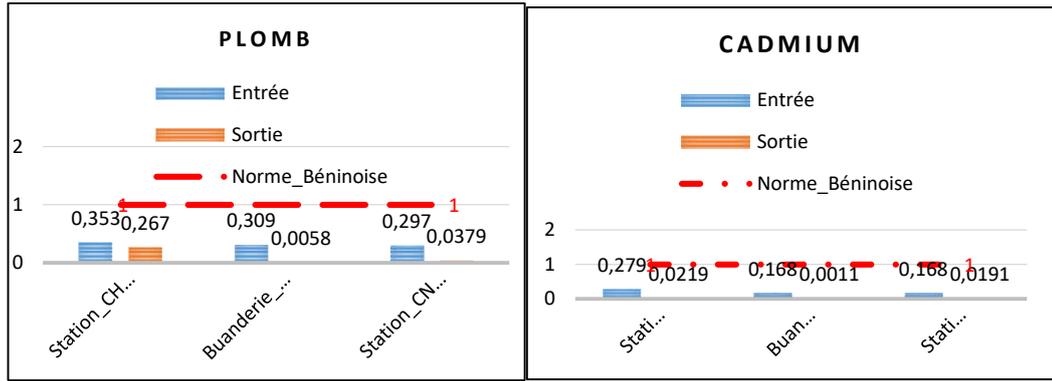


Figure 5 : Variation du plomb à l'entrée et à la sortie des sites

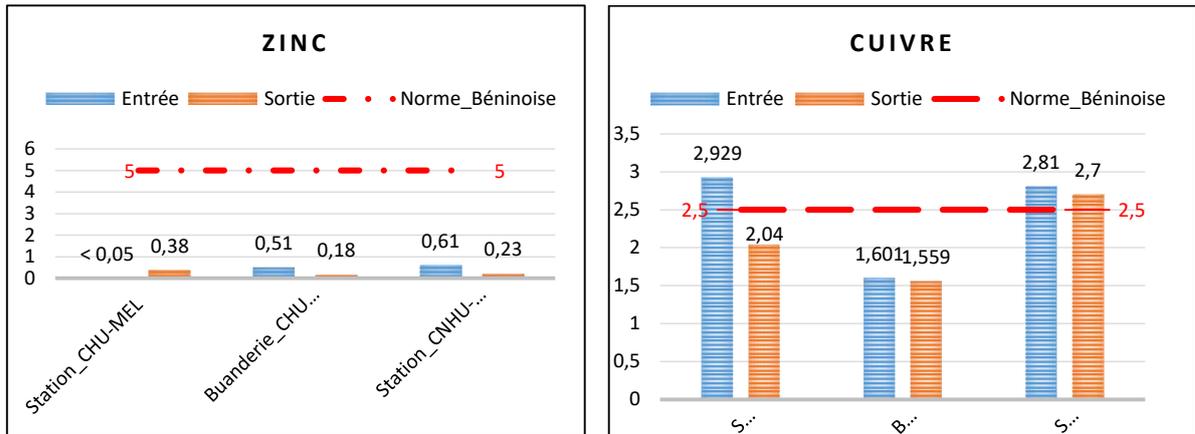


Figure 6 : Variation du zinc et du cuivre à l'entrée et à la sortie des sites

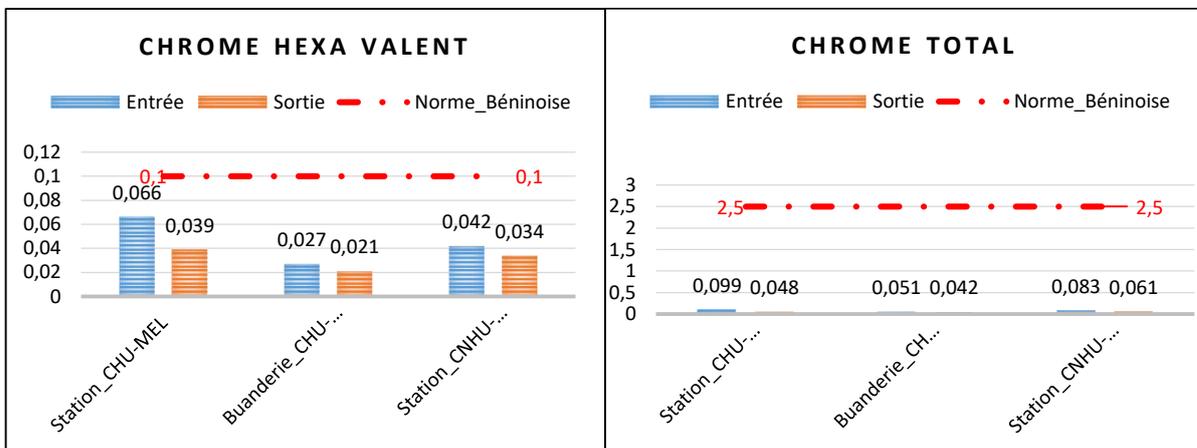


Figure 7 : Variation du chrome hexavalent et du chrome total à l'entrée et à la sortie des sites

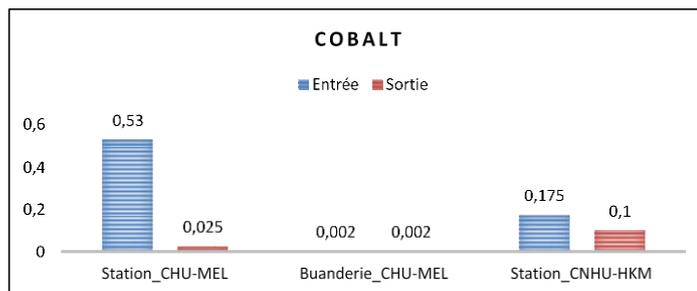


Figure 8 : Variation du cobalt à l'entrée et à la sortie des sites

### 3.6 Les éléments majeurs

Le tableau III présente la variation du fluorure et du sulfure à l'entrée et à la sortie des sites. Il ressort que les valeurs du fluorure obtenues avant et après le traitement sont toutes en faible proportion respectant ainsi la norme béninoise. Quant au sulfure, les valeurs n'ont pas été détectées par l'appareil de mesure (car  $< 0,0025$  mg/L) ; elles respectent de ce fait la norme béninoise en matière de rejet d'effluent hospitalier.

### 3.7 Analyse Statistique Entre Les Variables Hors-normes (MES–DCO–DBO<sub>5</sub>–Cu–Fe)

Compte tenu des valeurs très faibles obtenues lors de l'analyse de certains paramètres (les unes au voisinage de zéro et d'autres en dessous de la limite de détection de mesure), tous les paramètres ne peuvent être prises en compte pour l'analyse statistique et en particulier pour les calculs de corrélations. Ainsi, l'analyse statistique se fera uniquement avec les variables hors-normes (ayant des valeurs relativement élevées) afin de quantifier leurs interrelations.

#### ▪ Graphique de Corrélation (Figure 10)

Le Graphique de corrélation entre les variables hors-normes il met également en exergue une corrélation positive conséquente ( $r= 71\%$ ) entre les MES et le Cuivre ainsi qu'une faible corrélation positive ( $r= 27\%$ ) entre les MES et le Fer. Nous enregistrons une forte corrélation négative d'une part entre Fe et DCO ( $r= -83\%$ ) et d'autre part entre Fe et DBO<sub>5</sub> ( $r= -89\%$ ). Par contre, l'interrelation entre les autres combinaisons de variables sont pratiquement nulle.

#### ▪ Analyse en Composante Principale Focalisée (Figure 11)

L'Analyse en Composante Principale Focalisée sur les Matières En Suspension (MES) nous montre la corrélation entre ces derniers et les autres variables ne respectant pas la norme admise afin d'évaluer l'influence interactive qui existe entre eux. D'après l'analyse du graphique, nous remarquons que les variables Fe (Fer), Cu (Cuivre), DBO<sub>5</sub> et DCO ne sont pas significativement associées à la variable MES vu que ces dernières sont en dehors de cercle rouge. Néanmoins, les MES présente une corrélation positive relativement forte avec le Cuivre et faible avec le Fer. A côté, une très faible corrélation négative a été enregistrée avec les variables DBO<sub>5</sub> et DCO.

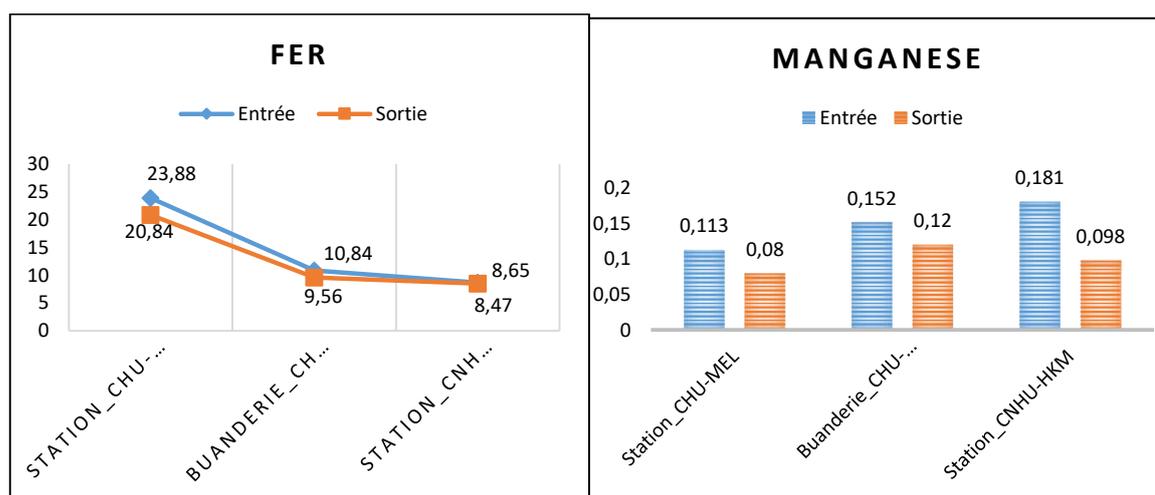


Figure 9 : Variation du fer et de manganèse à l'entrée et à la sortie des sites

Tableau III : Variation des ions fluorures

	CHU MEL		Buanderie		CNHU		Normes
F <sup>-</sup> (mg/L)	1,7	1,47	0.1	0.1	0.57	0.39	4
S <sup>2-</sup> (mg/L)	< 0,0025	< 0,0025	< 0,0025	< 0,0025	< 0,0025	< 0,0025	2,5

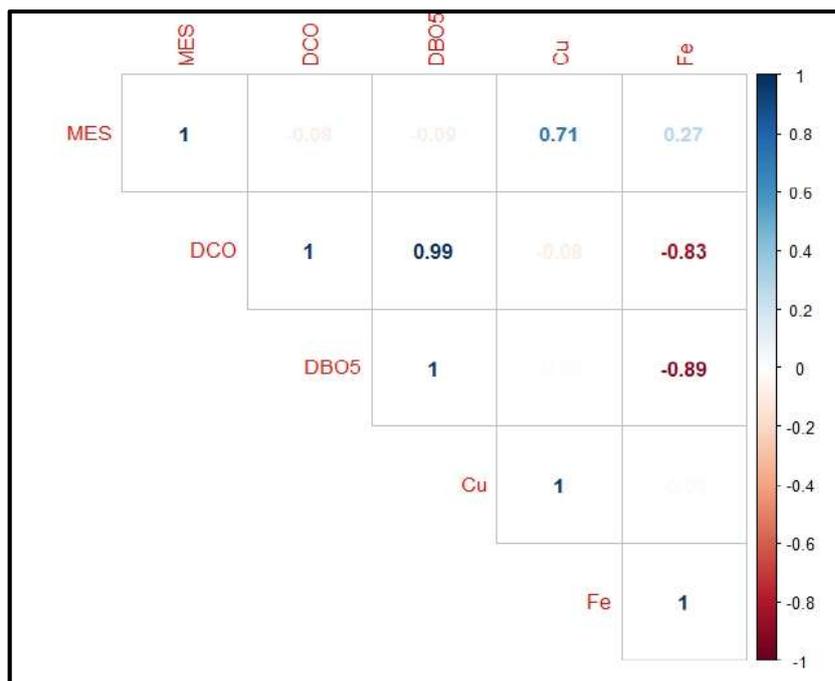


Figure 10 : Corrélation entre les variables hors-normes

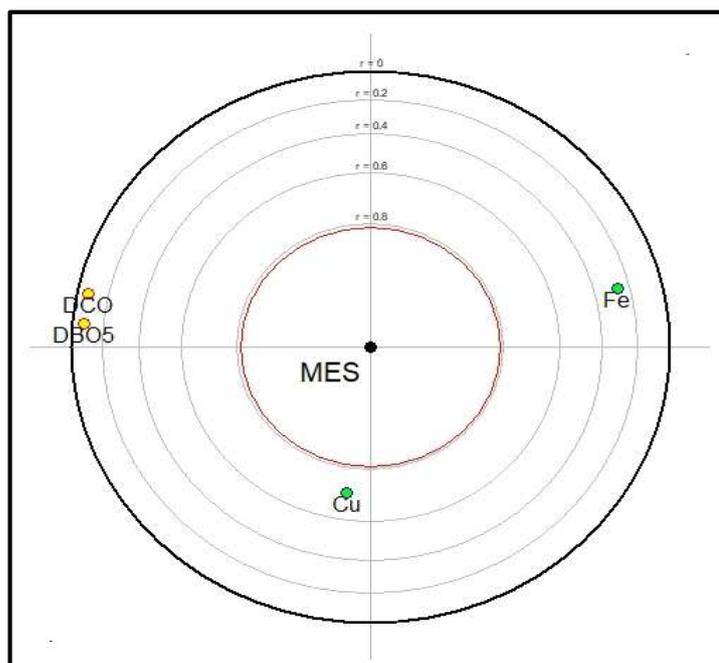


Figure 11 : ACP Focalisée sur les MES

#### 4. Discussion

Les eaux usées sont des eaux qui ont été altérées par l'activité humaine ou souillées par l'usage qui en a été fait. Le non traitement et/ou le traitement inadéquat de ces eaux usées constitue l'une des causes principales de la pollution des ressources en eau.

Le Centre National Hospitalier et Universitaire Koutoukou Hubert Manga (CNHU-HKM) et le Centre Hospitalier et Universitaire de la Mère et de l'Enfant-Lagune (CHU-MEL) sont des hôpitaux de référence qui offrent diverses prestations de soins et services. Ceci les contraint à consommer une quantité importante d'eau donnant naissance à des eaux usées. Dans l'objectif de respecter les normes environnementales, ces centres se sont dotés d'un système de traitement de ces eaux usées avant leurs rejets dans la nature.

L'analyse de ces eaux usées montre que la température et le pH respectent les conditions de rejet selon la norme béninoise car la température varie entre 29,1 à 31,1°C à l'entrée et entre 29,1 à 30°C à la sortie et le pH est compris entre 6,58 et 7,26 à l'entrée et entre 6,44 et 7,05 à la sortie. Ces valeurs de température à la sortie sont situées dans l'intervalle de celles trouvées en 2014 (22° et 30°) dans les influents de l'hôpital Alghassani de la ville de Fès au Maroc<sup>[8]</sup>. Par contre, la température enregistrée dans les influents de l'hôpital sud-est de la France traitant les maladies infectieuses est de 12°C en moyenne<sup>[9]</sup>. Ces différences sont dues au climat.

Les eaux usées de ces hôpitaux sont chargées en azote total et en phosphore à l'entrée, et sortent du système de traitement avec des concentrations plus faibles, inférieures à la norme béninoise des rejets. Cette diminution pourrait s'expliquer par la dégradation de ces éléments par le système de traitement mis en place. Il faut également noter que les études effectuées en 2018 montrent une valeur moyenne de 28,78 mg/L de NTK dans les effluents de CHU-MEL alors que dans le cas de la présente étude, elle est de 3,52 mg/L après traitement<sup>[10]</sup>. Il en est de même pour le phosphore total qui respecte les normes de rejet dans la présente étude alors qu'elle était de 15,03 mg/L dans les effluents du CNHU-HKM et de 39,64 mg/L dans les effluents de CHU-MEL selon une étude antérieure<sup>[11]</sup>.

La DBO<sub>5</sub> permet d'évaluer la fraction des polluants organiques biodégradables. A l'analyse des résultats, on observe que les valeurs de DBO<sub>5</sub> à la sortie de la station des sites 1 et 3 sont respectivement 95 mg/L et 70 mg/L. Ces valeurs sont supérieures à la norme et sont inférieures aux valeurs trouvées en 2019 au niveau des mêmes stations qui sont respectivement 183,57 mg/L et 104 mg/L<sup>[12]</sup>. Cette différence s'explique par l'amélioration de la performance des équipements de traitement mise en place. Ces valeurs sont inférieures à celle obtenue en 2001 au niveau de l'hôpital sud-est de la France<sup>[9]</sup>. Cette différence est liée à la nature des rejets qui dépend essentiellement du nombre de patient mais aussi à la performance du système d'épuration vis-à-vis des polluants organiques biodégradables.

La DCO, qui permet d'évaluer en somme tout ce qui est biodégradable et non, est de 34,47 mg/L et 191, 29 mg/L respectivement à la sortie des sites 1 et 3. La valeur trouvée sur le site 1 respecte la norme par contre celle du site 3 ne respecte pas la norme. Ce s'explique par le fait qu'il y ait une augmentation du nombre de patients donc une augmentation du volume de rejet, ceci affaiblit le fonctionnement du système.

Le rapport DCO/DBO calculé sur chaque site de prélèvement est de 1,22 sur le site 1 ; 3,78 sur le site 2 et 2,73 sur le site 3. À l'exception du site 1, les effluents des autres sites 2 et 3 sont non biodégradables car DCO/DBO > 2,5. Les eaux usées du site 1 s'apparentent à des eaux usées domestiques et l'épuration biologique peut être directement réalisable. Par contre celles des sites 2 et 3 se dégradent difficilement. Ce qui prouve que ces eaux usées contiennent des polluants non biodégradables. Parmi les polluants non biodégradables, on peut citer les ETM qui sont des polluants persistants non biodégradables et dangereux à l'environnement. Ils sont présents dans les rejets liquides des différents services médicaux à cause de l'utilisation des appareils de mesure et de solutions à base de métaux dans les hôpitaux des pays en voie de développement<sup>[13]</sup>.

Les valeurs des paramètres tels que les MES, la DBO<sub>5</sub> et la DCO dépassent la limite admissible de rejet même après traitement au niveau de la station de CNHU-HKM contrairement à celles de CHU-MEL qui respectent les normes de rejet. Selon les deux études citées précédemment<sup>[10, 11]</sup>, ces teneurs excédaient également la limite admissible à la station de CNHU-HKM ainsi que celles de CHU-MEL. Nous pouvons dire que l'amélioration de la qualité de traitement des effluents à la station de CHU-MEL est plus ou moins effective compte tenue des paramètres étudiés dans la présente étude, ce qui n'est pas le cas au niveau de la station de CNHU-HKM. Ceci peut être partiellement dû à la charge importante de polluants produits par le centre CNHU-HKM qui est le plus grand centre traitant les cas graves et critiques de maladies sur toute l'étendue du territoire nationale.

Les ETM analysés dans ces eaux usées sont le plomb, le cadmium, le fer, le cuivre, le zinc, le manganèse, le nickel, le cobalt, le chrome hexa valent, le chrome total, l'arsenic et le cuivre. Les différentes valeurs enregistrées lors des analyses sur les ETM ont révélé des teneurs faibles en métaux à l'entrée comme à la sortie (plomb, cadmium, zinc, nickel, chrome hexa valent, chrome total et arsenic) et inférieures à la limite admissible par la norme béninoise. Mais l'introduction continue de ces métaux en milieu aquatique peut avoir des effets néfastes sur les organismes aquatiques à cause de leur propriété de bioaccumulation<sup>[14, 15]</sup>. Cette dernière peut occasionner un certain nombre de perturbations chez l'homme : atteintes rénales, osseuses, neurologiques et/ou digestives, troubles cancérogènes et/ou mutagènes<sup>[16, 17]</sup>. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus en 2019 sur les sites 1 et 3<sup>[12]</sup> et en conformité avec ceux en 2016 dans les effluents des établissements de santé de Dakar (Sénégal) qui ne révèlent pas des concentrations élevées en métaux (cadmium, cuivre, nickel, zinc et plomb) à l'exception du cuivre<sup>[18]</sup>.

Le graphique de corrélation entre les variables hors-normes confirme l'interdépendance positive entre la DCO et la DBO<sub>5</sub>, c'est-à-dire qu'ils évoluent proportionnellement et dans le même sens. Ce même graphique (Figure 8) montre une interdépendance négative entre les teneurs de DCO et de Fe ainsi que les teneurs de DBO<sub>5</sub> et de Fe. En thème littéral, cela signifie que, plus la quantité d'oxygène est utilisée par les matières oxydables augmente et plus la teneur en Fe diminue.. Enfin une forte corrélation positive entre les Matières En Suspension (MES) et le Cuivre(Cu) a été enregistrée sur le graphique de corrélation (Figure 10) et plus clairement sur le graphique de l'Analyse en Composante Principale (ACP) Focalisée (Figure 11). Tout d'abord, il est important de savoir que les MES permettent de quantifier les matières (organiques ou minérales) non dissoutes dans l'eau. Elles ont pour conséquence directe d'empêcher la pénétration de la lumière et de diminuer l'oxygène dissous dans l'eau. Cependant, les MES peuvent aussi interférer sur la qualité d'une eau par des phénomènes d'adsorption de certains Eléments Traces Métalliques (ETM) tel que le Cuivre (Cu). Ceci explique ainsi la corrélation positive entre ces deux éléments. Les essais d'adsorption du cuivre sur les MES montrent que la cinétique d'adsorption est relativement rapide : après 3h30 d'équilibre 90 à 95% du cuivre ajouté est sous forme solide et après 146h le taux est passé à 95-97,5% et ceci pour des rapports solide/liquide de 0,5 à 2 g de MES par litre d'eau<sup>[19]</sup>. La relation entre les MES et Cu s'avère donc évidente et confirme l'hypothèse de ces auteurs. Il est donc nécessaire de diminuer la charge de MES dans l'optique de réduire le taux des ETM, soit du Cuivre (Cu).

## 5. Conclusion

Au terme de la présente étude et compte tenu des paramètres évalués, il ressort que la station de traitement du Centre Hospitalier et Universitaire de la Mère et de l'Enfant-Lagune (CHU-MEL) respect globalement les normes de rejet des effluents dans l'environnement. Quant au Centre National Hospitalier et Universitaire Koutoukou Hubert Manga (CNHU-HKM), un progrès considérable a été fait comparativement aux données enregistrées lors des études précédentes d'autres auteurs. C'est également le cas pour la station CHU-MEL. Par ailleurs, la station CHNU-HKM devrait redoubler d'effort dans l'amélioration de son système de traitement d'effluents hospitalier afin de se conformer rigoureusement aux normes admissibles non seulement pour la protection de l'environnement et de la biodiversité aquatique, mais aussi pour la protection de la santé publique. Enfin, soulignons que la station CHU-MEL n'est pas épargnée de cette recommandation d'amélioration continue de son système de traitement afin de protéger le réceptacle final (Chenal de Cotonou) de ses effluents.

## 6. Remerciements

Ce travail a été financé par l'Université d'Abomey-Calavi à travers le Programme Fonds Compétitifs de Recherche Troisième phase [No 632-2018/UAC/SG/AC/SAF/VR-RU/SPRSP/SA]

## 7. Références Bibliographiques

- [1] Yessoufou A. Etude diagnostique de la pollution métallique, produits pharmaceutiques et de soins personnels (PPSP) en milieux aquatiques : cas des sédiments du lac Nokoué, du déversoir d'eaux usées d'hôpital et des boues de la station d'épuration SIBEAU au Bénin. Thèse de doctorat, Université d'Abomey-Calavi. (2017), 130p sans annexe.
- [2] Boillot C. Évaluation des risques éco-toxicologiques liés aux rejets d'effluents hospitaliers dans les milieux aquatiques : Contribution à l'amélioration de la phase "caractérisation des effets". Thèse de doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, France, (2008). 299p.
- [3] Santos LH, Gros M, Rodriguez-Mozaz S, Delerue-Matos C, Pena A, Barcelo D et Montenegro MC. Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: identification of ecologically relevant pharmaceuticals. *Sci. Total Environ.*, (2013), 461:302–316.
- [4] Verlicchi P, Al Aukidy M, Galletti A, Petrovic M et Barcelo D. Hospital effluent: investigation of the concentrations and distribution of pharmaceuticals and environmental risk assessment. *Sci.Total Environ.*, (2012). 430:109–118.
- [5] Verlicchi P, Galletti A, Petrovic M et Barcelo D. Hospital effluents as a source of emerging pollutants: an overview of micropollutants and sustainable treatment options. *J Hydrol*, (2010). 389:416–428.
- [6] Maheshwari M, Yaser NH, Naz S, Fatima M et Ahmad I. Emergence of ciprofloxacin-resistant extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing enteric bacteria in hospital wastewater and clinical sources. *J GlobAntimicrobResist.* (2016). 5:22–25.

- [7] Fagnigbo, H. Gestion des effluents domestiques en milieu hospitalier : cas du centre national hospitalier Hubert Koutoukou Maga de Cotonou (Bénin). Mémoire pour l'obtention du master en ingénierie de l'eau et de l'environnement à l'Institut International d'Ingénierie de l'Eau et de l'Environnement, (2012), 82p.
- [8] Berrada S, Squalli FZ, Squalli HT, Hannin M, El Oualti A, El Ouali Lalami A. Recyclage des effluents du service d'hémodialyse de l'hôpital Al Ghassani de la ville de Fès : caractérisation avant et après traitement. *J. Mater. Environ. Sci.* 5 (S1) (2014) 2265-2277. ISSN : 2028-2508 CODEN: JMESCEN.
- [9] Emmanuel E, Jean-Marie B, Gérard K, Yves P. Caractérisation chimique, biologique et écotoxicologique des effluents hospitaliers. *Déchets - revue francophone d'écologie industrielle - n° 22 - 2ème trimestre 2001.*
- [10] Adanloknonon EAS, Kanhounon WG, Chabi BC, Adjahouinou DC, Koumolou L, Bonou B, Fiogbe ED et Aléodjrodo EP. Physicochemical and microbiological characterization of effluents from the "Centre Hospitalier Universitaire de la Mère et de l'Enfant Lagune (CHU-MEL)" discharged in the Cotonou lagoon in Benin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, (2018). 12(4): 1955-1964.
- [11] Todedji JN, Degbey CC, Soclo E., Yessoufou A, Goudjo F, Hounfodji JF, Suanon F et Mama D. Caractérisation physico-chimique et toxicologique des effluents des Centres Hospitaliers et Universitaires du département du Littoral du Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* (2020), 14(3): 1118-1132.
- [12] Soclo, E. Evaluation de la qualité des effluents produits par les centres hospitaliers universitaires du département du littoral au Bénin en 2019. Mémoire pour l'obtention du master à l'Institut Régional de la Santé Publique, Université d'Abomey-Calavi (Bénin). (2019).
- [13] Jones OAH, Voulvoulis N, Lester JN. Aquatic environmental assessment of the top 25 english prescription pharmaceuticals. *Water Research*, (2002), 36: 5013-5022. doi:10.1016/S0043-1354(02)00227-0
- [14] Lim SR, Schoenung JM. Human health and ecological toxicity potentials due to heavy metal content in waste electronic devices with flat panel displays. *Journal of Hazardous Materials*, (2010), 177: 251-259. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.12.025.
- [15] Baby J, Raj JS, Biby ET, Etsankarganesh P, Jeevitha MV, Ajisha SU, Rajan SS. Toxic effect of heavy metals on aquatic environment. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, (2010), 4(4): 939-952. <http://ajol.info/index.php/ijbcs>.
- [16] Oliveira H, Lopes T, Almeida T, Pereira ML, Santos C. Cadmium-induced genetic instability in mice testis. *Hum Exp Toxicol.*, (2012), 31(12): 1228-1236. <http://dx.doi.org/10.1177/0960327112445937>
- [17] Prozialeck WC, Edwards JR. Mechanisms of Cadmium-Induced Proximal Tubule Injury: New Insights with Implications for Biomonitoring and Therapeutic Interventions. *J PharmacolExpTher.*, (2012), 343(1): 2-12. <http://dx.doi.org/10.1124/jpet.110.166769>
- [18] Guigues N et Coroller M. Etude de l'influence des matières en suspension sur la concentration en phosphore, bore, cuivre, zinc et autres métaux lourds dans l'eau, en aval d'une centrale nucléaire située dans la vallée de la Loire. BRGM/RP-52750-FR, (2004). 75p.
- [19] Toure A, Garat A, Diop C, Cabral M, Epote MJ, Leroy E, Fall M, Diouf A, Dehon B et Allorge D. Présence de métaux lourds et de résidus médicamenteux dans les effluents des établissements de santé de Dakar (Sénégal). *Int. J. Biol. Chem. Sci.* (2016), 10(3): 1422-1432, June 2016 ISSN 1997-342X (Online), ISSN 1991-8631 (Print). <http://ajol.info/index.php/ijbcs> <http://indexmedicus.afro.who.int>

## Valorisation des argiles de Katiola (Côte d'Ivoire) dans la synthèse de photocatalyseur pour la dégradation de colorant organique

Pohan Lemeyonouin Aliou Guillaume<sup>1\*</sup>, Hervé Gouré-Boubi<sup>1</sup>, Amadou Kouyaté<sup>2</sup>, Lassiné Ouattara<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Unité de formation et de recherche des Sciences Biologiques, Université Peleforo Gon Coulibaly, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

<sup>2</sup> Université Jean Lorougnon Guédé, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire

<sup>3</sup>Laboratoire de Chimie Physique, UFR SSMT, Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody, Abidjan, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

### Résumé

L'adsorption et de la photocatalyse sont couramment utilisées dans le traitement des eaux usées. C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail. L'objectif était de synthétiser des matériaux à base d'argile et de TiO<sub>2</sub> puis de les utiliser dans le traitement d'une eau usée synthétique (méthyl orange (MO)). Ces matériaux de type « Argile-TiO<sub>2</sub> » ont été synthétisés par méthodes sol-gel et hydrothermal, en utilisant des argiles de Katiola (Côte d'Ivoire) et du tétra-isopropoxyde de titane comme précurseurs. Les composites synthétisés ont été caractérisés par DRX, SEM / EDX, FTIR et BET. L'étude du pouvoir adsorbant des matériaux a été réalisée dans l'obscurité (t = 30 min). L'activité photocatalytique a été menée sous irradiation UV, avec et sans Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (réactif de Fenton). 7% de MO ont été éliminés par adsorption seule, 32% et 60% de MO ont été éliminés par le pouvoir synergique de l'adsorption et de la photocatalyse, respectivement en l'absence puis en la présence de réactif Fenton (6h d'irradiation). « Argile-TiO<sub>2</sub> » dégrade efficacement MO grâce à l'effet synergique du pouvoir adsorbant des argiles et des propriétés photocatalytiques de TiO<sub>2</sub>. L'étude de l'influence de pH et des ions Cl<sup>-</sup> sera envisagée afin d'améliorer ce travail.

**Mots-clés :** Dioxyde de titane, Argile, Photocatalyse, Méthyle orange

### Abstract

Adsorption and photocatalysis are commonly used in wastewater treatment. This is the context in which this work takes place. The objective was to synthesize materials based on clay and TiO<sub>2</sub> and then use them in the treatment of synthetic wastewater (methyl orange (OM)). These materials of the "Clay-TiO<sub>2</sub>" type were synthesized by sol-gel and hydrothermal methods, using clays from Katiola (Ivory Coast) and titanium tetra-isopropoxide as precursors. The synthesized composites were characterized by DRX, SEM / EDX, FTIR and BET. The study of the adsorbing power of the materials was carried out in the dark (t = 30 min). The photocatalytic activity was carried out under UV irradiation, with and without Fe<sup>2+</sup> / H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Fenton's reagent). 7% of OM were removed by adsorption alone, 32% and 60% of OM were eliminated by the synergistic power of adsorption and photocatalysis, respectively in the absence and then in the presence of Fenton reagent (6 hours of irradiation). "Clay-TiO<sub>2</sub>" effectively degrades MO thanks to the synergistic effect of the adsorbing power of clays and the photocatalytic properties of TiO<sub>2</sub>. The study of the influence of pH and Cl<sup>-</sup> ions will be considered in order to improve this work.

**Keywords :** Titanium dioxide, Clay, Photocatalysis, Methyl orange

## 1. Introduction

Les colorants textiles et autres composés industriels constituent une menace environnementale accrue pour l'écosystème et sa préservation. Dans leur grande majorité, les colorants comprennent des groupes azo (N=N) associés à des cycles benzéniques ou naphthalènes [1-2] et se retrouvent dans les eaux usées rejetées dans l'environnement [3]. Face à ce constat, il est primordial de proposer des techniques afin de réduire la présence des colorants dans l'environnement [4-5].

Depuis les trois dernières décennies, de nombreux travaux se sont intéressés à la photocatalyse comme alternative prometteuse à la réduction des polluants environnementaux [6]. Cette technique, peu consommatrice d'énergie, est basée sur la production de radicaux hydroxyles, capables d'oxyder les polluants organiques. La génération de radicaux libres est initiée par interaction de photons avec les molécules ou espèces chimiques présentes en solution ou avec un catalyseur [7]. Dans cette technique, le dioxyde de titane (TiO<sub>2</sub>) est généralement choisi comme photocatalyseur, en raison de ses très bonnes propriétés oxydantes et antibactériennes [8]. Bien que le TiO<sub>2</sub> soit un excellent photocatalyseur, son utilisation est entravée par un manque d'absorption de la lumière dans le domaine du visible et à une baisse de son pouvoir photocatalytique au cours d'une utilisation prolongée [9]. Pour contourner cette limite, le TiO<sub>2</sub> a été immobilisé sur divers supports.

Dans cette étude, l'application de TiO<sub>2</sub> immobilisé sur une argile de Côte d'Ivoire pour le traitement des eaux usées est rapportée. Une solution aqueuse contenant de l'orange de méthyle (MO) a été choisie comme composé modèle pour simuler les eaux usées industrielles. Les résultats obtenus suggèrent que les nanoparticules de TiO<sub>2</sub> immobilisées sur l'Argile peuvent être utilisées comme agent photocatalytique pour la dégradation des polluants organiques dans l'environnement notamment en milieu aqueux. Ce travail est une nouveauté afin de contribuer à la valorisation des argiles, notamment celles de Côte d'Ivoire.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1 Matière première

Le matériau argileux utilisé dans ce travail a été collecté dans la région de Hambol (Nord de la Côte d'Ivoire), précisément dans la commune de Katiola. L'argile a été nommé d'après sa couleur en français (Rouge (R)).

## 2.2 Produits chimiques

Le tétra-isopropoxyde de titane ( $\geq 99\%$ ), l'hydroxyde de sodium (NaOH,  $\geq 99\%$ ) proviennent de Fulka, le sel de fer ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (pureté (98,99 %)) et  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30 %) sont fournis par ScharlauChemia SA, et le méthyl-orange (pureté E. Merck 99,98%). Tous ces réactifs étaient de qualité analytique et utilisés sans autre purification. De l'eau distillée a été utilisée tout au long de nos expériences.

## 2.3 Synthèse de $\text{TiO}_2$ par sol-gel

$\text{TiO}_2$  a été synthétisé par la méthode sol-gel, en utilisant 60 ml de  $\text{HNO}_3$  1 M et 15 ml de tétra-isopropoxyde de titane. En bref, du tétra-isopropoxyde de titane a été ajouté progressivement à la solution aqueuse de solution de  $\text{HNO}_3$  sous agitation continue pendant 3 heures pour produire un sol transparent. Par la suite, le pH de la solution colloïdale a été ajusté à 3 avec l'ajout de NaOH 1 M, ce qui donne un colloïde trouble. La suspension a ensuite été agitée pendant 2 heures supplémentaires à température ambiante, suivie d'une filtration (Millipore 0,45  $\mu\text{m}$ ) et d'un lavage répété avec de l'eau désionisée jusqu'à ce que le pH du surnageant soit d'environ 6. Le  $\text{TiO}_2$  résultant a été séché dans un four pendant 1 heure à  $100^\circ\text{C}$  et finalement la poudre a été recuite à  $500^\circ\text{C}$  pendant 3 heures.

## 2.4 Préparation de matériaux composite « Argile- $\text{TiO}_2$ »

L'« Argile- $\text{TiO}_2$  » a été synthétisée par simple mélange de sol de  $\text{TiO}_2$  obtenu par le procédé décrit ci-dessus et d'argile préalablement lavée et activée; a noté RW. Le mélange est réalisé avant la calcination finale à  $500^\circ\text{C}$  pendant 3 heures, selon un rapport massique 1:1. Les matériaux composites obtenus ont été notés R- $\text{TiO}_2$ .

## 2.5 Caractérisation des matériaux composites

Les spectres de diffraction des rayons X (XRD) ont été obtenus à l'aide d'un diffractomètre modèle Bruker multifonctionnel D8 ADVANCE. La méthode Brunauer Emmett et Teller (BET) a été utilisée pour déterminer la surface spécifique des échantillons, en utilisant un équipement TriStar II de Micromeritics. L'observation microstructurale des échantillons a été réalisée à l'aide d'une Microscopie Electronique à Balayage de type « FEI, Quanta FEG 450, Environmental ». La caractérisation structurale des matériaux composites préparés a été analysée à l'aide de la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) (Thermo- Nicolet 6700P FTIR Spectrometer (USA)).

## 2.6 Expériences de photocatalyse

Les expériences de photocatalyse ont été réalisées à température ambiante (avec ou sans réactif Fenton), sous agitation (à l'aide d'un agitateur magnétique VELP Scientifica ARE-6, à 100 tr/min). Durant toutes les expériences, un rapport constant masse de substrat : volume de solution a été fixé à 0,1 g (R- $\text{TiO}_2$ ) : 50 ml (solution). Les expériences ont été réalisées sous irradiation UV à l'aide d'un réacteur fait maison, équipé de trois tubes à lumière noire F18 W/T8 (Philips), émettant une lumière UV, généralement de 340 à 400 nm, avec  $\lambda_{\text{max}}$  (émission) = 365 nm.

## 2.7 Analyse des polluants

Le méthyle orange (MO) a été analysé par spectrophotométrie UV-vis (Perkin Elmer Lambda 25), sur la courbe d'étalonnage enregistrée  $\lambda = 460$  nm. La quantité de polluants absorbés par les adsorbants (capacité d'adsorption),  $q_t$ , l'efficacité d'élimination,  $\eta$ , pourcentage ont été calculés en utilisant les équations suivantes : (1) et (2) ;

$$\eta = \frac{c_0 - c_t}{c_0} \times 100 \quad (1)$$

$$q_t = \frac{c_0 - c_t}{m} \times V \quad (2)$$

où  $c_0$  représente la concentration initiale des polluants ;  $c_t$  représente la concentration des polluants à l'instant  $t$  ;  $V$  le volume de solution (L) et  $m$ , la quantité de substrat (g).

## 3. Résultats et discussion

### 3.1 Caractérisation des matériaux composites

La structure du composite synthétisé a été étudiée en utilisant la diffraction des rayons X. Les diagrammes de diffraction sont présentés sur les figures 1 A et B, pour respectivement RW et R- $\text{TiO}_2$ . De plus, des pics de quartz de haute et basse intensité situés à  $2\theta$   $21^\circ$ ,  $25,5^\circ$ ,  $39,2^\circ$ ,  $40^\circ$  et  $42,3^\circ$  sont observés. La présence de fer est confirmée par des pics de goethite à  $34,1^\circ$  et  $36^\circ$ . Les pics d'illite sont observés à  $9^\circ$ ,  $18^\circ$  et  $46^\circ$ . Après l'ajout de  $\text{TiO}_2$ , les pics de diffraction de l'anatase ont été détectés dans le spectre de rayons X de R- $\text{TiO}_2$  (figure 1B). Le pic 100 de l'anatase est apparu à  $26,0^\circ$  ;  $12,0^\circ$  et d'autres pics sont détectés à  $36,0^\circ$ ,  $38,1^\circ$  et  $46,0^\circ$ . La surface spécifique de RW et de R- $\text{TiO}_2$  a été obtenue par méthode BET est respectivement 11,48 et 19,12  $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ . Pour approfondir la caractérisation des matériaux composites synthétisés, les mesures SEM et FTIR ont été réalisées. Les résultats sont présentés

respectivement sur les figure 2 et la figure 3. La figure 2 (A) montre des plaquettes de kaolinite et des grains de quartz. Ces résultats sont en corrélation avec l'analyse par diffraction des rayons X. Sur la figure 2 (B) on observe une modification de la morphologie de surface de l'argile. La micrographie de R-TiO<sub>2</sub> montre la formation d'agrégats.

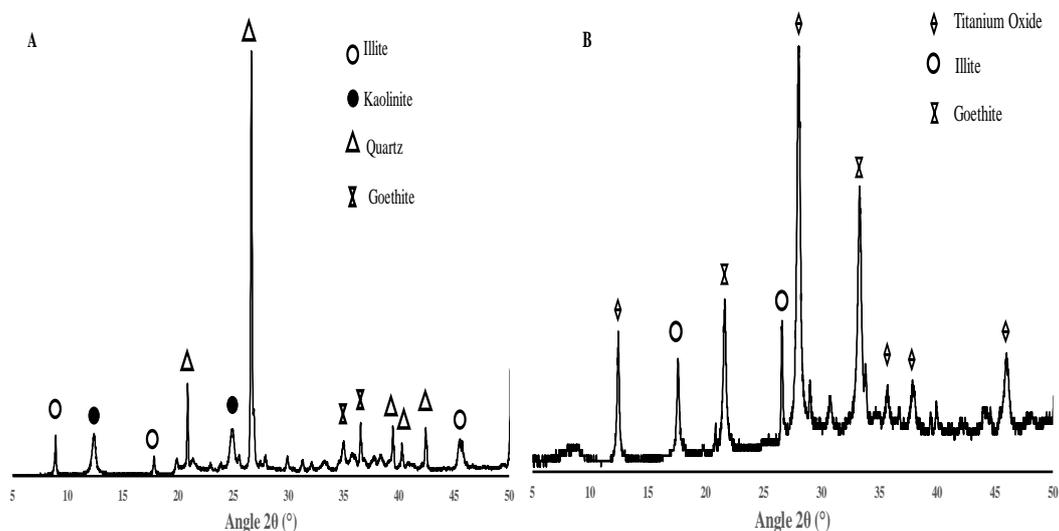


Figure 1 : Diagrammes XRD ((A) : RW et (B) : R-TiO<sub>2</sub>)

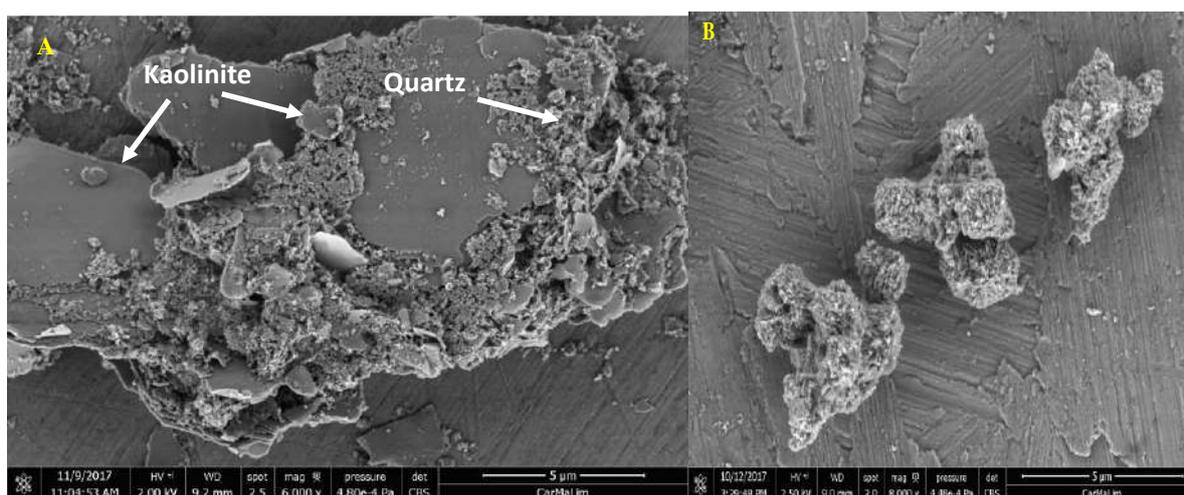


Figure 2 : SEM ((A) : RW et (B) : R-TiO<sub>2</sub>)

Sur la figure 3, les spectres montrent des pics autour de 3500 cm<sup>-1</sup> dus à la présence de vibrations d'étirement OH dans les échantillons sous forme de Ti-OH. Ces pics autour de 1000 cm<sup>-1</sup> pourraient être attribués aux groupes fonctionnels liés à l'oxygène dans TiO<sub>2</sub>. Les pics observés vers 2360 cm<sup>-1</sup> représentent le CO<sub>2</sub> adsorbé.

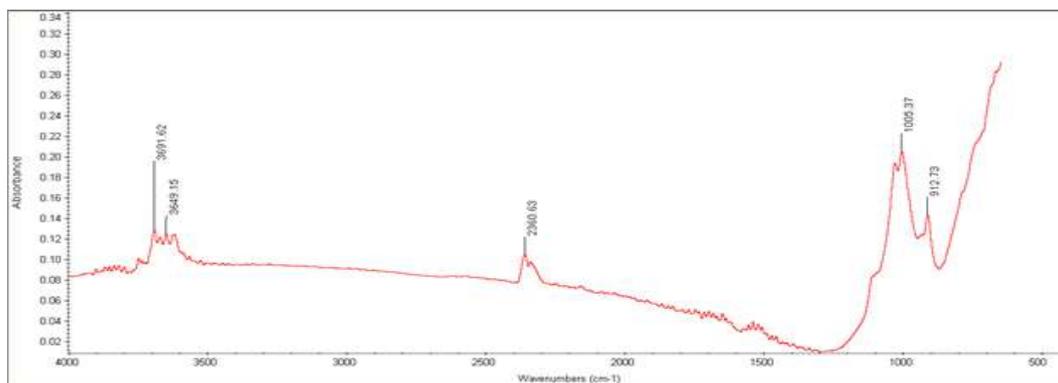


Figure 3: FTIR de R-TiO<sub>2</sub>

### 3.2 Activités photocatalytiques de R-TiO<sub>2</sub>

Après les 30 minutes d'adsorption à l'obscurité,  $\eta$  (pourcentage d'élimination de MO) est de 7 %. Les propriétés photocatalytiques du matériau synthétisé ont été évaluées en utilisant MO comme polluant en milieu aqueux. La figure 4 montre la mesure de l'absorption UV/Vis en fonction du temps. Sur cette figure, l'on observe une diminution de l'intensité du pic d'absorption à 460 nm et la formation d'un pic faible à 650 nm. Cette diminution indique la dégradation des molécules de méthyl orange par le R-TiO<sub>2</sub> et un possible clivage de la liaison azoïque. La figure 5 présente la dégradation de MO par photocatalyse et photo-Fenton. Comme on peut le voir, l'efficacité de la dégradation de MO augmente en utilisant le système Fenton (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup>). Après 60 min, 15,02 % de MO ont été éliminés et l'efficacité d'élimination augmente jusqu'à 60 % après 360 min. Le mélange de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et Fe<sup>2+</sup> dans le milieu conduit à la production de radicaux hydroxyles qui oxydent efficacement les polluants organiques.

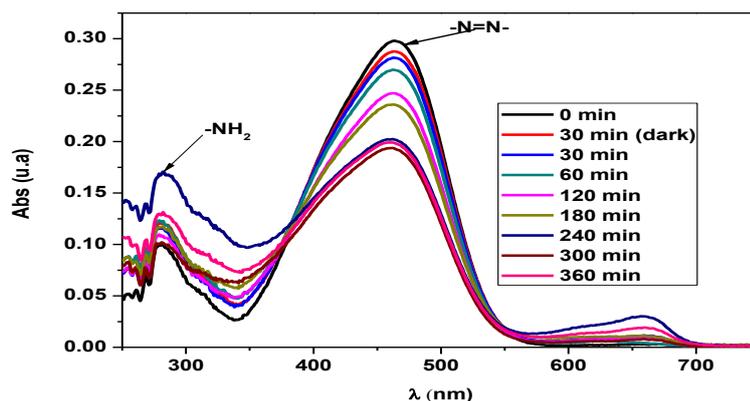


Figure 4: Mesure de l'absorption UV/Vis en fonction du temps de la photodégradation de l'orange de méthyle.

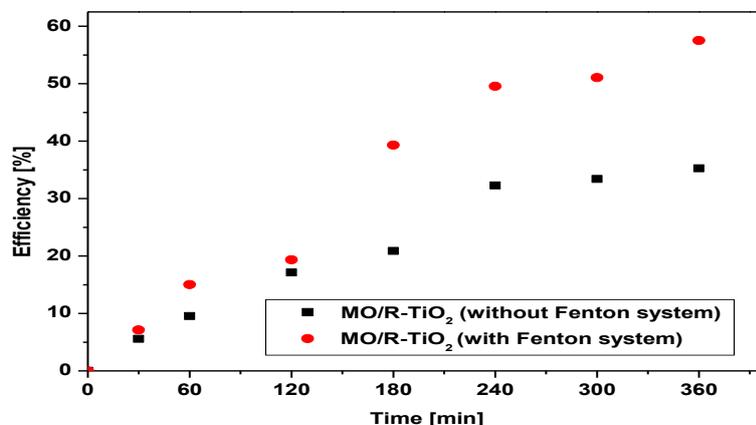


Figure 6 : Efficacité d'élimination du méthyl-orange sur R-TiO<sub>2</sub> avec et sans système Fenton.

## 4. Conclusion

Des nanoparticules de TiO<sub>2</sub> ont été préparées avec succès par la méthode sol-gel et immobilisées sur de l'argile par une méthode hydrothermale. Cette immobilisation de TiO<sub>2</sub> sur l'argile facilite son utilisation répétée. Les résultats des analyses SEM et FTIR ont confirmé la modification de la morphologie de surface de l'argile par l'incorporation de TiO<sub>2</sub>. Dans ce travail, la présence de TiO<sub>2</sub> sur l'argile fait passer sa surface spécifique de 11,48 à 19,12 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>. Cette étude a démontré l'efficacité des matériaux composites « Argile-TiO<sub>2</sub> » dans la dégradation de l'orange de méthyle. La présence de phase anatase des nanoparticules de TiO<sub>2</sub> devrait être responsable de la meilleure activité catalytique de R-TiO<sub>2</sub>. Ces résultats suggèrent que le R-TiO<sub>2</sub> peut être un outil puissant pour éliminer les polluants organiques dans les milieux aqueux.

## 5. Bibliographie

[1] Atchariyawut S, Phattaranawik J, Leiknes T, et al. Separation and Purification Technology (2009)66(1): 153-158.

- [2] Liu Jian-hua, Wang Hai-jun *Journal of Chongqing University (English Edition)* (2009) Vol. 8 No. 3
- [3] J. Easton, *Colour in Dye house Effluent*, Alden Press, Oxford, (1995) pp. 9–21.
- [4] L. Shamaei, B. Khorshidi, B. Perdicakis, M. Sadrzadeh, Treatment of oil sands produced water using combined electrocoagulation and chemical coagulation techniques, *Science of the Total Environment* 645 (2018) 560–572.
- [5] A.H. Konsowa, Decolorization of wastewater containing direct dye by ozonation in a batch bubble column reactor, *Desalination* 158 (2003) 233–240.
- [6] Rashed MN, El-Amin AA. Photocatalytic degradation of methyl orange in aqueous TiO<sub>2</sub> under different solar irradiation sources. *Inter J Phy Sci* (2007) 2:73-81.
- [7] H. Lei, H. Zhang, Y. Zou, X. Dong, Y. Jia, F. Wang, Synergetic photocatalysis/piezocatalysis of bismuth oxybromide for degradation of organic pollutants, *Journal of Alloys and Compounds* 809 (2019) 151840.
- [8] Y. Nosaka, T. Daimon, A.Y. Nosaka, Y. Murakami, Singlet oxygen formation in photocatalytic TiO<sub>2</sub> aqueous suspension, *PCCP* 6 (2004) 2917–2918
- [9] S. Sarina, E.R. Waclawik, H. Zhu, *Green Chem.* 15 (2013) 1814–1833.
- [10] M. Visa, A. Duta, Methyl-orange and cadmium simultaneous removal using fly ash and Photo-Fenton systems *Journal of Hazardous Materials* 244– 245 (2013) 773– 779

## Etude d'impact des intrants agricoles sur la pollution chimique des sols en zone de culture cotonnière de kolo-kope au togo

Kokou Kossi<sup>1\*</sup>, Moursalou Koriko<sup>1</sup>, Degbe Koffi A.<sup>1</sup>, Tchegueni Sanonka<sup>1</sup>, Bafai D. D.<sup>1</sup>, Gado Tchangbedji<sup>1</sup>

*1 Laboratoire GTVD (Gestion Traitement et Valorisation des Déchets), Faculté Des Sciences, Université de, BP : 1515, Lomé, TOGO*

**Résumé :** Les besoins humains obligent le monde agricole à avoir recours aux intrants agricoles pour relever le défi qui s'impose à lui. Le Togo ne fait pas exception à cette situation. Ces intrants utilisés comme fertilisants des sols par apport de nutriments, dégradent progressivement les sols. Dans le souci de protéger l'espace agricole, il est nécessaire de déterminer l'impact des intrants sur les sols agricoles. C'est ainsi que ce travail a été entrepris pour évaluer le niveau de pollution dû aux éléments traces métalliques dans les sols. Des échantillons de sols sont prélevés dans les champs de coton pendant deux saisons (saison pluvieuse, saison sèche). Après leur minéralisation, les solutions obtenues ont été analysées au spectrophotomètre d'absorption atomique. Six métaux (Cd, Pb, As, Zn, Cu, Fe) ont fait l'objet de cette étude. L'analyse des résultats obtenus montre que la concentration des ETM varie du non détectable (Cd) à 5647,31mg/kg (Fer). Les concentrations des autres éléments sont relativement faibles et comprises entre  $2,87.10^{-3}$  et 22 mg/kg. Les valeurs trouvées lors des analyses comparées aux normes françaises montrent qu'aucun seuil n'est atteint. Aucun risque de pollution ne menace pour l'instant ce domaine. La spéciation des éléments est prévue pour la suite des travaux.

**Mots clés :** sol, pollution, élément trace métallique, environnement.

**Summary:** Human needs to force the agricultural world to resort to agricultural inputs to meet the challenge it faces. Not even Togo is exempt from this situation. The inputs used as fertilizers by providing nutrients degrade the soil over time. It is necessary to determine the impact of inputs on agricultural soils to protect agricultural land. This is how this work was carried out to assess the degree of pollution by metals present in the soil. For two seasons (rainy and dry), soil samples are taken from cotton fields. After their mineralization, the solutions obtained were analyzed with an atomic absorption spectrophotometer. Six metals (Cd, Pb, As, Zn, Cu, Fe) were studied. ETM concentrations range from undetectable (Cd) to 5647.31 mg/kg (Iron) while the concentrations of the other elements are relatively low and between  $2.87.10^{-3}$  and 22 mg/kg. Analysis of the results obtained shows that the concentration of ETM varies from undetectable (Cd) to 5647.31 mg/kg (Iron). The concentrations of the other elements are relatively low and between  $2.87.10^{-3}$  and 22 mg/kg. Analysis of the values found in comparison to French standards indicates that no threshold has been reached. No pollution risk exists currently. The specific treatment of the elements is planned for the remainder of the work.

**Keywords:** soil, pollution, metallic trace element, environment.

### 1. Introduction

Le sol, dans son rôle de support de production et de culture végétale, constitue un patrimoine dont la gestion durable doit s'imposer comme une préoccupation majeure, à cause de son rôle d'interface vitale entre la biosphère, l'homme et l'environnement et de son caractère pratiquement non renouvelable à l'échelle des générations humaines. L'étude du sol s'intéresse à plusieurs domaines dont l'agriculture. L'agriculture représente le champ le plus traditionnel de la Science du sol et occupe depuis, une grande partie des activités humaines. Mais depuis quelques décennies une nouvelle préoccupation très inquiétante qui prend de l'ampleur englobe : la pollution des sols, le traitement des déchets, la qualité des sols... Ces préoccupations qui, devenues des problèmes dont il faut trouver des solutions font l'objet d'études depuis plusieurs décennies. En réalité, l'agriculture fait partie de l'une des principales sources de revenus surtout dans les Pays En Développement (PED). Dans ces pays l'industrialisation est un fait très récent. Cependant depuis des siècles, c'est l'agriculture qui assurait la plus grande partie des besoins des populations. En exemple la culture cotonnière est l'une des principales cultures de rente et d'exportation en Afrique de l'ouest. Il est donc estimé que 2 à 3 millions de ménages d'Afrique de l'Ouest et du Centre cultivent le coton sur des champs d'une superficie moyenne d'un hectare. Le phénomène d'explosion démographique avait contraint les paysans à une surexploitation des terres cultivables. Les espaces agricoles commençaient à s'appauvrir et les rendements de plus en plus médiocres. C'est dans cette optique que le génie industriel a fait son apparition pour soulager aussi bien le monde agricole qu'industriel par la production massive des produits chimiques tels que les engrais minéraux afin d'intensifier l'agriculture. Ces engrais ont pour rôle d'apporter aux plantes des nutriments pour leurs assurer un bon développement. Cependant leur usage, même avec précaution présente des risques dont les plus importants sont la toxicité vis-à-vis de l'homme, l'atteinte à la biodiversité et les déséquilibres de la faune.

Au Togo, l'introduction des engrais chimiques dans l'agriculture a commencé dans les années 1974 avec la création de la Société Togolaise du Coton (SOTOCO) et leur usage n'est pas sans conséquence. Ce constat qui est peut-être,

inattendu conduit à une prise de conscience générale. Très tôt, il paraît donc impératif de mettre de l'ordre dans les nouvelles pratiques agricoles. C'est ainsi qu'à la Conférence de Rio en 1992 sur le développement et l'environnement, il a été décidé de contrôler le devenir des différents engrais chimiques utilisés dans l'agriculture. La connaissance du comportement des polluants inorganiques est indispensable dans le cadre d'une évaluation détaillée des risques, en vue de la protection des sols [1]

C'est dans ce cadre que s'articule ce sujet dont le thème conduit à faire l'état des lieux de la pollution des sols par les engrais chimiques en zone de culture cotonnière à Kolokopé au Togo. Pour ce faire, des échantillons de sol ont été prélevés en saison pluvieuse et sèche pour les différentes analyses.

## **2. Matériel et méthodes**

### **2.1. Présentation du site**

#### **2.1.1. Choix du site**

Le site choisi pour cette étude est un espace expérimental sur lequel on cultive chaque année du coton (principale culture d'expérimentation) auquel on associe d'autres plantes aussi expérimentées. La raison principale qui est à l'origine de ce choix est due au fait que ce site reçoit régulièrement et depuis des années, d'engrais ainsi que des produits phytosanitaires.

Le site est un domaine très vaste avec une superficie environ 400 ha et comportant des zones dont certaines sont régulièrement cultivées, d'autres en jachères et même des endroits jamais exploités.

Les parcelles cultivées reçoivent chaque année les mêmes types de cultures pendant plusieurs années avant de passer en jachère.

#### **2.1.2. Situation géographique du site**

Le Centre de Recherche Agronomique de la Savane Humide (CRA-SH) de Kolokopé est situé à 12 km à l'Est de la ville d'Anié sur la rive droite du fleuve Mono. Situé à 74 mètres d'altitude, Kolokopé a pour coordonnées géographiques : 6°27'53" N et 1°14'2" E en DMS (degrés, minutes, secondes) ou 6.46472 et 1.23389 (en degrés décimaux)

## **2.2. Echantillonnage**

### **2.2.1. Présentation des différents sols échantillonnés**

Nos échantillons ont été prélevés sur huit différents espaces du domaine chacun recevant un traitement particulier dont :

L+0D : sol Labouré ne bénéficiant d'aucune Dose d'engrais.

\* L+ $\frac{1}{2}$ D : sol Labouré et recevant une demi-dose d'engrais.

\* L+ D : sol Labouré et recevant une Dose Normale d'engrais.

\* L+TPC+D : sol Labouré et recevant Terre de Parc (déchets de moutons) avec Dose Normale d'engrais.

\* NL+PG+D : sol Non Labouré + paillage (sol couvert de tiges de cotonniers).

Un espace reçoit une surdose d'engrais de 200kg / hectare (en N.P.K-SB) + 50kg / hectare (pour l'urée). Un autre espace en jachère et le huitième n'est jamais cultivé. Au niveau de chaque sol le prélèvement se fait suivant deux horizons (0 – 20 cm et 20 cm- 40 cm), Le premier échantillonnage a été réalisé quatre mois après la fin des cultures (première saison, mars 2019) et le second juste à la fin des traitements des cultures de cotons par les intrants (deuxième saison, décembre 2019).

#### **2.2.2. Instruments pour le prélèvement des échantillons**

Au cours de l'échantillonnage nous avons utilisé une tarière à main de type Edelman.

#### **2.2.3. Méthodes d'échantillonnage**

Nous avons opté pour une répartition systématique, dont la grille est à maille carrée [2]. Chaque parcelle est recouverte par une grille. Pour le premier échantillonnage, les points d'échantillonnage sont situés a priori aux nœuds de la grille. Au second échantillonnage les points d'échantillonnage sont situés aux centres des mailles de manière à éviter deux prélèvements au même point.

## **2.3. Analyses de sol en laboratoire**

### **2.3.1. Emballage et transport des échantillons**

Pour éviter que les polluants ne soient pas adsorbés à la surface des emballages ou que ceux-ci ne puissent pas contaminer les échantillons, nous avons utilisé des sachets en matière plastique pour emballer les échantillons qui ont été utilisés lors des analyses des éléments en trace [3].

### 2.3.2. Préparation des échantillons

Les échantillons arrivés au laboratoire le même jour après échantillonnage, ont été séchés à la température ambiante (25°C). Ensuite ils ont subi un broyage fin. Les broyats obtenus ont été tamisés à l'aide d'un tamis dont le diamètre des mailles est de l'ordre de 65 µm. Le tamisât issue de ce traitement est celui utilisé lors des analyses.

### 2.3.3. Analyses physico-chimiques des échantillons

Selon plusieurs auteurs [4], la connaissance des propriétés physico-chimique est très importante dans l'étude de comportement des ETM dans le sol. C'est ainsi que les paramètres tels que le pH, la capacité d'échange cationique (CEC), la teneur en matières organiques ont été déterminés.

### 2.3.5. Détermination de la teneur en élément trace métallique (ETM)

Après minéralisation des sols, les solutions obtenues sont passées au spectrophotomètre d'absorption atomique (SAA) pour le dosage des métaux lourds tels que Cd, Pb, As, Cu, Zn et Fe. Le spectrophotomètre d'absorption atomique est de type SAA iCE 3000 SERIES THERMO FISCHER.

Le dosage a été réalisé au laboratoire GTVD (Gestion, Traitement, Valorisation des Déchets) de l'Université de Lomé au Togo.

## 3. Resultats et discussion

### 3.1. Les paramètres physico-chimiques

#### 3.1.1. pH

Le pH varie entre 6,27 et 7,12 pour les deux saisons. La plus part des échantillons de sols est légèrement acide. Ces résultats sont confirmés par les travaux de BAFAI et al (2014, page 43) qui ont trouvé 6,29. [5]

Tableau N°1

		Valeurs de pH							
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
Saison 1	0 – 20 cm	6,55	6,48	6,48	6,57	6,58	6,45	6,57	6,29
	20 – 40 cm	7,05	6,57	6,58	6,78	6,72	6,80	6,51	6,40
Saison 2	0 – 20 cm	6,34	6,55	6,59	6,81	6,68	6,73	6,41	6,51
	20 – 40 cm	6,52	6,23	6,74	7,12	6,73	6,52	6,27	6,69

#### 3.1.2. Matière organique

On trouve les taux de matière organique les plus élevés au niveau du sol en jachère (6,1873%) et du sol parent (6,1536%). Nos résultats sont légèrement supérieurs à ceux trouvés par BAFAI et al en 2014.

Tableau N°2

		Taux de matière organique							
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
Saison 1	0 – 20 cm	3,490	6,187	4,187	3,914	4,033	6,089	5,788	4,565
	20 – 40 cm	3,378	4,722	3,902	3,805	3,790	6,153	5,126	4,072
Saison 2	0 – 20 cm	3,550	5,941	4,004	3,554	5,904	8,794	4,694	4,972
	20 – 40 cm	3,759	4,687	3,676	3,064	3,181	4,668	4,175	5,385

#### 3.1.3. Capacité d'échange cationique.

On observe les plus grandes valeurs au niveau des sols en jachère et neutre.

Tableau N°3

		Capacité d'échange cationique							
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
Saison 1	0 – 20 cm	46,281	143,893	65,914	58,403	62,103	138,728	127,669	76,062
	20 – 40 cm	46,688	84,978	58,115	56,939	55,991	149,358	99,228	61,574
Saison 2	0 – 20 cm	46,349	134,100	61,284	49,897	135,069	288,936	81,937	93,376
	20 – 40 cm	53,446	79,394	52,842	38,793	39,517	82,416	63,392	112,550

### 3.2. Teneurs totales en ETM

Les concentrations totales des six éléments pris en comptes dans cette étude sont consignées dans les tableaux N° 4 et 5..

Le cadmium n'est détecté dans aucun des échantillons. L'As est présent dans la plus part des échantillons de sols sauf dans les sols (L+0D) des deux saisons et dans le sol parent de saison sèche. Les 4 autres éléments étudiés Cu, Pb, Zn et le Fe sont présents dans tous les échantillons de sols ainsi que dans les deux types d'engrais utilisés. Le fer est fortement présent dans tous les échantillons de sols ainsi que dans le matériau parent. Les éléments Zn et Cu ont des valeurs proches pour les deux horizons pour tous les échantillons de sols de la saison sans culture et ces valeurs varient entre 13,79 mg/kg et 20,88 mg/kg pour le Zn puis entre 11,13 mg/kg et 19,48 mg/kg pour le Cu.

En saison sèche, on remarque une constance des valeurs du plomb des deux horizons avec une moyenne de 2,72 pour l'horizon 0-20 cm et de 2,62 pour l'horizon 20-40 cm.

On remarque que sauf pour le sol (L+TPc +D) un ordre d'abondance pour les éléments au niveau de l'horizon 0-20 cm : As < Pb < Cu < Zn < Fe. (Tableau N°....) :

Concernant l'horizon 20-40 cm nous avons le même ordre d'abondance que pour l'horizon 0-20 cm dans les sols 4 ;5 ;6 ;7 et 8 tandis que dans les sols 1 ;2 et 3 l'ordre d'abondance est la suivante : As < Pb < Zn < Cu < Fe. .

Dans le sol parents et dans le sol en jachère les concentrations au niveau de l'horizon 20-40 cm dépassent celles de l'horizon 0-20 pour les éléments Pb, Zn, Cu et Fe. Contrairement dans le sol (NL+Pg+D) c'est au niveau de l'horizon 0-20 cm qu'on enregistre les plus grandes concentrations pour les éléments Pb, Zn et Cu par rapport à l'horizon 20-40 cm. (Tableaux N°4... et N°5... ci-dessus).

Tableau N°4

		Teneur en ETM (mg/kg) en saison 1							
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
Fe	0-20cm	3301,2	4531,9	4463,8	4433,7	4470,9	4358,2	4247	4550,2
	20-40cm	4373,5	5647,31	4417,68	4373,05	4495,08	4426,1	4419,4	4419,4
Zn	0-20cm	15,65	16,76	15,80	16,01	15,75	14,27	16,00	16,85
	20-40cm	15,90	20,88	15,91	16,05	13,79	14,93	15,35	17,04
Cu	0-20cm	14,56	15,41	15,25	15,24	16,26	11,13	14,86	15,22
	20-40cm	16,55	19,48	16,01	16,17	9,90	13,43	13,95	16,95
Pb	0-20cm	3,05	2,27	2,75	2,90	2,66	2,52	3,19	2,45
	20-40cm	2,71	2,72	2,99	3,12	1,24	2,95	2,79	2,51
As	0-20cm	nd	0,0078	0,0142	0,0035	0,0086	nd	0,0041	0,0162
	20-40cm	nd	0,0108	0,0065	0,0046	0,0320	nd	0,0077	0,0066
Cd	0-20cm	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	Nd
	20-40cm	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Tableau N°5

		Teneur en ETM (mg/kg) en saison 1							
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
Fe	0-20cm	4411,7	4387,93	4360,4	4409,2	4447,8	4378,68	4466,9	4477,70
	20-40cm	4432,8	4453,08	6498,3	4381,5	4473,1	4354,94	6662,4	4465,98
Zn	0-20cm	15,97	16,46	14,71	16,74	16,22	15,79	15,99	15,11
	20-40cm	15,98	17,23	20,26	16,21	16,43	15,63	22,69	15,94
Cu	0-20cm	15,41	8,36	9,45	11,13	1,66	5,27	9,56	8,90
	20-40cm	15,89	8,73	12,12	9,56	11,32	4,52	13,46	9,36
Pb	0-20cm	2,47	2,45	2,52	3,17	1,76	2,78	3,03	1,62
	20-40cm	2,46	2,79	2,91	2,52	2,95	2,99	3,22	1,56
As	0-20cm	nd	0,00287	0,0266	0,0068	0,0086	0,03408	0,0294	0,03130
	20-40cm	nd	0,04607	0,0043	0,0112	0,0320	0,02092	0,0769	0,02357
Cd	0-20cm	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	20-40cm	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Les concentrations sont généralement plus faibles au niveau du sol parent. Ceci peut être expliqué par une contamination due à l'effet des engrais. Selon (ph et ETM les effet...) d'une façon générale générale, un sol acide facilite la mobilisation. Les sols étant légèrement acides on peut envisager une mobilisation des ETM étudiés. Et ceci

peut expliquer la faible contamination du sol (d'une part et d'autre d'autre part l'aération due au labour régulier peut aussi contribuer à accroître la mobilité des ETM).

#### 4. Conclusion

Au terme de cette étude, on note sauf pour le cadmium la présence des autres éléments étudiés dans les sols. Leurs concentrations étant légèrement supérieures mais très proches de celles du sol neutre on peut parler d'une contamination lente du site. Mais au fil des années cette contamination peut évoluer et peut même entraîner une pollution du site. En perspective une analyse portant sur la spéciation sera réalisée avant la fin de notre étude.

#### References bibliographiques

- [1] ] **Baize D., Paquereau H., 1997.** Teneurs en éléments traces dans les sols agricoles de Seine-et-Marne. Etude et gestion des sols, 4(2) : 77-94.
- Kheboian, C., Bauer, C.F., (1987) Accuracy of selective extraction procedures for metal speciation in model aquatic sediments. Anal. Chem., 59, 1417-1423.
- [2] Wavrer Ph. (1997) - Méthodologies et stratégies d'échantillonnage de sols. Etude bibliographique. Rapport CNRSSP 1997/11.
- Qualité du sol – Echantillonnage – Partie 2 : Lignes directrices pour les techniques d'échantillonnage» (2003)
- [3] Desales A., Dahinden R., 2000, Zum Einfluss von Trocknungstemperatur und Kunststoff-Kontakt auf PAK-und PCB-Analysen in Bodenproben bei Routineuntersuchungen, 34 p., NABO/FAL-Reckenholz
- [4] ([Sumner, 2000](#) ; [Sparks, 2003](#) Sumner, M. (2000). Handbook of Soil Science. CRC Press, 2148p
- [5] Bafai et al, 2014 ; Etude chimique du comportement des pesticide dans l'environnement : recherche de résidus de pesticides dans les sols du Togo et suivi de la photo dégradation du chloridazon 136p..

## Étude de la synthèse du charbon actif à partir de la drèche de brasserie : Application à l'élimination du colorant cationique bleu de méthylène

Samadou SANNI, Ibrahim TCHAKALA, Tomkouani KODOM, Moctar Limam BAWA

Laboratoire d'Hydrologie Appliquée et Environnement, Faculté des Sciences, Université de Lomé, 01 BP 1515, Lomé 01, Lomé, Togo.

### Resume

Le présent travail a pour but la synthèse de charbon actif optimisé à partir de la drèche de la brasserie par un procédé simple de pyrolyse précédée d'une imprégnation chimique à l'acide phosphorique (Clément K. BALOGOUN, 2015). Le charbon actif obtenu à partir de la transformation chimique de la drèche drèche codé CAD a fait l'objet d'une application pour l'élimination du colorant cationique bleu de méthylène (Kifline Milebudi KIFUANI, 2018). Avec un bon rendement massique de 77,7%, le test à l'indice d'iode et à l'indice de bleu de méthylène (BM) sur le CA-D donne respectivement 987,9 mg/g et 658,4 mg/g. Les fonctions de surface du CA-D présentent plus de fonctions chimiques acides (6,4 meq/g) que de fonctions basiques (1,6 meq/g) avec un pH au point de charge nul égal à 4,3. Les essais d'adsorption du bleu de méthylène sur le CA-D ont montré que l'équilibre s'établit au bout de 90 minutes. L'influence des paramètres tels que la masse de l'adsorbant, du pH et la concentration initiale de la solution ont été étudié pour déterminer les meilleures conditions d'adsorption du colorant bleu de méthylène sur CA-D. Le taux d'élimination maximal (99%) du bleu de méthylène est obtenu à un pH basique égal à 8 avec une masse de 0,3 g de CA-D. Le modèle cinétique du pseudo-second ordre donne une meilleure description de la cinétique de la réaction d'adsorption du BM sur le charbon actif CA-D avec un coefficient de corrélation proche de 1 ( $R^2 = 0,99$ ) et un grand rapprochement de la capacité d'adsorption théorique (50,35 mg/g) et expérimentale (49,63 mg/g). Les études sur les isothermes d'adsorption montrent que l'isotherme du type H (isotherme de Freundlich) est mieux adaptée mais il se rapproche également du type L (isotherme de Langmuir) (Tchakala & al, 2012). Le CA-D pourrait alors être un adsorbant alternatif pour l'élimination des colorants de l'eau.

**Mots clés** : Drèche de la brasserie ; charbon actif ; adsorption ; capacité d'adsorption.

### Introduction

La croissance démographique rapide et le développement socio-économique conduisent à une production considérable de déchets solides, face auxquels la conduite à suivre pour la préservation de l'environnement réside essentiellement dans leur élimination ou dans leur réduction. Ainsi l'intérêt mondial accordé à la préservation de l'environnement face aux déchets agroalimentaires a suscité l'attention de certains chercheurs à trouver des moyens techniques pour valoriser et limiter la production de ces déchets. De ce fait, ces dernières années une politique de gestion technique des déchets se sont développées. On peut citer entre autres la production d'énergie, la fabrication de compost et la synthèse de charbon actif. Notre travail s'inscrit dans la dernière perspective qui est l'élaboration du charbon actif à partir d'un déchet agroalimentaire. Par ailleurs plusieurs études ont été consacrés pour la synthèse du charbons actifs à partir des matériaux de différentes sources végétales comme les tourteaux de karité et de coton (Tchakala I. , 2013), La coque de noix de coco (Clément K. BALOGOUN, 2015), La coque de cacao (Léonce & al, 2019), les noyaux de datte (S, Ziati, Hazourli, & Cherifi, 2007). En effet, les déchets de brasserie sont des sous-produits du processus de fabrication de la bière à partir de céréales. Aujourd'hui, la principale voie de valorisation de ce sous-produit dans notre pays ne réside que dans l'amendement des sols et dans l'alimentation du bétail. C'est dans cette perspective que s'inscrit ce travail dont l'objectif est de valoriser les déchets de brasserie en charbon actif par voie chimique en utilisant l'acide phosphorique comme activant chimique. De cet objectif on aura de façon spécifique à synthétiser dans un premier temps du charbon actif à partir de déchets de brasserie, ensuite le caractériser et enfin l'appliquer pour élimination du colorant cationique bleu de méthylène.

## I. Matériels et méthodes

### I.1 Préparation du charbon actif

#### ❖ La matière première

Le précurseur utilisé pour le cadre de notre étude est une matière de nature végétale : La drèche de la brasserie est un sous-produit agroalimentaire issu du processus de fabrication de la bière à partir de céréales. Après la collecte à la brasserie de Lomé, ils ont été lavés à l'eau distillée, puis broyés et séchés à température ambiante pendant sept jours. Ensuite, il a été tamisé à l'aide de TAMIS AFNOR pour récupérer les particules inférieures à 2mm, qui ont été finalement imprégnées avec de l'acide phosphorique 40%. Le mélange imprégné a été séché à température ambiante pendant soixante-douze heures, puis séché à l'étuve (Interlab Instruments de type (DP1-I)) pendant quatre heures.

#### ❖ carbonisation

Le mélange imprégné est carbonisé dans un four (W.C HERAEUS HANAU type RSK 10) préalablement chauffé pendant 2 heures avant le début de l'expérience pour atteindre une température d'équilibre. La carbonisation est faite à 400°C pendant une durée de 2h. Le charbon actif obtenu est refroidi à température ambiante dans un dessiccateur

pour être ensuite passer au lavage dans une solution de d'acide chlorhydrique (HCl) 0,1M (Weber & al, 1974) puis rincé abondamment à l'eau distillée jusqu'à pH constant (pH égale à 6,4). Le charbon lavé et rincé est séché à l'étuve à 105°C pendant au moins 8 heures. Le charbon actif séché est conservé dans un flacon hermétiquement fermé jusqu'aux essais de caractérisation.

## 1.2 Caractérisation du charbon actif

### Rendement massique

Le rendement massique représente le rapport de la masse du charbon actif obtenu par la masse de la drèche sèche utilisée. Les masses ont été mesurées à l'aide d'une balance (Interlabs Instruments type Sartorius analytic) de grande précision. **Rendement massique (%) =  $\frac{\text{masse du charbon}}{\text{masse de la drèche}} \times 100$**

### Indice de Bleu de Méthylène

La procédure utilisée est celle de la méthode CEFIC (BELHIRECHE NABIL & BELEDJALE ISMAHANE, 2016; Jinyan L., 2005). Elle consiste à introduire 0,1g de charbon actif dans 100 mL de la solution standard d'analyse de Bleu de méthylène. Le mélange est mis sous agitation pendant 20 min et ensuite est filtré à l'aide du papier filtre Wattman. La concentration résiduelle du bleu de méthylène est déterminée suite à une lecture au Spectrophotomètre (6705 UV/Vis Spectrophotometer JENWAY) à une longueur d'onde de 620 nm.

La valeur de l'indice de bleu de méthylène est estimée par l'équation suivante :

$$Q_{BM} = \frac{(C_i - C_r) \cdot V \cdot M}{m_{CA}} \times 100$$

$Q_{BM}$  (la capacité d'adsorption du CA exprimée en  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) ;  $C_i$  (la concentration initiale de la solution de BM en  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) ;  $C_r$  (la concentration résiduelle de la solution de BM en  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) ;  $V$  (le volume de la solution de BM en mL) ;  $M$  (la masse molaire de BM en  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) ;  $m_{CA}$  (la masse du CA utilisée en g)

### ◆ Indice d'iode

Il a été déterminé en utilisant le protocole expérimental proposé par American Society for Testing and Materials (ASTM) qui dérive de la norme AWWA (Tchakala I. , 2013). Cette méthode consiste à mettre en contact 1 g de charbon actif sec avec 10,0 ml d'une solution d'acide chlorhydrique à 5% (Sigma-Aldrich) puis porter le mélange à ébullition pendant 30 s environ. Ensuite on introduit 100,0 ml d'une solution titrée d'iode (Fulka) de concentration  $N_1$  égale à 0,10 N dans le mélange puis on le porte à une courte agitation d'environ 30 s. Le nouveau mélange est filtré puis un volume de 50ml du filtrat est prélevé pour titrage par une solution de thiosulfate de sodium (Fulka) de concentration  $N_2$  égale à 0,10 N en utilisant comme indicateur de fin de dosage l'empois d'amidon. On note le volume  $V$  (mL) de la solution de thiosulfate de sodium utilisé. On détermine la quantité ( $X'$ ) d'iode adsorbée par la relation :

$$X'(meq) = 100 \cdot N_1 - \frac{(110 \cdot N_2 \cdot V)}{50}$$

Avec  $N_1$  la normalité de la solution d'iode,  $N_2$  la normalité de la solution de thiosulfate de sodium,  $V$  le volume (mL) de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour le dosage.

L'indice d'iode du charbon actif est alors calculé en employant l'équation suivante :

$$\text{Indice d'iode} = \frac{m}{X} \cdot A$$

Avec  $A$  le facteur de correction obtenu après le calcul de la normalité du filtrat résiduel,  $m$  la masse (g) de charbon actif,  $X$  la quantité en mg d'iode adsorbée.  $X$  est donné par :

$$X(mg) = 126,93 \cdot X'(meq)$$

### ◆ pH au point de charge nulle (pHPZC)

Le pH au point de charge nulle (pHPZC) du charbon actif est déterminé en utilisant la méthode de Lopez-Ramon et al. (N'guessan Joachim KROU, 2010). Cette méthode consiste à mettre en contact 0,1 g de charbon actif sec avec 20 mL des solutions de NaCl à 0,1  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  de pH compris entre 2 et 10 pendant 3 jours d'agitation . Chaque solution est ensuite filtrée à l'aide d'un papier filtre (Double Rings Filter Paper) et une nouvelle mesure du pH est effectuée avec le pH-mètre WTW 330i/SET. On trace la courbe C représentant pH final en fonction de pH initial pour trouver le  $\text{pH}_{PZC}$ . Le  $\text{pH}_{PZC}$  correspond alors au pH de la solution pour laquelle la courbe C traverse la première bissectrice ( $\text{pH}_{\text{final}} = \text{pH}_{\text{initial}}$ ).

### ❖ Fonctions chimiques de surface

Les mesures sont effectuées selon la méthode de Boehm et tirée des travaux de Michel (Ourania A & al, 2010). De cette méthode, des solutions à 0,1 M de NaOH, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>ONa et HCl (Fulka) sont préparées en utilisant de l'eau distillée. 1g de charbon actif sec est mis en contact avec 100 mL de chacune de ces solutions. Chaque solution est agitée pendant 24 heures, afin de s'assurer qu'un maximum de groupements de surface du charbon actif a réagi. A la fin de cette période, les solutions sont filtrées (papier filtre double ring). On dose par pH-métrie (pH-mètre WTW 330i/SET) chacune des cinq solutions. Les solutions basiques sont dosées par l'acide chlorhydrique 0,1 M, la solution acide par la soude 0,1 M.

A l'équivalence on a :

$$C_e V_e = C V. \text{ D'où } C = \frac{C_e V_e}{V}$$

$$n = (C_i - C) \cdot V_i$$

$n$  (quantité de groupements par gramme de charbon actif) ;  $V_e$  (volume d'acide chlorhydrique ou de soude versé à l'équivalence) ;  $C_e$  (concentration de la solution d'acide chlorhydrique ou de soude) ;  $V$  (volume de la solution à doser) ;  $C$  (concentration de la solution à doser) ;  $V_i$  (volume de la solution de départ) ;  $C_i$  (concentration de la solution de départ).

### 1.3 Modes opératoires d'adsorption

#### ❖ Influence du temps de contact et de la concentration initiale

La procédure expérimentale suivie est la méthode Batch. Elle consiste à mettre en contact une même masse de 0.2 g de charbon actif CA-D dans une série de fioles identiques contenant chacune 100 mL de la solution du bleu de méthylène à différentes concentrations (100 mg/L, 200 mg/L, 300 mg/L de la solution du bleu de méthylène). L'ensemble est maintenu en agitation constante à température ambiante. Des prélèvements ont été effectués à intervalle de temps plus ou moins long pour déterminer le temps d'équilibre auquel la concentration résiduelle du bleu de méthylène en solution devient presque invariable.

#### ❖ Influence du pH de la solution

Nous avons mis en contact une masse de 0.3g de charbon actif avec de différentes solutions de bleu de méthylène à pH égale à 2, 4, 6, 8 et 10. Ces solutions de même concentration de 100 mg/L et de volume égal à 100 mL chacune ont été soumis à une agitation constante à température ambiante afin de déterminer la concentration résiduelle du bleu de méthylène après 2 heures d'expérience.

#### ❖ Influence de la masse du charbon actif

Des masses 0,1g à 0,6g de charbon actif ont été mises en contact chacune avec 100 mL de solution de bleu de méthylène à 100 mg/L. La variation de la surface de contact (variation de masse du CA) a été effectuée pour un temps de contact de 2 h.

#### ❖ Etude de la cinétique chimique d'adsorption du bleu de méthylène sur le CA-D

Cette étude consiste à mettre en contact 0,2 g de charbon actif dans 100mg/L de solution de bleu de méthylène à 100 mL. Ensuite déterminer par les paramètres de la cinétique premier ordre et second ordre à partir de l'équation cartésienne et du coefficient de corrélation des tracés linéaires obtenues par les données :  $\ln(q - q_e)$  en fonction du temps  $t$  pour la cinétique pseudo premier ordre et  $t$  en fonction du temps pour la cinétique pseudo

$q$

second ordre.

#### ❖ Etude des isothermes d'adsorption

C'est un facteur important dans l'étude du processus d'adsorption puisqu'il nous permet d'évaluer la capacité des adsorbants à adsorber le polluant (le bleu de méthylène) mais de connaître aussi la quantité adsorbée à l'équilibre (propriété d'équilibre adsorbat-adsorbant). Afin de déterminer le type d'adsorption il faut calculer les quantités de polluant (le bleu de méthylène) adsorbées par les charbons actifs à partir de l'équation 9. Puis il faut tracer le graphe  $Q_e = f(C_e)$ . En raison de leur simplicité, les modèles cinétiques de Langmuir et de Freundlich seront utilisés.

## II. Resultats experimentaux et discussions

### II.1. Caractérisation du charbon actif

#### Le Rendement massique

Le rendement massique de carbonisation de la drèche à 400°C est de 77.7%. Ce résultat est similaire à celui obtenu par GUEYE et al. en 2011 (Gueye, J. Blin, & C. Brunschwig, 2011). Ainsi de ce rendement massique on peut déduire que le degré d'activation ou le burn off est de 22,3% ; une valeur inférieure à 50%, ce qui signifierait que notre charbon disposerait d'une microporosité importante comme l'a souligné certains auteurs comme Elena Fernandez (Elena Fernandez Ibañez, 2002).

### † Indice d'iode et l'indice de bleu de méthylène

L'indice d'iode et l'indice de bleu de méthylène sont des paramètres qui donnent une évaluation de la surface spécifique du charbon actif. Ces indices sont habituellement employés pour connaître la nature des pores (micropore, mésopore). Ainsi pour notre charbon actif la valeur de ces indices sont consignés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1: Valeurs des indices d'iode et du bleu de méthylène du charbon actif CA-D

	Indice d'iode (mg/g)	Indice de bleu de méthylène(mg/g)
<b>Charbon actif CA-D</b>	<b>987,9</b>	<b>658,4</b>

La valeur de l'indice d'iode de notre charbon actif est de 987,9 mg/g. Selon une étude de Tchakala et *al.* (2012) (Tchakala & al, 2012), la valeur élevée des indices d'iodes traduirait un pouvoir adsorbant intéressant des molécules microporeuses. Par ailleurs il ressort de la littérature que les charbons actifs ayant un indice d'iode supérieur à 950 mg/g disposeraient un bon pouvoir d'adsorption de petites molécules telles que les celles qui sont responsable des goûts et des odeurs dans les eaux (Mamane O. S., Zanguina A., Daou I., & Natatou I., 2016).

L'indice du bleu de méthylène représente le paramètre d'évaluation de la capacité d'adsorption des molécules de taille moyenne sur le charbon par les mésopores. Dans le cas de notre étude la valeur de l'indice est de 658,4 mg/g de CA-D ; un résultat similaire à celui obtenu par Ousmaila et al en 2016 (Mamane O. S., Zanguina A., Daou I., & Natatou I., 2016) et par Maazou et *al* sur des charbons actifs élaborés à partir des coques de noix de balanites (Maazou S., Hima I., Malam A., Adamou Z., & Natatou I., 2017). Une telle valeur de l'indice de bleu de méthylène laisse supposer qu'en plus des micropores de par la valeur importante de l'indice d'iode, le charbon CA-D pourrait disposer aussi des méso et macropores.

### ❖ pH au point de charge nulle et les fonctions chimiques de surface

Le pH au point de charge nulle est de 4,4 comme indiqué la figure 1. Ce pH est acide, cela peut s'expliquer par la nature de l'activant, l'acide phosphorique et traduit le nombre relativement important de sites acides introduits lors de l'activation chimique.

Ce résultat est en accord avec celui obtenu pour les fonctions chimiques de surface qui sont majoritairement acides.

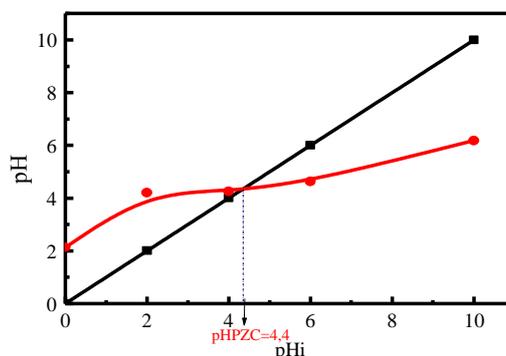


Figure 1 : Détermination du pH au point de charge nulle ( $pH_{PZC}$ )

Tableau 2 : Fonctions de surface du charbon actif CA-D (meq/g CA)

	Acides					Basiques
	Carboxylique	Lactone	Phénol	Carbonyle	Total Acide	Total basique
<b>CA-D</b>	0,14	2,12	2,74	1,42	6,42	1,65

L'analyse de ces résultats montre la prédominance des fonctions acides par rapport aux fonctions basiques. En accord avec le  $pH_{pzc}$  peut s'expliquer la force de l'activant 40%. En effet, l'acide phosphorique est un oxydant fort, il peut oxyder des atomes de carbone de surface et leur fait perdre des électrons pour être chargés positivement (Tchakala I., 2013). Par ailleurs :

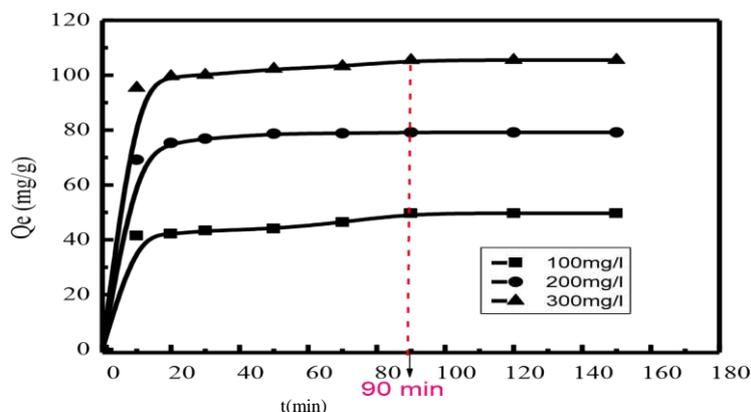
□ Si le pH de la solution est inférieur au  $pH_{pzc}$ , les groupes fonctionnels de surface des adsorbants seront protonés par un excès de protons  $H^+$  de la solution, le support est attracteur d'adsorbat chargé négativement.

□ Au contraire, si le pH de la solution est supérieur au  $pH_{pzc}$  les groupes fonctionnels de surface seront déprotonés par la présence des ions  $OH^-$  de la solution, le support est attracteur d'adsorbat chargé positivement, (ce

qui favoriserait l'adsorption des colorants cationiques, augmentation des forces électrostatiques entre la charge négative de l'adsorbant et la charge positive de colorant) (Faouzia B., 2014).

### Expériences d'adsorption du bleu de méthylène sur le charbon actif CA-D

#### ❖ Influence du temps de contact et de la concentration initiale

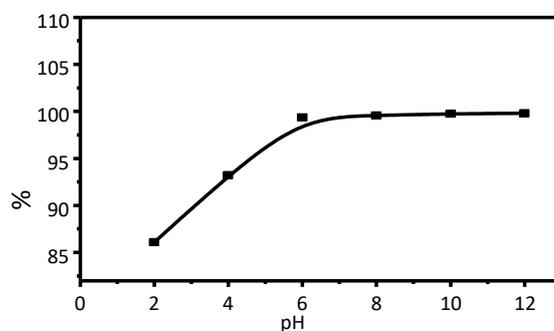


**Figure 2** : Courbe de l'influence du temps de contact et de la concentration initiale de l'adsorption du bleu de méthylène sur la capacité d'adsorption du charbon actif CA-D (mCA = 0,2g, V= 100ml)

La figure 2 présente l'évolution de la capacité d'adsorption du BM en fonction du temps à la température ambiante de 30°C environ. Les résultats obtenus ont montré que le temps d'équilibre obtenu pour l'adsorption du bleu de méthylène est indépendant de la concentration initiale dudit polluant en solution. Les résultats nous montrent également l'existence de trois tendances d'abattement au cours du temps. Une première tendance qui est rapide, une seconde qui présente un abattement qui ralentit et une dernière qui présente un équilibre à partir de la 90<sup>ème</sup> minute du temps d'adsorption. Cela peut s'expliquer d'une part par la baisse des gradients de concentration du polluant en solution au cours de l'adsorption. Par ailleurs l'extension du temps de contact au-delà de 90 minutes ne conduit à aucune amélioration des pourcentages d'adsorption du bleu de méthylène en solution. On peut alors déduire que le temps d'équilibre de l'adsorption du bleu de méthylène sur le charbon actif CA-D est de 90 minutes.

Mbaye GUEYE a obtenu un temps d'équilibre de 120 min pour l'élimination du BM avec le CA-CJ-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (Mbaye G.,2015), Tchakala a obtenu des temps d'équilibre de 40 et 70 minutes respectivement par adsorption du bleu de méthylène sur les charbons actifs préparés à partir des tourteaux de karité (CA-K) et de graine de coton (CA-C) (Tchakala I. , 2013), contre 5 heures d'après les travaux de Houas et *al.* (Houas A., Bakir I., Ksibi M., & Elaloui E., 1999) pour l'adsorption du bleu de méthylène sur un charbon actif commercial et de 48 h d'après les travaux de KHELIFI et *al.* (Khelifi A., Temdrara L., & Addoun A., 2009) pour l'adsorption du BM sur un charbon actif oxydé. Cette différence du comportement du BM vis-à-vis de ces différents charbons actifs réside bien évidemment, dans leurs origines, leur mode de fabrication et leur texture poreuse

#### ❖ Influence du pH sur l'adsorption du bleu de méthylène sur le CA-D

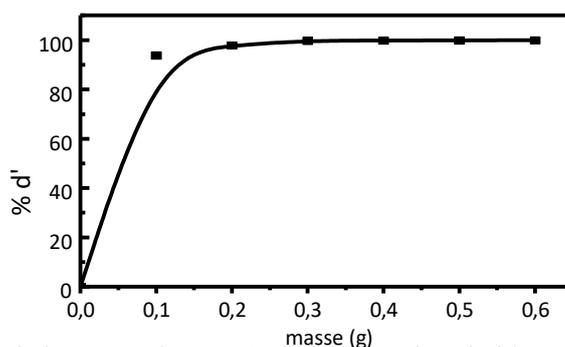


**Figure 3** : Courbe montrant l'influence du pH sur l'adsorption du bleu de méthylène par le CA-D (mCA = 0,3g, V= 100ml, Concentration = 100mg/l)

Les résultats expérimentaux de notre étude montrent que le pourcentage d'élimination du bleu de méthylène sur le charbon CA-D augmente considérablement lorsque le pH passe de 2 à 6, puis se stabilise pratiquement pour le pH

compris entre 6 et 8. Les résultats obtenus peuvent être expliqués par le fait qu'à faible pH (pH=2), la concentration des ions H<sup>+</sup> est élevée en solution, ce qui induit une compétition en faveur des ions H<sup>+</sup> par rapport aux ions cationiques du Bleu de méthylène pour les sites libres existant sur la surface du charbon CA-D. La surface du CA-D acquiert une charge positive, induisant ainsi une répulsion électrostatique du Bleu de Méthylène. Aux pH compris entre 8 et 10, la surface de l'adsorbant CA-D devient plus chargée négativement ce qui améliore l'interaction entre l'absorbant et les molécules du colorant cationique Bleu de Méthylène expliquant ainsi l'augmentation de son taux d'élimination en solution.

#### ❖ Influence de la masse du charbon actif



**Figure 4:** Courbe de l'influence de la masse de CA-D sur l'adsorption du bleu méthylène (mCA =0,1g-0,6g ; V= 100 mL ; Concentration = 100mg/L, pH libre)

Le résultat de cette étude montre l'évolution du pourcentage d'abattement du colorant cationique bleu de méthylène en solution à une concentration de 100mg/L mise en contact à des masses de charbon actif allant de 0,1g à 0,6g à Ph libre et à température ambiante. De manière logique et comme déjà rapporté par de très nombreux auteurs dont Tchakala (Tchakala I. , 2013) , on constate que les pourcentages d'adsorption augmentent avec la masse de charbon actif utilisée, allant ici jusqu'à plus de 99,8 % d'élimination du bleu de méthylène pour une masse 300 mg de charbon actif. Cela peut s'expliquer par le fait que l'augmentation de la masse de l'adsorbant augmente la surface spécifique et donc le nombre des sites disponibles d'adsorption. Par conséquent la probabilité de rencontre (molécule-site) augmente d'où l'augmentation de la quantité de colorant adsorbé. Des résultats similaires sont obtenus par de nombreux Mbaye Gueye (Mbaye G.,2015).

#### ❖ Cinétique chimique d'adsorption du bleu de méthylène sur le charbon actif CA-D

Les résultats de l'évaluation de de la cinétique chimique d'adsorption du bleu de méthylène sur le charbon actif CA-D sont consignés dans le tableau 3 ci-après :

**Tableau 3 :** Tableau récapitulatif des paramètres tirés des transformées lineaires de la Cinétique chimique d'adsorption du bleu de méthylène sur le charbon actif CA-D

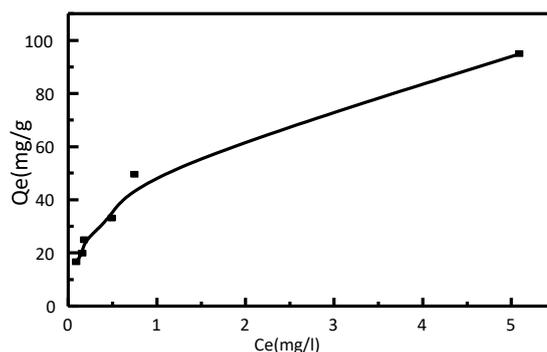
Pseudo premier ordre						
	$q_{e, \text{exp}} \text{ (mg/g)}$	$q_{e, \text{exp}} \text{ (mg/g)}$	$q_{e, \text{cal}} \text{ (mg/g)}$	$k_1 \text{ (min}^{-1}\text{)}$	$r_1^2$	$\square q/q \text{ (%)}$
CA-D	49,63	49,63	9,952	0,014	0,90	80,0
Pseudo second ordre						
	$q_{e, \text{exp}} \text{ (mg/g)}$	$q_{e, \text{exp}} \text{ (mg/g)}$	$q_{e, \text{cal}} \text{ (mg/g)}$	$K_2 \text{ (g/mg/min)}$	$r_2^2$	$\square q/q \text{ (%)}$
CA-D	49,63	49,63	50,35	0,004	0,99	1,4

De ces résultats, nous remarquons que le coefficient de corrélation  $R_2^2$  est supérieur à  $R_1^2$ , de plus la valeur de la capacité d'adsorption expérimentale  $q_{e, \text{exp}}$  est beaucoup plus proche de la capacité d'adsorption calculée  $q_{e, \text{cal}}$  à partir de la forme linéaire dans le cas de la cinétique du pseudo- second ordre, comme le justifie également le taux d'erreur ( $\square q/q$ ) plus élevé dans le cas de la cinétique du pseudo premier ordre 80 % contre 1,4 % dans le pseudo- second ordre. En résumé, on peut dire que le modèle cinétique du pseudo-second ordre donne une meilleure description de la cinétique de la réaction d'adsorption du bleu de méthylène sur le charbon actif CA-D, que le modèle cinétique du pseudo-premier ordre. De résultats similaires ont été trouvé par Tchakala (Tchakala I. , 2013) qui a montré que

l'adsorption du bleu de méthylène sur les charbons actifs CA-K et CA-C est bien décrite par la cinétique du pseudo second ordre.

#### ❖ Les isothermes d'adsorption

Les isothermes d'adsorptions jouent un rôle important dans la détermination des capacités maximales et dans l'identification du type d'adsorption. Ces isothermes d'adsorption sont obtenues par la représentation de la quantité du Bleu de Méthylène adsorbé par g de charbon actif ( $Q_e$ ) en fonction de la concentration à l'équilibre du Bleu de Méthylène ( $C_e$ ). Les résultats expérimentaux obtenus (figure 5) indiquent que l'isotherme d'adsorption du Bleu de Méthylène est du type H (isotherme de Freundlich) mais se rapproche également du type L (isotherme de Langmuir) d'après la classification de Giles et al. (Giles H., Smith D., & Huitson A., 1974) et repris par Tchakala dans ses travaux de thèse (Tchakala I., 2013).



**Figure 5:** Isothermes d'adsorption du Bleu de méthylène par le charbon actif ( $C = 100$  mg/L,  $V = 100$  mL,  $m=0,2$ g, pH libre)

Nous avons par ailleurs appliqué les modèles de Langmuir et de Freundlich à ces isothermes. Le tableau 4 cidessous montre respectivement les résultats tirés des transformés linéaires de l'isotherme de Langmuir et celle de l'isotherme de Freundlich.

**Tableau 4 :** Tableau récapitulatif des paramètres tirés des transformés linéaires de l'isotherme de Langmuir et celle de l'isotherme de Freundlich.

LANGMUIR				
	$Q_0$ (mg/g)	KL	$R_L$	$R^2$
CA-D	63,29	3,59	0,0027	0,90
FREUNDLICH				
	n	1/n	$K_F$ (mg/g)	$R^2$
CA-D	2,28	0,438	48,74	0,97

Les résultats consignés dans le tableau 4 montrent des valeurs du coefficient de corrélation proche de 1 pour les deux types d'isotherme ( $R^2 = 0,90$  pour Langmuir et  $R^2 = 0,97$  pour Freundlich). Ce qui permet au prime abord d'émettre l'hypothèse que les deux types d'isothermes pourront mieux décrire le processus d'adsorption du bleu de méthylène sur le charbon actif CA-D. Par ailleurs vu que coefficient de corrélation de Freundlich ( $R_2 = 0,97$ ) est supérieur à celui de Langmuir ( $R_2 = 0,90$ ) alors on pourrait conclure que le processus d'adsorption du bleu de méthylène sur le charbon actif CA-D s'adapte mieux à l'isotherme d'adsorption de Freundlich mais toutefois tend vers l'isotherme de Langmuir. Par ailleurs, la valeur du facteur de séparation de l'isotherme de Langmuir  $R_L = 0,0027$  ( $0 < R_L < 1$ ) laisse suggérer que le processus d'adsorption du bleu de méthylène est favorable sur le charbon actif CA-D (Hameed B., Ahmad L., & Latiff A., 2007; M. Vargas et al., 2012.) . En considérant également la valeur de l'intensité d'adsorption  $n = 2,28$  ( $1 < n < 10$ ) , on peut alors confirmer que la condition d'hétérogénéité des pores ( Khalid N., Ahmad S., Toheed A., & Ahmed J., 2000) est vérifié sur notre charbon CA-D.

#### Conclusion

Le charbon actif synthétisé à partir de la drêche de la brasserie (CA-D) a été caractérisé puis utilisé pour l'abattement du colorant cationique bleu de méthylène. L'ensemble des résultats obtenus à partir de ces expériences montre qu'on peut élaborer un bon charbon actif par de simple pyrolyse. Il ressort de cette étude que le charbon actif CA-D obtenu (avec un rendement massique de 77,7 %) présente les caractéristiques suivantes :

- † Un indice d'iode de 987,9 mg/g, ce qui suppose que ce charbon est apte à l'adsorption des petites molécules (taille < 2nm) ;
- † Un indice de bleu de méthylène de 658,4 mg/g acceptable pour signifier la présence des méso et macropores ;
- † Un pH acide au point de charge nulle ( $pH_{PZC} = 4,3$ ), ce qui est conforme aux fonctions de surface qui sont de nature plus acide (6,4 méq/L) que basique et (1,6 méq/L).

L'adsorption du BM sur le CA-D s'est avérée maximal au pH basique après  $T_e = 90$  min avec une masse de 0,3g du charbon actif CA-D

## References

- Khalid N., Ahmad S., Toheed A., & Ahmed J. (2000). Potential of rice husks for antimony removal. *Appl. Radiat. Isot.*, 52(1), 31–38.
- BELHIRECHE NABIL, & BELEDJALE ISMAHANE. (2016). *Contribution à la préparation des matériaux adsorbant à partir des sous produits du palmier dattier*. Université Echahid Hamma Lakhdar. ALGERIE: Université Echahid Hamma Lakhdar.
- Clément K. BALOGOUN, M. L. (2015). Préparation des charbons actifs par voie chimique à l'acide phosphorique à. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 1(9), 563-580.
- Elena Fernandez Ibañez. (2002). *Etude de la carbonisation et l'activation de précurseurs végétaux durs et mous*. Université de Neuchâtel. Neuchâtel: Université de Neuchâtel.
- Faouzia B. (2014). *Elimination des colorants cationiques par des charbons actifs synthétisés à partir des résidus de l'agriculture*. Univ. Ferhat Abbas Setif-1 UFAS Algér. Algér: Univ. Ferhat Abbas Setif-1 UFAS Algér.
- Giles H., Smith D., & Huitson A. (1974). A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm. *J. Colloid Interface Sci.*, 47(3), 755–765.
- Gueye, J. Blin, & C. Brunshwig. (2011). Etude de la synthèse des charbons actifs à partir de biomasses locales par activation chimique avec  $H_3PO_4$ . (C. 2. Ouagadougou, Éd.) *Journée Scientifique du 2iE*, 6.
- Hameed B., Ahmad L., & Latiff A. (2007). Adsorption of basic dye (methylene blue) onto activated carbon prepared from rattan sawdust. *Dyes Pigments*, 75(1), 143–149.
- Houas A., Bakir I., Ksibi M., & Elaloui E. (1999). Étude de l'élimination de bleu de méthylène dans l'eau par le charbon actif commercial CECA40. *J. Chim. Phys. Phys.-Chim. Biol.*, 96(3), 479–486.
- Jinyan L. (2005). *Etude comparative sur les charbons actifs*. ENGREF Centre de Montpellier. Montpellier: ENGREF Centre de Montpellier.
- Khelifi A., Temdrara L., & Addoun A. (2009). Effet de la texture poreuse et de la structure chimique sur l'adsorption du bleu de méthylène par des charbons actifs oxydes. *J. Algerian Chem. Soc. Société Algér. Chim.*, 19(1). Kifline Milebudi KIFUANI, A. K. (2018). Adsorption d'un colorant basique, Bleu de Méthylène, en solution. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 1(12), 558-575.
- Léonce, & al. (2019, juin). Préparation et caractérisation de charbon actif issu de la coque de cacao. *Int. J. Adv. Res.*, 7(6), 920-930. doi:10.21474/IJAR01/9294
- M. Vargas et al. (2012.). Kinetic and equilibrium studies: Adsorption of food dyes Acid Yellow 6, Acid Yellow 23, and Acid Red 18 on activated carbon from flamboyant pods. *Chem. Eng. J.*, 243–250.
- Maazou S., Hima I., Malam A., Adamou Z., & Natatou I. (2017). Elimination du chrome par du charbon actif élaboré et caractérisé à partir de la coque du noyau de Balanites aegyptiaca. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 11(6), 30-50. doi:10.4314/ijbcs.v11i6.39
- Mamane O. S., Zanguina A., Daou I., & Natatou I. (2016). Préparation et caractérisation de charbons actifs à base de coques de noyaux de Balanites Eagyptiaca et de Zizyphus Mauritiana. , *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.*(41), 59 - 67.
- Mbaye G. (2015). *Développement de charbon actif à partir de biomasses lignocellulosiques pour des applications dans le traitement de l'eau*. Ouagadougou: 2iE.
- Mbaye G. (2015). *Développement de charbon actif à partir de biomasses lignocellulosiques pour des applications dans le traitement de l'eau*. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur en Sciences et Technologies de l'Eau, de l'Energie et de l'Environnement, 2iE, 2iE, Ouagadougou.
- N'guessan Joachim KROU. (2010). *Etude expérimentale et modélisation d'un procédé séquentiel AD-OX d'élimination de polluants organiques*. Univ. Toulouse. Toulouse: Univ. Toulouse.
- Ourania A., & al. (2010). Preparation of activated carbons from agricultural residues for pesticide adsorption. *Chemosphere* A(80), 1328–1336.
- S, H., Ziati, M., Hazourli, A., & Cherifi, M. (2007). Valorisation d'un résidu naturel ligno cellulosique en charbon actif exemple des noyaux. *Rev. Énerg.Renouvelables ICRESD*, 7, 187–192.
- Tchakala, & al. (2012). Optimisation du procédé de préparation des Charbons Actifs par voie chimique ( $H_3PO_4$ ) à partir des tourteaux de Karité et des tourteaux de Coton. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 1(6), 461-478.
- Tchakala, I. (2013). *Contribution à l'étude de la préparation des charbons actifs à partir des résidus carbonés des industries de transformation agroalimentaires (cas des tourteaux de karité et des tourteaux de coton) : caractérisation et applications en traitement des eaux*. Université Lomé. Lomé: Université Lomé.
- Weber, & al. (1974). Pore and Solid diffusion model for fixed bed adsorbent. *J. Am. Inst. Chem. Engg.*, 228-238.

## Elimination simultanée du nickel et de l'orange de méthyle en solution aqueuse par du charbon actif issu des fibres de noix de coco

Kouassi N'guessan Louis Bérenger<sup>1\*</sup>, Abollé Abollé<sup>2</sup>, Kouakou Adjoumani Rodrigue<sup>2</sup>, Kouamé Komessa Léa<sup>2</sup>, Trokourey Albert<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Département de Mathématique Physique Chimie, UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo Gon Coulibaly, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

<sup>2</sup> Laboratoire de Thermodynamique et de Physico-Chimie du Milieu, UFR Sciences Fondamentales et Appliquées, Université Nangui Abrogoua, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

<sup>3</sup> Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière (LCRM), UFR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan, Côte d'Ivoire

### Résumé

La contamination de l'eau par le nickel et l'orange de méthyle peut représenter une menace pour le milieu aquatique et la santé de l'Homme [1 - 3]. Cependant, peu de données sont disponibles sur l'élimination simultanée de ces polluants [4 ; 5]. L'objectif général de ce travail est d'éliminer le nickel et l'orange de méthyle à partir des phénomènes d'adsorption sur du charbon actif à base de fibres de coco. La démarche utilisée a consisté à optimiser la synthèse des charbons actifs, puis à fixer les ions Ni<sup>2+</sup> et l'orange de méthyle sur le meilleur charbon. Les résultats ont montré que le charbon activé de ratio d'imprégnation égal à 2 possède l'indice d'iode (973,30 mg/g) le plus élevé. Les quantités maximales de nickel et de l'orange de méthyle adsorbées en système monocomposé ont été de 60,97 mg/g et 65,35 mg/g, respectivement. Tandis que celles en système binaire ont été de 67,56 mg/g et 35,21 mg/g, respectivement pour le nickel et l'orange de méthyle. Le meilleur charbon activé a éliminé avec succès le nickel et l'orange de méthyle en solution aqueuse. Des études ultérieures portant sur l'influence de la température et de la masse sur l'adsorption des différents polluants achèveront ce travail.

**Mots clés :** Charbon activé ; nickel ; orange de méthyle ; adsorption

### Simultaneous removal of nickel and methyl orange from aqueous solution using coconut fiber activated carbon

#### Abstract

Water contamination by nickel and methyl orange is a threat to human health and aquatic biota due to their toxicity, persistence, and non-biodegradability [1 - 3]. However, there is little data available on nickel and methyl orange simultaneous removal from aqueous solutions [4 ; 5]. The objective of the present work was to investigate nickel and methyl orange removal through the adsorption phenomena by activated carbons prepared from coconut fibers. The approach consisted firstly to optimize the synthesis of coconut fiber activated carbons. Secondly, metal ions Ni<sup>2+</sup> and methyl orange were fixed by the best activated carbon. The results showed that synthesized activated carbon with an impregnation ratio equal to 2 presented the highest iodine number of 973.30 mg/g. The maximum adsorption capacities were 60.97 mg/g for nickel and 65.35 mg/g for methyl orange in the single-compound system. While, in the binary system, the maximum adsorption capacities were 67.56 mg/g and 35.21 mg/g for nickel and methyl orange, respectively. The activated carbon obtained with an impregnation ratio equal to 2 successfully removed nickel and methyl orange from aqueous solution. Further studies including the effect of temperature and activated carbon mass on nickel and methyl orange adsorption will be investigated.

**Key words:** Activated carbon ; nickel ; methyl orange ; adsorption

#### 1. Introduction

Au cours de ces dernières décennies, la pollution de l'environnement est devenue de plus en plus préoccupante, en raison de la croissance démographique et des activités agricoles qui génèrent d'importantes quantités de déchets solides. La réduction de ces déchets a nécessité leur valorisation en de nombreux produits parmi lesquels figurent les charbons actifs [1 – 7]. L'obtention des charbons actifs à partir des ressources non renouvelables constitue un problème majeur surtout pour les pays en développement en raison de la cherté de ces charbons. Pour pallier à ce problème, l'orientation vers les ressources renouvelables et à faibles coûts est envisagée. Les résidus agricoles font partie de ces ressources renouvelables. La Côte d'Ivoire est un pays à fort potentiel agricole. Plusieurs travaux ont porté sur la valorisation de certains déchets issus de l'agriculture ivoirienne comme les coques de macoré [7], de coco [8], d'arachide [9], de cajou [10] et de karité [10] en tant que précurseurs de charbons actifs. Cependant, ces études n'ont pas tenu compte de l'influence du ratio entre l'agent activant et la matière première au cours du processus d'activation. Les fibres de coco se retrouvent parfois sur les plages et sont une source d'insalubrité. Elles sont souvent

éliminées par calcination à ciel ouvert, provoquant ainsi des émissions du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) source de réchauffement climatique. Il est donc important de donner une valeur ajoutée à ces fibres de coco en tant que précurseurs de charbons actifs dans le but de préserver la pollution de l'environnement. Plusieurs méthodes et techniques de dépollution des eaux telles que, les procédés membranaires, l'oxydation et l'adsorption ont été développées pour traiter les eaux contaminées par les polluants chimiques [11 -13]. L'une des techniques la plus utilisée jusqu'à ce jour reste l'adsorption en raison de sa simplicité. L'adsorption utilise plusieurs adsorbants dont les charbons actifs. La plupart des études sur l'élimination du nickel et l'orange de méthyle par des charbons actifs à base des déchets agricoles s'est focalisée sur des solutions monocomposées [1 – 7]. Cependant, les travaux portant sur l'adsorption simultanée du nickel et de l'orange de méthyle en solution aqueuse sont limités. Etant donné que les eaux usées réelles contiennent au moins deux polluants et que la présence d'un polluant peut influencer le comportement de l'autre, il serait capital d'envisager l'étude d'adsorption simultanée de polluants chimiques en système binaire synthétique. L'objectif général de ce travail est d'étudier la dépollution des eaux usées synthétiques contenant le nickel et l'orange de méthyle à partir des phénomènes d'adsorption sur du charbon actif à base de fibres de coco. Plus spécifiquement, il s'agira de : (i) étudier l'effet du ratio d'imprégnation dans la synthèse des charbons actifs, (ii) caractériser le meilleur charbon obtenu, (iii) étudier l'effet des paramètres telles que le temps de contact, le pH et la concentration initiale en nickel et en orange de méthyle, sur la fixation du nickel et de l'orange de méthyle en solution synthétique monocomposée, (iv) étudier les effets synergique et antagoniste impliqués dans l'adsorption du nickel et l'orange de méthyle en solution synthétique binaire.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matières premières : fibres de coco

Les fibres sont séparées de la noix puis lavées abondamment à l'eau distillée. Après lavage, les fibres sont séchées à l'étuve à 80°C pendant 24h. Les fibres sèches sont découpées en de petits morceaux et tamisées dans un tamis de diamètre 100µm.

### 2.2. Méthodes d'analyses

#### 2.2.1. Préparation des charbons

Les charbons ont été préparés en utilisant la solution d'acide orthophosphorique (purité 85 % et densité 1,71) comme agent imprégnant. Les fibres de coco ont été imprégnées dans le ratio d'imprégnation

$$(RI) = \frac{\text{masse d'acide}}{\text{masse des fibres}} \quad (1)$$

de 0,125 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 et 2. Les imprégnations ont été faites suivant la méthode proposée par **Yorgun and Yildiz** [14]. Après séchage les fibres sont calcinées dans un four (Nabertherm LE14 C290/11) pendant 2h30 à 550°C. Le charbon actif est lavé plusieurs fois à l'eau distillée de sorte à avoir un pH égal à 7 et le charbon actif est séché à 80°C pendant 24h.

Le meilleur charbon a été recherché à travers la détermination de l'indice d'iode I<sub>2</sub>

$$I_2 \text{ (mg/g)} = \frac{(N_{I_2} \times V_{I_2} - FD \times N_{thio} \times V_{thio}) \times 126,93}{m} \quad (2)$$

Avec : N<sub>I<sub>2</sub></sub> : normalité d'iode (N) ; V<sub>I<sub>2</sub></sub> : volume d'iode (mL) ; N<sub>thio</sub> : normalité du thiosulfate (N) ; V<sub>thio</sub> : volume du thiosulfate versé (mL) ; m : masse du charbon (g) ; FD : facteur de dilution

$$FD = \frac{V_{I_2} + V_{HCl}}{V_{filtrat}} = \frac{50+5}{25} = 2,2 \quad (3)$$

#### 2.2.2. Caractérisation du meilleur charbon

Pour la caractérisation du meilleur charbon le pH au point de charge nulle (pHpzc), la surface spécifique (S<sub>L</sub>) et les fonctions de surface ont été déterminés.

#### 2.2.3. Tests d'adsorption

Les tests d'adsorption ont porté sur la cinétique d'adsorption, l'effet du pH et les isothermes d'adsorption.

La quantité de nickel (Ni) ou d'orange de méthyle (OM) adsorbée par le charbon activé à l'instant est déterminée par la relation suivante :

$$q_t = \frac{(C_0 - C_e) \times V}{m} \quad (4)$$

Avec : q<sub>t</sub> (mg/g) : capacité de rétention du nickel ou de l'orange de méthyle par unité de masse de charbon à l'instant t ; C<sub>e</sub> (mg/L) : concentration de Ni ou de OM à l'instant t dans la phase aqueuse ; C<sub>0</sub> (mg/L) :

concentration initiale en Ni ou en OM dans la phase aqueuse ;  $V(L)$  : volume de la solution initiale en Ni ou en OM ;  $m(g)$  : masse de charbon.

Le taux d'adsorption (%) de Ni ou de OM est déterminé par la relation suivante :

$$\% \text{ ADS} = \frac{(C_0 - C_e) \times 100}{C_0} \quad (5)$$

Avec : % ADS : pourcentage d'adsorption du nickel ou de l'orange de méthyle ;

$C_e$  (mg/L) : concentration de Ni ou de OM à l'équilibre dans la phase aqueuse ;  $C_0$  (mg/L) : concentration initiale en Ni ou en OM dans la phase aqueuse

Le rapport d'interaction est donné par la relation suivante :

$$R_{\text{inter}} = \frac{Q_{\text{max(binaire)}}}{Q_{\text{max(mono)}}} \quad (6)$$

❖ Si  $R_{\text{inter}}(i) < 1$ , l'adsorption du polluant 'i' est inhibée par le polluant 'j' et vice versa, on a un effet antagoniste ;

❖ Si  $R_{\text{inter}}(i) > 1$ , l'adsorption du polluant 'i' est améliorée par le polluant 'j' et vice versa, on a un effet synergique ;

❖ Si  $R_{\text{inter}}(i) = 1$ , l'adsorption du polluant 'i' n'a pas d'effet sur l'efficacité d'adsorption du polluant 'j' et vice versa, il n'y a pas d'interaction significative.

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Optimisation de la préparation du charbon

L'optimisation a porté sur l'influence du ratio d'imprégnation sur l'indice d'iode. Les résultats de l'indice d'iode indiqués par la figure 1 montrent une variation des valeurs entre 476,24 et 973,30 mg/g. La valeur maximale de l'indice d'iode a été obtenue pour le ratio d'imprégnation (RI) égal à 2 (973,30 mg/g) suggérant que le charbon obtenu avec le ratio 2 serait le plus microporeux.

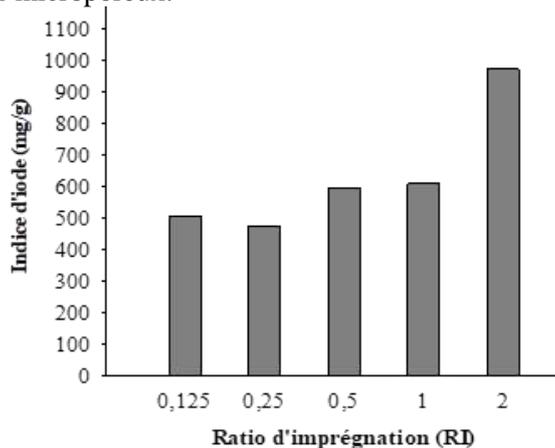


Figure 1 : Influence du ratio d'imprégnation (RI) sur l'indice d'iode

#### 3.2. Caractéristiques physico-chimiques du charbon de ratio RI=2

##### 3.2.1. Surface spécifique et fonctions de surface

Les résultats de la surface spécifique et des fonctions de surface sont donnés par le tableau I. Le charbon activé obtenu avec le ratio d'imprégnation égale à 2 présente une surface spécifique ( $S_L$ ) de 513,13 m<sup>2</sup>/g. Ceci montre un développement satisfaisant de macropores grâce à l'activation chimique du charbon au moyen de l'acide orthophosphorique. Les fonctions de surface déterminées par le test de Bohem ont montré que le charbon activé possède plus de fonctions acides que de fonctions basiques. Cette acidité est à dominance carboxylique et phénolique.

Tableau I : Surface spécifique ( $S_L$ ) et concentrations des groupes acides et basiques de charbon activé

Surface spécifique $S_L$ (m <sup>2</sup> /g)	Fonction carboxylique (mmol/g)	Fonction lactone (mmol/g)	Fonction phénolique (mmol/g)	Surface acide total (mmol/g)	Surface basique totale (mmol/g)
513,13	0,75	0,41	0,61	1,77	0,59

### 3.2.2. pH au point de charge nulle (pH<sub>pzc</sub>)

La figure 2 montre que le charbon présente un pH<sub>pzc</sub> de 5,1, indiquant un caractère acide. Pour des solutions de pH < 5,1 les groupes fonctionnels de surface du charbon activé seront protonés grâce à un excès de protons H<sup>+</sup> de la solution, la surface du charbon sera donc favorable à l'attraction des particules chargées négativement. Au contraire, si le pH de la solution est supérieur à 5,1, les groupes fonctionnels de surface seront déprotonés par l'excès d'ions OH<sup>-</sup>. Ainsi, la surface du charbon sera favorable à la fixation des composés chargés positivement.

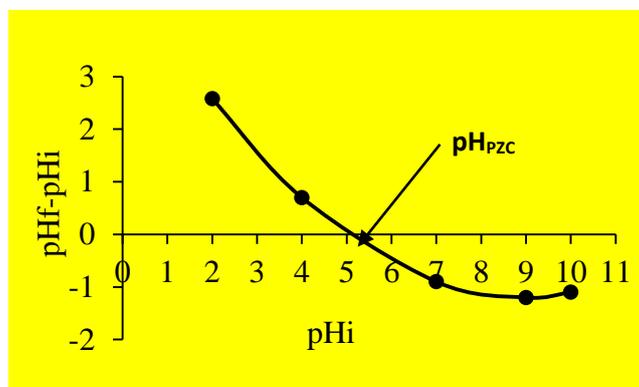


Figure 2.: Point isoélectrique du charbon activé de ratio 2

### 3.3. Adsorption du nickel (Ni) et de l'orange de méthyle (OM)

#### 3.3.1. Adsorption du nickel et de l'orange de méthyle en système monocomposé

##### 3.3.1.1. Cinétique d'adsorption nickel et de l'orange de méthyle

Les résultats de l'effet du temps de contact sur l'adsorption de l'orange de méthyle et des ions Ni<sup>2+</sup> sont donnés par la figure 3. Les quantités maximales adsorbées sont obtenues au bout de 90 min et de 120 min respectivement pour le nickel et pour l'orange de méthyle. Ces différents temps correspondent à la saturation des sites accessibles situés à l'interface solide-liquide.

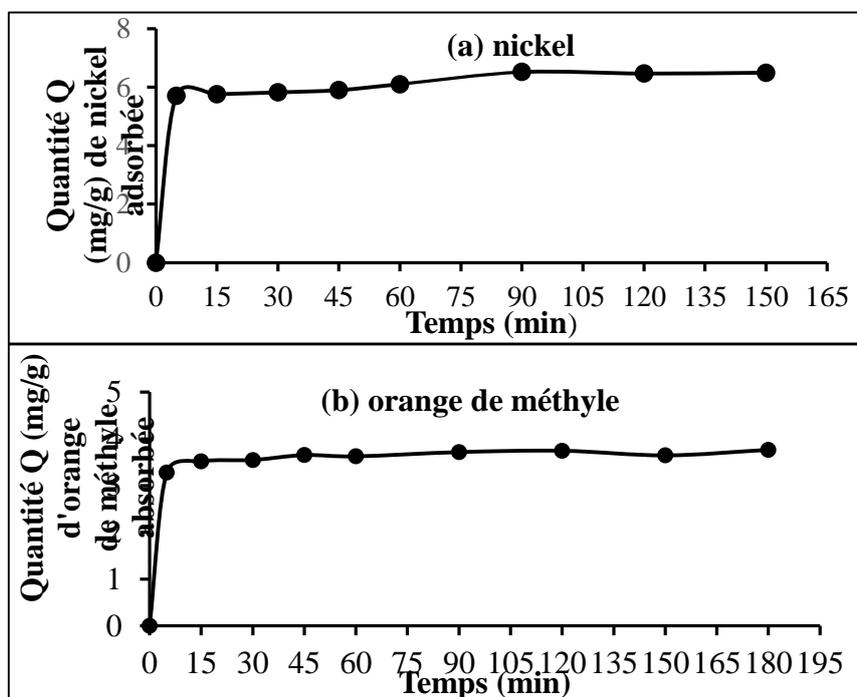


Figure 3 : Quantité adsorbée (mg/g) du nickel (a) et de l'orange de méthyle (b) au cours du temps

##### 3.3.1.2. Effet du pH sur l'adsorption du nickel et de l'orange de méthyle

Le pourcentage maximal (92,67 %) du nickel est obtenu à pH 5,3 (figure 4). Cela pourrait s'expliquer par une forte attraction électrostatique entre les cations métalliques Ni<sup>2+</sup> et la surface du charbon actif, car le pH de la solution est supérieur au pH<sub>pzc</sub> (5,1) du charbon. Le taux d'élimination de maximal (96,46 %) de l'orange de méthyle a été

obtenu à pH 2,87. Ceci s'expliquerait par le phénomène d'attraction électrostatique entre le colorant anionique et la surface du charbon car  $\text{pH} < \text{pH}_{\text{pzc}} = 5,1$

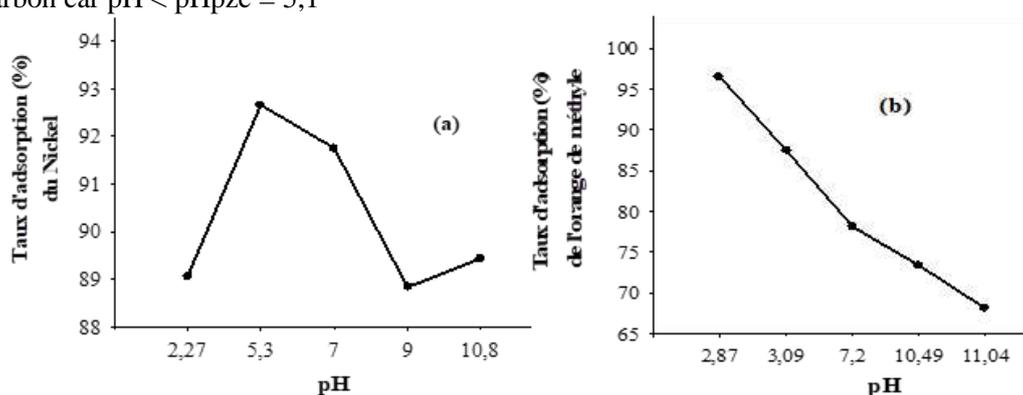


Figure 4 : Taux d'adsorption du nickel (a) et de l'orange de méthyle (b) en fonction du pH

### 3.3.1.3. Isothermes d'adsorption du nickel et de l'orange de méthyle

Les valeurs des constantes des modèles de Langmuir et de Freundlich sont reportées dans le tableau II. Les valeurs des coefficients de détermination  $R^2$  obtenues montrent que l'adsorption du nickel et de l'orange de méthyle est mieux décrite par le modèle de Langmuir, suggérant une chimisorption avec formation d'une monocouche. Le charbon activé à base de fibre de coco a un fort pouvoir adsorbant vis-à-vis de l'orange de méthyle que le nickel. Ceci est montré par la valeur  $K_F$  (2,75) de l'orange de méthyle plus élevée que celle (2,47) du nickel. De plus, la quantité maximale ( $Q_{\text{max}}$ ) de l'orange de méthyle (65,35 mg/g) est plus importante que celle du nickel (60,97 mg/g).

Tableau II : Constantes relatives aux modèles de Langmuir et de Freundlich

	Langmuir			Freundlich		
	$Q_{\text{max}}$ (mg/g)	$K_L$	$R^2$	$K_F$	$n$	$R^2$
Nickel	60,97	0,048	0,9997	2,47	1,02	0,9993
Orange de méthyle	65,35	0,04	1	2,75	1,06	0,9997

### 3.3.2. Adsorption du nickel et de l'orange de méthyle en système binaire

Les résultats du tableau III montrent que la présence de l'orange de méthyle améliore l'adsorption du nickel en solution binaire ( $R_{\text{inter}}(\text{Ni}) = 1,11$ ), tandis que l'adsorption de l'orange de méthyle est réduite par la présence du nickel ( $R_{\text{inter}}(\text{Orange de méthyle}) = 0,54$ ). L'amélioration de l'adsorption du nickel en système binaire pourrait s'expliquer par la formation de nouveaux sites de fixation tels que les groupes contenant l'azote.

Tableau III : Capacités maximales d'adsorption et rapport d'interaction

	Nickel		Orange de méthyle	
	Mono	Binaire	Mono	Binaire
$Q_{\text{max}}$ (mg/g)	60,97	67,56	65,35	35,21
$R_{\text{inter}}$	1,11		0,54	

## 4. Conclusion

Le présent travail avait pour objectif de valoriser les fibres de coco en tant que précurseurs de charbons actifs dans le but d'éliminer les ions  $\text{Ni}^{2+}$  et l'orange de méthyle en solution aqueuse. Les résultats de l'optimisation ont montré que la valeur maximale (973,30 mg/g) de l'indice d'iode a été obtenue pour le ratio d'imprégnation égal à 2. La surface spécifique ( $S_L$ ) a été de 513,13  $\text{m}^2/\text{g}$ , montrant un développement satisfaisant de macropores. Il ressort de la détermination des fonctions de surface et du  $\text{pH}_{\text{pzc}}$  que le charbon possède un caractère acide.

En solution monocomposée, les valeurs optimales du pH ont été de 5,3 pour le nickel et de 2,87 pour l'orange de méthyle. L'étude des isothermes d'adsorption a indiqué que le modèle de Langmuir décrit mieux l'adsorption du nickel et de l'orange de méthyle. En système binaire, les rapports d'interaction du nickel et de l'orange de méthyle ont été de 1,11 et 0,54, respectivement, indiquant que la présence de l'orange de méthyle améliore l'adsorption du nickel en solution binaire. Au regard de leur bon pouvoir adsorbant, les fibres de coco peuvent être proposées pour la fabrication d'une nouvelle génération de filtres accessibles aux populations des pays en développement. Ces filtres pourront servir à dépolluer les eaux contaminées en polluants chimiques tels que le nickel et l'orange de méthyle

## 5. Références bibliographiques

- [1]. Georgieva, V.G. ; Gonsalvesh, L. et Tavlieva, M.P. *J Mol Liq.* (2020) 312 ;112788.
- [2]. Yönten, V. ; Sanyürek, N.K. et Kivanç, M.R. *Surf Interfaces.* (2020) 20 ; 100529.
- [3]. Chiang, C.H. ; Chen, J. et Lin, J.H. *J. Environ Chem Eng.* (2020) 8 ; 103929.
- [4]. Anitha, D. ; Ramadevi, A. et Seetharaman, R. *MaterToday Proc.* (2020) 45 ; 718.
- [5]. Rodríguez, M.H. ; Yperman, J. ; Carleer, R. ; Maggen, J. ; Daddi, D. ; Gryglewicz, G. ; Bruggen B.V.D. ;Hernández, J.F. et Calvice, A.O. *Environ Chem Eng.* (2017) 6 ;1161.
- [6]. Rattanapan, S. ; Srikram, J. et Kongsune, P. *Energy Procedia.* (2017) 138, 949.
- [7]. Aboua, K.N. ; Yobouet, Y.A. ; Yao, K.B. ; Gon, D.L. et Trokourey, A. *J Environ Manage.* (2015) 156; 10.
- [8]. Kouakou, U.Y. ; Dembele, A. ; Yobouet, A, Y. et Trokourey, A. *Int J Adv Res Sci Eng Technol.* (2016) 3 ; 2573.
- [9]. Ouattara, P.H.. Gouli, B.M.I. ; Kouakou, U. ; Dembele, A. ; Yapo, A.J. et Trokourey, A. *Int J Sci Res.* (2014) 3 ; 933.
- [10]. N'goran, K.P.A. ; Diabaté, D. ; Yao, K.M. ; Kouassi, N.L.B. ; Gnonsoro, U.P. et Kinimo, K.C. *Arab J Geosci.* (2018) 11 ; 498.
- [11]. Bisheh, M.G. ; Ghorbani, M. ; Pevravi, M. et Jahanshahi, M. *Chem Eng Res Des.*(2020) 153 ; 829.
- [12]. Silva, L.G.M. ; Moreira, F.C. ; Souza, A.A.U. ; Souza, S.M.A.G.U. ; Boaventura, R.A.R. et Vilar, V.J.P. *J Clean Prodction.* (2018) 198 ; 430.
- [13]. Carolin, C.F. ; Kumar, P.S. ; Saravanan, A. ; Joshiba, G.J. et Naushad, M. *J Environ Chem Eng.* (2017) 5 ; 2782.
- [14]. Yorgun, S. et Yidilz, D. *J Taiwan Inst Chem Eng.* (2015) 53 ; 122.

## Performances comparées de la latérite et du granite dans l'élimination de la pollution organique et des nutriments par traitement des eaux usées mixtes de la ville de Ouagadougou sur filtres hybrides plantés de *Canna generalis*.

Sawadogo Bienvenue Joceline<sup>1</sup>, Kone Martine<sup>2</sup>, Yamma Rose<sup>1,2</sup>, Nonet Stéphane<sup>3</sup>, Walhain Philippe<sup>3</sup>, Kabore Roseline<sup>4</sup>, Sanou Toltama<sup>4</sup>, Yonli H. Arsène<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> UFR/SEA, Université Joseph KI-ZERBO, Ouagadougou, Burkina Faso 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

<sup>2</sup> Centre National de Recherche Scientifique et Technologique (CNRST), Ouagadougou, Burkina Faso 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso

<sup>3</sup> Centre de Recherche et d'Expertise pour l'Eau (CEBEDEAU), Liège, Belgique Université de Liège-Start Tilman, Allée de la découverte 11,4000 Liège, Belgique. Tél : +32 4 252 12 33

<sup>4</sup> Office National de l'Eau et de l'Assainissement (ONEA) Burkina Faso 01 BP171 Ouagadougou 01

### Résumé

Selon les prévisions, le Burkina Faso en situation de stress hydrique modéré connaîtra une situation de stress hydrique élevé permanent à l'horizon 2030, aggravée par la pollution liée aux activités anthropiques. Le présent travail a pour objectif de comparer les performances de la latérite et du granite en tant que supports de cultures dans le traitement des eaux usées mixtes (EN) de la ville de Ouagadougou. Pour ce faire, deux filières de filtres hybrides composées chacune d'un filtre vertical planté de *canna generalis* monté en série avec un filtre horizontal non planté ayant comme support de cultures de la latérite (SL) pour l'une et du granite (SG) pour l'autre ont été alimentées au débit de 260 L/m<sup>2</sup>/jr pendant 3,5 jours successifs suivis d'une phase de repos de même durée et ce pendant plusieurs mois. Pour les filières SL et SG respectivement, les abattements des nitrates sont de 98,76% et 96,92% tandis que ceux des orthophosphates, 90% et -5,76% indiquent un enrichissement en orthophosphates des eaux issues de SG. S'agissant de la pollution carbonée, les rendements respectifs sont de 98% et 90,6% pour la DBO<sub>5</sub>. En somme le support granulaire fait de latérite présente les meilleures performances épuratoires.

**Mots clés :** *Canna generalis*, filtres hybrides plantés, Latérite, granite.

### Abstract

According to forecasts, Burkina Faso, which is in a situation of moderate water stress, will be in a situation of permanent high water stress by 2030, exacerbated by pollution related to anthropic activities. The objective of this work is to compare the performance of laterite and granite as culture media in the treatment of mixed wastewater (EN) in the city of Ouagadougou. To do this, two hybrid filter systems, each composed of a vertical filter planted with *canna generalis* connected in series with a horizontal filter not planted with laterite (SL) for one and granite (SG) for the other, were fed at a rate of 260 L/m<sup>2</sup>/day for 3.5 successive days followed by a rest phase of the same duration for several months. For the SL and SG systems respectively, the nitrate reductions are 98.76% and 96.92% while those of orthophosphates, 90% and -5.76% indicate an enrichment in orthophosphates of the water from SG. Concerning carbon pollution, the respective yields are 98% and 90.6% for BOD<sub>5</sub>. In sum, the granular support made of laterite presents the best purification performances.

**Key words:** *Canna generalis*, hybrid planted filters, laterite, granite.

## 1. Introduction

La gestion des eaux usées urbaines constitue un problème environnemental majeur dans le monde et particulièrement en Afrique où d'énormes quantités d'eaux usées sont déversées dans la nature sans traitement préalable. Dans les pays à climat aride et/ou semi-aride, tels que le Burkina Faso, et bien de pays subsahariens, les eaux usées peuvent constituer un apport en eau non négligeable pour pallier le déficit hydrique croissant et récurrent si elles sont bien traitées. Plusieurs procédés de traitement qu'ils soient intensifs ou extensifs existent. Cependant force est de constater que ces différentes technologies présentent des insuffisances car certains polluants demeurent dans la nature à des concentrations très élevées [1]. La présente étude a pour objectif de mettre en place une technologie qui pourrait être une alternative au système de lagunage proposé par l'ONEA et qui présente de nombreuses insuffisances en termes d'élimination pour certains polluants responsables d'eutrophisation dans les cours d'eau.

## 2. Matériels et méthode

### 2.1 Matériels

Pour la réalisation de la présente étude, nous avons utilisé les matériels suivants:

- Eaux usées mixtes (domestiques et industrielles) constituées d'eaux usées domestiques et des eaux usées industrielles provenant essentiellement d'une brasserie (BRAKINA) et de l'abattoir frigorifique de Ouagadougou, raccordés au réseau d'assainissement de l'ONEA. Ces eaux sont prélevées dans le bassin anaérobie de la station d'épuration de Kossodo ;
- *Canna generalis*, qui est une plante d'origine américaine et asiatique de la famille des cannacae, de l'ordre des zingiberales, avec pour sous règne les trachéobionta et pour sous classe les zinziberidae. Cette plante a été choisie pour ses nombreuses caractéristiques très intéressantes : Plante vivace aux rhizomes épais, elle s'enracine et supporte

de grandes quantités d'eau, elle a une forte capacité d'évapotranspiration une forte aptitude à éliminer les odeurs, et une très bonne aptitude à prélever certains polluants, justifiant ainsi son utilisation dans la Phytoremediation [2].



Photo 1: *Canna generalis* après deux mois de plantation

- Sable : C'est une roche formée de petits grains de couleur blanche (sable pur) ou peut être colorés en jaune, rouge, violet par des oxydes de fer. Le sable est perméable à l'eau et cette propriété est utilisée pour filtrer l'eau (en traitement d'eau), [3] ; [4] ; [5].

- Granite : c'est une roche très compacte cohérente, massive et non poreuse. Il est utilisé dans de nombreux domaines à savoir, la construction des infrastructures routières, des immeubles et autres ouvrages. Il est également utilisé comme pierre ornemental (monuments, statuts...) et dans le traitement des eaux usées par filtres plantés et des boues de vidange par lits de séchage, [4] ; [5]. Dans le cadre de cette étude, le granite a été concassé afin d'avoir une granulométrie dont la taille du diamètre est comprise entre 6 à 15 mm utilisée dans la deuxième couche de traitement et 30 à 60 mm dans la couche de drainage conformément à la littérature [6].

- Latérite (photo 3) est une roche formée généralement de petits graviers durs, très denses, liés par un ciment argileux. Toute la roche est parcourue de tubulures ramifiées qui sont des petites galeries provoquées par les insectes ou les racines mortes de plantes. Elle est constituée d'oxydes de fer ( $Fe_2O_3$ ) et/ ou d'alumine ( $Al_2O_3$ ) associés à de la silice pour donner des silicates d'aluminium hydratés et/ou des silicates de fer hydratés, [7]. Cette composition chimique permet à la latérite de précipiter les Orthophosphates, l'un des polluants très présents dans l'eau.

## 2.2 Méthode

Le dispositif expérimental est constitué de quatre filtres disposés côte à côte : Il s'agit de deux containers d'une superficie de 27 m<sup>2</sup> chacun. Chaque container étant compartimenté en deux filtres et chaque filtre comportant deux étages, le premier saturé à écoulement horizontal en bas et le second non saturé à écoulement vertical placé au-dessus. On a donc deux filtres de même nature montés en parallèle fonctionnant par alternance soit 3,5 jours d'alimentation et 3,5 jours de repos. Dans l'un des containers, le matériau granulaire est constitué de 10cm de sable gossier (5/10mm) pour la première couche de filtration, de 60cm de granite (6/15mm) pour la deuxième couche qui représente la couche de traitement et enfin une dernière couche de 10cm de granite (30/60mm) pour la couche de drainage. Pour l'autre container le matériau granulaire est constitué de sable et de latérite avec les mêmes épaisseurs et la même granulométrie que le précédent. L'intérieur des containers est rendu étanche par une membrane EPDM imperméable, placée entre deux textiles. Les filtres horizontaux sont surmontés par des tubes en PVC troués pour améliorer l'aération du massif filtrant.



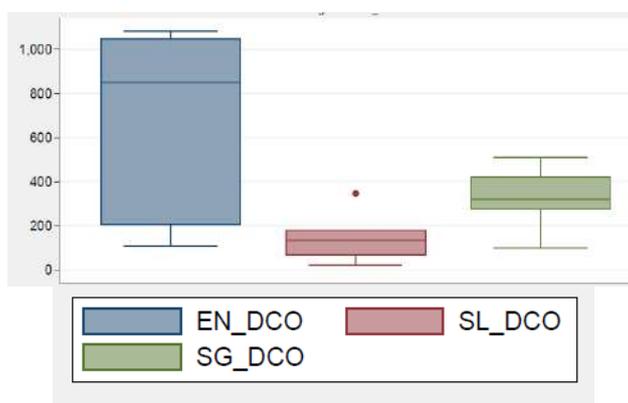
Photo 2: vue d'ensemble des pilotes des filtres plantés de *Canna generalis*

## 3. Résultats et discussion

### 3.1 Elimination de la pollution carbonée

**a) La DCO**

La concentration de la demande chimique en oxygène totale pour les eaux brutes à l'entrée des filtres plantés varie entre 86 à 1387 mg/l avec une valeur moyenne de 585,58 mg/l. La figure 1 indique que les teneurs de la DCO enregistrées à la sortie de la filière à latérite plantée de *Canna* varient de 22 à 975 mg/l avec une concentration moyenne de 149,79 mg/l tandis que la filière à granite plantée enregistre des concentrations moyennes de 233,5 mg/L. Selon les travaux de [8], les macrophytes ont l'aptitude de transférer l'oxygène du rhizome vers les racines à travers un système interne ce qui favorise la création d'une zone aérobie autour des racines dans le filtre à écoulement vertical, [3]. Cette zone aérobie va permettre la multiplication des micro-organismes qui sont les principaux décomposeurs de la matière organique dans la zone racinaire. Ces microorganismes méthanogènes pour la plupart se nourrissent des matières organiques présentes dans le milieu et se multiplient de façon exponentielle, ce qui va favoriser une bonne dégradation de la matière organique grâce à la présence de l'oxygène dans le milieu. Ces résultats confirment ceux obtenus par [9] qui ont utilisé le *Phragmites australis* sur filtre vertical.



**Figure 1** : évolution de la demande chimique en oxygène (DCO).

**b) La DBO<sub>5</sub>**

La figure 2 indique l'évolution des teneurs en DBO<sub>5</sub>. Cette dégradation peut se faire en présence ou en absence d'oxygène. L'élimination de la charge organique peut se faire par simple filtration en plus des processus biologiques dus à la flore bactérienne et aux plantes, [10]. Les valeurs moyennes de DBO<sub>5</sub> relevées sont de 88,91 mg/L, 143,26 mg/L respectivement pour la filière à latérite et la filière à granite alors que les eaux usées à l'entrée des pilotes ont donné une moyenne en 741,06 mg/L. Ces valeurs obtenues sont nettement meilleures que celles obtenues par [2] qui a obtenu des valeurs moyennes en DBO de 99,3mg/L à l'entrée contre 4,43mg/l après traitement, soit un rendement de plus de 91%.



**Figure 2** : Evolution de la DBO<sub>5</sub> avant et après traitement dans les filtres

Nous pouvons donc dire au regard des résultats que le filtre à latérite présente les meilleurs rendements avec un abattement en DBO<sub>5</sub> de 98% suivi du filtre à granite qui enregistre un abattement de 89,7%. Ces résultats obtenus s'expliquent par le fait que ces matériaux du fait de leur composition minéralogique et chimique leur confèrent des

propriétés particulières dont le prélèvement de certains polluants. Ces résultats confirment ceux de [7] qui ont utilisé la technique de recirculation de l'eau sur des matériaux capables de piéger certains polluants.

### 3.2 Elimination des nutriments

#### a) Abatement des nitrates

L'élimination de l'azote dans les filtres plantés est basée sur une relation symbiotique plantes-bactéries, dans laquelle les bactéries utilisent l'oxygène fourni au milieu par les plantes. Les concentrations en nitrates présentent des valeurs moyennes de 1,99 mg/L pour la filière à latérite (SL) contre une teneur moyenne de 2,39 mg/L pour la filière à granite (SG) alors que les eaux usées présentaient une teneur moyenne de 3,25mg/L à l'entrée des pilotes. La figure 3 ci-dessous indique une réduction des teneurs en nitrates à la sortie de la filière à latérite plus importante que celle obtenue à la sortie de la filière à granite. En somme, si le filtre à écoulement vertical favorise la nitrification, le rôle du filtre horizontal fonctionnant à saturation consiste à éliminer l'azote dans un processus de dénitrification [4].

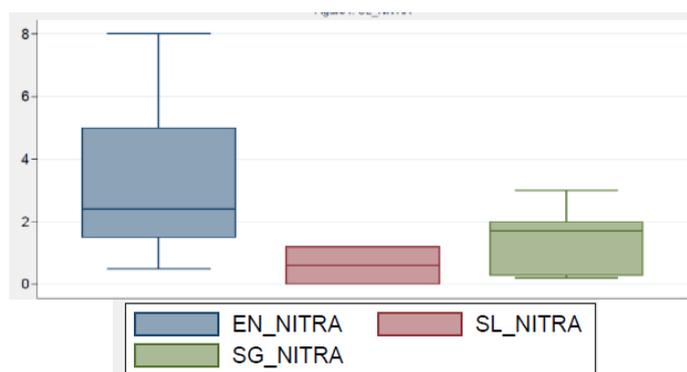


Figure 3 : Evolution des teneurs en nitrates

L'élimination de l'azote se fait essentiellement dans un processus de nitrification-dénitrification dans les deux filtres en série que sont le filtre à écoulement vertical suivi du filtre à écoulement horizontal, [12]. En effet, lorsqu'on se trouve en condition aérobie, on assiste à une forte nitrification de l'azote assurée par la flore microbienne présente dans l'eau brute et dans le massif filtrant [3]. En absence d'air c'est plutôt une dénitrification qui se produit.

Le filtre vertical a pour rôle d'assurer la nitrification, mais le constat d'avoir des teneurs en nitrates faibles par la suite montrent que le filtre horizontal a permis une bonne élimination des nitrates, ces résultats corroborent ceux de [3].

#### b) Evolution des teneurs en orthophosphates

Les concentrations moyennes sont de 7,47mg/L pour SL, 15,79 mg/L pour SG contre 14,53mg/L pour l'eau brute. La figure 4 indique le niveau d'abattement des orthophosphates au niveau de chaque filière.

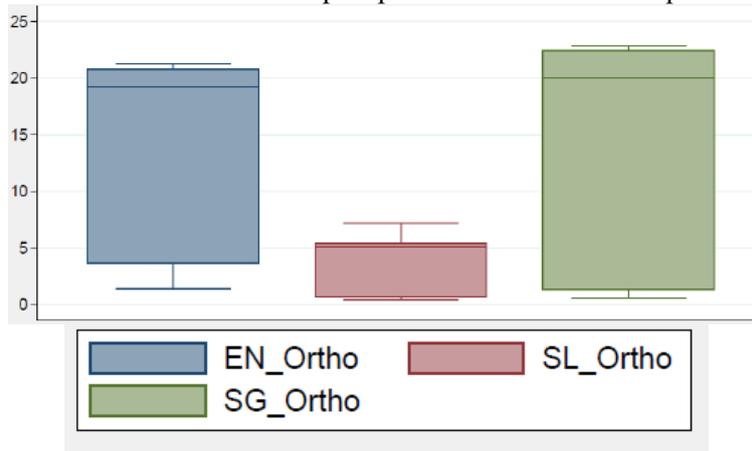


Figure 4 : Evolution des teneurs en orthophosphates avant et après traitement sur les filtres

Au regard des résultats obtenus, on note 90% d'abattement pour la filière à latérite SL contre -5,76% pour la filière à granite SG. Nous pouvons dire que la latérite favorise essentiellement l'élimination des orthophosphates, alors que le granite provoque un enrichissement du milieu en orthophosphates (figure 4). Cela pourrait s'expliquer par le fait

que la latérite de par sa composition chimique (matériau riche en fer) a la capacité de précipiter les ions orthophosphates [7] ; [11]. A l'inverse le granite pourrait favoriser un relargage des orthophosphates adsorbés sur le support granulaire antérieurement et ce eu égard au fait que les filtres étaient fonctionnels depuis plusieurs mois. Le relargage expliquerait le rendement négatif obtenu -5,76%. Cette étude comparative nous permet avec les résultats obtenus de dire que contrairement à l'azote qui est mieux éliminé par le granite, la latérite élimine mieux les orthophosphates.

#### 4. Conclusion

Ce travail qui avait pour ambition de mettre en évidence les performances comparées de deux matériaux granulaires à savoir le granite et la latérite, dans le traitement d'eaux usées mixtes par filtres hybrides plantés a permis de constater que la latérite élimine mieux aussi bien le phosphore que la pollution carbonée, alors que le granite élimine mieux l'azote. Pour les orthophosphates, on a obtenu plus de 90% pour SL tandis que SG présente des rendements négatifs de -5,76%. Quant à l'élimination du carbone, les rendements en DCO de 97% pour SL contre 94% pour SG, pour la DBO<sub>5</sub>, 98% pour SL contre 90,6% pour SG. Pour ce qui concerne le bilan de l'azote, nous enregistrons un abattement de 57% pour SG contre moins de 17% pour SL. En somme, chaque support de culture présente un intérêt en termes d'élimination de la pollution. Une association des deux matériaux pourrait être envisagée pour optimiser l'élimination de la pollution carbonée et des nutriments à travers un filtre hybride planté à écoulement vertical et horizontal associés dans le traitement des eaux urbaines.

#### Références bibliographiques

- [1] : Zongo et *al.*, 2013
- [2] YULISTYORINI et *al.*, 2019 : Removal of BOD and TSS of Student Dormitory Greywater using Vertical Sub-Surface Flow Constructed Wetland of *Ipomoea Aquatica* IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 515, 012056.
- [3] Molle et *al.*, 2005 : How to treat raw sewage with constructed wetlands: an overview of the French systems. *Water Sci Technol.* 51(9):11-21 ;
- [4] KONE et *al.*, 2011 Traitement d'eaux résiduaires urbaines par filtres plantés à flux verticale sous climat Soudano-sahélien. *Int.J.Biol. Chem. Sci* 5 (1) 217-231
- [5] SAWADOGO et *al.*, 2016 Planted Sludge Drying Beds in Treatment of Faecal Sludge from Ouagadougou: Case of Two Local Plant Species. *Journal of Water Resource and Protection*, 2016, 8, 697-705.
- [6] IRSTEA : Institut de Recherche en Sciences et Technologies de l'Eau ,2012: guide d'exploitation pour le traitement des eaux usées domestiques par filtres plantés de macrophytes
- [7] PRIGENT et *al.*, 2012 Rapport de Thèse de Doctorat Spécialité Génie des Procédés, Université Nantes Angers Le Mans : Optimisation du traitement de l'azote et du phosphore des eaux usées domestiques adapté aux filtres plantés de roseaux 230p
- [8] MOLLE et *al.*,2003 : Filtres plantés de roseaux: Limites hydrauliques et rétention du phosphore. Rapport de Thèse de Doctorat Spécialité Génie des Procédés, Université de Montpellier-Cemagref, France, 280p
- [9] MIMECHE et *al.*, 2013 : Capacité de filtres plantés de macrophytes pour l'épuration des eaux usées dans le climat semi-aride, *Courrier du Savoir – N°17*, pp.33-37 ;
- [10] MORVANNOU et *al.*, 2012 : . Dynamic modelling of nitrification in vertical flow constructed wetlands Université catholique de Louvain
- [11] Kim et *al.*, 2013 : Influence du ph sur la libération du phosphore accumulé dans les boues de surface d'un filtre planté de roseaux recevant des eaux usées traitées avec du FeCl<sub>3</sub>, *Déchets sciences-techniques*.532.hal-00955995,65, pp.4-11.

## Etude de l'efficacité et de la cinétique d'élimination de l'ammonium des eaux usées domestiques par un système des zones humides artificielles à écoulement vertical souterrain

Dègninou Houndedjihou<sup>1</sup>, Tomkouani Kodom<sup>1</sup>, Delmira Beatriz Wolff<sup>2</sup>, Luis Gustavo Marchioro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'Hydrologie Appliquée et Environnement, Faculté Des Sciences, Universités de Lomé, BP : 1515 Lomé, Togo ;

<sup>2</sup>Laboratório de Engenharia do Meio Ambiente, Setor de Análises Físico-Químicas ; Universidade Federal de Santa maria, CEP 97105-900. CNPJ : 95.591.764/0001-05 – IE : 109/0235728 Fone : (55) 3220 8786, Brazil.

### Resume

L'élimination de certains polluants tels que l'azote ammoniacal ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ), l'azote total Kjeldahl (NTK), la demande chimique en oxygène (DCO), la demande biochimique en oxygène ( $\text{DBO}_5$ ) et les phosphates ( $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ ) des eaux usées par la méthode des zones humides artificielles à écoulement vertical souterrain a été étudiée.

Un total de 10 échantillons de chaque type d'eau a été collecté et analysé. Dans les conditions de cette étude, le pourcentage d'élimination est de 84,62 ; 88,00 ; 84,93 et 90% respectivement pour NTK,  $\text{NH}_4^+$ , DCO et  $\text{DBO}_5$  alors qu'il est de 16% pour  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ . Parmi les trois modèles de cinétique étudiés pour décrire l'élimination de l'azote ammoniacal, les modèles de Stover-Kincannon et du second ordre ont montré une meilleure adéquation que le modèle du premier ordre.

La nitrification et l'adsorption sont les principaux processus d'élimination de l'ammoniac dans la zone humide. Le système s'est avéré très efficace pour l'élimination de l'azote ammoniacal, du TKN, de la DCO, de la  $\text{DBO}_5$  mais par contre reste inefficace pour l'élimination des phosphates.

**Mots clés** : Zones humides artificielles, écoulement vertical souterrain, eaux vannes et ammonium

### 1. Introduction

Les eaux usées domestiques sont considérées comme l'une des plus importantes sources de pollution aquatique et sont la cause de problèmes de santé publique, principalement dans de nombreuses zones rurales des pays en développement [1], [2]. Mais malheureusement dans les pays en développement ces eaux usées sont déversées dans l'environnement sans aucun traitement adéquat. Le manque des installations de collecte et de traitement des eaux usées entraîne une grave détérioration de la qualité des eaux de surface et les ressources en eaux souterraines, entravant leur exploitation [3]. Surmonter ces problèmes environnementaux et de santé publique causés par les eaux usées devient crucial et une préoccupation environnementale mondiale. Plusieurs approches efficaces et économiques telles que la méthode des boues activées aérobies, la méthode anaérobie, les bioréacteurs membranaires, les biofilms, les méthodes chimiques, etc. ont été développées. Cependant, l'utilisation généralisée des technologies traditionnelles semble être problématique dans les pays en développement, surtout pour les régions rurales et éloignées, en raison de leurs coûts élevés associés à la construction, à l'exploitation, et l'entretien [4]. Il est donc nécessaire de développer de nouvelles méthodes technologiques rentables et faciles à mettre en œuvre, comme les zones humides construites (ZH), qui conviennent bien aux pays en développement. Ces technologies sont économiquement peu coûteuses à exploiter [5], faciles à mettre en œuvre et nécessitent peu d'énergie externe [6] et constituent une solution techniquement réalisable pour la résolution des problèmes environnementaux causés par les eaux usées [7]. Elles sont plus respectueuses de l'environnement par rapport aux systèmes conventionnels de traitement des eaux usées [8]. Au cours des dernières décennies, la technologie des zones humides artificielles pour le traitement des eaux usées a suscité beaucoup d'intérêt dans le monde entier en raison de son efficacité dans l'élimination des polluants de l'eau [9] et la recherche dans ce domaine a augmenté puisque ces technologies constituent une alternative crédible et durable de traitement réalisable au traitement conventionnel des eaux usées [10]. Cependant, malgré la performance de ce système dans le traitement des eaux usées et son adaptation au climat tropical et subtropical, il reste sous connu et sous appliqué en raison de l'absence de critères de conception généralement adoptés pour les climats tropicaux et subtropicaux [11].

L'objectif de ce travail est d'étudier l'efficacité d'élimination de certains polluants comme l'azote ammoniacal ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ), l'azote total Kjeldahl (NTK), la demande chimique en oxygène (DCO), la demande biochimique en oxygène ( $\text{DBO}_5$ ) et la cinétique d'élimination de l'ammonium des eaux usées domestiques par le système des zones humides artificielles à écoulement vertical souterrain.

### 2. Matériels et méthodes

La station d'épuration des eaux usées domestiques a été installée en 2015 à Santa Maria, dans le sud du Brésil, sous un climat subtropical (latitude : -29,7175 ; longitude : - 53,7132). La station (Fig. 1) est composée d'une fosse septique (volume utile de 4,7 m<sup>3</sup>) fonctionnant comme traitement primaire, suivie d'une zone humide artificielle à flux vertical (ZHAFV) (Fig. 2). La ZHAFV mesurait 7,0 m de long, 3,5 m de large (surface = 24,5 m<sup>2</sup>), une hauteur

totale de 1,15 m et une hauteur de lit de 0,75 m. Le temps de résidence hydraulique (HRT) calculé selon la formule

$$: HRT = \frac{Ahe}{Q} \quad (1)$$

où (A) est la surface de la zone humide (m<sup>2</sup>), (Q) est le débit d'entrée (m<sup>3</sup>/d) et (e) est la porosité du lit [12] était de 3 jours. Le taux de charge hydraulique (HLR) défini comme l'équivalent en pluie de n'importe quel écoulement considéré est calculé par :  $HRL = 86.4Q \times A^{-1}$  (2)

où HLR est le taux de charge hydraulique (m/d), A est la surface de la zone humide (m<sup>2</sup>), Q est le débit d'entrée (m<sup>3</sup>/d) [13] était de 0.1225 m d<sup>-1</sup>.

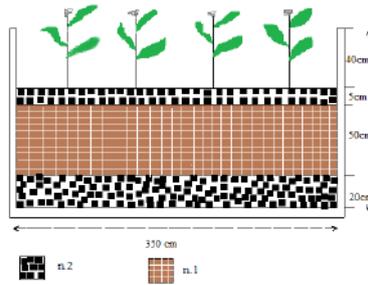


Fig. 1. Diagramme de la station d'épuration

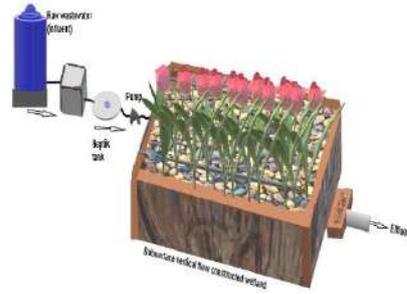


Fig. 2. Description schématique du système de zone humide construite

Le lit de la ZHAFV était composé de trois couches de deux types de gravier. De haut en bas (Fig.1) 0.05 m de gravier n. 2 (25 mm) ; 0.50 m de gravier n. 1 (19 mm) ; et 0.20 m de gravier n. 2 (25 mm). La porosité moyenne globale était de 49 % [14]. *Canna indica* a été utilisé comme macrophyte dans la ZHAFV depuis le début de son exploitation en 2015.

La ZHAFV a été dimensionnée pour traiter les eaux usées domestiques produites par 10 habitants vivant dans un logement des étudiants sur le campus de l'Université Fédérale de Santa Maria (UFMS, Brésil), avec un débit quotidien moyen de 3 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup>. Trois points d'échantillonnage ont été installés le long de la station de traitement des eaux usées : (i) les eaux usées brutes (influent), (ii) les eaux usées au niveau de la fosse septique et (iii) les eaux usées sortant de la ZHAFV (effluent). Les échantillons ont été collectés une fois par semaine, entre 8h30 et 10h30. De juin à août 2019, 10 échantillonnages ont été réalisés. Les paramètres physico-chimiques suivants ont été analysés sur chaque échantillon : pH, température, conductivité, potentiel d'oxydoréduction (ORP), azote ammoniacal (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N), azote total Kjeldahl (NTK), demande chimique en oxygène (DCO), demande biologique en oxygène (DBO<sub>5</sub>), (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N), nitrite (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N) et PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P. Tous les paramètres ont été analysés le même jour sauf le NTK et la DCO qui sont analysés parfois le deuxième jour d'échantillonnage. Ainsi, pour les paramètres que nous n'avons pas pu analyser le jour de l'échantillonnage, un volume donné de 100 ml de l'échantillon avec 2 ml d'acide sulfurique concentré a été conservé dans un réfrigérateur à une température d'environ 4°C et analysé le jour suivant l'échantillonnage. Tous les paramètres ont été analysés (et conservés, si nécessaire) conformément à APHA, [15]. Pour étudier l'effet du temps de résidence hydraulique, le débit quotidien (Q) a été modifié. Ceci nous a permis de faire varier le temps de rétention entre 0 et 6 jours, puis la concentration en NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N a été analysée à différents temps de résidence. L'analyse statistique a été effectuée en utilisant l'ANOVA et le test U de Mann-Whitney pour étudier la différence statistique des paramètres entre l'influent et l'effluent. La différence a été considérée comme significative lorsque les valeurs de P sont inférieures à 0,05 et toutes les analyses statistiques ont été effectuées par les logiciels STATISTICA et Origin. Trois des modèles cinétiques couramment utilisés pour l'élimination des matières organiques dans les bioréacteurs ont été utilisés pour étudier le comportement et les performances de l'élimination du NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N dans la zone humide : Le modèle de Stover-Kincannon, le modèle de premier ordre avec hypothèse d'écoulement piston et le modèle d'élimination des polluants de second ordre [16]. Ils ont été utilisés pour évaluer le modèle approprié qui correspond bien à la présente étude.

## 2.1 Modèle de Stover-Kincannon

Le modèle de Stover-Kincannon est décrit par l'équation 3 [12] :  $\left(\frac{dC}{dt}\right)^{-1} = \frac{V}{Q(C_i - C_e)} = \frac{K_B}{U_{\max}} \left(\frac{V}{QC_i}\right) + \frac{1}{U_{\max}}$  (3)

Dans cette équation,  $C_i$  et  $C_e$  sont respectivement la concentration de l'influent et de l'effluent ( $\text{g L}^{-1}$ ) ;  $U_{\max}$  est la vitesse maximale d'élimination du substrat ( $\text{g L}^{-1} \text{ j}^{-1}$ ) ;  $K_B$  est la constante de saturation ( $\text{g L}^{-1} \text{ j}^{-1}$ ) ;  $Q$  est le débit ( $\text{m}^3 \text{ j}^{-1}$ ), et  $V$  est le volume du réacteur ( $\text{m}^3$ ). Les paramètres  $K_B/U_{\max}$  et  $1/U_{\max}$  ont été calculés comme la pente et l'interception du tracé de  $\frac{V}{Q(C_i - C_e)}$  en fonction de  $\frac{V}{QC_i}$

Selon Jin et Zheng [26], la concentration d'azote ammoniacal dans l'effluent et l'efficacité ( $E$ ) ou la prédiction de l'élimination (%) du système pour l'élimination de l'ammoniac peuvent être obtenues comme suit :

$$C_e = C_i \left(1 - \frac{U_{\max}}{K_B + \frac{QC_i}{V}}\right) \quad (4) \quad E = \frac{U_{\max}}{K_B + \frac{QC_i}{V}} \quad (5)$$

## 2.2) Cinétique de premier ordre avec écoulement piston

L'équation de la cinétique d'élimination des polluants du premier ordre avec écoulement piston peut être écrite comme

$$\text{suit [17], [18]} : \frac{C_e}{C_i} = e^{-K_1 t} \quad (6)$$

Où  $C_e$  et  $C_i$  représentent la concentration en polluants de l'effluent et de l'influent,  $t$  est le temps de rétention hydraulique ( $d$ ) et  $K_1$  est la constante cinétique de premier ordre basée sur la surface. Le tracé de la courbe  $\ln\left(\frac{C_e}{C_i}\right)$

en fonction de  $t$  a été utilisé pour déterminer la valeur de  $K_1$  en tant que pente.

## 2.3 Équation cinétique de second ordre

La cinétique du second ordre peut être exprimée comme suit [19] :  $\frac{C_i \times HRT}{C_i - C_e} = n \times HRT + m \quad (7)$

En traçant le graphique  $\frac{C_i \times HRT}{C_i - C_e}$  en fonction de  $HRT$ , les valeurs de  $n$  et  $m$  ( $d^{-1}$ ) ont été calculées comme la pente

et l'interception du graphique de l'équation 7.

Selon Abyar et al. [20], la concentration en azote de l'effluent et la prédiction de l'efficacité du système pour l'élimination des nutriments ont été obtenues par les équations suivantes :

$$C_e = C_i \left(1 - \frac{HRT}{m + n \times HRT}\right) \quad (8) \quad E = \frac{HRT}{m + n \times HRT} \quad (9)$$

## 3. Résultats et discussion

### 3.1 Caractéristiques de l'influent et de l'effluent

Paramètres	Influent			Effluent		
	Min	Max	Moyenne	Min	Max	Moyenne
pH	6,86	7,89	7,42	6,44	7,31	6,89
T(°C)	14,10	21,80	16,57	13,80	22,90	16,83
ORP (mV)	-55,40	2,60	-29,07	-22,90	28,90	0,85
Cond. ( $\mu\text{s/cm}$ )	695,80	1183,00	935,47	490,80	731,40	577,43
DCO (mg/L)	442,48	2735,90	1328,52	30,26	225,81	134,47
DBO <sub>5</sub> (mg/L)	220,00	480,00	356,00	20,00	100,00	55,85
NTK (mg/L)	62,77	255,30	133,72	6,11	31,17	16,24
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N(mg/L)	47,84	144,19	77,15	3,43	27,86	11,63
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N(mg/L)	0,3	2,88	1,78	30,96	141,59	71,62
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N(mg/L)	ND	ND	ND	0,33	1,76	0,915
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P (mg/L)	12,93	44,07	25,46	17,85	26,30	21,48

Tableau 1: Caractéristiques de l' Influent et de l' Effluent

Les caractéristiques de l'influent (eau usée brute) et de l'effluent sont résumées dans le tableau 1. Dans les eaux usées brutes, les concentrations moyennes des 10 échantillonnages étaient de 1328,52 mg/L (DCO), 356,00 mg/L (DBO<sub>5</sub>), 133,72 mg/L (NTK), 77,15 mg/L (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N). Dans l'effluent, les concentrations étaient de 134,47 mg/L (DCO), 55,85 mg/L (DBO<sub>5</sub>), 16,24 mg/L (NTK), 11,63 mg/L (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N). La comparaison des caractéristiques de l'influent et de

l'effluent montre l'élimination de l'azote ammoniacal (84,93%), de la DCO (89,88%) et de la DBO<sub>5</sub> (84,3%), tandis que la concentration de nitrate a été multipliée par 40 dans l'effluent par rapport à l'influent. Cette observation met en évidence la conversion de l'azote ammoniacal dans la zone humide. On peut conclure à une bonne nitrification et une faible dénitrification dans le système, ce qui indique que le système était fortement oxygéné [10,12]. En effet, l'élimination de l'azote suit trois étapes : la nitrification de l'ammoniac en nitrite (nitritation), l'oxydation du nitrite en nitrate (nitration) et la réduction directe ultérieure du nitrite ou du nitrate en gaz N<sub>2</sub>, la dénitrification/dénitratation. Les milieux fortement oxygénés favorisent les deux premières étapes, tandis que la troisième étape est désavantagée, ce qui entraîne une augmentation des nitrates. On note une grande différence entre la concentration maximale et minimale de la plupart des paramètres analysés (DCO, NTK, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N, BOD<sub>5</sub>) dans l'influent ainsi que dans l'effluent ( $P < 0,05$ ).

### 3.2 Efficacité de la station de traitement des eaux usées

Le pourcentage d'élimination de certains paramètres (BOD<sub>5</sub>, COD, NTK, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N) a été calculé pour mettre en évidence l'efficacité du système dans le traitement des eaux usées. Le pourcentage d'élimination des paramètres (DCO, TKN, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N, BOD<sub>5</sub>) était supérieur à 80% (Fig.3). Ceci a renforcé le fait que la station d'épuration des eaux usées (ZHAFV) présentait un bon approvisionnement en oxygène.

En effet, il a été démontré, dans le même ZHAFV ici étudié, que l'apport en oxygène était suffisant pour l'élimination de la matière organique et la nitrification [21]. En effet, le milieu étant fortement oxygéné, la dégradation aérobie des composés organiques par des chémohétérotrophes aérobies avec un taux métabolique rapide est très favorable [22]. De plus, la présence de plantes dans le système peut stimuler les activités des microorganismes dans la rhizosphère, ce qui pourrait augmenter la minéralisation du carbone dans l'eau [23]. Cependant, l'élimination du phosphate dans le système artificiel était faible (15,63%). La même observation a été rapportée par d'autres études sur l'élimination du phosphore [7], [24], [25]. Gao et al. [34] ont rapporté que le phosphore est éliminé par l'interaction entre le substrat, les plantes et les micro-organismes dans les eaux usées. L'adsorption et la précipitation sont les principaux facteurs d'élimination du phosphore.

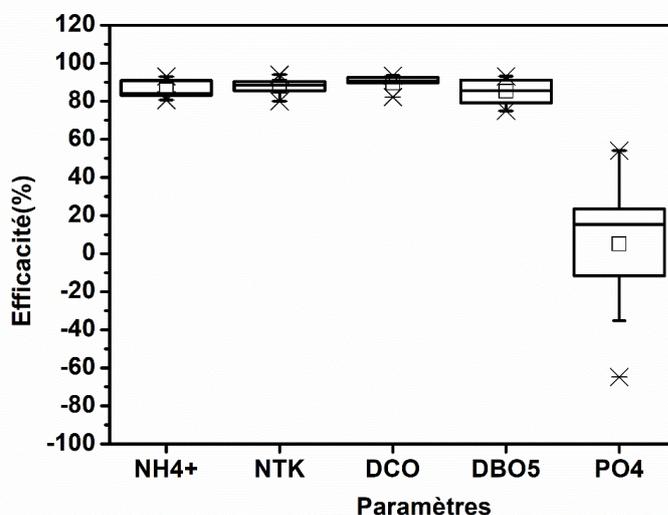


Figure 3: Performance du système de traitement des eaux usées (n = 10)

Le phosphate présent sera probablement assez assimilable pour les plantes dans la ZHAFV ou le temps que l'influent reste en contact avec le lit est insuffisant pour l'assimilation des plantes.

Les valeurs moyennes de température et de pH de l'effluent ne sont pas significativement différentes ( $P = .07$ ) de l'influent tandis que les valeurs ORP sont significativement différentes ( $P = .01$ ) (tableau 1) basé sur le test U de Mann-Whitney. La valeur moyenne du pH des eaux usées brutes, 7.0 -7.5, est très favorable pour un taux élevé de nitrification [22]. De plus, le pH peut jouer un rôle important dans la dégradation anaérobie des matières organiques. L'alcalinité est consommée par la nitrification. Ainsi, une nitrification importante peut provoquer une baisse importante du pH dans les eaux usées, empêchant la dénitrification [22] et affectant également les bactéries formatrices de méthane, provoquant la production de composés odorants dans la zone humide [27].

### 3.3 Azote ammoniacal

#### 3.3.1 Élimination de l'azote ammoniacal

Le pourcentage d'élimination de  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  et  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  était de 85% et - 3924%, respectivement. La comparaison des résultats sur la concentration d'azote dans l'influent et l'effluent montre une diminution de la concentration d'ammoniac et une augmentation de  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  dans l'effluent, justifiant le pourcentage d'élimination négatif (Tableau 1). Une tendance similaire a été rapportée par Zhai et al. [28] et Yang et al. [29] sur l'élimination de l'azote dans un système de zones humides construites. L'augmentation du nitrate dans l'effluent est principalement liée à l'oxydation microbienne assistée de l'ammoniac en nitrate (nitrification) [29]. L'écoulement vertical souterrain bénéficie d'un bon approvisionnement en oxygène. Ainsi, la nitrification de l'azote ammoniacal ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ) en azote nitrique ( $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ) est un processus microbien chimio-autotrope typiquement aérobique dans lequel l'oxygène est fourni aux bactéries nitrifiantes par la rhizosphère des plantes [30].

#### 3.3.2 Effet du temps de rétention hydraulique sur l'élimination de l'ammoniac

L'étude de l'effet du temps de rétention hydraulique (0-6 jours) (Fig. 4) montre que l'élimination de l'ammoniac augmente rapidement avec l'augmentation du temps de rétention hydraulique de 0 à 3 jours, puis décélère jusqu'à atteindre un état stable après 3 jours. La concentration maximale d'azote éliminé a été obtenue pour un temps de rétention de 3 jours. Après ce temps, l'augmentation du temps de séjour n'a pas affecté le pourcentage d'élimination de l'ammoniac dans le système. L'élimination élevée de l'ammoniac avec un faible temps de séjour montre que le processus d'adsorption est alors une voie importante pour la conversion de l'ammoniac dans le système de zones humides construites [32]. Une tendance similaire a été rapportée par Brooks et al. [32] qui ont trouvé une phase linéaire et rapide pendant les 43 premières heures et un équilibre après cette période. En fait, le lit dans le système est composé de matériaux poreux (gravier) comme un adsorbant. Ainsi, la phase rapide peut être attribuée à la disponibilité de sites de surface vacants pendant la phase préliminaire de l'adsorption, et après une certaine période de temps, les sites vacants sont occupés par l'adsorbat ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ), ce qui conduit à la création d'une force répulsive entre l'adsorbat sur la surface de l'adsorbant (gravier) et dans la phase de masse [33].

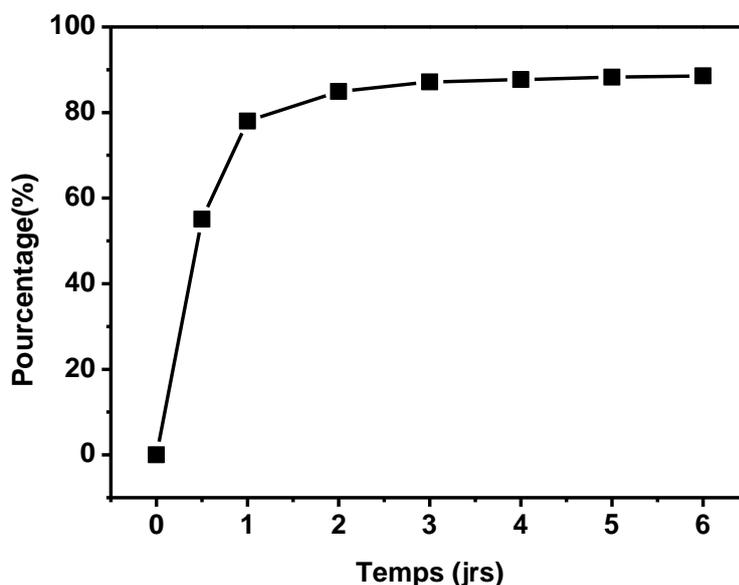


Figure 4: Effet du temps de rétention sur l'élimination de l'ammonium

#### 3.3.3 Cinétique de l'élimination de l'ammonium

La modélisation cinétique est une approche analytique pour décrire et prédire les paramètres spécifiques utilisés pour surveiller la performance du système [34]. L'avantage de la détermination du coefficient cinétique est que le modèle peut être ajusté pour correspondre aux données et ensuite utilisé pour analyser les alternatives pour améliorer le processus [25].

Les données des trois modèles cinétiques (Kincannon, cinétique de premier ordre et cinétique de second ordre) étudiés sont résumées dans le tableau 2. La cinétique de premier ordre avec écoulement piston avait un coefficient de corrélation de  $R^2 = 0,4584$  et une faible erreur quadratique moyenne (EQM) de 0,06579. Les valeurs  $R^2$  qui

résultent du tracé linéaire de la cinétique du modèle de premier ordre étaient faibles, ce qui montre que ce modèle n'est pas adapté pour décrire l'élimination de l'azote ammoniacal dans le système de marais artificiel.

Le tracé linéaire du modèle Stover- Kincannon présente un coefficient de corrélation élevé de  $R^2 = 0,98$  et une erreur quadratique moyenne (EQM) faible de 0,0042.

Le modèle de Stover-Kincannon peut être appliqué pour calculer l'élimination de l'azote ammoniacal. La constante de saturation ( $K_B$ ) et le taux de consommation ( $U_{max}$ ) calculés à partir de ce modèle étaient respectivement de 87,4 et 85,62 mg/l.d. Kermani et al. [19] ont trouvé une valeur  $U_{max}$  de 43.305 mg/l.d alors que Gholizadeh et al. [12] ont trouvé une valeur  $U_{max}$  de 3.64 mg/l.d pour la même élimination de l'ammoniac dans un procédé de biofilm à lit mobile pour le traitement des eaux usées.

Tableau 2: Les paramètres Cinétiques d'élimination de l'ammonium

<b>Modèle Stover-Kincannon</b>				
Equation de Regression	$R^2$	$U_{max}$	$K_B$	RMSE
$Y = 1,0208x + 0,01168$	0,98	85,62	87,4	0,0042
<b>Cinétique de premier-ordre avec écoulement piston</b>				
Equation de Regression	$R^2$	$K_1$	RMSE	
$Y = -0,111x - 0,4808$	0,4584	0,111	0,06579	
<b>Cinétique de Second-ordre</b>				
Equation de Regression	$R^2$	n	m	RMSE
$Y = 1,17x + 0,083$	0,977	1,17	0,083	0,0002

La comparaison de ces différentes valeurs  $U_{max}$  avec notre étude révèle que  $U_{max}$  dans notre étude était largement élevé pour un temps de rétention de 3 jours, ce qui montre que la présente ZHAFV a été bien conçue. On peut conclure que sur la base de cette valeur de  $U_{max}$ , le taux de charge est bien proportionnel au système (volume du lit) et que cette station d'épuration ne peut pas recevoir plus de débit d'eaux usées. Les équations suivantes ont été proposées pour modéliser la station de traitement des eaux usées afin de prédire la concentration d'azote ammoniacal dans l'effluent et l'efficacité de notre zone humide dans l'élimination de l'ammoniac

$$C_e = C_i \left( 1 - \frac{85,62}{87,4 + \frac{QC_i}{V}} \right) \quad (10) \quad E = \frac{85,62}{87,4 + \frac{QC_i}{V}} \quad (11)$$

La cinétique du second ordre a un coefficient de corrélation élevé de  $R^2 = 0,99$  et une erreur quadratique moyenne (EQM) très faible de 0,0002. La cinétique du second ordre avec la valeur élevée du coefficient de corrélation obtenue peut être utilisée pour décrire le comportement de transport de l'ammoniac dans la zone humide. La concentration prédite de l'effluent et l'efficacité d'élimination (%) en utilisant la cinétique du second ordre ont été évaluées. Les valeurs de n et m calculées comme la pente et l'interception de l'équation 6 sont respectivement 1,17 et 0,083. Une valeur similaire a été rapportée par Alavi et al. [43] pour l'élimination de l'azote. La cinétique du second ordre a été jugée appropriée pour décrire l'élimination de l'azote ammoniacal dans notre station d'épuration des eaux usées. La concentration d'azote dans l'effluent et la prédiction de l'efficacité de la station d'épuration pour l'élimination de l'ammoniac seront obtenues par les équations suivantes :

$$C_e = C_i \left( 1 - \frac{HRT}{0,083 + 1,17 \times HRT} \right) \quad (12) \quad E = \frac{HRT}{0,083 + 1,17 \times HRT} \quad (13)$$

La valeur prédite de la concentration d'ammoniac dans l'effluent et son pourcentage d'élimination calculé à l'aide du modèle de Stover-Kincannon et du modèle du second ordre sont résumés dans (Tableau 3).

Tableau 3: Comparaison des valeurs calculées et expérimentales

Valeurs Expérimentales	Concentration (mg/L)		Efficacité (%)		
		11,63		84,93	
Valeurs Calculées	<b>Modèle de Stover-Kincannon</b>				
		11,13		85,5	
	<b>Cinétique de Second-ordre</b>				
	11,47		85,13		

La valeur  $R^2$  du tracé linéaire du modèle de Stover-Kincannon était  $\geq 0,98$  avec une faible valeur de RMSE. De même, le tracé linéaire du modèle de second ordre a présenté une valeur  $R^2 \geq 0,98$  et une faible valeur de RMSE. Ces observations indiquent une meilleure adéquation des données pour le modèle de Stover-Kincannon et le modèle du second ordre. En outre, les valeurs calculées de la concentration d'ammoniac dans l'effluent et son pourcentage d'élimination étaient proches des valeurs mesurées montrant que le modèle de Stover-Kincannon ( $R^2 = 0,98$ ) et le modèle du second ordre ( $R^2 = 0,977$ ) sont alors appropriés pour décrire l'élimination de l'azote en prédisant sa concentration et son pourcentage d'élimination dans la station d'épuration des eaux usées. Certains chercheurs comme Jin et Zheng [16], Xu et al. [35] ont rapporté une tendance similaire sur les modèles appropriés qui décrivent la cinétique d'élimination de l'azote.

#### 4. Conclusion

L'étude de l'élimination de certains nutriments dans les eaux usées a été menée en utilisant un système de zone humide construite à flux vertical. Les résultats montrent que la ZHAFV est efficace pour l'élimination de la DCO, TKN,  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{BOD}_5$  avec un pourcentage d'élimination supérieur à 80% alors que le taux d'élimination est très faible pour  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  (15.63%). Le pourcentage d'élimination de  $\text{NO}_3\text{-N}$  a été trouvé négatif (-3924%) montrant une augmentation de la concentration en nitrate avec une diminution de la concentration en azote ammoniacal dans la ZHAFV. La nitrification et l'adsorption sont les principaux processus d'élimination de l'ammoniac dans la zone humide. L'étude de l'effet de contact a montré que l'élimination de l'ammoniac dans les zones humides se fait principalement par adsorption. Parmi les trois modèles cinétiques étudiés pour décrire l'élimination de l'azote ammoniacal, le modèle de Stover-Kincannon ( $R^2 = 0,98$ ) et le modèle du second ordre ( $R^2 = 0,977$ ) ont été jugés appropriés pour décrire l'élimination de l'azote en prédisant sa concentration et son pourcentage d'élimination dans la station d'épuration des eaux usées.

#### References

- [1] G. Dotro *u. a.*, *Treatment wetlands*. London: IWA Publishing, 2017.
- [2] J. Vymazal, «Removal of nutrients in various types of constructed wetlands», *Sci. Total Environ.*, Bd. 380, Nr. 1–3, S. 48–65, Juli 2007, doi: 10.1016/j.scitotenv.2006.09.014.
- [3] S. N. Abed, N. Mahmoud, und S. K. Sharma, «Potential of Horizontal Subsurface-Flow Constructed Wetlands for Polishing of Treated Sewages», *J. Environ. Eng.*, Bd. 142, Nr. 6, S. 04016020, Juni 2016, doi: 10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0001091.
- [4] Q. Zhou *u. a.*, «Effects of Vegetation and Temperature on Nutrient Removal and Microbiology in Horizontal Subsurface Flow Constructed Wetlands for Treatment of Domestic Sewage», *Water. Air. Soil Pollut.*, Bd. 228, Nr. 3, S. 95, März 2017, doi: 10.1007/s11270-017-3280-1.
- [5] M. Scholz, «Comparative Study of Domestic Wastewater Treatment by Wetlands and Ponds», in *Sustainable Water Treatment*, Elsevier, 2019, S. 131–153. doi: 10.1016/B978-0-12-816246-0.00006-9.
- [6] S. Wu, P. Kuschik, H. Brix, J. Vymazal, und R. Dong, «Development of constructed wetlands in performance intensifications for wastewater treatment: A nitrogen and organic matter targeted review», *Water Res.*, Bd. 57, S. 40–55, Juni 2014, doi: 10.1016/j.watres.2014.03.020.
- [7] A. I. Stefanakis und V. A. Tsihrintzis, «Performance of pilot-scale vertical flow constructed wetlands treating simulated municipal wastewater: effect of various design parameters», *Desalination*, Bd. 248, Nr. 1–3, S. 753–770, Nov. 2009, doi: 10.1016/j.desal.2009.01.012.
- [8] H. I. Mustapha, J. J. A. van Bruggen, und P. N. L. Lens, «Vertical subsurface flow constructed wetlands for polishing secondary Kaduna refinery wastewater in Nigeria», *Ecol. Eng.*, Bd. 84, S. 588–595, Nov. 2015, doi: 10.1016/j.ecoleng.2015.09.060.
- [9] J. Chang, S. Wu, Y. Dai, W. Liang, und Z. Wu, «Treatment performance of integrated vertical-flow constructed wetland plots for domestic wastewater», *Ecol. Eng.*, Bd. 44, S. 152–159, Juli 2012, doi: 10.1016/j.ecoleng.2012.03.019.
- [10] C. F. Bustillo-Lecompte, M. Mehrvar, E. Quiñones-Bolaños, und C. F. Castro-Faccetti, «Modeling organic matter and nitrogen removal from domestic wastewater in a pilot-scale vertical subsurface flow constructed wetland», *J. Environ. Sci. Health Part A*, Bd. 51, Nr. 5, S. 414–424, Apr. 2016, doi: 10.1080/10934529.2015.1120528.
- [11] S. Kantawanichkul, S. Kladprasert, und H. Brix, «Treatment of high-strength wastewater in tropical vertical flow constructed wetlands planted with *Typha angustifolia* and *Cyperus involucratus*», *Ecol. Eng.*, Bd. 35, Nr. 2, S. 238–247, Feb. 2009, doi: 10.1016/j.ecoleng.2008.06.002.
- [12] A. Gholizadeh, M. Gholami, R. Davoudi, A. Rastegar, und M. Miri, «Efficiency and kinetic modeling of removal of nutrients and organic matter from a full-scale constructed wetland in Qasr- e-Shirin, Iran», S. 10, 2015.
- [13] P.-D. Sindilariu, A. Brinker, und R. Reiter, «Factors influencing the efficiency of constructed wetlands used for the treatment of intensive trout farm effluent», *Ecol. Eng.*, Bd. 35, Nr. 5, S. 711–722, Mai 2009, doi: 10.1016/j.ecoleng.2008.11.007.
- [14] S. T. Decezaró, «Sistema de tanque séptico e wetland construído vertical com recirculação para remoção de matéria orgânica e nitrogênio de esgoto doméstico», Universidade Federal de Santa Maria, 2018.

- [15] American Public Health Association, Hrsg., *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 23rd edition. Washington, DC: American Public Health Association, 2017.
- [16] R.-C. Jin und P. Zheng, «Kinetics of nitrogen removal in high rate anammox upflow filter», *J. Hazard. Mater.*, Bd. 170, Nr. 2–3, S. 652–656, Okt. 2009, doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.05.016.
- [17] G. M. P. R. Weerakoon, K. B. S. N. Jinadasa, J. Manatunge, B. Wijesiri, und A. Goonetilleke, «Kinetic modelling and performance evaluation of vertical subsurface flow constructed wetlands in tropics», *J. Water Process Eng.*, Bd. 38, S. 101539, Dez. 2020, doi: 10.1016/j.jwpe.2020.101539.
- [18] M. Gajewska und K. Skrzypiec, «Kinetics of nitrogen removal processes in constructed wetlands», *E3S Web Conf.*, Bd. 26, S. 00001, 2018, doi: 10.1051/e3sconf/20182600001.
- [19] M. Kermani, B. Bina, M. M. Amin, H. Movahedian, und M. Nikaeen, «Performance and Modeling of Moving Bed Biofilm Process for Nutrient Removal from Wastewater», S. 12, 2010.
- [20] H. Abyar, H. Younesi, N. Bahramifar, A. A. Zinatizadeh, und M. Amini, «Kinetic evaluation and process analysis of COD and nitrogen removal in UAASB bioreactor», *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, Bd. 78, S. 272–281, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.jtice.2017.06.014.
- [21] S. T. Decezaró u. a., «Influence of hydraulic loading rate and recirculation on oxygen transfer in a vertical flow constructed wetland», *Sci. Total Environ.*, Bd. 668, S. 988–995, Juni 2019, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.03.057.
- [22] T. Saeed und G. Sun, «A review on nitrogen and organics removal mechanisms in subsurface flow constructed wetlands: Dependency on environmental parameters, operating conditions and supporting media», *J. Environ. Manage.*, Bd. 112, S. 429–448, Dez. 2012, doi: 10.1016/j.jenvman.2012.08.011.
- [23] X. M. Xiang, X. B. Zhou, X. K. Wang, J. T. Zhou, und R. Wang, «Nutrients Removal from Secondary Effluent by Using Different Constructed Wetland Systems», *Adv. Mater. Res.*, Bd. 518–523, S. 2155–2160, Mai 2012, doi: 10.4028/www.scientific.net/AMR.518-523.2155.
- [24] B. El Hamouri, J. Nazih, und J. Lahjouj, «Subsurface-horizontal flow constructed wetland for sewage treatment under Moroccan climate conditions», *Desalination*, Bd. 215, Nr. 1–3, S. 153–158, Sep. 2007, doi: 10.1016/j.desal.2006.11.018.
- [25] M. Farzadkia u. a., «Investigating the efficiency and kinetic coefficients of nutrient removal in the subsurface artificial wetland of Yazd wastewater treatment plant», S. 8, 2015.
- [26] K. Keerthana und R. Thivyatharsan, «Constructed wetland for slaughterhouse wastewater treatment», *AGRIEAST J. Agric. Sci.*, Bd. 12, Nr. 1, S. 7, Juni 2018, doi: 10.4038/agri east.v12i1.47.
- [27] J. Vymazal, «Horizontal sub-surface flow and hybrid constructed wetlands systems for wastewater treatment», *Ecol. Eng.*, Bd. 25, Nr. 5, S. 478–490, Dez. 2005, doi: 10.1016/j.ecoleng.2005.07.010.
- [28] J. Zhai u. a., «New nitrogen removal pathways in a full-scale hybrid constructed wetland proposed from high-throughput sequencing and isotopic tracing results», *Ecol. Eng.*, Bd. 97, S. 434–443, Dez. 2016, doi: 10.1016/j.ecoleng.2016.10.045.
- [29] Y. Yang, Z. M. Wang, C. Liu, und X. C. Guo, «Enhanced P, N and C removal from domestic wastewater using constructed wetland employing construction solid waste (CSW) as main substrate», *Water Sci. Technol.*, Bd. 66, Nr. 5, S. 1022–1028, Sep. 2012, doi: 10.2166/wst.2012.277.
- [30] G. Yu, H. Peng, Y. Fu, X. Yan, C. Du, und H. Chen, «Enhanced nitrogen removal of low C/N wastewater in constructed wetlands with co-immobilizing solid carbon source and denitrifying bacteria», *Bioresour. Technol.*, Bd. 280, S. 337–344, Mai 2019, doi: 10.1016/j.biortech.2019.02.043.
- [31] X. Wang, Y. Tian, H. Liu, X. Zhao, und Q. Wu, «Effects of influent COD/TN ratio on nitrogen removal in integrated constructed wetland–microbial fuel cell systems», *Bioresour. Technol.*, Bd. 271, S. 492–495, Jan. 2019, doi: 10.1016/j.biortech.2018.09.039.
- [32] A. S. Brooks, M. N. Rozenwald, L. D. Geohring, L. W. Lion, und T. S. Steenhuis, «Phosphorus removal by wollastonite: A constructed wetland substrate», *Ecol. Eng.*, Bd. 15, Nr. 1–2, S. 121–132, Juni 2000, doi: 10.1016/S0925-8574(99)00056-7.
- [33] E. Vunain, D. Houndedjihou, M. Monjerezi, A. A. Muleja, und B. Kodom, «Correction to: Adsorption, Kinetics and Equilibrium Studies on Removal of Catechol and Resorcinol from Aqueous Solution Using Low-Cost Activated Carbon Prepared from Sunflower (*Helianthus annuus*) Seed Hull Residues», *Water. Air. Soil Pollut.*, Bd. 230, Nr. 2, S. 46, Feb. 2019, doi: 10.1007/s11270-019-4099-8.
- [34] F. Xu, Z. Huang, H. Miao, H. Ren, M. Zhao, und W. Ruan, «Identical full-scale biogas-lift reactors (BLRs) with anaerobic granular sludge and residual activated sludge for brewery wastewater treatment and kinetic modeling», *J. Environ. Sci.*, Bd. 25, Nr. 10, S. 2031–2040, Okt. 2013, doi: 10.1016/S1001-0742(12)60268-X.
- [35] N. Alavi, R. Azadi, N. Jaafarzadeh, und A.-A. Babaei, «Kinetics of Nitrogen Removal in an Anammox Up-Flow Anaerobic Bioreactor for Treating Petrochemical Industries Wastewater (Ammonia Plant)», Bd. 23, Nr. 12, S. 6, 2011.

## Evaluation de la contamination des sédiments marins de la côte de Dakar par des pesticides

Auteurs et ..... ?

### Résumé

Les baies de Dakar constituent le dépotoir des rejets d'eaux usées sans traitement issus des canaux d'évacuation de la ville. En aval des rejets se retrouvent des sédiments sujets de pollution de plusieurs Polluants Organiques Persistants (POP) dont les pesticides. A l'origine de 500 cas d'intoxications au Sénégal (Pesticide Action Network, 2000), les pesticides effets cancérigènes, neurologiques et sur des perturbations sur la reproduction. Dans cette étude nous avons déterminé le degré de contamination de neuf pesticides dans les sédiments des plages de Hann, Soumbédioune et Ngor par la GC-MS. Le terbutryne, le dichlorvos et l'atrazine sont les plus présents respectivement à Hann (509,99  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ ), Ngor (284,46  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ ) et Soumbédioune (147,35  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ ). Ces teneurs de terbutryne et de l'atrazine sont largement supérieures aux valeurs trouvées dans les étangs de Roussillon, du Narbonnais, de Diana (France) dont les teneurs sont inférieures à 0,3  $\mu\text{g/Kg}$ . C'est en juillet ou la contamination en pesticides est plus importante avec 2641,591  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ . L'ACP montre que l'alachlore, l'acétochlore et le deltraméthrine associés à la composante 2, sont fortement corrélés entre eux variant de 0,802 à 0,995 qui montrent que ces polluants pourraient avoir des origines communs. Ces polluants seront recherchés dans les poissons et les cymbium.

Mots clés : contamination, sédiments, Dakar coast, pesticides.

### Assessment of contamination marine sediments from Dakar coast by pesticides.

**Abstract:** Coastal marine of Dakar constitue the dump whose wastewater discharges over from the evacuates canal of the city. The sediments of the downstream canal are sujets to pollution such persistent organic pollutants (POP). Caused 500 intoxications in Sénégal (Pesticide Action Network, 2000), pesticides are cancerous, mutagens and can caused perturbation duing the reproduction. The objective of this study is to assess the state of pollution of sediments from Hann, Soumbédioune and Ngor by GC-MS. The results of the analyses showed that concentration of terbutryne, dichlorvos and atrazine are greater respectively at Hann (509,99  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ ), Ngor (284,46  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ ) et Soumbédioune (147,35  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ ). The total pesticides contents are more importante in July with 2641,591  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ . The Analysis of variance explained shows thatalachlor, acetochlor and deltramethrin associated with component 2 are strongly correlated with each other varying from 0.802 to 0.995 which show that these pollutants could have common origins. These pollutants will be reseeded in cymbium and fish.

### 1. Introduction

Les besoins des meilleurs rendements agricoles entraînent à l'utilisation de produits phytosanitaires dont les pesticides [0]. Toutefois derrière ces bienfaits, les pesticides ont des impacts négatifs sur l'environnement et la santé des êtres vivants. Ces pesticides classés parmi les polluants organiques persistants (POP) depuis la convention de Stockholm en 2011, ont des effets cancérigènes, neurologiques et sur la reproduction [1]. Dans le passé, les pesticides sont à l'origine de 500 cas d'intoxications au Sénégal (Pesticide Action Network, 2000) [2].

Les canaux d'évacuation d'eaux usées et pluviales de Hann, Ngor et Soumbédioune (côte dakaraise) transportent les matières en suspension qui par obstacle ou en aval du rejet sédimentent et peuvent accumuler plusieurs micropolluants tels que les pesticides. Avec certaines conditions physiques chimiques et biologiques ces sédiments constituent à la fois puits et sources de contaminants micropolluants organiques dont les pesticides [3]. Ces pesticides à usages et origines anthropiques divers peuvent se retrouver en milieu marin et contaminer les organismes aquatiques tels que les moules, les poissons et beaucoup de fruits de mer. Par la chaîne trophique, les teneurs de pesticides peuvent se bioamplifier et la ainsi santé humaine est menacée [4,5].

Le but de cette étude est de déterminer les teneurs en pesticides dans les sédiments superficiels issus des rejets d'eaux usées déversées sur les baies de Hann, Soumbédioune et Ngor de Dakar enfin d'évaluer la contamination.

### 2. Matériel et Méthode

#### 2.1. Sites d'études.

Nos échantillons de sédiments sont prélevés à Ngor, Hann et Soumbédioune en saison des pluies entre juin et Septembre 2018. Ces sites ont été choisis par leurs positions pour les activités qui s'y déroulent (**figure 1**). Hann (**SD1**) abrite des activités de pêches et plusieurs industries dont des usines de textiles, des usines de transformation des produits halieutiques sont localisées dans cette commune. Sa baie reçoit aussi les eaux usées venant du canal est. La plage de Soumbédioune (**SD2**) est un lieu de débarquement des produits halieutiques et reçoit les eaux usées venant du canal ouest (canal IV à ciel ouvert) qui traverse une bonne partie des communes de Dakar. Ngor (**SD3**), site touristique est aussi traversé a le canal qui est à ciel ouvert et presque transformé en décharge d'ordure.

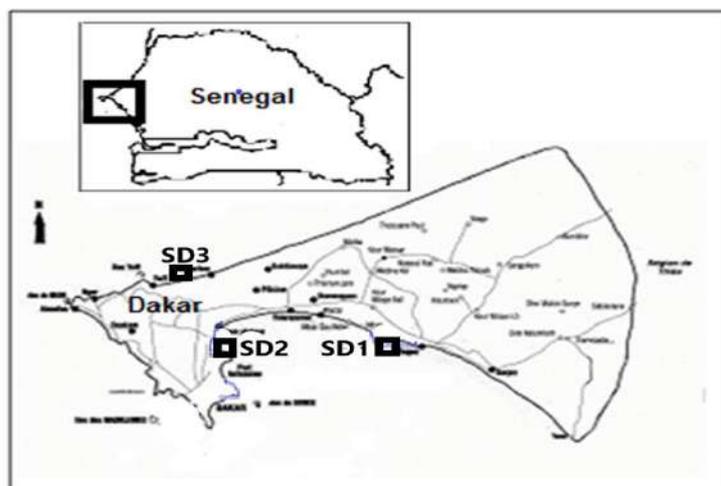


Figure 51 : Site d'étude

### 2.2. Prélèvement et traitement des échantillons

Les échantillons de sédiments superficiels sont prélevés entre juin et Septembre 2018 à l'aide d'une benne à main à des profondeurs compris entre 0 et 5 cm [6]. Les sédiments collectés sont conditionnés dans des sachets en plastique numérotés identifiant le site de prélèvement. Les échantillons sont conservés à 4°C dans une glacière puis transportés au laboratoire. Au laboratoire, après avoir extrait les matériaux grossiers de diamètre supérieur à 2 mm, les échantillons sont séchés à l'étuve à 40 °C ou au lyophilisateur jusqu'à poids constant. Ils ont été ensuite broyés à l'aide d'un mortier en agate et tamisés au moyen d'un tamis de maille inférieure à 63 µm. Il est souhaité de s'intéresser à cette fraction fine pour étudier les substances chimiques absorbées par les sédiments (Ongley 1996; Jones & Taft 2001) [7]. Ainsi dans les échantillons des différents sites nous avons recherché à quantifier leurs teneur

### 2.3. Méthode d'analyse.

Pour l'analyse des sédiments nous avons utilisé la Chromatographie en phase gazeuse couplée d'un Spectromètre de Masse (GC-MS). Dans cette méthode d'analyse il y'a la phase d'extraction puis la phase de purification. Le sel d'extraction est le QuEChERS (QUick, Easy, CHEap, Effective, Rugged, and Safe) composé de 4g MgSO<sub>4</sub> ; 1g NaCl ; 1g trisodium de citrate dihydrate; 0,5 g disodium hydrogen-citrate sesquihydrate. Après cette étape, il y'a la purification par le sel QuEChERS dSPE RESTEK constitué de 1,2 g MgSO<sub>4</sub>+400mg PSA+400mg C18. Après la purification, l'extrait est vaporisé jusqu'à 1mL sous hotte et 500 µL de la solution est injectée par SPME dans le système d'injection.

Dans cette technique couplée, la séparation des analytes du mélange basée sur les caractéristiques chimiques et physiques telles que le poids moléculaire, la forme moléculaire et les groupes fonctionnels se déroule dans la partie chromatographique. Dans le Spectromètre de Masse, les ions sont détectés proportionnellement à leurs nombre. Pendant cette phase, l'analyseur se base sur la résolution, sur la vitesse de balayage, le rapport m/z et sur la transmission. Le détecteur amplifie le courant des ions permettant l'électronique du système.

Tableau 17: caractéristiques des pesticides

Nature	composés	ion parent	ions fils	tr (mn)	LQ
pesticide	alachlore	160	132-130-117-145	15,46	0,05625
pesticide	acétochlore	146	131-130-118-91	15,17	0,0624
pesticide	atrazine	215	200-173-215-138	13,01	0,06501
pesticide	dicofol	139	75-111	17,62	0,04629
pesticide	deltaméthrine	181	151-152	31,74	0,01386
pesticide	dichlorvos	109	79-109	11,22	0,23775
pesticide	irgarol	182	109-139-125-182	18,2	0,03522
pesticide	malathion	127	92-89-101-109-77	16,37	0,01278
pesticide	terbutryne	185	170-185	16,07	0,05625
EI	Diphénylamine-d6	175	144-172	11,46	
EI	trifuraline-d14	267	209-163	11,5	
EI	pendimethaline-d5	255	164-143	17,68	

### 3. Résultats et discussions.

#### 3.1. Teneurs des pesticides dans les sédiments.

Les caractéristiques des ions parents, des ions fils ainsi que leurs temps de rétention (tr) associés à leurs abondances relatives des chromatogrammes (full scan) ont permis d'obtenir les teneurs en pesticides des sédiments dans les différents sites regroupés dans le tableau suivant.

**Tableau 18 : Teneurs des pesticides dans les différents sédiments**

Pesticides	Hann(SD1)		Soumbédioune(SD2)		Ngor(SD3)	
	Min-Max	Moy ± DS	Min-Max	Moy ± DS	Min-Max	Moy ± DS
alachlore	0,585-3,317	1,285±1,355	0,770-0,918	0,834± 0,062	0,664-0,882	0,764±0,102
atrazine	19,465-116,12	59,229±43,07	35,010-318,40	147,35± 129,92	13,227-230,19	91,926±101,397
acétochlore	0,445-1,02	0,621±0,268	0,627-0,800	0,697± 0,074	0,555-0,690	0,613±0,058
Dicofol	1,001-1,13	1,052±0,055	1,353-1,637	1,473± 0,119	1,160-1,528	1,346±0,176
deltraméthrine	1,179-15,008	4,677±6,887	1,489-1,849	1,635± 0,158	1,317-1,737	1,534±0,210
dichlorvos	24,113-139,65	65,493±51,31	18,844-124,95	89,934±48,490	1,689-601,01	284,462±300,923
irgarol	7,486-12,111	9,348±2,225	1,354-10,504	7,946± 4,408	1,245-12,308	6,572±5,887
malathion	4,034-11,62	6,965±3,287	4,470-32,478	19,897± 11,571	2,455-34,55	17,975±16,64
terbutryne	166,9-1394,2	510,0±590,64	13,548-128,15	60,201±50,338	7,775-305,93	98,576±141,292

Dans les sédiments superficiels des différents rejets, sont présents les sept pesticides à des teneurs variées. Dans ces sédiments sont moins présents l'acétochlore,alachlore le dicofol et le deltaméthrine et sont plus présents l'atrazine, le dichlorvos, et terbutryne. A Ngor, les variations d'acétochlore sont (0,555-0,690), (0,627-0,800) et (0,445-1,02)  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$  respectivement à Ngor, Soumbédioune et Hann. Dans ces sites respectifs les variations des faibles teneurs de l'alachlore (classe II, modérément dangereux) sont (0,664-0,882), (0,770-0,918) et (0,585-3,317)  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ . La variation des teneurs de dicofol est plus faible à Hann (0,055 d'écartypes) avec des teneurs variant de 1,001 à 1,13 avec une concentration moyenne de 1,052  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ . La moyenne de la contamination de dicofol à Soumbédioune est de 1,473  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$  avec des variations (1,353-1,637)  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$  et à Ngor le dicofol varie entre 1,160 et 1,528 avec une moyenne évaluée à 1,346  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ . Pour le deltaméthrine, on observe une légère variation de teneurs à Soumbédioune (1,489-1,849)  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$  et Hann (1,317-1,737)  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ . Par contre, une différence relativement grande entre minimale 1,179  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$  et la teneur maximale de deltaméthrine 15,008  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$  est notée à Hann. Dans ces sédiments recueillis à Hann, Soumbédioune et Ngor, la pollution du terbutryne est considérable avec des concentrations moyennes respectives de 509,998 ; 60,201 et 98,576  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ . Ces moyennes représentent 77,43%, 19,57% et 18,24% des teneurs en pesticides présents respectivement dans les sédiments de Hann, Ngor et Soumbédioune. De même le dichlorvos de type organophosphoré classé par OMS parmi les substances de la classe 1b (très dangereux), est chargé dans ses sédiments variant de avec des teneurs moyennes 65,493 à Hann; 89,934 à Soumbédioune et 284,462  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$  (1,689-601,01  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ ) à Ngor soient respectivement 9,94%, 27,26% et 56,48% des pesticides quantifiés dans ces sédiments. L'atrazine représente 44,66% des teneurs des pesticides à Soumbédioune avec une moyenne de 147,35  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$  et leurs concentrations Hann à et à Ngor sont respectivement 59,229 et 91,926  $\mu\text{g.Kg}^{-1}$  correspondantes à 8,99% et 18,25% de la contamination des sédiments des deux sites [8]. Ces teneurs d'atrazine relativement élevées peuvent être liées en plus de son excellente efficacité comme herbicide, la molécule a une spectre d'utilisation très large. De plus sa longue persistance dans les sols (140 à 150 jours) et dans l'eau (180 jours) participe peut être similaire à sa contamination dans les sédiments. L'atrazine dont la toxicité aiguë est avérée entraîne la mort des espèces invertébrées à des contaminées de 0,2 à 7 mg/L et des poissons de 5 à 15 mg/L. [9,10]. L'étude est aussi observée sous l'angle d'une contamination globale en pesticides illustrée dans la figure 2 suivante.

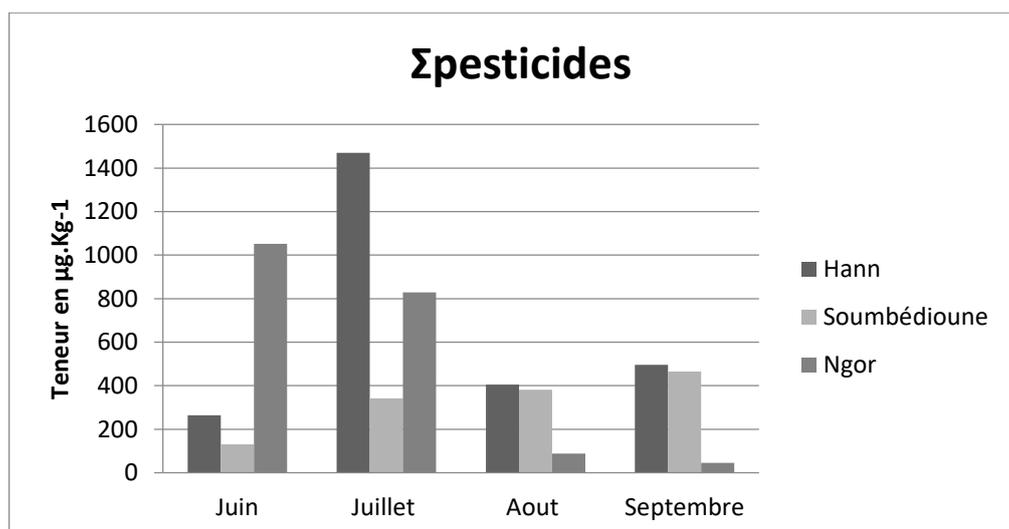


Figure 52 : teneurs globales des pesticides

Durant cette campagne les teneurs globale en pesticides différent suivant les sites. Au mois de juin, les sédiments en provenant de Ngor concentre plus de pesticides. La teneur globale de ces 9 pesticides est de 1052,571 µg.Kg<sup>-1</sup> et la somme des teneurs à Hann et Soumbédioune sont respectivement 263,923 et 130,571 µg.Kg<sup>-1</sup>. Pour les mois de juillet, août et septembre, les sédiments recueillis à Hann contiennent plus pesticides dont les concentrations globales en pesticide sont respectivement 1470,739, 404,682 et 495,321 µg.Kg<sup>-1</sup>. Ces teneurs détectées aux mois de août et septembre ont une petite différence par contre la somme obtenue en juillet est au moins trois plus importante. A Soumbédioune, par rapport au mois juin (130,571 µg.Kg<sup>-1</sup>) on observe une légère différence sur les sommes des pesticides entre le mois de juillet (341,947 µg.Kg<sup>-1</sup>), août (382,069 µg.Kg<sup>-1</sup>) et septembre (465,257 µg.Kg<sup>-1</sup>). Pour le site de Ngor, on note une très grande variation des sommes de pesticides détectés. Les sommes évaluées aux mois de juin et Juillet sont énormes respectivement 1052,103 et 828,905 µg.Kg<sup>-1</sup> contre 88,81 et 45,245 µg.Kg<sup>-1</sup> pour les mois de août et septembre. Durant cette étude, le degré de contamination des sédiments superficiels de Hann est plus élevé avec une moyenne en pesticides de 658,666 µg.Kg<sup>-1</sup>, suivi de Ngor avec une moyenne globale de 503,766 µg.Kg<sup>-1</sup> et les sédiments de Soumbédioune sont deux fois moins chargés de pesticides (329,961 µg.Kg<sup>-1</sup>) ceux prélevés à Hann et Ngor. Comme à Dakar, d'autres pesticides comme le Chlorpyriphos, Imazalil, Ethion et Diazinon sont aussi présents dans des sédiments de Guadalquivir River Basin (Spain) et est notée avec des teneurs globales de 13,6 ng/g en 2010 et 10,9 ng/g en 2011 [11]. Vu toutes ces teneurs de pesticides dans les différents sédiments et tous facteurs qui influences leurs présence en milieu aquatique, le milieu marin côtier peut être fort probable le réceptacle [12].

Ainsi l'analyse multivariée de variance par SPSS est utilisée pour un aperçu sur les profils de contaminations, de distributions ou corrélations des pesticides dans les sédiments étudiés.

### 3.2. Analyse multivariée de la variance (MANOVAS)

Tableau 19 : MANOVAS test de Pillai, de Wilks

Tests multivariés <sup>a</sup>									
Effet		Valeur	D	ddl de l'hypothèse	Erreur ddl	Sig.	Eta au carré partiel	Non centré. Paramètre	Puissance observée <sup>d</sup>
Ordonnée à l'origine	Trace de Pillai	1,000	225,557 <sup>b</sup>	9,000	1,000	,052	1,000	2030,011	,668
	Lambda de Wilks	,000	225,557 <sup>b</sup>	9,000	1,000	,052	1,000	2030,011	,668
	Trace de Hotelling	2030,011	225,557 <sup>b</sup>	9,000	1,000	,052	1,000	2030,011	,668
	Plus grande racine de Roy	2030,011	225,557 <sup>b</sup>	9,000	1,000	,052	1,000	2030,011	,668
Sites	Trace de Pillai	1,586	,851	18,000	4,000	,645	,793	15,319	,137
	Lambda de Wilks	,003	2,049 <sup>b</sup>	18,000	2,000	,378	,949	36,883	,145
	Trace de Hotelling	154,511	,000	18,000	,000	.	,987	,000	.
	Plus grande racine de Roy	153,058	34,013 <sup>c</sup>	9,000	2,000	,029	,994	306,115	,832

a. Plan : Ordonnée à l'origine + Sites

b. Statistique exacte

c. La statistique est une borne supérieure de F qui produit une borne inférieure pour le seuil de signification.

d. Calculé à partir d'alpha = ,05

**Tableau 20** : test d'homogénéité de Levene.**Test d'égalité des variances des erreurs de Levene<sup>a</sup>**

	D	ddl1	ddl2	Sig.
alachlore	7,875	2	9	,011
atrazine	2,191	2	9	,168
acétochlore	4,291	2	9	,049
dicofol	5,007	2	9	,035
deltraméthrine	8,482	2	9	,008
dichlorvos	44,303	2	9	,000
irgarol	5,454	2	9	,028
malathion	6,924	2	9	,015
terbutryne	5,981	2	9	,022

Teste l'hypothèse nulle que la variance des erreurs de la variable dépendante est égale sur les différents groupes.

a. Plan : Ordonnée à l'origine + Sites

Les tests multivariés de la variance montrent que les p-values (sig) sont supérieures au seuil significatif (0,05). Les tests de Trace Pillai et Lambda Wilks ont des p-values supérieures à 5% et sont respectivement 0,645 et 0,378 donc on ne rejette pas l'hypothèse  $H_0$  et on ne peut admettre qu'il y'a une association entre au moins l'une de la variation des teneurs des pesticides et les sites de prélèvement (tableau 3). Les résultats du test de l'égalité de Levene sont significatifs et montrent que les variances la majorité des teneurs des différents pesticides ne sont pas homogènes (p-value < 0,05) dans les différents sédiments des sites d'études. C'est-à-dire au moins l'une des variances des teneurs des pesticides est différente aux autres. La différence de la variance du dichlorvos est hautement significative avec p-value < 0,01 (0,000), très significatif pouralachlore avec 0,011. Les variances de deltraméthrine (avec 0,008 p-value), de malathion (0,015), de terbutryne (0,022) sont aussi significatives. Excepté l'atrazine dont sa variance à l'intérieur des sédiments avec 0,168 comme p-value (tableau4)

#### 4. Conclusion

Les résultats de nos études montrent une présence de pesticides à des concentrations variables suivant les différents sites de prélèvement. Au terme des analyses, il est constaté une pollution est phytopharmaceutiques nettement dominée par le terbutryne, le dichlorvos et l'atrazine. Le terbutryne varie entre (166,9-1394,2)  $\mu\text{g/Kg}$  allant jusqu'à 509,998  $\mu\text{g/Kg}$  de moyenne (Hann) suivi du dichlorvos variant entre 1,689 et 601,01  $\mu\text{g/Kg}$  et la plus grande teneur moyenne est de 284,462  $\mu\text{g/Kg}$  (Ngor). L'atrazine qui est le troisième pesticide le plus présent enregistre des teneurs jusqu'à 318,40  $\mu\text{g/Kg}$  (Soumbédioune) avec une moyenne de 147,35  $\mu\text{g/Kg}$ . Ces trois polluants représentent plus 90% de la contamination : 96,36% à Hann, 90,16% à Soumbédioune et 94,29% à Ngor. Cette pollution est aussi évaluée en contamination globale en pesticides allant jusqu'à 1470,739  $\mu\text{g/Kg}$  au mois de juillet à Hann. Durant cette campagne, les pesticides à usages herbicide sont dominants dans les sédiments superficiels de Hann (86,71%) et Soumbédioune (63,36%).

#### Références bibliographiques.

- [0] : Racha El-Osmani. Etude de la contamination des eaux et des sédiments par les pesticides Thèse Lille 1, 2014
- [1] : Multigner L., Effets retardés des pesticides sur la santé humaine, Environnement, Risques & Santé, 2005. Vol. 4, n° 3, p.p. 187-194
- [2] : Cissé I., Utilisation des pesticides dans le système de production horticole dans la zone des Niayes : les produits et leurs impacts sur la nappe phréatique. Thèse de 3eme cycle, département de géographie, ucad, 2000. 187 p]
- [3] : Jean-Luc LOIZEAU, Stamatina MAKRI, Philippe ARPAGAU, Benoît FERRARI, Carmen CASADO-MARTINEZ, Tom BENEJAM. MICROPOLLUANTS MÉTALLIQUES ET ORGANIQUES DANS LES SÉDIMENTS SUPERFICIELS DU LÉMAN. Rapp. Comm. int. prot. Eaux Léman contre pollut. Campagne 2016, 2017, 153-207.
- [4] : Jean-Noel Aubertot, J.M. Barbier, Alain Carpentier, J.J. Gril, Laurence Guichard, et al.. Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. 2005. fihal-02832492.
- [5] : Agbohessi TP, Toko II, Kestemont P, 2012. État des lieux de la contamination des écosystèmes aquatiques par les pesticides organochlorés dans le Bassin cotonnier béninois. Tirés à part : T.P. Agbohessi Cah Agric 21 : 46-56. doi : 10.1684/agr.2012.0535
- [6] : United Nations Environnements Programme. Manuel d'échantillonnage et d'analyse des sédiments. UNEP, (2007), 26p]
- [7] : Markus Zennegg. Office Fédéral de l'Environnement Suisse (OFEV). Mesure de PCB et de Dioxine dans les cours d'eau. Evaluation de l'adéquation de l'analyse sédimentaire et de l'échantillonnage passif en milieu aqueux pour détecter les sources d'émissions. 2016, 56 pages.
- [8] : Classification OMS recommandée des pesticides en fonction des dangers qu'ils présentent et Lignes directrices pour la classification de 2019. 106 pages]

- [9] : Mahé I, Gauvrit C, Angevin F, Chauvel B. Quels enseignements tirer du retrait de l'atrazine dans le cadre de l'interdiction prévue du glyphosate ? Cah. Agric. 29: 29. 2020, 9 pages. <https://doi.org/10.1051/cagri/2020026>
- [10] :Miquel G. 2003. Rapport sur la qualité de l'eau et de l'assainissement en France, Tome II – Annexe 47, pp. 136–139. <http://www.senat.fr/rap/102-215-2/102-215-21.pdf>
- [11]: A. Masiá et al. Screening of currently used pesticides in water, sediments and biota of the Guadalquivir River Basin (Spain). Elsevier/ Journal of Hazardous Materials 263P (2013) 95–104. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.09.035>
- [12] : Nathalie Coquille. Influence de la matière organique dissoute naturelle et d'herbicides, seuls et combinés, sur des microalgues marines et d'eau douce. Chimie analytique. Université de Bordeaux, 2017. 289 pages.]

## Qualité hydrochimique et microbiologique des eaux de forages d'hydraulique villageoise dans la préfecture de la Binah au Togo

Kodom Tomkouani <sup>1</sup>, Soudoukou Eyazama Fabrice <sup>2</sup>, Mande Alfa-Sika Seyf-Laye <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire d'hydrologie Appliquée et Environnement de la Faculté Des Sciences, Université de Lomé

<sup>2</sup> Département de Chimie à la Faculté des Sciences et Technologies de l'Université de Kara (FaST/UK)

### Résumé

D'une superficie de 480 Km<sup>2</sup>, la préfecture de la BINAH ; l'une des préfectures de la région de la Kara, marque la frontière administrative et commerciale entre ladite région et la république du Bénin. L'agriculture est la principale activité économique de la zone d'étude. Ses bassins hydrologiques et hydrogéologiques regorgent d'importantes quantités d'eaux. Les eaux souterraines constituent la principale source en eau de boisson de la préfecture. Ces eaux sont accessibles grâce aux implantations de forages équipés de pompes à motricité humaine pour faciliter l'exhaure. Dans le but d'évaluer la qualité des eaux de forage dans ladite région, une campagne d'échantillonnage de dix-neuf (19) forages a été effectuée sur cinq mois. Les analyses physico-chimiques, bactériologiques et statistiques des eaux ont été effectuées au laboratoire d'analyse et de contrôle qualité de l'eau de la Togolaise des Eaux-Kara. Le mode d'échantillonnage, basé sur la densité de la population autour du forage, a permis de couvrir tous les cantons de la préfecture sur une durée de quatre (04) mois. Il ressort de cette étude que les eaux sont bonnes du point de vue physicochimique. En générale, le logiciel Diagrammes 2014 nous a fait ressortir deux faciès d'eaux : l'un bicarbonaté calcique et magnésienne majoritaire (89,47%), puis l'autre chloruré et sulfaté calcique magnésienne minoritaire (10,53%) ; soit l'ordre de minéralisation  $SiO_2 > HCO_3^- > Ca^{++} > Mg^{++} > Cl^- > SO_4^{--}$ . Cependant, sur le plan bactériologique, cinq (05) points en l'occurrence ceux des cantons de Kéméri (1) ; Pessaré (2) ; Pitikita (1) et Solla (1) ne répondaient pas aux normes de potabilité pour l'eau de boisson, en particulier celui lié à la présence de streptocoques fécaux, et ont fait l'objet d'un contrôle. Les résultats de ce contrôle confirment la présence de germes de contamination fécale dans les forages où sont initialement dénombrés les mêmes germes lors de la campagne d'échantillonnage. Sur l'ensemble les cinq forages ne répondent pas aux normes de qualité pour l'eau de boisson et des mesures devraient être prises pour assurer un approvisionnement en eau de qualité acceptable pour ces localités.

### Mots clés :

Binah ; eaux souterraines ; pompe à motricité humaine ; contamination ; faciès.

### 1. Introduction

L'accès à une eau de boisson saine est une condition indispensable à la santé, un droit de l'homme essentiel et une composante clé des politiques efficaces de protection sanitaire. L'eau est indispensable à la vie et tous les hommes doivent disposer d'un approvisionnement satisfaisant en eau (suffisant, sûr et accessible). Un meilleur accès à une eau de boisson saine peut se traduire par des bénéfices tangibles pour la santé. Tous les efforts doivent être consentis pour obtenir une eau de boisson aussi saine que possible (OMS 2017). Le territoire togolais regorge dans son ensemble d'importantes ressources en eaux constituées par les eaux de surface représentées par les fleuves, les rivières, les lacs, les lagunes et les retenues d'eaux (barrages) d'une part ; et les eaux souterraines représentées par les nappes et les sources d'autre part. La principale source d'eau de boisson de la population de la région de la Kara est représentée par l'eau souterraine (Zoulgami et al. 2015). Les eaux souterraines constituent le deuxième réservoir mondial d'eau douce après celui des glaciers et des calottes polaires. Sur le plan quantitatif, cet important volume d'eau peut permettre de lisser les disparités existant entre les apports (variabilité des apports par les précipitations) et les prélèvements. Les eaux souterraines sont beaucoup moins vulnérables que les eaux de surface (N'go et al. 2005). Les conditions d'accès sont variables selon la nature des roches qui constituent le sous-sol (N'go et al. 2005). Selon le rapport de la DGEA (2009), 3,8 millions de personnes, soit 59% de la population togolaise, vivent en milieu rural (DGEA 2009). Il va sans dire que vu la croissance démographique au cours de ces dernières années, la demande en eau, de cette population surtout jeune, augmente sans cesse. Les zones urbaines et suburbaines de la région sont majoritairement desservies par l'eau de la Société Togolaise des Eaux, à l'exception de la préfecture de la Kéran (Zoulgami et al. 2015), pour satisfaire la plupart de leur besoins en eaux. Malgré cette grande disponibilité potentielle des ressources en eaux, le Togo rencontre des difficultés à mobiliser ces ressources et à satisfaire les besoins essentiels des populations. Dans le secteur de l'Approvisionnement en Eau Potable, le Togo se devait de réaliser une couverture totale en eau de 75% pour atteindre ces OMD (DGEA 2009). Le rapport de la DGEA (2009) stipule que 60% de la population rurale n'a pas accès à des sources d'eaux améliorées comparativement à 14% en milieu urbain et 86% des populations non desservies vivent en milieu rural. Pour pallier à ces insuffisances, le 25 Septembre 2015, une redéfinition de ces objectifs dénommés Objectifs de développement durable (ODD) au nombre de 17 que les Etats membres de l'ONU (Organisation des Nations Unies) se sont engagés à atteindre au cours des prochaines années (2015-2030) a été adoptée. Les trois supers objectifs d'ici 2030 sont : mettre fin à l'extrême pauvreté ; lutter contre

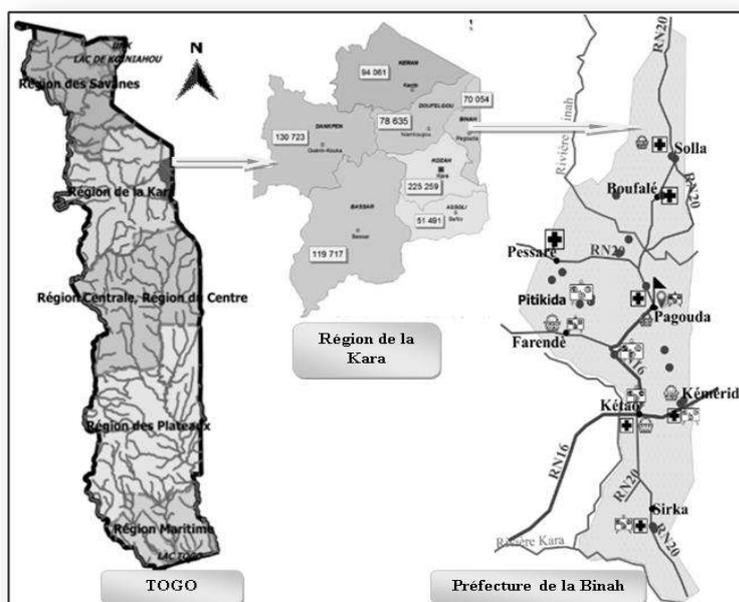
les inégalités et l'injustice ; et régler le problème de dérèglement climatique (UNICEF FRANCE 2016). Notre pays le Togo, s'est alors engagé dans l'atteinte de ces ODD dont l'ODD6 qui vise d'ici à 2030 l'accès des populations à une eau potable et à un assainissement adéquat. Pour satisfaire ces demandes en eaux potables des populations rurales sans cesse croissantes, notre pays le Togo à l'instar des pays en développement, a fourni des efforts considérables en installant des forages d'hydraulique villageoise munis de pompes à motricité humaine surtout dans les endroits les plus reculés et parfois difficiles d'accès. En effet, l'intensification de l'agriculture marquée par l'utilisation incontrôlée des intrants, la mauvaise gestion des déchets ménagers et des eaux usées domestiques non traitées libérés dans l'environnement, le non-respect des périmètres de protection, le nettoyage des ouvrages, etc., engendrent des pollutions qui peuvent atteindre les aquifères de ces ouvrages. De ce fait, selon le rapport de pS-Eau pour l'année 2010, la Binah est la plus démunie en eau et assainissement avec un taux de desserte en eau inférieur à 20% ; un accès aux latrines de 2% et 6 – 10% des patients consultent par an pour cause de maladies hydroféciales. Ces maladies ont constitué la troisième cause de consultation dans les districts sanitaires de ladite préfecture. Ainsi, la présente étude intitulée vise à faire ressortir la qualité physico-chimique et microbiologie des eaux issues des forages d'hydraulique villageoise.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Cadre d'étude

D'une superficie de 480 Km<sup>2</sup> ; soit 4,1% de la superficie de la région de la Kara, la préfecture de la Binah est située entre les Monts Kabyès (chaîne de l'Atakora) et la Plaine Bénino-Togolaise. Ses coordonnées géographiques sont 9° 45' de latitude Nord et 1° 17' de longitude Est. Le découpage administratif est illustré par la Figure 1. La préfecture de la Binah jouie d'un climat subsahélien marqué par une longue saison sèche (harmattan) et une saison pluvieuse responsable des précipitations. La saison pluvieuse est marquée par des pluies abondantes (1216 mm en moyenne avec un maximum en Août) responsables de la recharge des nappes d'une part et conditionne les activités agropastorales d'autre part. Cet atout a induit un impact positif sur le développement socio-économique, le caractère socio-culturel de la préfecture et la croissance démographique. La température moyenne ambiante est de 29°C. Les eaux souterraines ont des températures variant entre 26,1°C et 32°C, avec une moyenne de 28,7°C (Zoulgami et al. 2015).

La population de la préfecture de la Binah s'élevait de 44588 à 70054 habitants respectivement de 1970 à 2010 avec un ratio de 146 hbts/Km<sup>2</sup>. Elle constitue l'une des deux préfectures les plus densément peuplées du fait de sa petite superficie par rapport aux autres préfectures de la région (Kokou TCHALLA 2015). La région de la Kara est la troisième région la plus pauvre du Togo avec 75% de la population vivant en-dessous du seuil de la pauvreté. La préfecture de la Binah est la plus pauvre de la région avec une pauvreté qui frappe 87% de la population répartie dans 75% des ménages (EAU VIVE 2014). Son économie est basée sur l'agriculture.



**Figure 53 : Localisation géographique de la BINAH**

Sur le plan sanitaire, les études statistiques du Ministère de la Santé ont révélé une population cible de 80516 habitants pour le district de la Binah. Le taux de fréquentation a été de 50,4% dans le district (DIS 2017). En 2010, 34,9% de la population togolaise vivait dans des ménages disposant d'infrastructures sanitaires améliorées. En milieu rural, ce taux ne dépassait guère 12%. Sur la Binah, la situation est encore plus catastrophique : l'accès à des latrines est rare (2%) et contribue à augmenter l'insalubrité. Dans cette période, 10% des patients ont été consultés pour des maladies hydriques et ont constitué la troisième cause de consultation dans les districts sanitaires de la Binah (pS-Eau 2018). Elle est la préfecture la plus démunie en approvisionnement en eau potable et en assainissement de la région de la Kara, avec un taux de desserte en eau inférieur à 20% selon le rapport de pS-Eau (2018). Les sources d'approvisionnement en eau sont constituées par les puits ; les forages(FPMH) ; les rivières et la régie des eaux (TdE).

Le réseau hydrographique est dendritique et draine le bassin versant vers la rivière Kara, affluent du fleuve OTI. Du point de vue hydrogéologique, on a deux formations : la première latéritique ou altéritique (régolite) et superficielle, qui repose sur la seconde formation de socle fissurée orthogneissique. Elles constituent les deux réservoirs en eau souterraine de la préfecture. Il y'a une interconnexion hydraulique entre ces deux aquifères. Dans l'ensemble, la zone est dominée par des aquifères discontinus et des porosités interstitielles faibles. Ces deux formations forment un grand ensemble aquifère. La formation supérieure altéritique de porosité moins grande que celle du socle fracturé, confine cette dernière. Le stockage de l'eau dans la formation de socle fissuré dépend de la nature et du réseau de fracture suivant les zones, lesquelles fractures sont liées aux contraintes tectoniques (orogénèse panafricaine 650±50 millions d'années) ayant présidé leur formation (Zoulgami et al. 2015). Les débits vont de 0,225 m<sup>3</sup>/h pour la valeur la plus faible, à 15 m<sup>3</sup>/h pour la valeur maximale, avec une moyenne de 2,44 m<sup>3</sup>/h. Les profondeurs des forages varient de 9,71 m à 98,05 m, avec une moyenne de 48,32 m ; le niveau statique moyen est de 5,8 m suivant la localisation de l'ouvrage dans la zone d'étude.

## 2.2. Matériel utilisé

Le matériel de laboratoire utilisé est consigné dans le tableau 1 suivant.

Désignation	Quantité
Appareil photo numérique	1
Autoclave	1
Bec bunzène	1
Blouze	1
Boite d'allumette	1
Bouteille de gaz rechargeable	2
Carnet de notes	1
Congélateur	1
Critérium	2
Esquisse de carte	1
Etuve	1
Fiche d'enquête préalablement élaborée	400
Flacon en polyéthylène(Voltic 1.5L)	20
Gel stérilisant	1
Glacière	1
GPS	1
Incubateur	1
Marqueur	2
Ordinateur	1
pH-mètre	1
Spectrophotomètre	1
Turbidimètre	1
Verrerie de laboratoire	—

**Tableau 21: matériels utilisés**

## 2.3. Méthodologie

Elle s'est déroulée en cinq phases :

### 2.3.1. Les enquêtes

Elles ont consisté à poser des questions interactives avec les ménages qui jouissent de la présence de PMH dans leurs alentours, afin d'évaluer leurs facultés à observer les bonnes pratiques d'hygiènes et d'assainissements.

### 2.3.2. Le choix des PMHs

Avant tout échantillonnage, la sélection des FPMH s'est déroulée selon les critères suivants :

- La densité de la population autour du forage ;

- La proximité aux routes ;
- L'état physique de l'équipement ;
- Le degré d'aménagement au sein et au tour de l'ouvrage.

La figure 2 montre la répartition des PMH échantillonnés dans la zone d'étude.

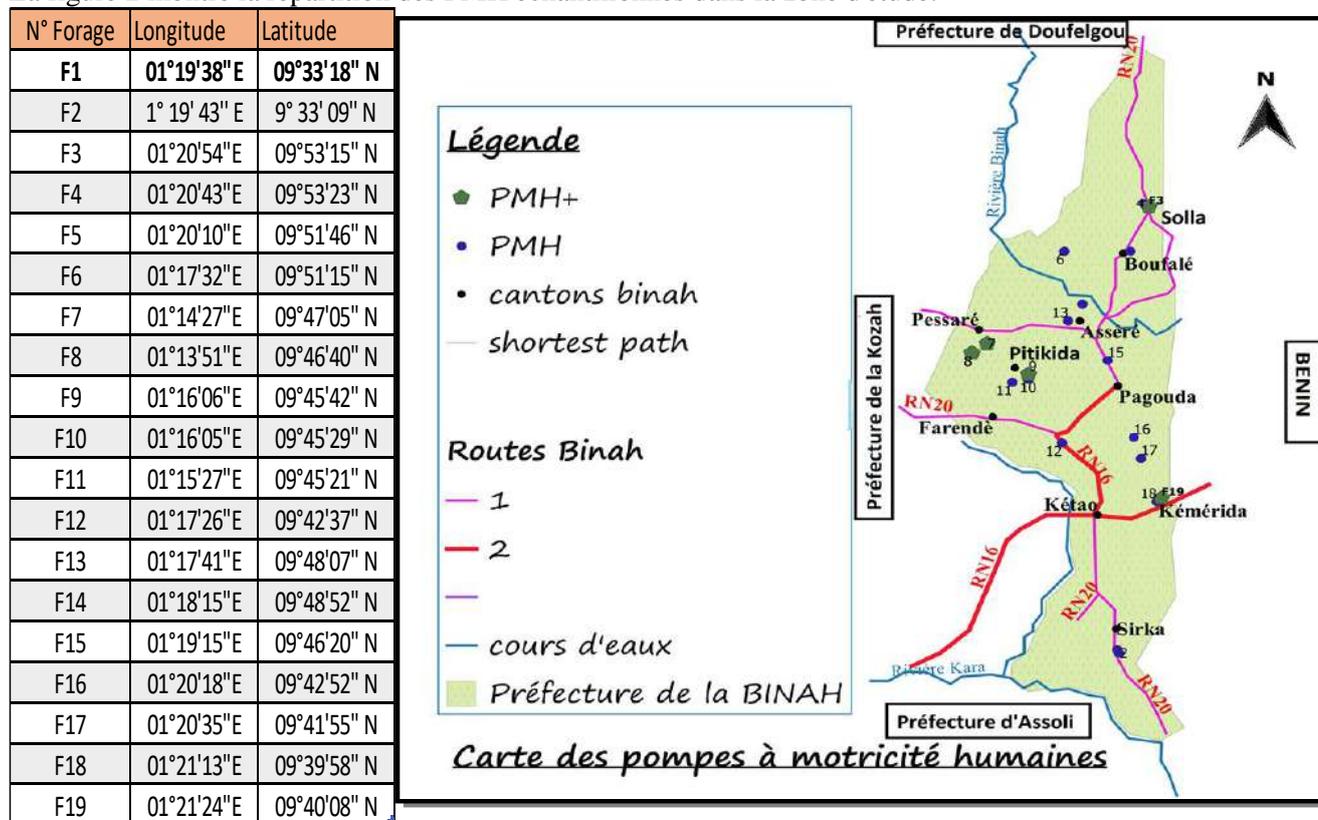


Figure 54 : Répartition des pompes à motricités humaines

### 2.3.3. L'échantillonnage et le transport

Au total, 19 échantillons ont été prélevés au cours de la campagne d'échantillonnage et 5 ont été prélevés au cours de la phase de contrôle. La campagne s'est déroulée du 29 Juillet au 04 Septembre 2018. Elle a coïncidé avec la période de forte pluviosité (Saison pluvieuse). La phase de contrôle s'est déroulée en un prélèvement unique le 11 Novembre 2018. Cette phase s'est déroulée en début de la saison sèche. Dans l'ensemble des deux phases de prélèvement, la fréquence d'échantillonnage est hebdomadaire. Les prélèvements en vue d'analyses physicochimiques et bactériologiques ont été effectués ensemble in-situ. Le prélèvement des échantillons s'est fait dans des flacons en polyéthylène d'une contenance de 1,5 L et des flacons en verre borosilicatés d'une contenance de 250 mL. Une glacière contenant de la glace afin de maintenir une température de 4°C est préparée au préalable pour la circonstance.

Dans un premier temps nous avons procédé au prélèvement des échantillons pour la physicochimie après avoir actionné la pompe pour une durée de 3 à 5 minutes afin de s'assurer que l'eau initialement présente dans l'ouvrage est évacuée pour laisser place à la nouvelle eau. Cet actionnement de la pompe se fait à une fréquence d'environ 45 coups/minute, afin de permettre l'évacuation de l'eau avec un fort débit. Ensuite on régularise la fréquence à environ 25 coups/minute, pour permettre le prélèvement. On rince deux (02) fois le flacon avec de l'eau à prélever, puis on procède au prélèvement proprement-dit. Une fois le prélèvement effectué, on procède à l'étiquetage puis on le place dans la glacière.

Dans un second temps, nous avons procédé au prélèvement des échantillons pour la bactériologie. Après le prélèvement des échantillons pour la physicochimie, on flambe les bords du robinet avec le bec benzène puis on assure les conditions d'asepsie. On régularise également ici la fréquence d'actionnement de la pompe toujours en maintenant les conditions d'asepsie, puis on flambe le bord du flacon. On rince deux (02) fois avec de l'eau du forage, puis on procède au prélèvement proprement-dit. Une fois le prélèvement effectué, on procède à l'étiquetage puis au placement dans la glacière de l'échantillon.

### 2.3.4. Les analyses au laboratoire

#### 2.3.4.1. Analyses physicochimiques

Elles sont récapitulées dans le tableau 2 ci-dessous.

Paramètres mesurés	Méthodes /Appareils	Norme OMS
Aspect macroscopique	Subjective	Claire sans MES
Odeur	Subjective	Inodore
Saveur	Subjective	Agréable
pH	pH-mètre WTW 3110	6,5<pH<8,5
Turbidité(NTU)	Turbidimètre HACH 2100N	< 5
Chlorures(mg/L)	Argentimétrie	< 250
Sulfates(mg/L)	Spectrophotométrie	< 250
Ammoniums(mg/L)	Spectrophotométrie	< 1,5
Nitrites(mg/L)	Spectrophotométrie	< 3
Nitrates(mg/L)	Spectrophotométrie	< 50
Fer total(mg/L)	Spectrophotométrie	< 0,3
Silices(mg/L)	Spectrophotométrie	—
Orthophosphates(mg/L)	Spectrophotométrie	—
TA(°F)	Titrimétrie	< 15
TAC(°F)	Titrimétrie	—
TH(°F)	Titrimétrie	—
THMg(°F)	Titrimétrie	—
Oxydabilité(mg d'O <sub>2</sub> /L)	Acide à chaud	< 5

**Tableau 2:** paramètres physicochimiques et méthodes d'analyse associées

#### 2.3.4.2. Analyses bactériologiques

Elles ont concerné les GTCF (Germes Témoins de la Contamination Féciale) et sont récapitulées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 22 :** paramètres biologiques et analyses associées

Recherche et dénombrement	Méthodes/Appareils	Norme CEE
Germes mésophiles totaux	Culture(1mL) sur gélose nutritive incubation 37°C/48h	10
Coliformes totaux	Inoculation(2mL) dans 20mL de bouillon lactose avec des cloches de durham/Incubation 37°C/48h	NPP < 1
Coliformes fécaux	Inoculation(2mL) dans 20mL de bouillon lactose avec des cloches de durham/Incubation 37°C/48h	Absent
Streptocoques fécaux	Test présomptif en milieu Rothe normal test confirmatif en milieu Litsky/Incubation 37°C/48h	NPP < 1
Clostridiiums sulfito-réducteurs	Inoculation de 2mL dans 20mL de TSN/incubation 37°C/48h	Absent

### 2.3.5. L'interprétation des données

Les différentes normes et méthodes statistiques nous ont permises de faire des interprétations des données trouvées. Ces méthodes ont consisté en :

- L'Analyse en Composantes Principales (ACP) ; des matrices de corrélations entre variables et facteurs grâce au logiciel XLSTAT 2014 ;
- Les diagrammes grâce aux logiciels Excel 2016 et SPSS ;
- Les diagrammes hydrochimiques grâce au logiciel Diagramme 2014.
- Les cartes ont été réalisées grâce au logiciel de traitement de cartes QGIS 2.16.

### 3. Résultats et discussions

#### 3.1. Enquêtes

Des résultats des enquêtes, il ressort que la plupart des ménages s'approvisionnent en eau de boisson au niveau des FPMHs. Toutefois, ces enquêtes ont révélé que ces ménages ont souvent recours aux eaux de rigoles et de marigots lors des activités champêtres. Lesquelles champs sont pour bon nombre des cas distants de leurs concessions respectives. De même les états d'hygiène et d'assainissement sont embryonnaires. Les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous

**Tableau 23 : résultats des enquêtes auprès des ménages**

Besoins en eau de boisson	100% s'approvisionnent à l'eau des FPMHs
Traitement de l'eau	95% ne traitent pas
Notion de maladie hydrique	87% n'ont pas connaissance
Accès aux latrines	88% n'ont pas accès

De ces résultats, nous pouvons déduire que cette population en majorité, ignorante des bonnes pratiques d'hygiène et d'assainissement et s'expose sévèrement au risque des maladies hydriques en général et hydroféciales en particulier. Les données des districts sanitaires recueillies au cours des années 2016 et 2017 nous ont donné les résultats consignés dans le tableau 5 suivant.

**Tableau 24 : données des districts sanitaires de la Binah**

Maladies hydriques répertoriées	Pourcentage/an	
	2016(%)	2017(%)
Gastro-entérite	23	23
Dysentérie	60	55
Paludisme simple	5	2
Diarrhées sanguinolantes	1	3
Amibiase	11	12
Autres maladies hydriques		5

Ces données viennent confirmer la prévalence des maladies hydriques dues à une défaillance dans l'observation des bonnes pratiques d'hygiène et d'assainissement concourant à la pollution de l'eau par la population de ladite préfecture.

#### 3.2. Physicochimie et interprétations statistiques

Les résultats des analyses physicochimiques, ont donné les résultats consignés dans le tableau 6.

**Tableau 25 : résultats des analyses physicochimiques**

Paramètres	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type	Norme OMS	R <sup>2</sup>
pH	6,80	7,70	7,05	0,22	6,5 <pH< 8,5	—
Turbidité(NTU)	2,71	5,80	2,71	5,80	< 5	—
Chlorures(mg/L)	3,55	88,75	15,44	18,51	< 250	—
Sulfates(mg/L)	0	97,23	6,92	22,31	< 250	0,9966
Ammoniums(mg/L)	0	0,30	0,08	0,08	< 1,5	0,9989
Nitrites(mg/L)	0	0,16	0,03	0,04	< 3	0,9994
Nitrates(mg/L)	0,08	8,36	1,38	2,37	< 50	0,9997
Fer total(mg/L)	0	0,20	0,04	0,04	< 0,3	0,9991
Silices(mg/L)	22,78	50,54	38,71	7,91	—	0,9992
Orthophosphates(mg/L)	0	0	0	0	—	0,9952
TA(°F)	—	—	—	—	—	—
TAC(°F)	4,10	22,85	10,89	5,96	5 à 30	—
TH(°F)	4	19,35	9,40	4,73	< 15	—
THMg(°F)	—	—	—	—	—	—
Oxydabilité(mg d'O2/L)	0	2,30	0,40	0,74	< 5	—

Pour les paramètres organoleptiques, tous les forages échantillonnés respectaient les recommandations de l'OMS pour la qualité de l'eau de boisson à l'exception du forage de Péssaré Hilou où l'eau est trouble et de couleur grisâtre. L'azote minéral représentés par les ions ammoniums, nitrites et nitrates montre des teneurs dans l'ensemble inférieure aux valeurs guides de l'OMS. Toutefois, la pollution anthropique devrait être contrôlée. En effet, l'ammoniac dans l'eau est un indicateur d'une possible contamination bactérienne ou d'une pollution par des eaux usées ou des déchets d'animaux en plus d'une dégradation incomplète des matières organiques présentes (OMS 2017; Mbawala, Abdou, et Ngassoum 2010). De plus, ces teneurs relevées à Kémériida-Laoudè (faibles) et à Solla-Koufaré (élevées) et vu l'état défectueux de l'assainissement autour du FPMH de Laoudè, nous permettent de dire que la pollution azotée dépendrait beaucoup plus de l'hydrodynamisme de la nappe ainsi que de la distance aux sources de pollutions (porcheries, DAL ; décharges d'ordures ménagères) que de l'aménagement de l'ouvrage (Mpakam et al. 2009). Les valeurs de pH vont pour des valeurs de 6,8 à une valeur maximale de 7,7. Dans l'ensemble, les eaux souterraines de la BINAH sont légèrement acides à neutres. Ces résultats confirment les résultats des travaux de Zoulgami et al. (2015) qui ont trouvé que les eaux du Nord-Est de la région de la Kara ont un pH compris entre 5,7 et 7,87. Ce caractère acide à neutre confirme les valeurs nulles du TA, les valeurs de TAC ne dépassant pas 23 °f et la valeur positive de l'indice de saturation de l'eau vis-à-vis de la silice (IS = 0,62. Les autres paramètres physicochimiques respectent les recommandations de l'OMS.

### 3.2.1. Analyse en Composantes Principales(ACP) et de corrélation

L'ACP nous a permis de classer les variables en deux groupes (Figure 3):

**Groupe 1** : il renferme et corrèle les ions chlorures, nitrates et nitrites suivant l'axe F2 ;

**Groupe 2** : il renferme et corrèle le TH ; le TAC ; le  $NH_4^+$  ; l'oxydabilité au  $KMnO_4$  et le pH suivant l'axe F1. De même, il corrèle très fortement la turbidité(Tb) au Fer total suivant ce facteur F1.

Le facteur F1 représente l'influence de l'altération naturelle des minéraux silicatés (plagioclases, biotite et amphibole) l'infiltration verticale et horizontale à travers les couches géologiques et le temps de contact avec la roche réservoir qui dominant l'environnement géologique.

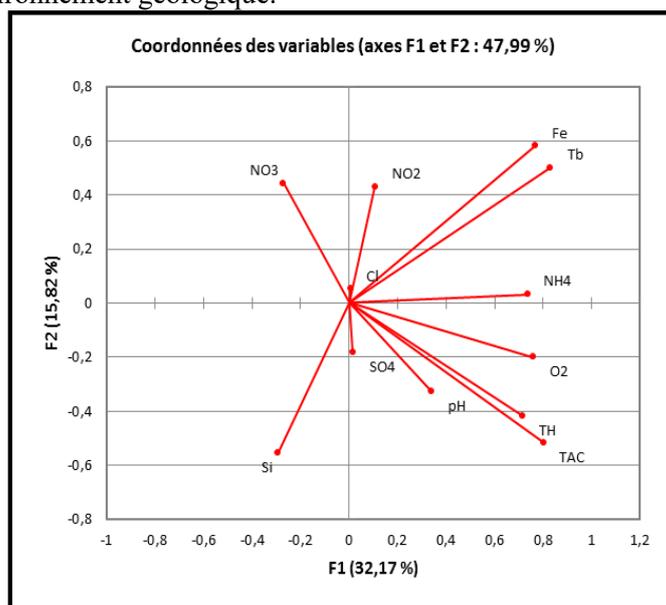
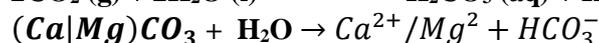


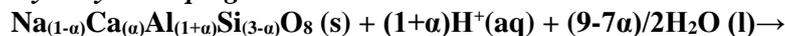
Figure 3: Diagramme d'Analyse en Composantes Principales

Les principaux processus à l'origine de cette minéralisation sont les processus de dissolution et d'hydrolyse suivant les réactions suivantes :

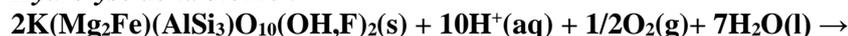
**Dissolution des carbonates :**

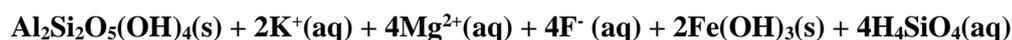


**Hydrolyse des plagioclases :**

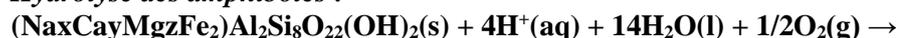


**Hydrolyse de la biotite :**





*Hydrolyse des amphiboles :*



$x\text{Na}^+(\text{aq}) + y\text{Ca}^{2+}(\text{aq}) + z\text{Mg}^{2+}(\text{aq}) + \text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4(\text{s}) + 2\text{Fe}(\text{OH})_3(\text{s}) + 6\text{H}_4\text{SiO}_4(\text{aq})$  (Kossitse Venyo AKPATAKU et al 2016).

Ces dissolutions entraînent la libération et de l'enrichissement en ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$  de ces eaux. Ces résultats viennent confirmer les travaux de Zoulgami et al (2015) sur la dureté des eaux du Nord-Est de la région de la Kara. Ces eaux auront l'inconvénient de moins mousser et de tâcher le linge. Ce qui entraînerait une consommation excessive de savon.

Les ions  $\text{Cl}^-$ ;  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{NO}_3^-$  ont une corrélation plus forte pour l'axe F2 (facteur2) et contient 15,82% de la variance totale. Ces résultats permettent de dire que l'axe F2 représente l'axe de minéralisation de l'eau. Les teneurs en  $\text{NO}_3^-$  et  $\text{Cl}^-$  étant ordinairement d'origine anthropique, le facteur 2 désigne donc les processus de contaminations anthropiques (Mfonka et al. 2015).

Variables	Ca	Mg	HCO3	Cl	SO4	NO3	NO2	SiO2	pH	O2	Tb	NH4	Fe
Ca	<b>1.000</b>	0.688	0.884	-0.045	0.143	-0.202	0.082	-0.219	0.351	0.696	0.592	0.427	0.452
Mg	0.688	<b>1.000</b>	0.867	-0.121	-0.068	-0.189	-0.144	0.111	0.091	0.590	0.119	0.218	-0.021
HCO3	<b>0.884</b>	<b>0.867</b>	<b>1.000</b>	-0.112	0.102	-0.407	-0.087	-0.045	0.351	0.667	0.435	0.398	0.287
Cl	-0.045	-0.121	-0.112	<b>1.000</b>	0.022	0.055	0.139	0.187	0.087	-0.104	-0.077	0.413	0.051
SO4	0.143	-0.068	0.102	0.022	<b>1.000</b>	-0.097	-0.005	0.113	0.302	-0.097	-0.064	-0.066	-0.026
NO3	-0.202	-0.189	-0.407	0.055	-0.097	<b>1.000</b>	0.378	-0.161	-0.352	-0.301	-0.005	-0.268	-0.028
NO2	0.082	-0.144	-0.087	0.139	-0.005	0.378	<b>1.000</b>	-0.299	0.241	-0.065	0.257	-0.046	0.355
SiO2	-0.219	0.111	-0.045	0.187	0.113	-0.161	-0.299	<b>1.000</b>	0.033	-0.061	-0.600	0.018	-0.508
pH	0.351	0.091	0.351	0.087	0.302	-0.352	0.241	0.033	<b>1.000</b>	0.109	0.162	0.183	0.063
O2	0.696	0.590	0.667	-0.104	-0.097	-0.301	-0.065	-0.061	0.109	<b>1.000</b>	0.495	0.623	0.479
Turbidité(Tb)	0.592	0.119	0.435	-0.077	-0.064	-0.005	0.257	-0.600	0.162	0.495	<b>1.000</b>	0.581	0.933
NH4	0.427	0.218	0.398	0.413	-0.066	-0.268	-0.046	0.018	0.183	0.623	0.581	<b>1.000</b>	0.661
Fe	0.452	-0.021	0.287	0.051	-0.026	-0.028	0.355	-0.508	0.063	0.479	<b>0.933</b>	0.661	<b>1.000</b>

**Tableau 7 : matrice de corrélation de Pearson**

La corrélation entre la teneur en fer et la turbidité a été plus représentative dans le forage F8, lequel est intimement lié à celui de la couleur grise-rouille observée. Ceci vient confirmer les résultats d'AKPATAKU et al. sur les eaux souterraines du Moyen-Mono. La vétusté de l'équipement de l'ouvrage contribuerait en partie à la détérioration de la qualité de l'eau par l'enrichissement en éléments métalliques. De plus, l'eau trouble, généralement associée à une diminution du débit serait due au fait que la crépine est trop près du fond et aspire la boue (DINEPA 2012).

### 3.2.2 Faciès hydrochimiques

Le diagramme de Schöller Berkaloff nous a fait ressortir deux familles d'eaux. L'une bicarbonatée calcique magnésienne (89,47%) et l'autre chlorurée et sulfatée calcique magnésienne (10,53%) comme le montre les diagrammes ci-dessous.

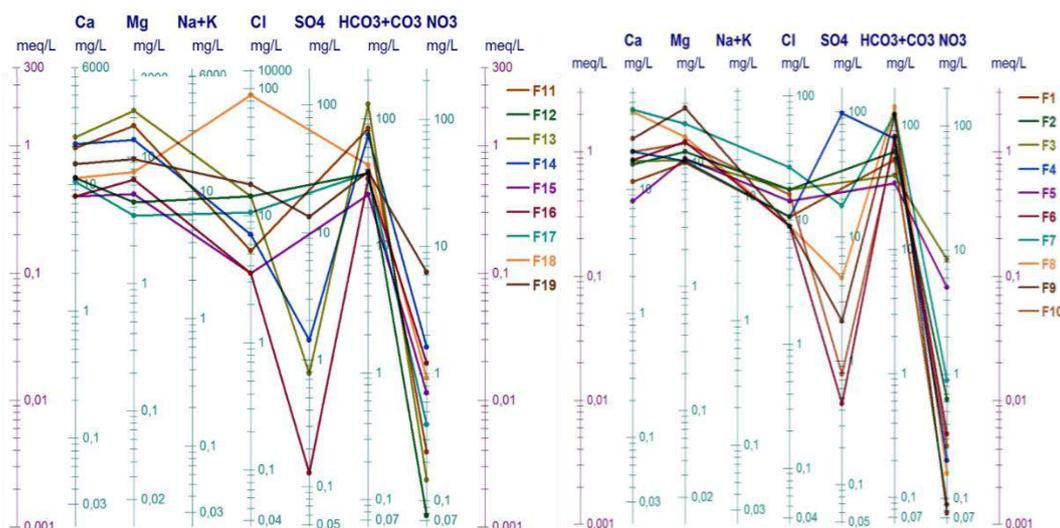


Diagramme schöller Berkloff (1/2)

Diagramme Schöller Berkloff (2/2)

Figure 3: Diagramme de Schöller Berkloff pour la détermination des faciès

Les indices de saturation (IS) extraits du modèle PHREEQC, nous ont permis de ressortir le tableau 8 ci-dessous

Tableau 26 : Indices de Saturations

Minéral	Silice	Calcite	Dolomite
IS	0,62	-1,66	-3,04

Ce tableau, montre que l'IS de la silice est élevé. Ce qui témoigne d'un long temps de contact et de l'hydrolyse poussée des minéraux silicatés. De ce fait, le chimisme de l'eau est dans l'ordre décroissant :  $SiO_2 > HCO_3^- > Ca^{++} > Mg^{++} > Cl^- > SO_4^-$ .

### 2.3. Analyse bactériologique et interprétations statistiques

Sur le plan bactériologique, les GTCF (Germe Total (GT), Coliformes Totaux (CT), Coliformes Fécaux (CF), Streptocoques Fécaux (SF) et clostridium sulfite-réducteurs (CSR)) ayant fait l'objet de dénombrement par la méthode du Nombre le Plus Probable (NPP), ont donné les résultats renseignés dans les tableaux 9 et 10.

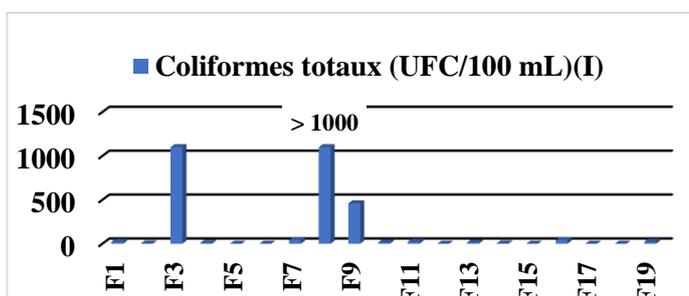
Au vu des résultats bactériologiques, la plupart des échantillons d'eaux analysés ne respectent pas les recommandations de la Commission Européenne (CEE) en matière de qualité d'eau de boisson. Les cas de présence de coliformes fécaux couplés à ceux des streptocoques fécaux des forages F3 ; F7 ; F8 ; F9 et F19 lors de la campagne d'échantillonnage ont nécessité un contrôle. Les résultats des diagrammes 2, 4 et 6 (Figure 4) de ce contrôle nous confirment la présence effective de germes ayant un habitat fécal. La présence de germes mésophiles totaux et de coliformes, sont des indicateurs du niveau général d'hygiène et/ou de la flore d'altération, ayant pour cause un processus d'assainissement insuffisant ou non maîtrisé (BTH 2010 ; Giroux 1991). Les coliformes fécaux sont des indicateurs de la présence possible de pathogènes dans l'eau lors d'épandages de fumiers ou lisier dans les champs voisins ou de dispositifs de traitement des eaux usées domestiques (installations septiques) non étanches ou inexistantes, pouvant causer des gastro-entérites (diarrhées, nausées, vomissements, crampes abdominales) (Giroux 1991). Les streptocoques fécaux sont principalement présents dans la flore cutanée, vaginale et digestive de l'homme (Evreux, s. d.). De même les clostridium sulfite-réducteurs se retrouvent dans l'intestin de l'homme et des animaux, formant des spores thermo résistantes dont leur présence dans l'eau a une origine tellurique. De ce fait, leur présence dans les eaux de forages F3 ; F7 ; F8 ; F9 et F19 est indicateur d'une contamination fécale humaine ou animale (Mpakam et al. 2009), mais aussi à une contamination environnementale non maîtrisée par les traitements (BTH 2010).

Tableau 27 : Résultats campagne d'échantillonnage

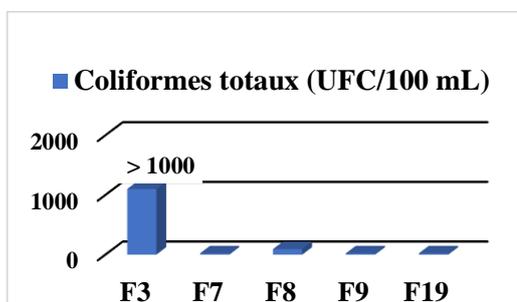
Paramètres	Minimum	Maximum	Norme CEE
GT	0	Innombrables	10
CT	0	> 1100	< 1
CF	0	240	0
SF	0	240	< 1
CSR	Négatif	Positif	Absent

**Tableau 28 : Résultats contrôle**

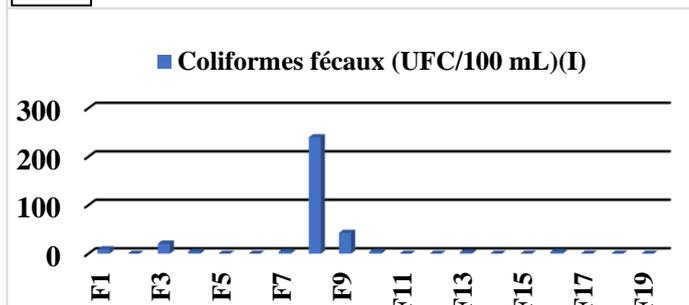
Paramètres	Minimum	Maximum	Norme CEE
GT	0	Innombrables	10
CT	23	> 1100	< 1
CF	0	240	0
SF	0	460	< 1
CSR	Négatif	Positif	Absent



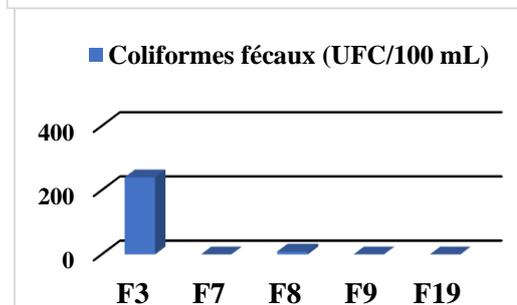
1



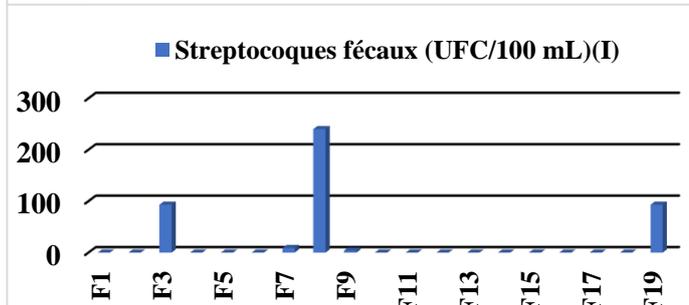
2



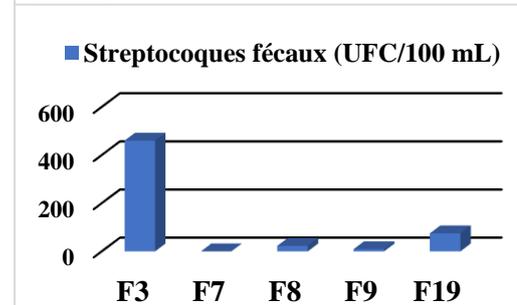
3



4



5



6

**Diagrammes 1,3,5 : Campagne d'échantillonnage CT, CF, SF**

**Diagrammes 2,4,6 : Contrôle CT, CF, SF**

**Figure 4: Teneur des paramètres microbiologiques lors de la première campagne et celle du contrôle**

Ceci est lié à un défaut d'assainissement autour des ouvrages ; à la dynamique de la nappe suivant les saisons ; au massif filtrant défectueux et à l'inefficacité du système autoépuration couplé du vieillissement ainsi qu'à la sollicitation de ces équipements. De ce fait, les prévalences respectivement élevées en dysenteries ; gastro-entérites sont en partie liées à la consommation des eaux de forages contaminées. Ce cas est plus marquant dans le canton de Kéméri où la prévalence des maladies hydriques est la plus élevée.

#### 4. Conclusion

Les résultats de cette étude ont permis de comprendre la signature minéralogique et bactériologique des eaux souterraines de la préfecture de la Binah. En somme, 79,95% des eaux de PMHs échantillonnées dans la préfecture sont impropres à la consommation humaine. Elles ne respectent pas les critères de potabilité pour l'eau de boisson définies par les recommandations de l'OMS et de la CEE. L'aspect bactériologique de ces eaux en est le facteur prépondérant, responsable de la dégradation de ces eaux, en particulier celle des Germes Témoins de la Contamination Fécale (GTFCF). Par contre ces eaux sont de qualités acceptables sur le plan physicochimique ; à l'exception du forage F8 marqué par une coloration grise-rouille de l'eau couplée d'une forte turbidité. Les eaux de la préfecture sont acides à neutres en générale avec des valeurs de pH oscillant entre 6,8 et 7,7. Le faciès hydrochimique est dans l'ordre décroissant  $SiO_2 > HCO_3^- > Ca^{++} > Mg^{++} > Cl^- > SO_4^{--}$ . Les analyses statistiques révèlent que les valeurs de pH ; la turbidité ; le  $SO_4^{--}$  ; le  $NH_4^+$  ; le Fer total ; la silice ; le TAC et le TH, sont liées à la minéralisation d'où une origine lithologique. A l'opposé, les ions  $Cl^-$  ;  $NO_2^-$  et  $NO_3^-$  auraient une origine anthropique. La population en générale n'observe pas les bonnes pratiques d'hygiène et d'assainissement autour des points d'eaux particulièrement des forages F3 ; F7 ; F8 ; F9 et F19 qui ont fait l'objet de contrôle, exposant la population riveraine au risque de contraction des maladies hydriques.

#### 5. Références et bibliographie

- BTH. (2010). « BACTERIES TEMOINS D'HYGIENE (Pour la maîtrise des risques biologiques) ». Laboratoire Départemental d'Analyses.
- DGEA. (2009). « Etude de faisabilité des forages manuels au Togo ».
- DIS. (2017). « Principaux indicateurs de sante.2016 ». Ministère de la sante.
- EAU VIVE. (2014). « Projet d'amélioration des services d'eau potable et des pratiques d'hygiène dans cinq villages de la préfecture de la Binah, au Togo. » IDEAS.
- Evreux. s. d. « Analyse microbiologique des biocontaminations ». <http://biotech.spip.ac-rouen.fr>.
- Giroux, Isabelle. (1991). « Contamination de l'eau souterraine par les pesticides et les nitrates dans les régions en culture de pommes de terre ». *Campagnes d'Echantillonnage*, 1992–1993.
- Kokou TCHALLA. (2015). « Dynamique démographique et peuplement de la région de la kara au togo. Une analyse à base des données de recensements généraux de la population de 1970 A 2010 ».
- Kossitse Venyo AKPATAKU et al. (2016). « Étude hydrogéochimique du système aquifère granito-gneissique dans la préfecture du Moyen-Mono, Togo ». *Afrique Science*, 2016.
- Mbawala, A., A. Abdou, et M. B. Ngassoum. (2010). « Evaluation de la pollution physico-chimique et microbienne des eaux de puits de Dang-Ngaoundéré (Cameroun) ». *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 4 (6).
- Mfonka, Z., JR Ndam Ngoupayou, P. D. Ndjigui, M. Zammouri, A. Kpoumie, et E. Rasolomanana. (2015). « Hydrochimie et potabilité des eaux du bassin versant du Nchi dans le plateau Bamoun (Ouest Cameroun) ». *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 9 (4): 2200–2218.
- Mpakam, H. G., G. Kenmogne, T. Tatietsé, Eric MAIRE, Jean-loup BOEGLIN, E. Ekodeck, et Bernard DUPRÉ. (2009). « Etude des facteurs de pollution des ressources en eau en milieu urbain: cas de Bafoussam (Ouest-Cameroun) ». In *Actes du colloque international sur le thème «changements climatiques et évaluation environnementale», Niamey (Niger) du 26 au 29 Mai 2009*. 27P.
- N'go, Y. A., D. L. Goné, I. Savané, et M. M. Goblé. (2005). « Potentialités en eaux souterraines des aquifères fissurés de la région d'Agboville (Sud Ouest de la Côte d'Ivoire): caractérisation hydroclimatique et physique ». *Afrique Science* 1 (1): 127–144.
- OMS. (2017). *Directives de qualité pour l'eau de boisson (OMS) : 4e éd. intégrant le premier additif [Guidelines for drinking-water quality: 4th ed. incorporating first addendum]*.
- PEAT. Phase I. « Projet d'Eau et Assainissement au Togo ».
- pS-Eau. (2018). « Rapport pS-Eau ».
- RODIER. (2009). *L'Analyse de l'eau*. DUNOD. Vol. 9e édition entièrement mise à jour.
- UNICEF FRANCE. (2016). « Les Objectifs De Développement Durable(ODD) ».
- Zoulgami, S, MDT Gnazou, T Kodom, G Djaneye-Boundjou, et LM Bawa. (2015). « Physico-chemical study of groundwater in the Northeast of Kara region (Togo) ». *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 9 (septembre): 1711. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i3.49>.

## Élimination biologique du fer dans les eaux souterraines dans une colonne pilote

Faye Mamadou<sup>1,2</sup>, Sambe Falilou Mbacké<sup>1,2</sup>, Toure Alpha Ousmane<sup>1,2</sup>,

Laboratoire d'Electrochimie et des Procédés Membranaires (LEPM), Ecole Supérieure Polytechnique (ESP), Dakar-Fann, Sénégal  
2 Université Cheikh Anta Diop de Dakar (UCAD) B.P. 5085 Dakar-Fann, Sénégal

### Résumé :

Un filtre pilote à écoulement co-courant avec un matériau de support de garnissage (graines de jujube enrobées) a été construit et testé pour l'élimination biologique du surplus de fer dans les eaux souterraines. Les performances du filtre ont été testées à une charge hydraulique constante de 261,67 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> par jour tandis que les concentrations d'alimentation en fer variaient entre 0,5-1, 0,5-1,5 et 0,5-2 mg. L<sup>-1</sup> respectivement. Des graines de jujube enrobées, recouvertes d'une couche plastique et d'un biofilm contenant des micro-organismes, ont été utilisées comme milieu filtrant. L'élimination du fer a été réalisée en un seul étage, pour laquelle une période de deux mois était nécessaire pour la maturation du lit.

La détermination des cycles de fonctionnement de rétrolavage du lit a montré, qu'une durée de cycle de fonctionnement de 1 jour s'est avérée suffisante pour une concentration initiale de 2 mg. L<sup>-1</sup>, alors que des concentrations en fer comprises 0,3-0,6 mg. L<sup>-1</sup>, aucun lavage à contre-courant n'est nécessaire. Les résultats montrent que le traitement biologique donne des résultats de pourcentages d'abattement de 39,3 %, 48,76 % et 67,23 % respectivement pour les forages de Pout Kirène (PK2), Pout Sud (PS5) et Kougheul (KK5).

**Mots clés :** biofilm, essai continu, oxydation biologique, élimination du fer, colonne, eaux dopées.

### 1. Introduction

Si le fer est présent dans une alimentation d'eau potable destinée à la consommation humaine, à des concentrations qui dépassent les normes de qualité de l'eau de boisson de 0,3 mg. L<sup>-1</sup> (OMS), il est indésirable pour les raisons suivantes (**Arendze and Sibiya, 2016**): Aspect esthétique: les précipités de Fe(III) donnent à l'eau une couleur rougeâtre lorsqu'il y a présence de l'oxygène, le fer donne à l'eau un goût métallique et une odeur indésirable, les adoucisseurs domestiques s'encrassent sous l'effet de précipités de Fe(III), le dépôt de précipités dans le système de distribution peut réduire le diamètre effectif des conduites et éventuellement l'obstruer. Le fer est un substrat pour la croissance des ferrobactéries dans les conduites d'eau. Lorsque les ferrobactéries meurent et disparaissent, de mauvaises odeurs et des goûts désagréables peuvent être causés.

Les taux d'oxydation du fer ferreux augmentent en fonction de la quantité d'oxygène présente dans le milieu, du pH et du potentiel redox et peut atteindre des taux de conversion d'environ 90% à un pH de 7 et un redox de 400 mV (**Sundstrom et al., 1979**). L'oxydation du fer est nettement plus lente à un pH < 6 et les précipités peuvent persister pendant un certain temps dans les eaux aérées (**Longley et al., 1962; Sawyer et al., 1978**). Les rendements d'oxydation peuvent être augmentés par la présence et l'action de certaines micro-organismes. Il existe plusieurs genres de bactéries qui oxydent le Fe(II) dissout selon différents mécanismes. En effet, les micro-organismes en particulier *Gallionella sp*, *Leptothrix ochracea* et *Crenothrix polyspora* provoquent une oxydation intracellulaire primaire par action enzymatique.

L'opération d'aération suivie d'une séparation solide-liquide sur un lit à sable est la méthode de traitement par voie chimique la plus utilisée dans les stations de traitement des eaux souterraines du Sénégal. (**Michalakos et al., 1997**) ont montré dans leurs travaux scientifiques que l'aération est la méthode adéquate pour l'oxydation du fer ferreux dans les eaux souterraines où les concentrations en fer sont supérieures à 5 mg. L<sup>-1</sup> afin d'éviter les coûts liés aux produits chimiques et de la complexité de la technologie. La séparation du liquide à la phase solide est possible en utilisant les filtres sur sable. Si nécessaire, d'autres traitements peuvent être ajoutés, tels l'oxydation chimique avec le chlore, le permanganate de potassium ou l'ozone, les processus d'échange d'ions et l'oxydation par voie biologique (**Michalakos et al., 1997; Tekerlekopoulou and Vayenas, 2008**).

Dans ce travail, l'utilisation de la méthode de traitement reposait une colonne à lit fixe à fonctionnement continu pour éliminer le Fe(II) dissout. La colonne a été remplie avec des noix de jujube enrobées de matière plastique de diamètre moyen de 8,15 mm, utilisées comme milieu filtrant. Les limites entre l'élimination physico-chimique et biologique du fer ne sont pas identifiées dans ce travail. Néanmoins, les conditions du domaine de l'oxydation biologique sont fixées. Des essais expérimentaux sont portés sur la détermination des cycles de fonctionnement de rétrolavage du lit, des taux d'oxydation du Fe(II), l'effet de la concentration en Fe(II) et l'influence de la hauteur du lit de filtration.

### 2. Matériel et méthodes

Le biofiltre ascendant utilisé à l'échelle pilote est un tube en PVC non transparent de diamètre interne 40 mm et de 90 cm de hauteur. La hauteur de la colonne pilote représente la moitié de celle des filtres industriels à pleine échelle mesurant en moyenne 1,80 m. Le long de la profondeur du filtre, il y a 3 ports d'échantillonnage pour les mesures de

la concentration en fer dans le liquide qui traverse le lit bactérien. Il est donc possible de procéder à une évaluation expérimentale des profils de concentration du fer le long de la profondeur du filtre. L'aération se fait au début du processus par un compresseur à air de type **MECAFER** à un débit constant de 760 L/h. Une fois le régime pseudo-continu est atteint, on coupe l'alimentation de l'air du compresseur. C'est le mode de tirage naturel de l'air qui est utilisé et aucune source externe d'aération mécanique n'est utilisée dans le biofiltre. L'utilisation de ce type de biofiltre présente l'avantage de ne pas toujours nécessiter d'alimentation en air externe, car l'air entre naturellement à travers le filtre en raison de la différence de température entre l'intérieur et l'extérieur du filtre ainsi que la pression inférieure qui règne dans le biofiltre.

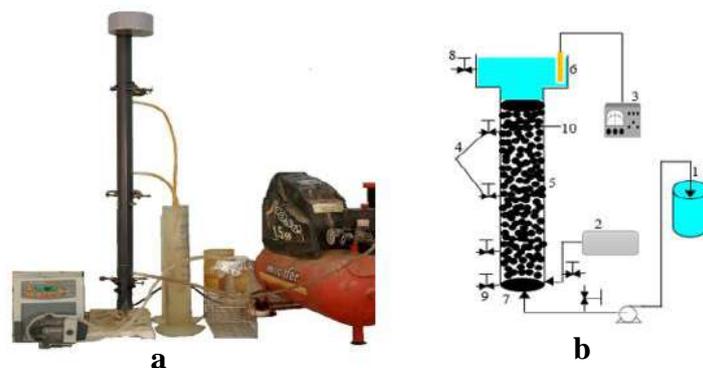


Figure 1 : a-Dispositif expérimental ; b- Schéma général

Une charge hydraulique de  $261,67 \text{ m}^3/\text{m}^2$  par jour a été utilisée dans toutes les expériences car pour des charges plus élevées, le biofiltre est noyé. Sous ce chargement hydraulique, l'eau dopée avec du fer à filtrer à travers le corps du filtre biologique, pouvait circuler dans le même sens que l'air comprimé. Le rétrolavage des filtres était nécessaire en raison du colmatage des pores dû à la croissance de la biomasse et au dépôt de précipités de fer sur les surfaces des graines de jujube enrobées. Le lavage à contre-courant a été effectué, en fonction des conditions de fonctionnement, en utilisant des vitesses d'écoulement élevées de débit d'air, ce qui est le principal mécanisme d'élimination de la biomasse en excès et des précipités. Avant l'échantillonnage, le biofiltre a été soumis à un lavage à contre-courant avec une solution ferreuse de concentration 1 M et a ensuite fonctionné en mode continu tout en maintenant les conditions d'alimentation pendant au moins 24 heures, afin de garantir des conditions pseudo-stables, de stabiliser le plus possible la répartition de la population de biofilms (Tekerekopoulou and Vayenas, 2008). La procédure d'échantillonnage était la suivante : à chaque valve d'échantillonnage, une seringue était immergée jusqu'au centre du filtre. Le filtre n'étant pas noyé, il a fallu déployer des efforts pour recueillir la quantité nécessaire d'échantillon, en particulier pour de faibles débits utilisés.

Le filtre biologique est rempli de graines de jujube enrobées de diamètre moyen de 8,08 mm, de surface spécifique ( $A_s$ ) de  $548,13 \text{ cm}^2/\text{cm}^3$  et de porosité 0,423. Sur ce matériau de support, des microorganismes responsables de l'élimination du fer de l'eau à traiter sont cultivés (culture fixée), et ont été utilisés pendant plusieurs jours (2 mois). Dans toutes les expériences, la température de l'eau est pratiquement constante ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ). La concentration en oxygène dissout dans la phase liquide sur toute la profondeur du filtre était toujours comprise entre 6 et 8  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . Dans ces conditions de fonctionnement, nous avons essayé de varier le potentiel redox de 200 à 400 mV, pour être sûr de se situer dans le domaine de la déferrisation biologique. Une fois que la culture en ballon agité a atteint la phase stationnaire (mesurée par une longueur d'onde de  $\lambda_{\text{max}} = 530 \text{ nm}$ ), la suspension a été transférée dans le bioréacteur. Le volume de suspension cellulaire ajouté au bioréacteur était de 1 L.

Un temps de démarrage d'environ 10 jours était nécessaire pour que l'oxydation biologique puisse commencer. Pendant cette période, le filtre a fonctionné comme un réacteur discontinu. Comme précédemment en mode batch après 10 jours, des observations microscopiques ont été effectuées. En fonctionnement continu, des solutions ont été ajoutées à des concentrations en fer comprises entre 0,5 et 2  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  pour l'alimentation de la colonne. La solution d'alimentation résultait du mélange d'une solution de fer ferreux préparée à partir du sulfate de fer (contenant de petites quantités d'ammoniaque et de phosphore).

### 3. Résultats et discussions

Pour les tests, nous avons choisi de travailler dans les conditions de fonctionnement avec un débit volumétrique de l'échantillon 8,11 L/h et un débit d'alimentation d'air  $Q_G = 760 \text{ L/h}$  pour éviter d'entraîner les ferrobactéries cultivées et pour avoir un bon temps de séjour. En effet, le filtre ascendant à l'échelle pilote a été maintenu en fonctionnement

continu pendant deux mois et demi pour garantir son état stable et le développement du biofilm sur les parois extérieures des graines de jujube enrobées. Dans toutes les expériences, la température de l'eau était quasiment constante (environ  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ), ainsi que la température ambiante du laboratoire. Le pH dans la phase liquide sur toute la profondeur du filtre est compris entre 9,5 et 10. Dans cette gamme de pH et au potentiel redox considéré (300 mV) le fer ferreux est la seule forme de fer en phase liquide. La forme précipitée du fer pourrait être retenue sur le matériau de support du filtre. La concentration de l'oxygène dissout dans la phase liquide sur toute la profondeur du filtre était toujours comprise entre 6 et 7,5 mg. L<sup>-1</sup>. Dans ces conditions opératoires, et puisque le potentiel redox mesuré varie de 0,2 à 0,4 V selon (Hem, 1961), l'oxydation du fer biologique est prédominante.

### 3.1. Détermination des cycles de fonctionnement de rétrolavage du lit

Des quantités importantes de fer sont souvent précipitées lors de l'oxydation biologique du fer (Michalakos et al., 1997), ce qui nécessite un lavage à contre-courant périodique des biofiltres. La durée possible des cycles de fonctionnement des biofiltres est fonction de la concentration en fer à l'entrée et du débit volumétrique d'alimentation.

Une fois l'ensemencement, accompli et le fonctionnement continu établi, le débit volumétrique est fixé à 8,11 L/h. A ce débit, diverses concentrations en fer d'alimentation ont été testées. La **figure 2** présente la durée requise des cycles de fonctionnement (intervalles de temps en jours entre deux rétrolavages successifs du filtre) pour des concentrations en fer total comprises entre 0,3 et 2 mg. L<sup>-1</sup>. Pour des concentrations en fer comprises 0,3-0,6 mg. L<sup>-1</sup>, aucun lavage à contre-courant n'était pas nécessaire. Il semble qu'un état d'équilibre ait été établi dans le biofiltre. Pour des concentrations en fer plus élevées, la durée des cycles de fonctionnement devient faible. Pour 2 mg. L<sup>-1</sup>, une durée de cycle de fonctionnement d'un (1) jour s'est avérée suffisante, tandis que la concentration en fer en haut de colonne était d'environ 0,983 mg. L<sup>-1</sup> (fonctionnement limité). Ces expériences vérifient les travaux de (Michalakos et al., 1997) qui ont montré que généralement, une augmentation de la concentration en fer à l'entrée ou du débit volumique, diminue la durée requise des cycles de fonctionnement. Pendant un cycle de fonctionnement, seul les solides en suspension ou les précipités de fer de petites tailles ont pu être observés à la sortie du filtre (voir photo sur la figure 2), tandis que la fin de chaque cycle est apparentée à une diminution du débit volumique de sortie en haut de colonne. Cela a été utilisé comme critère pour démarrer le lavage à contre-courant du filtre biologique.

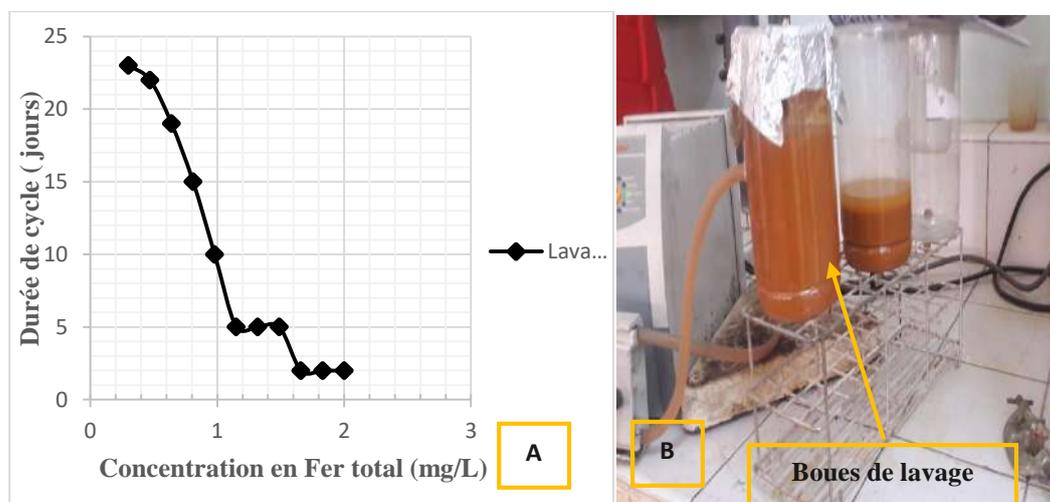
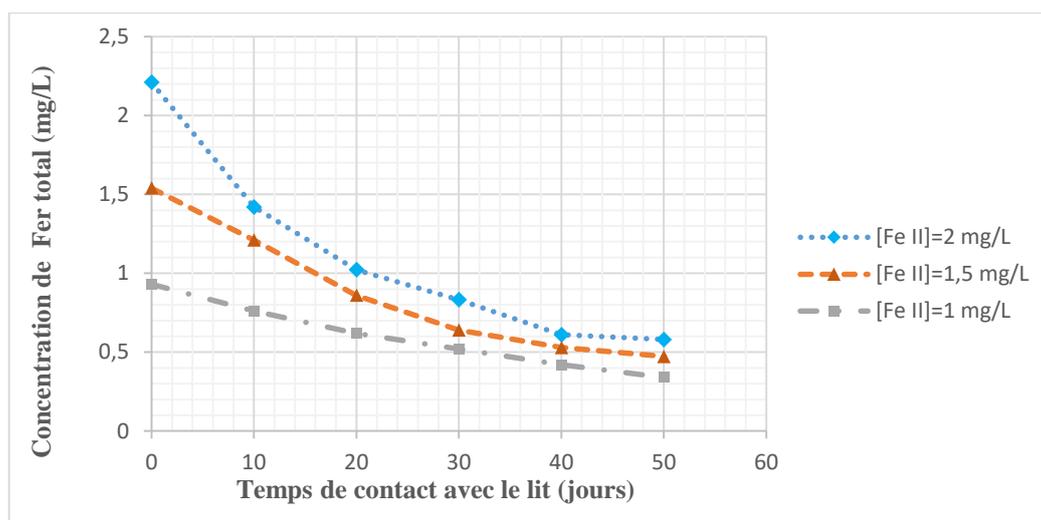


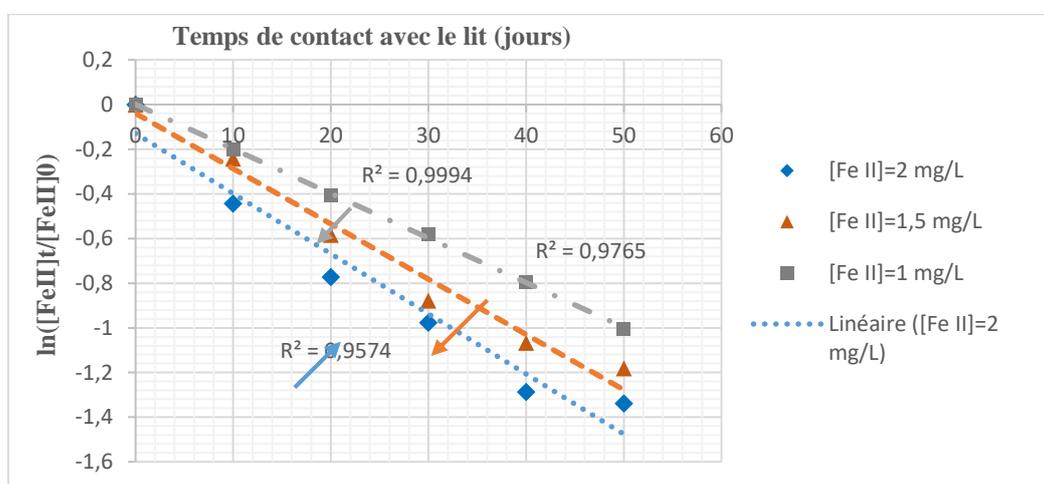
Figure 2 : A-Fréquence de lavage à contre-courant requise (durée du cycle) en fonction de la concentration en fer ; B-photo : boues de lavage du lit de filtration ; Débit d'alimentation échantillon  $Q_L = 8,11 \text{ L/h}$  ; Débit d'alimentation d'air  $Q_G = 760 \text{ L/h}$  ;  $[\text{Fe}^{2+}]_{0(\text{max})} = 2 \text{ mg. L}^{-1}$  ;  $\text{pH} = 9,5$  ;  $P = 1,013 \text{ bar}$ ,  $T = 25 \pm 1^\circ\text{C}$  ; Potentiel redox = 300 mV.

### 3.2. Cinétique d'oxydation biologique du fer

Il est bien établi que le fer peut être éliminé des eaux souterraines par l'application de processus biologiques (Mouchet, 1992). Il est également bien documenté que les taux d'oxydation du fer sont beaucoup plus élevés dans le processus d'élimination chimique. Dans ce qui suit, le taux d'oxydation du fer a été évalué et comparé aux valeurs rapportées dans la littérature. Ces expériences ont été réalisées en ajoutant du Fe(II) dans de l'eau distillée, à différentes concentrations initiales en fer (Figure 3 et 4).



**Figure 3** : Elimination biologique du Fe(II) en fonction du temps de contact à différentes concentrations en fer ;  $Q_L = 8,11$  L/h ;  $Q_G = 760$  L/h ;  $[O_2] = 6,5$  mg. L<sup>-1</sup> ; pH = 9,5 ; P = 1,013 bar et T = 25 ± 1°C ; Potentiel redox = 300 mV



**Figure 4** : Analyse de régression linéaire de l'appauvrissement de Fe(II) en fonction du temps de contact ;  $Q_L = 8,11$  L/h ;  $Q_G = 760$  L/h ;  $[O_2] = 6,5$  mg. L<sup>-1</sup> ; pH = 9,5 ; P = 1,013 bar ; T = 25 ± 1°C et Potentiel redox = 300 mV

Selon les données expérimentales (**Figure 3**), l'effet de la variation de la concentration initiale du fer améliore l'efficacité du biofiltre d'environ 5,84 à 4,47 % dans les conditions expérimentales particulières et de plage de concentration 1-1,5 mg. L<sup>-1</sup> et 1,5-2 mg. L<sup>-1</sup>. Bien que l'oxydation biologique augmente l'efficacité du biofiltre de 5% en moyenne, l'augmentation de la profondeur de notre biofiltre serait nécessaire pour atteindre une concentration en fer inférieure à la limite supérieure autorisée. Les essais réalisés par (Tekerekopoulou and Vayenas, 2008) montrent qu'une diminution de la concentration à l'entrée de 1,5 à 1 mg. L<sup>-1</sup>, augmente l'effet de l'oxydation biologique ou encore l'efficacité du biofiltre environ 5% tout en réduisant la profondeur requise d'environ 40%. Le taux d'oxydation est fonction de la teneur en ions ferreux mais indépendant à la quantité de bactérie ferro-oxydantes dans l'environnement (Li et al., 2006; Qin et al., 2009).

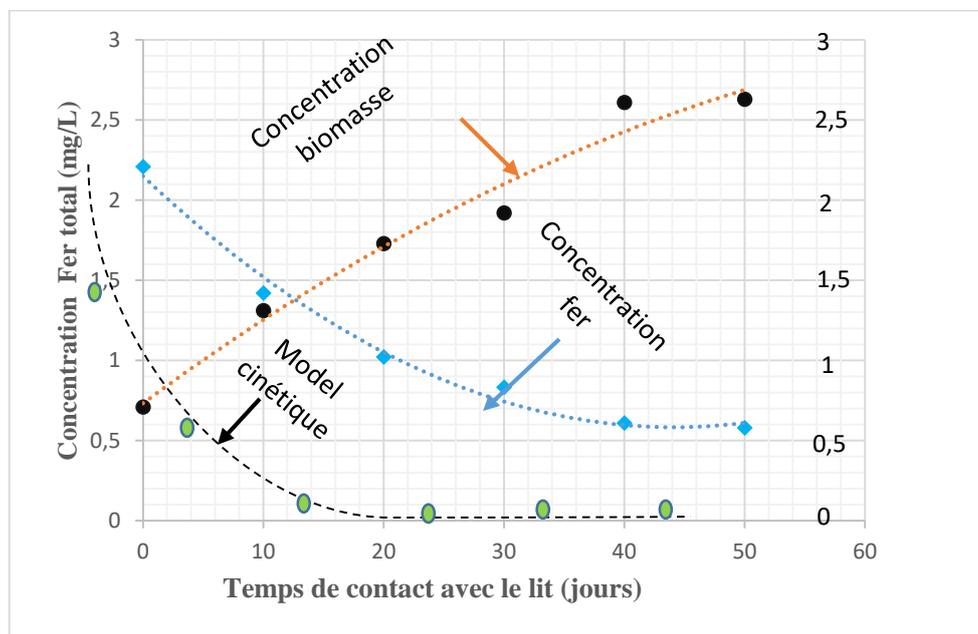
La linéarité des courbes a révélé que l'oxydation biologique du fer dans la colonne pilote suivait également une vitesse cinétique du premier ordre, donnée par l'équation suivante :

$$-\frac{d[Fe^{2+}]}{dt} = K[Fe^{2+}]$$

Pour un pH constant et de concentration en fer dans l'échantillon, les constantes cinétiques sont égales à 7,52, 10,86 et 13,054 jr<sup>-1</sup> respectivement pour les concentrations théoriques initiales en fer  $[Fe^{2+}]_0 = 1, 1,5$  et 2mg. L<sup>-1</sup>.

### 3.3. Cinétique d'oxydation biologique du fer et suivi de la biomasse

Afin d'étudier la cinétique de l'oxydation biologique du fer, l'expérience du lot avec une concentration initiale théorique du fer de 2 mg. L<sup>-1</sup> de Fe<sup>2+</sup>, a été réalisée dans la colonne pilote sous aération prolongée et la présence des ferrobactéries isolées (**Figure 5**). Nous avons étudié la cinétique d'oxydation biologique du fer et le développement de la biomasse en fonction du temps de contact du lit. Les échantillons liquides soutirés en haut de colonne, après filtration sur du papier filtre, ont été analysés par la technique spectrophotométrie UV-Visible.



**Figure 5** : Expériences de la cinétique d'oxydation biologique du fer et de la biomasse en fonction du temps de contact du lit :  $Q_L = 8,11$  L/h ;  $Q_G = 760$  L/h ;  $[Fe^{2+}]_0 = 2$  mg. L<sup>-1</sup> ;  $[O_2] = 6,5$  mg. L<sup>-1</sup> ; pH = 9,5 ; P = 1,013 bar et T = 25 ± 1 °C ; Potentiel redox = 300mV

La **figure 5** montre, les profils de concentration du fer en fonction du temps de contact avec le lit notamment l'épuisement du fer dans le milieu, la concentration de biomasse et l'application du modèle cinétique de (Tekerelepoulou and Vayenas, 2008). Ces résultats indiquent qu'une diminution de la concentration entraîne une augmentation de la biomasse. L'accroissement de la biomasse induit considérablement des précipités de fer et de teneur en biomasse dans les échantillons recueillis. Cela est principalement dû au détachement de la biomasse sur des parties inférieures du biofiltre avec l'alimentation de l'air. Nous remarquons aussi une diminution de la vitesse de filtration en fonction du temps. En effet, la biomasse piégée réduit davantage l'espace vide entre les particules de graines de jujube enrobées et la vitesse de filtration devient ainsi le paramètre dominant pour décrire le dépôt de précipités de fer. Cette observation nous a conduit à l'hypothèse selon laquelle les précipités de fer ainsi que les agrégats de biomasse, en dehors du biofilm, sont responsables du colmatage prolongé des pores dans le filtre monocouche. L'oxydation biologique du fer peut s'exprimer par l'expression de la cinétique de (Tekerelepoulou and Vayenas, 2008):

$$r_{Fe\ total} = -\frac{1}{Y_{Fe}} \cdot \frac{\mu_{max} C_{Fe}}{K_s + C_{Fe}} X_{Fe}$$

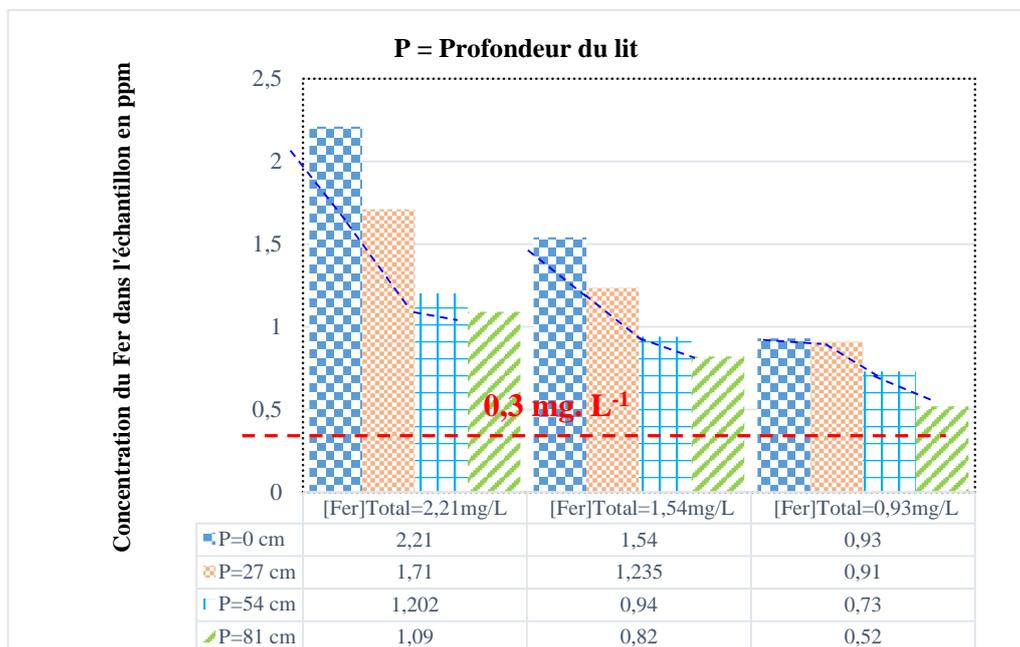
Où  $r_{Fe}$  est le taux de croissance des bactéries du fer,  $\mu_{max}$  est la croissance spécifique maximale,  $Y_{Fe}$  est le rendement biomasse-fer,  $K_s$  est la constante de saturation et  $X_{Fe}$  est la densité de la biomasse dans la suspension.

Tous les paramètres cinétiques du modèle ont été estimés par la méthode des moindres carrés ajustés aux données expérimentales. Les constantes cinétiques obtenues sont :  $\mu_{max} = 3,2$  L/j,  $K_s = 0,826 \cdot 10^{-3}$  mg/cm<sup>3</sup>,  $Y_{Fe} = 16,72$  mg. Cellules/mg de Fe(II) oxydé.

La **figure 5** présente également l'efficacité d'élimination du fer dans le biofiltre. Ce modèle permet d'évaluer une oxydation complète du fer. Les données de ce modèle peuvent faciliter le dimensionnement des colonnes pilotes et les prédictions de l'efficacité des traitements biologiques du fer selon (Tekerelepoulou and Vayenas, 2008) qui l'a utilisé dans ses travaux de recherche. Dans le cadre de notre étude, il est évident que le biofiltre monocouche n'est pas efficace pour la gamme des paramètres de fonctionnement testés, car pour toutes les teneurs de fer choisies, nous n'arrivons pas à atteindre les normes de potabilité recommandée par l'OMS.

▪ **Profils de concentrations du fer le long de la profondeur du filtre monocouche**

Des séries d'expériences ont été menées afin d'étudier l'effet de la concentration initiale du fer le long de la profondeur du filtre monocouche. Celles-ci ont permis d'étudier les performances du biofiltre (**Figure 6**).



**Figure 6 :** Profils expérimentaux de concentrations du fer le long de la profondeur du biofiltre monocouche en fonction des concentrations initiales de fer dans l'alimentation :  $Q_L = 8,11 \text{ L/h}$  ;  $Q_G = 760 \text{ L/h}$  ;  $[\text{O}_2] = 6,5 \text{ mg. L}^{-1}$  ;  $\text{pH} = 9,5$  ;  $P = 1,013 \text{ bar}$  ;  $T = 25 \pm 1^\circ\text{C}$  et Potentiel redox =  $300 \text{ mV}$

La **figure 6** fait référence à l'oxydation du fer pour un débit volumétrique d'échantillon constant  $Q_L = 8,11 \text{ L/h}$  et des concentrations théoriques en fer de  $1, 1,5$  et  $2 \text{ mg. L}^{-1}$ . Dans toutes les expériences qui ont été réalisées, chaque mesure a été effectuée trois fois et l'écart des mesures était toujours inférieur à 5%. Il est évident qu'une augmentation de la concentration en fer à l'entrée de  $1$  à  $2 \text{ mg. L}^{-1}$  augmente la profondeur du biofiltre nécessaire pour obtenir une élimination sûre du fer de  $26$  à  $60 \text{ cm}$ . L'élimination sûre du fer est obtenue lorsque la concentration en fer est inférieure à la ligne pointillée horizontale colorée en rouge qui représente la limite maximale autorisée de  $0,3 \text{ mg. L}^{-1}$  dans l'eau. Le taux d'oxydation du fer ( $\text{mg Fe}^{2+}/\text{m}^2 \text{ jour}$ ) augmente en conséquence avec l'augmentation de la concentration. En particulier, une augmentation de la concentration en fer de  $1$  à  $1,5 \text{ mg. L}^{-1}$  et enfin à  $2 \text{ mg. L}^{-1}$  entraîne une augmentation du taux d'oxydation du fer de  $87,535$  à  $572,957 \text{ mg Fe(II) / m}^2 \text{ jour}$  et à  $891,267 \text{ mg Fe(II) / m}^2 \text{ jour}$  respectivement.

Globalement, l'observation générale qui a été faite montre qu'au sommet du filtre, l'efficacité du filtre n'est pas suffisante, ce qui implique que la hauteur du lit du biofiltre est un paramètre crucial pour l'oxydation biologique du fer. Sur la tranche à partir de la moitié supérieure du filtre, l'efficacité d'oxydation du fer augmente à environ de  $7,54\%$  en moyenne entre le point de prise du milieu de colonne et la sortie. Une observation générale du potentiel redox à la sortie du haut de colonne a augmenté sensiblement. Ceci est cohérent avec les remarques de (**Mouchet, 1992**) selon lesquelles le potentiel redox augmente en raison de l'oxydation du fer. En effet, l'oxydation biologique du fer ne nécessite pas des conditions plus strictes que l'oxydation biologique du manganèse et de l'ammoniaque avec un potentiel redox supérieur à  $300 - 500 \text{ mV}$ .

Ainsi, même si les processus biologiques sont très importants, les processus chimiques ne peuvent pas être complètement négligés. Des investigations plus détaillées seront nécessaires pour identifier l'étendue de chaque processus impliqué dans le mécanisme d'élimination du fer.

#### 4. Conclusion

Notre objectif était de contribuer à l'amélioration des techniques de traitement des eaux souterraines sénégalaises afin d'apporter une solution technique aux industriels dans le traitement des eaux potables.

Le traitement biologique a été étudié à cet effet pour éliminer les quantités trop importantes du fer rencontrées dans les eaux souterraines sénégalaises.

Nous avons effectué dans le cadre ce travail des essais pilote dans un bioréacteur continu. Ces essais ont permis de contrôler le comportement du bioréacteur. En outre, la détermination des cycles de fonctionnement de rétrolavage du lit a montré, qu'une durée de cycle de fonctionnement de 1 jour s'est avérée suffisante pour une concentration initiale de 2 mg. L<sup>-1</sup>, alors que des concentrations en fer comprises 0,3-0,6 mg. L<sup>-1</sup>, aucun lavage à contre-courant n'est nécessaire. Ainsi, l'effet de la variation de la concentration initiale du fer améliore l'efficacité du filtre d'environ 5,84 à 4,47 % dans les conditions expérimentales particulières et respectivement des concentrations initiales du fer de 1,5 mg. L<sup>-1</sup> et 2 mg. L<sup>-1</sup>. Lors de ces tests sur la colonne pilote, l'oxydation biologique du fer est une réaction lente, dans les conditions expérimentales fixées, se produisant dans les eaux reconstituées à traiter.

Le procédé a été testé sur des eaux souterraines. Les résultats montrent que le traitement biologique donne des résultats de pourcentages d'abattement de 39,3 %, 48,76 % et 67,23 % respectivement pour les forages PK2, PS5 et KK5. Les difficultés de traitement pour l'élimination biologique apparaissent essentiellement au niveau des eaux souterraines de concentration en fer de plus en plus importante.

### Références bibliographiques

**Arendze, S., Sibiya, M., 2016.** Removal of aluminium and iron from surface water by conventional water treatment. *Water Science and Technology: Water Supply* 17, 733-744.

**Hem, J.D., 1961.** Stability field diagrams as aids in iron chemistry studies. *Journal-American Water Works Association* 53, 211-232.

**Li, D., Zhang, J., Wang, H., Chen, L., Wang, H., 2006.** Application of biological process to treat the groundwater with high concentration of iron and manganese. *Journal of Water Supply: Research and Technology—AQUA* 55, 313-320.

**Longley, J., Engelbrecht, R., Margrave, G., 1962.** Laboratory and Field Studies on the Treatment of Iron-Bearing Waters. *Journal-American Water Works Association* 54, 731-745.

**Michalakos, G.D., Nieva, J.M., Vayenas, D., Lyberatos, G., 1997.** Removal of iron from potable water using a trickling filter. *Water research* 31, 991-996.

**Mouchet, P., 1992.** From conventional to biological removal of iron and manganese in France. *Journal-American Water Works Association* 84, 158-167.

**Qin, S., Ma, F., Huang, P., Yang, J., 2009.** Fe (II) and Mn (II) removal from drilled well water: A case study from a biological treatment unit in Harbin. *Desalination* 245, 183-193.

**Sawyer, C.N., McCarty, P., Parkin, G.F., 1978.** *Chemistry for environmental engineers.* New York. Mc Graw-Hill Book Company.

**Sundstrom, D.W., Klei, H.E., Tsui, T., Nayar, S., 1979.** Response of biological reactors to the addition of powdered activated carbon. *Water Research* 13, 1225-1231.

**Tekerlekopoulou, A., Vayenas, D., 2008.** Simultaneous biological removal of ammonia, iron and manganese from potable water using a trickling filter. *Biochemical Engineering Journal* 39, 215-220.

## **Elimination par des argiles naturelles de polluants organiques et inorganiques des déchets liquides d'une unité de production de sucre en Côte d'Ivoire.**

Kedi Atolé Brice Bienvenu<sup>1\*</sup>, Kouame Yao Francis<sup>1</sup>, Kouassi Seka Simplicite<sup>1</sup>, Abry Alika Odile<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire des Sciences et Technologie de l'Environnement, UFR Environnement, Université Jean Lorougnon Guédé, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire

**Résumé :** La gestion des déchets liquides de Sucrivoire/Zuénoula est une préoccupation pour les décideurs de l'entreprise, qui dans leur politique de développement durable œuvrent pour pallier ce problème. L'objectif de notre travail était de caractériser les rejets liquides des laboratoires de Sucrivoire/Zuénoula et de réduire les polluants par des argiles naturelles de Côte d'Ivoire. Des échantillons des déchets issus de deux laboratoires ont été collectés et une partie a été traitée aux argiles par adsorption. Les paramètres suivants ont été mesurés dans les échantillons de déchets liquides avant et après le traitement aux argiles par le laboratoire LANEMA : Conductivité, Turbidité, MES, Phosphore total, Azote total, Zinc, Cuivre, mercure, Plomb. L'analyse de ces échantillons a montré que les valeurs des paramètres étudiés sont dans l'ensemble, supérieures aux normes de rejets ivoiriennes. Le traitement aux argiles de Katiola et d'Anyama a montré dans l'ensemble une réduction des polluants. L'argile de Katiola présente de meilleurs rendements comparés à celle d'Anyama. Les argiles ont donc contribué à réduire les polluants des déchets liquides de laboratoires de Sucrivoire/Zuénoula et sont une alternative peu coûteuse et accessible pour le traitement de déchets liquides.

**Mots clés :** déchets liquides, métaux lourds, dépollution, argiles.

## **Elimination by natural clays of organic and inorganic pollutants from liquid waste from a sugar production unit in Côte d'Ivoire.**

**Abstract:** The management of liquid waste from Sucrivoire/Zuénoula is a concern for the company's decision-makers, who in their sustainable development policy work to remedy this problem. The objective of our work was to characterise the liquid discharges from Sucrivoire/Zuénoula laboratories and to reduce the pollutants using natural clays from Côte d'Ivoire. Waste samples from two laboratories were collected and part of it was treated with clays by adsorption. The following parameters were measured in the liquid waste samples before and after the clay treatment by the LANEMA laboratory: Conductivity, Turbidity, MES, Total phosphorus, Total nitrogen, Zinc, Copper, mercury, Lead. Analysis of these samples showed that the parameters studied are on the whole higher than the Ivorian discharge standards. Treatment with Katiola and Anyama clays showed overall reduction in pollutants. Katiola clay has better yields compared to Anyama's. The clays have therefore contributed to reducing pollutants in liquid waste from Sucrivoire/Zuénoula laboratories and are an inexpensive and accessible alternative for the treatment of liquid waste.

**Keywords:** liquid waste, heavy metals, depollution, clays.

### **1. Introduction**

L'impact des effluents industriels sur l'environnement est aujourd'hui une réalité manifeste et une menace sérieuse à moyen terme pour la qualité des eaux de surface, des nappes souterraines et des sols [1,2]. Cette situation reste une préoccupation surtout dans les pays en voie de développement avec l'implantation d'usines et le manque de système adéquat de traitement des eaux usées [3]. Il est nécessaire de traiter les eaux usées avant de les déverser dans la nature. La gestion des déchets liquides reste une préoccupation pour les décideurs de l'unité industriel de production de sucre (Sucrivoire/Zuénoula). En effet, dans leur politique de développement durable, ces responsables œuvrent pour une gestion efficace des déchets, générés par leurs activités. Plusieurs techniques de dépollution ont été développés, mais la plupart génère elle-même des déchets toxiques et a un coût élevé. L'adsorption des polluants par les argiles est une méthode de dépollution à moindre coût, disponible et facile à mettre en œuvre [4]. La Côte d'Ivoire dispose de nombreux sites argileux dont l'usage peut être envisagé dans l'élimination des polluants des eaux usées [5]. L'objectif de notre travail était de caractériser les rejets liquides des laboratoires de Sucrivoire/Zuénoula et de réduire les polluants par des argiles naturelles de Côte d'Ivoire.

### **2. Matériel et méthodes**

#### **2.1. Zone d'étude**

Les déchets liquides de notre étude sont issus des laboratoires de l'Unité Agricole Intégrée (UAI) de Zuénoula. Cette unité est située à 25 km de Zuénoula au Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire. Elle est géographiquement localisée entre

7°30' et 7°40' de latitude Nord, et entre 6°5' et 6°15' de longitude Ouest, et située à 209 m d'altitude par rapport à la mer.

## 2.2. Déchets liquides des laboratoires

Les déchets liquides sont produits par deux laboratoires (agronomique et usine) de l'UAI lors de la campagne de production qui dure environ sept mois dans l'année. Les rejets liquides, après les analyses du laboratoire agronomique sur la canne à sucre, les feuilles et les sols, constituent les échantillons de déchets liquides nommés A. Les déchets liquides issus des analyses du laboratoire de l'usine sur les jus de canne produits sont les échantillons nommés B. Les eaux de rinçage de la verrerie du laboratoire de l'usine, après les analyses, constituent les échantillons C [6].

## 2.3. Quantification des eaux usées

La quantification des déchets liquides des trois sources s'est effectuée sur une période de quarante cinq jours pendant la campagne de production. Le volume de ces déchets était quotidiennement mesuré à l'aide de récipients gradués.

## 2.4. Méthode d'échantillonnage

Le prélèvement a été effectué pendant quatre semaines, pendant la campagne de production, à raison d'un litre par semaine pour chacune des trois sources de déchets liquides. Les échantillons ainsi collectés auprès de chacune des trois sources (A, B et C) au cours des quatre semaines ont été mélangés. Chaque mélange a été mis dans des bouteilles en polyéthylène et conservé au congélateur entre 2 et 5 °C. Un grand soin a été apporté au maintien de conditions de propreté lors du prélèvement et de la manipulation des échantillons, afin de minimiser toute contamination possible. De plus, tous les échantillons ont été collectés à l'aide de bouteille en polyéthylène pré-nettoyées et acidifiées à pH 2 avec du HCl concentré.

## 2.5. Traitement des déchets liquides avec les argiles

Une partie des échantillons composites A, B et C a été utilisée pour le traitement avec chacune des deux argiles. 10 g d'argile ont été pesés et ajoutés à 500 mL d'échantillon de déchets liquides de sorte à avoir 20 g pour un litre de déchet liquide. Les mélanges ont été agités pendant une heure à l'aide d'agitateur magnétique de type HI-200M. Les solutions d'argiles ont été centrifugées à 4000 rpm à l'aide d'une centrifugeuse Sigma-2-16P [7]. Le surnageant a été recueilli dans des bouteilles en polyéthylène préalablement nettoyées et acidifiées à pH 2, avec de l'acide chlorhydrique (HCl) concentré, et conservés au congélateur entre 2 °C et 5 °C pour les analyses.

## 2.6. Analyse au laboratoire

La température, la conductivité, la matière en suspension (MES) et la turbidité ont été mesurés au laboratoire de l'usine après l'échantillonnage et avant la conservation des échantillons au congélateur. La température et le pH ont été mesurés à l'aide d'un appareil de type Knick PH-Meter 765 Calamatic. La conductivité a été déterminée à l'aide du multimètre Consort C933. La turbidité et la matière en suspension (MES) ont été évaluées avec le multimètre Nalco DR/890 Colorimeter. Les concentrations des paramètres inorganiques et organiques que sont l'azote total, le phosphore total, le mercure (Hg), le plomb (Pb), le zinc (Zn) et le cuivre (Cu) ont été mesurées au Laboratoire National d'Essais de qualité de Métrologies et d'Analyses (LANEMA) d'Abidjan. Le dosage des différents métaux a été effectué au moyen d'un Spectromètre d'Absorption Atomique (SAA) BK-AA320N. Le taux de réduction des paramètres est calculé en faisant le rapport des valeurs, après et avant traitement aux argiles multiplié par cent.

## 2.7. Échantillons d'argiles

Les deux argiles utilisées dans cette étude sont des argiles naturelles prélevées dans deux villes de Côte d'Ivoire (Anyama et Katiola). Elles ont été fournies par le laboratoire de Constitution et de Réaction de la Matière de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan (Côte d'Ivoire). Ces échantillons ont été broyés dans un mortier en porcelaine et tamisés à 100 µm. Les principaux minéraux argileux et la surface spécifique de ces argiles sont dans le Tableau 2. Les minéraux argileux dominants sont la kaolinite, l'illite et les smectites dans l'argile d'Anyama et l'illite, la chlorite et les smectites dans l'argile de Katiola. Les pourcentages de minéraux argileux sont de 50,13% et 64,02% respectivement pour les argiles d'Anyama et de Katiola.

## 1. Résultats et discussion

### 1.1. Quantité de déchets liquides produit

La moyenne journalière des rejets liquides des laboratoires de l'UAI mesurée nous donne les résultats consignés dans le tableau I. Les eaux de rinçages (C) sont beaucoup plus volumineuses que les deux autres avec un facteur de plus de 45. Ensuite, viens les déchets B qui sont plus de quatre fois plus élevés que les déchets A.

**Tableau XXIX:** Volume journalier moyen des déchets liquides produits à l'UAI de Zuenoula pendant la campagne annuelle de production (sept mois).

Laboratoires de l'UAI de Zuenoula	Code des échantillons	Quantité journalière des rejets liquides
Agronomique (rejets des dosages)	A	12,8 L/jour
Usine (rejets des dosages)	B	58,8 L/jour
Usine (eaux usées issus des lavabos)	C	2675,1 L/jour

### 1.2. Effet du traitement aux argiles sur les paramètres des déchets liquides

Les résultats des mesures des différents paramètres avant et après traitement aux deux argiles sont regroupés dans le tableau II.

**Tableau XXX:** Valeurs des paramètres des déchets liquides mesurés avant (A, B et C) et après traitement avec les argiles d'Anyama (A<sub>1</sub>, B<sub>1</sub> et C<sub>1</sub>), de Katiola (A<sub>2</sub>, B<sub>2</sub> et C<sub>2</sub>) et la norme Ivoirienne

	A	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	B	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	C	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	Norme*
pH	4,48	4,51	4,54	4,37	4,29	4,32	4,54	4,2	4,7	5,5-8,5
Conductivité (µS/Cm)	11820	2313	480	3300	2760	2838	540	804	573	-
Turbidité (NTU)	5745	120	30	2160	181	84	262	36	98	-
MES (mg/L)	4035	75	64	2150	115	55	187	25	72	150
Phosphore total (mg/L)	35,64	25,54	20,29	24,74	0,806	0,631	4,70	0,315	0,385	15
Azote total (mg/L)	166,88	140,48	133,28	183,68	28,416	22,496	2,10	0,322	0,360	50
Cuivre (mg/L)	0,151	0,129	0,056	0,122	0,131	0,168	0,106	0,074	0,162	0,5
Zinc (mg/L)	0,439	0,169	0,272	0,333	0,386	0,419	0,437	0,434	0,443	2
Plomb (mg/L)	81,45	5,39	3,88	64,43	45,78	40,36	6,67	4,22	1,53	0,5
Mercuré (mg/L)	8,33	7,75	7,20	6,8	6,3	5,86	5,20	4,95	4,22	0,2

\* Norme ivoirienne

Le pH des échantillons (compris entre 4,37 et 4,54) est acide et non conforme à la norme ivoirienne, même après le traitement aux deux argiles. La conductivité de A est la plus élevée suivi de celle B et celle de C (moins chargé). Ce paramètre a été fortement réduit après le traitement aux argiles. La réduction est de 80% et 96% respectivement avec les argiles d'Anyama et de Katiola pour l'échantillon A. Elle est de 16% et 14% pour B respectivement avec l'argile de Katiola. Par contre la conductivité C, qui était la moins élevée des trois, a plutôt augmenté après le traitement aux argiles.

Les valeurs de turbidité montrent que A est plus trouble suivi de B puis de C (plus clair). Le traitement aux argiles a fortement réduit la turbidité des échantillons. Les MES (matières en suspension) suivent les mêmes tendances que la turbidité pour les trois échantillons A, B et C, et les deux argiles. En plus, les MES des trois échantillons qui n'étaient pas conformes à la norme, l'ont été après le traitement aux argiles.

Le taux de phosphore total et d'azote total de A et B dépasse largement celui recommandé par la norme nationale sauf avec C où la norme est respectée. Le traitement aux argiles a fait baisser à divers degrés la concentration de phosphore total et d'azote total dans les déchets liquides. Ce traitement a permis à B d'avoir des valeurs qui respectent la norme contrairement à A. Bien qu'étant déjà conforme à la norme, les valeurs de C ont connu une forte baisse (entre 83 et 93% de réduction) de ses concentrations de phosphore total et d'azote total.

L'analyse de A, B et C a révélé la présence de métaux lourds comme le cuivre, le zinc, le plomb, le mercure. Les concentrations en cuivre et en zinc des trois échantillons sont nettement inférieures aux limites maximales recommandées par la norme nationale bien que ces valeurs aient été réduites à divers degrés par les argiles.

Les concentrations en plomb et en mercure des trois échantillons sont nettement supérieures aux valeurs limites de la norme nationale. Ces concentrations ont été réduites à divers degrés par les deux argiles. Dans les déchets A, la

concentration de plomb a été fortement réduite avec l'argile d'Anyama (93%) et de Katiola (95%). Par contre la réduction a été moins forte dans B et C avec des pourcentages variant entre 29% et 37% avec les deux argiles sauf dans le cas des déchets C avec l'argile de Katiola où le taux de réduction est de 77%. Toutefois, la concentration en plomb demeurent supérieure à la norme après la réduction.

La concentration en mercure dans les trois échantillons de déchets liquides a été faiblement réduite avec des taux variant entre 5% et 19% avec les deux argiles. Les concentrations en mercure avant et après traitement des trois échantillons restent supérieures à la valeur de la norme nationale.

De façon générale l'argile de Katiola avait des taux d'élimination de polluants plus élevées que ceux de l'argile d'Anyama. En effet, cette argile est riche en minéraux de type 2 :1 tels que les smectites (14,40%) et les chlorites (23,31%) contrairement à l'argile d'Anyama où les minéraux dominants sont de type 1 :1 (kaolinite (22,38%), illites (14,94%)). La composition des deux argiles explique les différences d'élimination des polluants, car les argiles de type 2 :1 ont des capacités d'adsorption plus élevées que celles de type 1 :1 [8].

## 1. Conclusion

Les résultats ont montré une réduction des polluants organiques et inorganiques des déchets liquides à divers degrés. L'efficacité dans l'élimination des polluants de cette étude dépendait en partie des argiles. L'argile de Katiola présente de meilleurs rendements comparés à celles d'Anyama et pourrait être recommandée dans le traitement des rejets liquides des laboratoires de l'UAI de Zuénoula.

## 2. Bibliographie

- [1]. Gnagne, Y. ; Yapo, B. ; Meite, L. ; Kouame, V. ; Gadj, A. ; Mambo, V. et Houenou, P. Int. J. Biol. Chem. Sci. (2015) 9(2) ; 1082.
- [2]. Ouedraogo, D.B. ; Gnankambary, Z.; Nacro, H.B. et Sedogo, M.P. Int. J. Biol. Chem. Sci. (2019)12(6); 2564.
- [3]. Dongo, K.; Niamke, B.; Adje, A.; Britton, B.; Nama, L.; Anoh, K.; Adima, A. et Atta, K. Int. J. Biol. Chem. Sci. (2013) 7(1); 404.
- [4]. Mockovčiaková, A. ; Orolínová, Z.et Škvarla, J. J. Hazard. Mater. (2010) 180(1–3) ; 274
- [5]. Kpangni, E.B. ; Andji, Y.Y.J. ; Adouby, K. ; Oyetola, S. ; Kra, G. et Yvon, J. J. Appl. Sci. (2008) 8(5); 871.
- [6]. Kedi, A. B. B. ; Kouamé, Y. F.; Kouassi, S. S. ; Abry, A. O. et Konan, K. F. J. Int. J. Biol. Chem. Sci. (2021) 15(2); 803.
- [7]. Kedi, A. B. B. ; Kouassi, S. S. ; Coulibaly, V. et Sei, J. Int. J. Biol. Chem. Sci. (2021) 15(2); 803.
- [8]. Gu, S.; Kang, X.; Wang, L.; Lichtfouse, E. et Wang, C. Environ. Chem. Lett. (2019) 17(2) ; 629.

## Contamination fécale et risques potentiels associés aux usages d'une rivière urbaine : Rivière Djibi, Côte d'Ivoire

Cyr-Kevin Yao Kouame<sup>1</sup>, Nouho Koffi Ouattara<sup>1</sup>, Allassane Ouattara<sup>1</sup> Et Germain Gourene<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'Environnement et de Biologie Aquatique, Université Nangui Abrogoua BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

### Résumé

La pollution fécale provenant des eaux usées domestiques dégrade la qualité microbiologique des rivières en raison du manque de systèmes d'assainissement adéquats. La présence des pathogènes limite leurs utilisations pour les activités récréatives et économiques. Cette étude évalue le niveau de pollution fécale de la rivière Djibi et quantifie le genre *Vibrio* sp. afin d'évaluer les risques associés à l'usage de ses eaux recevant celles de la commune d'Abobo. De Septembre 2015 à Février 2017, 90 échantillons d'eaux usées ont été prélevés à 4 stations sur la Djibi à l'aide de flacons stériles de 100 mL, transportés au laboratoire à 4 °C et analysés. La Djibi présente des eaux de mauvaise qualité avec des abondances moyennes de  $10^4$ - $10^5$  *Escherichia coli*/100 mL et  $10^4$ - $10^6$  entérocoques intestinaux/100 mL supérieures aux normes de qualité. Djibi cimetièrre est la station la plus contaminée avec  $10^5$  *Escherichia coli* et  $10^6$  entérocoques intestinaux dans 100 mL d'eau. Les abondances médianes de *Vibrio* sp. ( $10^3$ - $10^4$  UFC/100 mL) indiquent que la rivière Djibi présente un risque sanitaire pour les populations. La limitation des apports d'eaux usées et la mise en place de systèmes d'assainissement adéquats contribueront à protéger et garantir les usages de cette rivière.

**Mots clés:** Qualité de l'eau, bactéries fécales, bactéries pathogènes, rivière.

## Faecal contamination and potential hazards associated with an urban river: Djibi River, Côte d'Ivoire

### Abstract

Faecal pollution from domestic wastewater degrades the rivers' microbiological quality due to the lack of adequate sanitation facilities. The presence of pathogens limits their uses for recreational and economic activities. This study assesses the faecal pollution's level in the Djibi river and quantifies the presence of *Vibrio* sp. in order to determine the hazards associated with the use of its waters receiving those of Abobo's area. From September 2015 to February 2017, 90 wastewater samples were collected at 4 stations on Djibi using sterile 100 mL bottles, transported to the laboratory, kept at 4 °C and processed. The Djibi's water are poor quality with average abundances of  $10^4$  -  $10^5$  *Escherichia coli*/100 mL and  $10^4$  -  $10^6$  intestinal enterococci/100 mL higher than most quality standards. Djibi cemetery is the most contaminated station with  $10^5$  *Escherichia coli* and  $10^6$  intestinal enterococci in 100 mL of water. The median abundances of *Vibrio* sp. ( $10^3$  -  $10^4$  CFU/100 mL) reveal that the Djibi river represents a significant public health hazard. The limitation of wastewater inflows and the supplying of adequate sanitation facilities will help protect and guarantee the uses of the Djibi river.

**Key words:** Water quality, faecal bacteria, pathogenic bacteria, river.

### 1. Introduction

La pollution des eaux de surface est un enjeu considérable à l'échelle mondiale. Cet enjeu nécessite une évaluation et une réforme permanentes des politiques relatives à leur utilisation et leur protection. L'eau polluée est considérée comme la principale cause de décès et de maladies dans le monde entier<sup>[1]</sup>. Un certain nombre de facteurs continuent d'avoir un impact négatif sur les ressources naturelles en eau à travers le monde, dont beaucoup résultent principalement des activités anthropiques, l'urbanisation et l'industrialisation étant considérées comme les plus pertinentes<sup>[2]</sup>. On estime que plus de 90 % des eaux usées provenant de diverses sources, notamment des activités domestiques, industrielles et domestiques, industrielles et agricoles sont déversées dans les lacs, les rivières et les autres systèmes aquatiques dans le monde entier<sup>[3,2]</sup>.

Malheureusement, le manque d'installations d'assainissement et de traitement des eaux usées conduit encore au rejet de quantités importantes de bactéries et de microorganismes pathogènes qui altèrent la qualité de l'eau dans les bassins versants récepteurs<sup>[2]</sup>. Les agents pathogènes les plus fréquemment transmis par l'eau sont ceux qui causent des infections du tractus intestinal, à savoir, les bactéries responsables de la typhoïde et de la para-typhoïde, de la dysenterie, du choléra et les virus entériques<sup>[4]</sup>. Les organismes responsables de ces infections sont présents dans les matières fécales ou les urines d'une personne infectée, et lorsqu'ils sont rejetés peuvent pénétrer dans un milieu aquatique qui sert de source d'eau potable<sup>[3]</sup>. Parmi les agents pathogènes disséminés dans différents milieux aquatiques, les pathogènes entériques tels que *Vibrio* et *Salmonella* sont les plus fréquemment rencontrés<sup>[5,6]</sup>. Chaque année, le<sup>[7]</sup> estime que 2,2 millions de personnes meurent de maladies diarrhéiques ; 90 % de ces décès concernent des enfants, principalement dans les pays en développement.

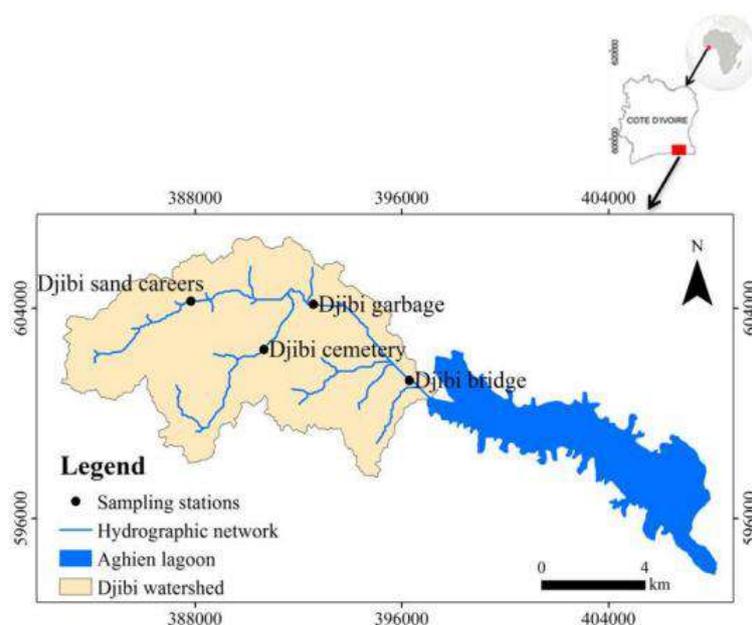
La croissance rapide de la population avec l'urbanisation pose de sérieux problèmes en ce qui concerne l'approvisionnement en eau potable en Côte d'Ivoire<sup>[2]</sup>. Les études de<sup>[8]</sup> ont montré que la production d'eaux usées causée par les activités humaines expose les zones urbaines à des risques sanitaires importants liés à la présence des pathogènes. En effet, la ville d'Abidjan connaît depuis janvier 2011, une réémergence des maladies diarrhéiques (dont le choléra) après 6 ans de disparition relative<sup>[9,10]</sup>.

Située en zone périurbaine le long de la zone côtière de l'Est de la Côte d'Ivoire, la rivière Djibi est le plus pollué du bassin versant de la lagune d'Aghien, recevant les eaux usées de la zone densément peuplée d'Abobo<sup>[2]</sup> et se caractérise par une forte urbanisation<sup>[11]</sup>. La conséquence est la dégradation des forêts au profit de l'habitat et de l'agriculture. Ceci sous-entend que la rivière Djibi sert non seulement comme une source importante d'eau à usage domestique pour les habitants, mais aussi des voies d'évacuation des déchets et des eaux usées brutes qui contaminent souvent les ressources en eau<sup>[2]</sup>. Il est clair que les eaux usées apportent des concentrations élevées de polluants organiques et inorganiques qui modifient fortement le milieu de vie des bactéries indigènes d'eau douce. Actuellement, le programme de surveillance pour l'évaluation de la qualité de l'eau de la rivière Djibi a indiqué que les concentrations d'indicateurs de contamination fécale ont été les plus élevées dans la rivière Djibi, l'un des principaux affluents du bassin versant de la lagune Aghien<sup>[2]</sup>, ce qui justifie que les bactéries pathogènes soient incluses afin de prévenir le risque sanitaire associé aux eaux douces<sup>[4]</sup>. Elle revêt donc une importance générale et peut être largement appliquée à d'autres systèmes fluviaux confrontés à des enjeux similaires à celui de la rivière Djibi.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1 Zone d'étude

La zone d'étude est la rivière Djibi, l'un des principaux affluents du bassin versant de la lagune Aghien. Elle est située au Nord-est de la ville d'Abidjan (capitale économique de la Côte d'Ivoire)<sup>[12,13,11]</sup>. Elle est limitée au Nord par la sous-préfecture d'Azaguié et au Sud par celle de Bingerville. Le sous-bassin versant de la Djibi traverse les périphéries de deux localités urbaines (Abobo et Anyama) et couvre une superficie de 78 km<sup>2</sup> pour un périmètre de 77 km. Son altitude varie de 12 à 135 m<sup>[11]</sup>. La rivière Djibi rejoint la lagune Aghien, réservoir potentiel d'eau potable. D'autres petits affluents (D1 = Djibi carrière de sable, D2 = Djibi cimetière, D3 = Djibi ordures et D4 = Djibi pont) (Figure 1) situés dans le sous-bassin de la rivière Djibi sont déversés dans la rivière Djibi afin que leurs eaux atteignent la lagune Aghien. La rivière Djibi reçoit les eaux usées domestiques des communes et villages d'Anyama, d'Abobo et de Brofodoume situés dans le bassin versant et des villages situés dans le bassin versant sans traitement<sup>[2]</sup>.



**Figure 1** : Localisation des stations des affluents du sous-bassin versant de la rivière Djibi (D1 = Djibi carrière de sable, D2 = Djibi cimetière, D3 = Djibi ordure et D4 = Djibi pont Djibi)

## 2.2 Collecte et traitement des échantillons

Neuf (9) campagnes de prélèvement d'échantillons d'eau dans les stations de la rivière Djibi ont été effectuées de septembre 2015 à février 2017 environ tous les deux mois, en raison de la forte pression anthropique que subit cette rivière.

Les prélèvements d'échantillons d'eau pour les analyses bactériologiques ont été réalisés dans la matinée aux différentes stations retenues. Ces prélèvements ont été effectués à l'aide de flacons en matière plastique stériles de 1 L de capacité. Lors des prélèvements, les flacons maintenus fermés ont été immergés à une profondeur de 30 cm sous la surface, ensuite ouverts dans l'eau. Une fois le remplissage terminé, les flacons ont été fermés immédiatement, mis à l'abri de la lumière et conservés à basse température (+ 4 °C) dans des glacières puis acheminés avant 2 heures, au laboratoire pour les analyses microbiologiques.

## 2.3 Isolement des bactéries

### 2.3.1 Dénombrement d'*Escherichia coli* par la technique de mise en culture

La détection des *Escherichia coli* (*E. coli*) a été faite sur la gélose Tryptone Bile X Glucuronide (TBX Chromogenic Agar) (ISO 16649-2,3 ; CONDA Pronadisa, CAT : 1151.00, Espagne).

Des volumes successifs de 1 mL, 10 mL et 100 mL de chaque échantillon ont été prélevés et filtrés sur la membrane filtrante (Whatman-Membrane Nitrate cellulose) quadrillée stérile (porosité 0,45 µm et diamètre de pore 47 mm). Cependant, pour des volumes de 1 mL, deux gouttes de solution de Ringer prélevée, à l'aide de la micropipette, ont été rajoutées dans l'entonnoir afin d'obtenir une bonne répartition des bactéries sur toute la surface du filtre. Le filtre a été enlevé avec une pincette stérile puis déposé délicatement sur la gélose TBX (face quadrillée vers le haut). De l'eau ultra pure stérile a été nécessaire aux divers rinçages de la rampe de filtration, préalablement stérilisée à l'alcool afin d'éliminer l'alcool ayant servi à stériliser celle-ci. Des embouts stériles ont été utilisés avec des pipettes automatiques pour les diverses prises d'échantillons.

Les différentes dilutions appropriées ont étéensemencées sur le milieu TBX par la technique d'étalement en surface de la gélose avec un volume 0,1 mL (100 µL) à l'aide d'un étaleur ou râteau d'étalement. Après chaque étalement, le râteau a été égoutté sur un papier absorbant et passé à la flamme. Une zone stérile délimitée par la flamme du bec Bunsen a permis d'assurer la stérilité de nos solutions et de notre matériel. Après chaque manipulation, les râteaux d'étalement ont été stockés dans de l'éthanol avant d'être utilisés à nouveau.

Les boîtes de Pétri contenant la gélose TBXensemencée ont été disposées, en position retournées, dans un incubateur à 44 °C pendant 24 heures. Après 24 heures, les boîtes de Pétri contenant 15 à 150 colonies caractéristiques de *E. coli* c'est-à-dire les colonies bleues ou bleues-vertes ont été retenues<sup>[14]</sup>.

### 2.3.2 Dénombrement des entérocoques intestinaux par la technique de mise en culture

En ce qui concerne les entérocoques intestinaux (EI), la gélose Slanetz et Bartley (SB) (ISO 7899-2 ; CONDA Pronadisa, CAT : 1109.00, Espagne) avec TTC (Chlorure de 2,3,5-Triphényltétrazolium) (0,2 %) incorporé (critère de différenciation) et la gélose BEA (Bile Esculine et Azoture) (BIOKAR DIAGNOSTICS, NF EN ISO 7899-2 et NF T90-421 France) ont été utilisées pour leur mise en évidence. La gélose SB renferme un substrat chromogénique (4-méthylumbelliferyl β-D-glucoside) qui, clivé après l'hydrolyse en présence d'acétate de thallium, d'acide nalidixique et de 2,3,5-Triphenyltétrazolium fera apparaître les colonies recherchées. La gélose BEA permet l'isolement sélectif des Enterococcus et Streptococcus du groupe D : l'azoture de sodium (sel très toxique) inhibe la croissance des bactéries Gram négatif et de tous les streptocoques sauf ceux du groupe D, et la bile de bœuf inhibe la croissance des bactéries Gram positif.

La technique de filtration pour la mise en évidence des entérocoques intestinaux a été réalisée comme celle décrite dans le cas des *Escherichia coli*. Cependant, le filtre a été déposé sur la gélose Slanetz et Bartley (SB) (face quadrillée vers le haut).

Les boîtes de Pétri contenant la gélose SBensemencée ont été disposées, en position retournées, dans un incubateur à 36 °C pendant 44 heures. Cinq colonies caractéristiques (violette ou rose ou rouge à marron) d'entérocoques intestinaux sur SB ont été prélevées après 44 heures d'incubation et repiquées sur gélose BEA, à l'aide d'une pipette Pasteur stérile puis incubée à 44 °C pendant 2 heures<sup>[15,16]</sup> pour la confirmation des souches d'entérocoques intestinaux qui apparaissent également noires brillantes entourées d'halo noir.

Pour une énumération optimale, la moyenne pondérée des résultats du dénombrement des colonies provenant des boîtes de Pétri présentant entre 15 et 150 colonies, à la surface du milieu de culture après incubation, ont servi à

constituer notre base de données. Les résultats obtenus ont été exprimés en UFC (Unité Formant Colonie) afin d'obtenir la concentration pour 100 mL d'échantillon<sup>[14]</sup>.

### 2.3.3 Recherche de *Vibrio* sp.

#### 2.3.3.1 Dénombrement quantitatif

Pour la recherche des *Vibrio*, la gélose TCBS (Thiosulfate-Citrate-Bile-Saccharose) (OXOID LTD, CM0333, Engleterre) a été utilisée pour leur culture et leur isolement.

Le protocole utilisé pour détecter *Vibrio* sp. est bien décrit par<sup>[17]</sup>. En bref, pour le dénombrement de *Vibrio* sp., 100 µL de l'échantillon d'eau ont été ensemencés ou étalés. Une ou plusieurs dilutions décimales successives directement dans des boîtes de Pétri stériles en triplicata, sur lesquels on a ajouté un milieu agar TCBS lorsqu'une forte concentration de bactéries pathogènes est présumée. De même, la filtration d'un volume très précis de l'échantillon (1 mL, 10 mL ou 100 mL) sur une membrane filtrante stérile (porosité de 0,45 µm et diamètre des pores de 47 mm) a été effectuée pour les plus faibles concentrations attendues en bactéries et le filtre a été délicatement déposé sur la gélose. Pour 1 mL d'échantillon, un volume suffisant de solution de Ringer stérile a été ajouté à l'entonnoir pour obtenir une bonne distribution des bactéries sur toute la surface du filtre. Les boîtes de Pétri contenant la gélose agar TCBS ont été incubés à 37 °C pendant 24 heures avant le dénombrement. Les résultats des dénombrements ont été exprimés en unités formatrices de colonies (UFC) par 100 mL d'échantillon.

#### 2.3.3.2 Confirmation biochimique de *Vibrio* sp.

Toutes les colonies jaunes (fermentant le saccharose) et bleu-vert (ne fermentant pas le saccharose) sur gélose TCBS ont été considérées comme des colonies totales de *Vibrio* et comptées. Quatre colonies caractéristiques de chaque colonie présumée ont été mises en subculture sur la gélose Plate Count Agar (PCA) supplémentée avec du NaCl (2 %) (Bio-Rad) et les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 °C pendant 24 h. Toutes les colonies donnant un test positif à l'oxydase ont été confirmées comme étant des *Vibrio*. Toutes les colonies ont été conservées à 37 °C pour d'autres tests.

### 2.4 Analyse statistique

Le test de normalité W de Shapiro-Wilk (Shapiro et al., 1968) a été employé pour évaluer la distribution des données. A l'issue de ce test, le test non paramétrique de Kruskal-Wallis a été utilisé, dans un premier temps, pour comparer les valeurs des concentrations des indicateurs de contamination fécale de toutes les stations sur la rivière Djibi entre elles. De même, ce test a été employé pour examiner les rapports de ressemblance et de différence entre les concentrations de *Vibrio* sp. dans le cadre de la confirmation de l'existence de maladies d'origine hydrique associées aux usages de l'eau de la rivière Djibi en raison de la forte pression anthropique qu'elle subit. La concentration des bactéries, exprimée en UFC par 100 mL, est représentée par les paramètres statistiques ci-dessus cités<sup>[18]</sup>. Lorsqu'une différence significative est mise en évidence entre les objets considérés (stations), une comparaison deux à deux des distributions permet, dans un second temps, de situer cette différence. Cette comparaison deux à deux a été effectuée à l'aide du test non paramétrique U de Mann-Whitney.

Les tests de Kruskal-Wallis et U Mann-Whitney avec un niveau de niveau de signification de 0,05 ont été utilisés et appliqués par le logiciel RSTUDIO 0.98.490.

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Qualité microbiologique de la rivière Djibi

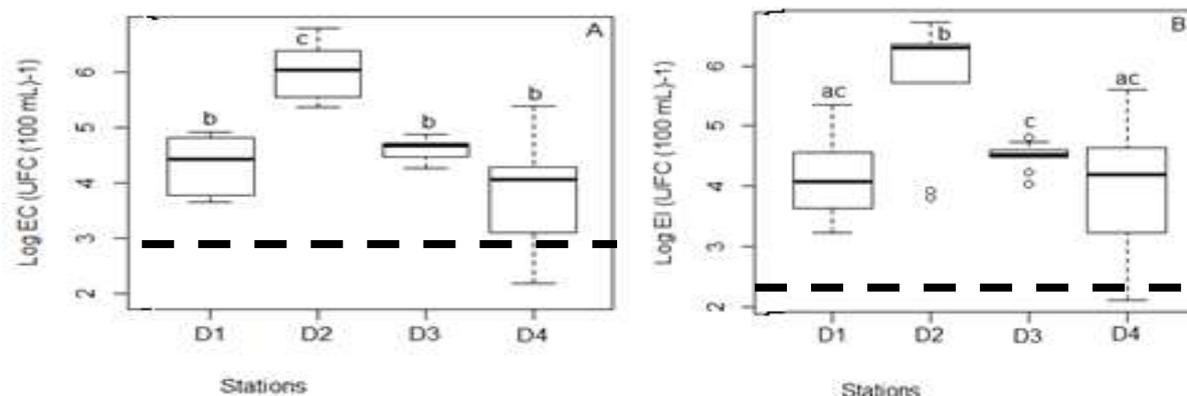
La figure 2 présente les variations observées pour les deux indicateurs de contamination à chacune des stations de prélèvement sur la rivière considérée. D'après les valeurs de la médiane, les intervalles de dispersion calculés puis les valeurs maximales et minimales présentés sous forme logarithmique, les concentrations de ces deux groupes de bactéries diffèrent d'une station à une autre.

Pour *E. coli*, les concentrations médianes ont varié entre 6,04 log (UFC/100 mL), soit  $1,10 \times 10^6$  UFC/100 mL et 4,05 log (UFC/100 mL), soit  $1,14 \times 10^4$  UFC/100 mL dans la rivière Djibi (Figure 2A). Dans cette rivière, la station Djibi cimetièrre (D2) a enregistré la concentration la plus élevée et la station Djibi pont (D4), la plus faible concentration. Une différence significative a été observée entre les différentes stations (Kruskal-Wallis ;  $p < 0,05$ ). Aussi, le test de Mann-Whitney a montré une différence significative (Mann-Whitney ;  $p < 0,05$ ) pour l'ensemble des stations.

En ce qui concerne les entérocoques intestinaux dans la rivière Djibi (Figure 2B), la plus forte concentration médiane a également été observée à la station D2 (6,28 log (UFC/100 mL), soit  $1,94 \times 10^6$  UFC/100 mL), et la plus faible, à

la station D1 (4,01 log (UFC/100 mL), soit  $1,10 \times 10^4$  UFC/100 mL). Le test de Kruskal-Wallis ( $p < 0,001$ ) appliqué aux différentes concentrations des EI a indiqué une différence hautement significative entre toutes les stations. Cette différence significative a été confirmée à travers le test de Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ) également pour l'ensemble des stations.

En ce qui concerne cette rivière, les valeurs du 90<sup>e</sup> percentile de la concentration des bactéries fécales sont, dans l'ensemble, largement supérieures aux valeurs maximales admissibles pour les activités de baignade ( $9,0 \times 10^2$  et  $3,3 \times 10^2$  UFC/100 mL, respectivement pour *E. coli* et EI) sur la base des valeurs guides de l'Union Européenne (Figure 2).



**Figure 2 :** Box plots en unités log des concentrations des *E. coli* (A), entérocoques intestinaux (B) dans les différentes stations de la rivière Djibi drainées par la lagune Aghien durant les échantillonnages.

Les box plots représentent la médiane (la ligne horizontale en gras du box plot), les 1<sup>er</sup> et 3<sup>ème</sup> quartiles (respectivement les 25 % des observations en-dessous et les 75 % des observations en-dessous), les valeurs minimales et maximales et les valeurs atypiques. La ligne discontinue représente la valeur maximale admissible au 90<sup>ème</sup> percentile pour une qualité satisfaisante des eaux de baignade selon les directives de l'Union Européenne 2013/12/CE. Les stations ayant au moins une lettre en commun ne diffèrent pas significativement. Celles n'ayant pas de lettre en commun diffèrent significativement.

Dans la rivière Djibi se déversant dans la lagune Aghien, la qualité microbiologique est supérieure à celle recommandée pour les activités récréatives<sup>[19,20,21]</sup>. La qualité de l'eau de cette rivière étudiée montre des niveaux de contamination fécale importants. Ces valeurs indiquent que ce milieu aquatique est affecté par la pollution d'origine fécale. Cette pollution par les matières fécales est largement observée dans les zones urbaines de plusieurs pays en développement. Ces zones urbaines sont dépourvues de systèmes d'assainissement adéquats pour la gestion des eaux usées domestiques. Dans une étude réalisée par<sup>[22]</sup> en Nairobi (Kenya), les eaux de la rivière Nairobi ainsi que ses affluents notamment l'Athi ont montré les concentrations des bactéries indicatrices de contamination fécale du même ordre de grandeur ( $1,0 \times 10^4$  UFC/100 mL pour *E. coli* et  $3,6 \times 10^3$  UFC/100 mL pour *Enterocoques faecalis*) que celles observées dans la lagune Aghien et ses principaux affluents (Djibi et Bété) et la rivière Mé. Dans une autre étude réalisée par<sup>[23]</sup> sur la distribution des bactéries indicatrices de contamination fécale dans la rivière Tyume dans le cap de la province, à l'est de l'Afrique du sud, les concentrations des coliformes fécaux (y compris *E. coli*) oscillaient entre  $1,0 \times 10^2$  et  $1,6 \times 10^4$  UFC/100 mL alors que celles des entérocoques étaient comprises entre  $3,3 \times 10^1$  UFC/100 mL et  $5,1 \times 10^3$  UFC/100 mL. Dans la rivière Buffalo<sup>[24]</sup> et la rivière Apies<sup>[25]</sup>, les concentrations des entérocoques observées sont du même ordre de grandeur que les valeurs obtenues dans la rivière Djibi ( $10^5$  UFC/100 mL).

Cette étude vient donc illustrer la problématique de la qualité microbiologique des eaux de surface dans les grandes agglomérations, et plus particulièrement dans les zones urbaines dépourvues d'un système d'assainissement adéquat pour la gestion des eaux usées domestiques.

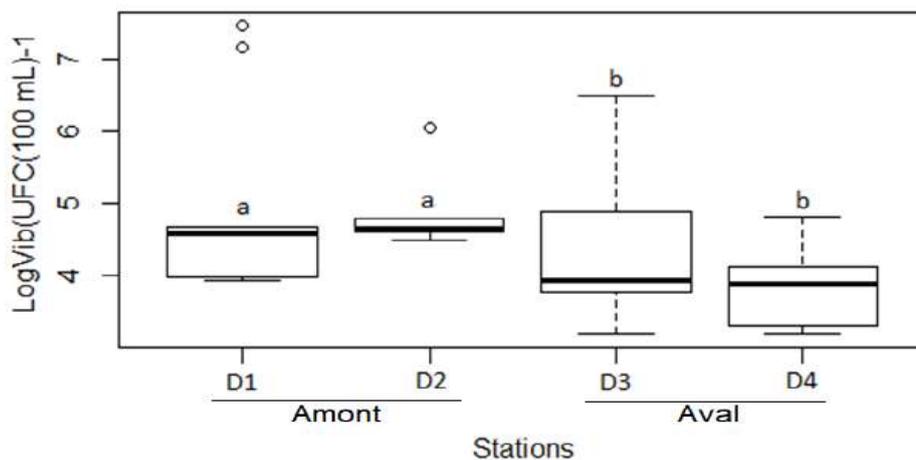
Les résultats de cette étude montrent également que les concentrations des indicateurs de contamination fécale de la rivière présentent de grandes variabilités. Cette forte variabilité pourrait s'expliquer par les différentes activités anthropiques pratiquées (élevage de bovins) dans le bassin versant de la lagune Aghien. Les matières fécales utilisées pour la fertilisation des sols sont parfois drainées par les eaux de ruissellement et donc contribuent à accroître les concentrations des entérocoques intestinaux dans ces milieux aquatiques. Les fortes concentrations des indicateurs de contamination fécale enregistrées seraient liées à une dégradation du milieu. En effet, ces indicateurs sont

particulièrement reconnus comme pouvant supporter un important degré de pollution<sup>[26]</sup>. Les fortes concentrations de bactéries liées à la pollution par les matières fécales dans la Djibi pourraient avoir des conséquences sur le bon fonctionnement écologique de ces milieux aquatiques.

### 3.2 Concentrations de *Vibrio* sp. dans les ruisseaux échantillonnés

Les concentrations de *Vibrio* sp. dans les échantillons d'eau de la rivière Djibi sont présentées par la figure 3. Les valeurs médianes et leurs intervalles de dispersion calculés de même que leurs valeurs maximales et minimales y sont présentés sous forme logarithmique. Ces valeurs des concentrations enregistrées pour *Vibrio* sp. dans les eaux ont montré différents niveaux de contamination suivant les stations.

Les concentrations de *Vibrio* sp. varient entre 3,18 log (UFC/100 mL), soit  $1,51 \times 10^3$  *Vibrio* sp./100 mL et 7,47 log (UFC/100 mL), soit  $3 \times 10^7$  *Vibrio* sp./100 mL. Les tendances révèlent que les plus fortes concentrations de *Vibrio* sp. ont été observées aux stations D1 (4,49 log soit  $3,15 \times 10^4$  UFC/100 mL) avec une variabilité des concentrations de 7,48 log (UFC/100 mL), soit  $3 \times 10^7$  *Vibrio* sp./100 mL et D2 (4,64 log soit  $4,38 \times 10^4$  UFC/100 mL) situées dans la partie amont de la rivière avec une variabilité des concentrations de 6,03 log (UFC/100 mL), soit  $1,07 \times 10^6$  *Vibrio* sp./100 mL et les plus faibles aux stations D3 (3,90 log soit  $8 \times 10^3$  UFC/100 mL) et D4 (3,96 log soit  $9,30 \times 10^3$  UFC/100 mL) situées dans la partie aval de la rivière. Les concentrations de *Vibrio* sp. notées dans les principales rivières de la Djibi ont permis d'observer des différences statistiquement significatives (Kruskal-Wallis ;  $p < 0,05$ ) entre les stations. Ces différences significatives ont été notées entre les stations situées en amont et celles situées en aval de la rivière (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).



**Figure 3** : Box plots en unités logarithmiques des concentrations de *Vibrio* sp. observées dans les stations de la rivière Djibi durant les échantillonnages. Les box plots représentent la médiane (la ligne horizontale en gras du box plot), les valeurs maximales et minimales et les valeurs atypiques. Les stations ayant au moins une lettre en commun ne diffèrent pas significativement. Celles n'ayant pas de lettre en commun diffèrent significativement

La présence et les concentrations de la bactérie potentiellement pathogène (*Vibrio* sp.) dans les eaux de la rivière Djibi, particulièrement à la station D2 confirment l'existence de maladies d'origine hydrique relatives à cette ressource. Ces bactéries sont responsables d'épidémies à travers le monde et donc considérées comme des problèmes de santé publique<sup>[27,28,29,30]</sup>. La présence de *Vibrio* sp. confirme également les résultats de la mauvaise qualité microbiologique des eaux de la rivière Djibi présentée dans la première partie de cette étude. La rivière Djibi traverse le village Djibi où elle reçoit toutes les eaux usées domestiques fortement chargées en microorganismes bactériens. Elle reçoit également, dans sa partie amont, les eaux usées de l'hôpital Félix Houphouët Boigny de la municipalité d'Abobo (commune densément peuplée). Les concentrations particulièrement élevées de *Vibrio* sp. observées en amont de la rivière Djibi pourraient être causées par les rejets hospitaliers drainés par les eaux de ruissellement, entraînant la pollution de l'eau par cette bactérie pathogène. Elles pourraient également être causées par la transmission de *Vibrio* sp. par les matières fécales de personnes infectées par ces eaux et autres aliments (poissons) contaminés par l'eau<sup>[31]</sup>.

Dans la rivière Djibi, les concentrations de *Vibrio* sp. enregistrées présentent une très grande variabilité ( $10^3$ - $10^7$  UFC/100 mL) dans ce milieu et particulièrement dans les stations situées en amont de la rivière (Djibi carrière (D1) et Djibi cimetièrre (D2)) sous l'influence des rejets hospitaliers.

La comparaison des concentrations de *Vibrio* sp. le long du sous-bassin versant de la Djibi a montré de grandes variabilités. Ces variabilités pourraient être expliquées par la différence des saisons (saison des pluies et saison sèche) durant l'année. Ainsi les concentrations les plus faibles ont été observées majoritairement en saison sèche dans le mois de février et les valeurs les plus élevées, en saison des pluies dans les mois de mai et d'août. De plus, nous avons observé des variations de moins de 2 log en saison sèche mais de plus de 3 log en saison des pluies. En effet, en saison des pluies, le ruissellement de surface et le débordement des eaux des fosses septiques contiennent des microorganismes pathogènes qui sont déversés en grande quantité dans la rivière. Les pluies sont à l'origine de crues des rivières qui, évacuent vers la lagune Aghien, l'ensemble des déchets générés par les populations riveraines et leurs activités. Durant cette période, il en est résulté une plus forte contamination de la zone la plus en amont de la rivière Djibi, conséquence d'importants rejets en eaux usées domestiques. Cette forte contamination pourrait expliquer le fait qu'il ait cette variation significative durant la même saison pluvieuse<sup>[32,33,34]</sup> (Nkwoji *et al.*, 2010 ; Rebaudet *et al.*, 2013 ; Lucas *et al.*, 2014).

#### 4. Conclusion

L'étude réalisée sur les bactéries indicatrices de contamination fécale (*Escherichia coli* et entérocoques intestinaux) et la bactérie pathogène (*Vibrio* sp.) a permis d'évaluer la qualité microbiologique de l'eau de la rivière Djibi. Les eaux de cette rivière sont contaminées par *Escherichia coli* (*E. coli*) et entérocoques intestinaux (EI). La rivière Djibi est contaminée avec des concentrations moyennes de  $4,87 \times 10^5$  *E. coli*/100 mL et  $4,40 \times 10^5$  EI/100 mL selon les normes de l'Union Européenne avec des concentrations des deux bactéries sont assez similaires. Ceci est en lien avec la forte anthropisation de cette rivière périurbaine, notamment dans sa partie amont où les plus grands rejets d'eaux usées ont été observés. Les concentrations en nombre de bactéries à certaines stations sur cette rivière sont souvent proches de celles observées dans les eaux usées brutes.

Les résultats obtenus dans les eaux de la rivière Djibi font apparaître de fortes concentrations de *Vibrio* sp., surtout aux stations les plus en amont de la rivière, zone à forte concentration de populations humaines et d'absence de structures d'assainissement. La présence de cette bactérie montre bien que les eaux de la rivière Djibi sont affectées par la pollution d'origine fécale. Cela fait plutôt craindre des risques d'épidémies meurtrières.

Un complément à cette étude serait d'étudier la diversité bactérienne via la biologie moléculaire (16S ADN) en vue de comprendre la dynamique des populations bactériennes. Aussi, mener une étude relative à la résistance antimicrobienne sur les souches des genres *Vibrio* et *Salmonella* pour le contrôle des pathologies liées à ces bactéries. A la lumière des résultats obtenus dans ce travail, il convient de faire des recommandations à plusieurs niveaux en vue de la protection sanitaire des usagers contre les maladies d'origine hydrique d'installer des stations de traitement des eaux usées provenant des hôpitaux de la commune d'Abobo, de prendre des dispositions de protection adéquate en évitant les rejets domestiques et d'utiliser de façon rationnelle les fertilisants agricoles.

#### 5. Références bibliographiques

- [1] Marcheggiani S, D'Ugo E, Puccinelli C, Giuseppetti R, D'Angelo AM, Gualerzi CO, Spurio R, Medlin LK, Guillebault D, Weigel W, Helmi K and Mancini L. Detection of emerging and re-emerging pathogens in surface waters close to an urban area. [International Journal of Environmental Research and Public](#). (2015) **12**,5505-5527.
- [2] Ouattara NK, Kouamé CKY, Kamagaté B, Droh LG, Ouattara A and Gourène G. Impact of faecal bacteria contamination on drinking water supply in Aghien Lagoon, Abidjan, Ivory Coast. [African Journal of Microbiology Research](#) (2018) **12**(42), 965-972.
- [3] Chouhan S. Occurrence of *Escherichia coli* in raw and disinfected water supply: Correlation with enteropathogens. [IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food](#) (2015) **9**(7), 46-55.
- [4] Griffith DC, Kelly-Hope LA and Miller MA. Review of reported cholera outbreaks worldwide, 1995-2005. [The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene](#). (2006) **75**, 973-977.
- [5] Eiler A, Gonzalez-Rey C., Allen S and Bertilsson S. Growth response of *Vibrio cholera* and other *Vibrio* sp. to cyanobacterial dissolved organic matter and temperature in brackish water, [FEMS Microbiology Ecology](#). (2007) **60**, 411-418.
- [6] Bloomfield SF, Exner M, Fara GM, Nath KJ, Scott EA and Van der VC. The global burden of hygiene-related diseases in relation to the home and community, International Scientific Forum on Home. <http://www.ifhhomehygiene.org/IntegratedCRD.nsf/111e68ea0824afe1802575070003f039/29858aa006faaa22802572970064b6e8?OpenDocument> (Accessed on: 29.9.2013).
- [7] WHO, Cholera 2005. Weekly Epidemiological Record. (2004) **81**, 297-307.
- [8] Coulibaly KJ, Kouamé CKY, Ouattara KN, Kouadio K, Amon LN, Ehuié P et al. Potential pathogenic bacteria of wastewater collectors from Abidjan (Côte d'Ivoire). [International Journal of Current Microbiology and Applied](#). (2016) **5**(5), 358-369.

- [9] Ekra KD, Attoh-Touré H, Bénié BVJ et al. Five years of cholera surveillance in Ivory Coast during social and political crisis, 2001 to 2005. [Bulletin de la Société de Pathologie Exotique](#). (2009) **102**, 107-109.
- [10] Dosso M, Kacou-N'douba A, Coulibaly KJ, Ncho R, Sissoko C et al. Rapport Mission Cholera IPCI ACF, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire : Département de Bactériologie Virologie-Unité de Bactériologie Clinique Cnr Cholera; Département Environnement et Santé-Unité de Microbiologie Environnementale, Côte d'Ivoire, 2012.
- [11] Diallo S, Noufé D, Tra Bi ZA, Dao A, Kamagaté B et al. Effets de la dynamique du couvert végétal sur les écoulements dans le bassin versant de la lagune Aghien en Côte d'Ivoire. [European Scientific Journal](#). (2018) **14**(36), 312-332.
- [12] Koffi KJP, N'Go YA, Yeo KM, Koné D and Savané I. Détermination des périmètres de protection de la lagune Aghien par le calcul du temps de transfert de l'eau jusqu'à la lagune. [Larhyss Journal](#). (2014) **19**, 19-35.
- [13] Effebi KR, Jeanne NY, Noufé DD, Diallo S, Armand TBZ et al. Activities and uses of Aghien Lagoon (South-Est of Côte d'Ivoire). [Journal of Water Resource and Protection](#). (2017) **9**, 11-19.
- [14] Rodier J, Legube B and Merlet N. The Analysis of the Water. (2009) 9th Edition, Dunod, Paris, 1203.
- [15] Association Française de Normalisation (AFNOR). Eau - Méthode d'essai. In : Recueil de norme française, 6<sup>ème</sup> Eds. La défense, Paris, France. (2001), 23 p.
- [16] Bio-Rad Laboratories, 2015. Guide for Bio-Rad Products in Water Testing. [Review E \(2015\): 15 p.](#)
- [17] Godfrey B, Amanda K and Debes. Environmental surveillance of *Vibrio cholerae* O1/O139 in the five African great lakes and other major surface water sources in Uganda. [Frontiers in Microbiology](#). (2018) **9**(1560), 1-11.
- [18] Gilbert M, Fielding N, Evans HF and Grégoire J-C. Spatial pattern of invading *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae) populations in the United Kingdom, Canadian Journal of Forest Research. (2003) **33** (4), 712-725.
- [19] USEPA (U. S. Environmental Protection Agency). Ambient Water Quality Criteria for Bacteria - 1986. Bacteriological Ambient Water Quality Criteria for Marine and Fresh Recreational Waters; Office of Research and Development, Microbiology and Toxicology Div., Cincinnati Ohio and Office of Water Regulations and Standards, Criteria and Standards Division, Washington, D.C. (1986) EPA-440/5-84-002.
- [20] Havelaar A, Blumenthal UJ, Strauss M, Kay D and Bartram J. Guidelines: the current position. In : Water Quality: Guidelines, Standards and Health (Fewtrell L. & Bartram J., eds). World Health Organization (WHO) Water Series. London: Published by International Water Association Publishing. (2001), 17-42.
- [21] UE (Union Européenne), 2013. Directives n° 2013/64/UE du 17/12/13 modifiant les directives 91/271/CEE et 1999/74/CE du Conseil, et les directives 2000/60/CE, 2006/7/CE, 2006/25/CE et 2011/24/UE du Parlement européen et de Conseil, suite à la modification du statut de Mayotte à l'égard de l'Union européenne. In : Rapport INERIS-DRC-17-164559-10404A du 13/03/2018 - Synthèse des valeurs réglementaires pour les substances chimiques, en vigueur dans l'eau, les denrées alimentaires et dans l'air en France au 31 décembre 2017 : 136 p.
- [22] Musyoki AM, Suleiman MA, Mbithi JN and Maingi JM. Water-borne bacterial pathogens in surface waters of Nairobi river and health implication to communities downstream athi river. [International Journal of Life Science and Pharma Research](#). (2013) **3**(1), 4-10.
- [23] Sibanda T, Chigor VN and Okoh AI. Seasonal and spatio-temporal distribution of faecal-indicator bacteria in Tyume River in the Eastern Cape Province, South Africa. [Environmental Monitoring and Assessment](#). (2013) **185**, 6579-6590.
- [24] Chigor VN, Sibanda T and Okoh AI. Studies on the bacteriological qualities of the Buffalo River and three source water dams along its course in the Eastern Cape Province of South Africa. [Environmental Science Pollution Research](#). (2013) **20**, 4125-4136.
- [25] Ekwanzala MD., Abia ALK, Ubomba-Jaswa E, Keshri J and Momba NBM.. Genetic relatedness of faecal coliforms and enterococci bacteria isolated from water and sediments of the Apies River, Gauteng, South Africa. [AMB Express](#). (2017) **7**(20), 1-10.
- [26] Ouattara NK, Passerat J and Servais P. Faecal contamination of the water and sediment in the rivers of the Scheldt drainage network. [Environmental. Monitoring. Assessment](#). (2011) **183**, 243-257.
- [27] Novotny L, Dvorska L, Lorencova A, Beran V and Pavlik I. Fish: a potential source of bacterial pathogens for human beings. [Veterinari. Medicina in Czech republic](#). (2004) **49** (9), 343-358.
- [28] Soto SM, Rodríguez I, Rodicio MR, Vila J and Mendoza MC. Detection of virulence determinants in clinical strains of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis and mapping on macrorestriction profiles. [Journal of Medical Microbiology](#). (2006) **55**, 365-373.
- [29] Baron S, Lesne J, Moore S, Rossignol E, Rebaudet S, Gazin P, Barraix R, Magloire R, Boncy J and Piarroux R. No Evidence of Significant Levels of Toxigenic *V. cholerae* O1 in the Haitian Aquatic Environment During the Rainy Season. [PLoS Currents Outbreaks](#). 2013 Sep 13. Edition 1. doi: 10.1371/currents.outbreaks.7735b392bdc749baf5812d2096d331e.
- [30] Páll E, Niculae M, Kiss T, Şandru CD and Spînu M. Human impact on the microbiological water quality of the rivers. [Journal of Medical Microbiology](#). (2013) **62**, 1635-1640.
- [31] Worden AZ, Seidel M, Smriga S, Wick A, Malfatti F, Bartlett D and Azam F. Trophic regulation of *Vibrio cholerae* in coastal marine waters. [Environmental Microbiology](#). (2010) **8**, 21-29
- [32] Nkwoji JA, Yakub A, Ajani GE, Balogun K J, Renner KO, Igbo JK, Ariyo AA and Bello BO. Seasonal Variations in the Water Chemistry and Benthic Macro invertebrates of a South Western Lagos lagoon, Nigeria. [Journal of American Science](#).

## Caractérisation physique et quantification des ordures ménagère de la ville de Tsévié.

Essowè Kondoh\*, Magnoudéwa Bassaï Bodjona, Koffi Ani Kili, Koledzi K. Edem, Gado Tchangbedji

*Laboratoire Gestion, Traitement Et Valorisation Des Déchets (Gtvd), Faculté Des Sciences,  
Université de Lomé ; BP 1515 Lomé-Togo.*

### Résumé :

La gestion des déchets solides ménagers de Tsévié est au cœur des enjeux environnementaux. Aucune étude n'a été menée auparavant sur la typologie des déchets dans la commune de Tsévié. Cette étude a pour objectif d'évaluer la quantité de déchets produit à Tsévié, puis déterminer la composition physique de ces déchets. La méthode de caractérisation utilisée est celle de MODECOM. Cette méthode consiste à échantillonner 500 kg de déchets. Deux types de tris sont effectués, le tri par taille fait en trois fractions granulométriques (>100 mm, 20-100 mm, <10 mm) et le tri par catégorie. Une campagne de quantification et deux de caractérisation sont réalisées. Les ratios de production varient selon les quartiers et en fonction du mode de vie des populations. Ces ratios varient entre 0,476 kg/hab/j et 0,587 kg/hab/j avec une moyenne de  $0,54 \pm 0,10$  kg/hab/j. La production des déchets ménagers dans la ville de Tsévié est estimée à 13440 tonnes par an. Les résultats de caractérisation montrent que les fractions fine et extra fine sont majoritaires avec 54,45% en saison humide et 56,57% en saison sèche. Comme perspectives, nous envisageons réaliser les analyses chimiques telles que la DCO, DBO, COT, le NTK, les éléments traces métalliques.

**Mots clés :** Caractérisation ; quantification ; déchets.

## Physical characterization and quantification of household waste from the city of Tsévié.

### Abstat

The management of solid household waste in Tsévié is at the heart of environmental issues. No study has been carried out previously on the type of waste in the municipality of Tsévié. The objective of this study is to assess the quantity of waste produced in Tsévié, then to determine the physical composition of this waste. The characterization method used is that of MODECOM. This method consists of sampling 500 kg of waste. Two types of sorting are performed, sorting by size in three grain size fractions (> 100 mm, 20-100 mm, <10 mm) and sorting by category. One quantification campaign and two characterization campaigns are carried out. The production ratios vary according to the districts and according to the way of life of the populations. These ratios vary between 0.476 kg / inhabitant / day and 0.587 kg / inhabitant / day with an average of  $0.54 \pm 0.10$  kg / inhabitant / day. The production of household waste in the town of Tsévié is estimated at 13,440 tonnes per year. The characterization results show that the fine and extra fine fractions are in the majority with 54.45% in the wet season and 56.57% in the dry season. As perspectives, we plan to perform chemical analyzes such as COD, BOD, TOC, NTK, metallic trace elements.

**Keywords:** Characterization; quantification; waste.

### 1.Introduction

La ville de Tsévié est le chef-lieu de la région Maritime et est situé à 30 km au nord de la capitale Lomé avec une superficie de 25 km<sup>2</sup>. La commune de Tsévié a une population estimée à 54474 habitants selon les résultats du 4<sup>ème</sup> Recensement Général de la Population et de l'Habitat effectué en 2010. De par ses consommations, cette population génère toutes sortes de déchets issus de diverses activités. Malheureusement, les déchets solides sont souvent abandonnés dans les canaux de drainage des eaux de pluies et sur la voie publique constituant ainsi des décharges sauvages. Partout dans le monde, le problème des déchets se pose avec acuité. En effet, certains de ces déchets contiennent des éléments très dangereux vis-à-vis de l'environnement et de la santé humaine comme les métaux lourds[1]. La gestion de ces déchets est l'une des questions environnementales les plus préoccupantes pour toutes les villes du monde[2]. Le risque de prolifération des maladies liées au déficit d'hygiène s'accroît, la qualité de vie se détériore suite aux nuisances visuelles et olfactives [3]. Le nœud du problème réside au niveau de l'aménagement inapproprié du territoire urbain en matière d'évacuation rapide et régulière des déchets comme le cas Bujumbura[3] de faute des données adéquates sur la caractérisation physico-chimique des déchets d'une part et d'autre part le développement du service de collecte n'a pas suivi le rythme de l'urbanisation et par conséquent, un volume important de déchets n'est pas collecté de façon rationnelle [4]. A l'instar des autres villes secondaires du Togo, la ville de Tsévié ne dispose pas d'une vraie politique d'assainissement encore moins un bon schéma directeur de gestion des déchets ménagers. Les principales contraintes pour la mise en place de politique efficace et durable de gestion de déchets est le manque de données sur la caractérisation des déchets solides municipaux, qui est un préalable à toute stratégie de gestion[5]. Par ailleurs, les résultats d'une caractérisation à l'échelle d'une agglomération doivent avoir des finalités bien établies qui permettent d'apporter, non seulement les données de la caractérisation des gisements (leur composition et leur répartition géographique selon les facteurs de variation), mais aussi de déterminer tous les éléments nécessaires aux paramétrages techniques des systèmes de traitements [6]. La gestion des déchets solides urbains doit être au cœur des enjeux environnementaux auxquels les pouvoirs publics doivent faire face au

quotidien. La connaissance de la nature et de la quantité du gisement d'une ville est fondamentale afin d'optimiser la gestion et de mettre en place les filières de valorisation et de recyclage. L'objectif de cette étude est de déterminer la quantité et la typologie des déchets de la ville de Tsévié afin de mettre en place une banque de données pour permettre aux autorités locales de prendre des décisions objectives dans l'amélioration de la gestion des déchets de cette ville

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Quantification

#### 2.1.1. Détermination de la taille de l'échantillon des ménages

C'est la méthode d'échantillonnage stratifié au hasard qui a été retenue pour le choix des ménages. Le nombre de ménages à enquêter par zone a été choisi de manière à avoir l'échantillon minimum représentatif pour effectuer le tri, notamment 500 kg tel que recommandé par l'ADEME[7].

#### 2.1.2. Opérations de collecte et de pesée des déchets

La pré-collecte a été réalisée deux fois par semaine pendant un mois (4 semaines). Les sacs poubelles ont été étiquetés selon le quartier et le ménage. Chaque sac de déchets collectés a été pesé avec une balance électrique à affichage digital de 150 kg de portée et précision 0,1 kg. Mais avant l'étiquette de chaque sac a été exploitée pour reconstituer la durée de stockage des déchets à domicile, les tailles du ménage producteur, le secteur.

### 2.2. Composition physique des déchets.

La méthode de caractérisation physique utilisée est celle de MODECOM (Méthode De Caractérisation des Ordures Ménagères) proposé par l'Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie (ADEME). Cette méthode consiste à échantillonner 500 kg de déchets sur l'ensemble des déchets collectés. La caractérisation est faite par taille et par catégorie. Le matériel de tri utilisé pour la caractérisation par taille est constitué d'une table à trois compartiments de granulométries différentes : les gros (> 100 mm), les moyens (100-20 mm) et les fins (< 20 mm) [7][8]. Les fines sont séparées en fines grossières (20-10 mm) et extrafines (< 10 mm). Le tri par catégories est fait uniquement que sur les déchets de granulométries > 100 mm et entre 100-20 mm Un tri systématique de dix catégories a été effectué : les putrescibles, les papiers et cartons, les textiles et textiles sanitaires, les plastiques, les verres, les métaux, les combustibles non classés (CNC), les incombustibles non classés (INC), les composites et les déchets spéciaux. Le matériel utilisé comprend : une balance à crochet pour les pesées, des pelles, les équipements de protection individuel, deux bâches de 5 m<sup>2</sup> et des seaux de 50, 80 et 100L.

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Quantification des ordures ménagères

#### 3.1.1. Ratio de production journalier

Globalement, la valeur moyenne la plus élevée (**0,587 kg/hab/j**) est obtenue dans la zone 4 et la plus faible (**0,476 kg/hab/j**) dans la zone 3. Soit une moyenne de **0,54 ± 0,10 kg/hab/j** dans la ville de Tsévié, une valeur élevée aux vues du niveau de vie de la population. Cette valeur moyenne n'est rien d'autre que la moyenne des quatre zones. Une analyse de la situation s'impose pour ne pas dévier l'objectif de l'étude.

Les variations de production observées dans les zones et quartiers pourraient être liées au niveau de vie des habitants[9]. Un autre facteur qui pourrait expliquer cette variabilité est la saison (la production étant généralement élevée en saison des pluies comparée à celle de la saison sèche, une conséquence de l'abondance des produits agricoles en saison des pluies) comme à Kara[10], Abomey-Calavi et à Godomey [11]. De plus, cette variation pourrait être due aussi au **jour** de la semaine (week-end, fête), la période (vacances), du mode de valorisation (les habitants récupérant les catégories de déchets riches en eau (tourteaux de soja, le reste de nourriture) pour le bétail et pour les champs agricoles) comme le cas en Mauritanie[12] ; du mode de récupération (surtout la ferraille pour les récupérateurs ambulants).

Le tableau 1 montre que le ratio journalier par habitant de tsévié (0,54 kg.hab<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>) se situe dans la gamme des ratios des villes des pays en développement (0,21-0,89 kg.hab<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>). Cependant, la valeur de Tsévié compte parmi les productions moyennes. Elle est supérieure à celle de Kara et inférieure à celle de Lomé.

Ce faible taux de génération des déchets par rapport à celui de Lomé est la conséquence du niveau de vie de la population laquelle réutilise les ordures au sein des ménages comme à Nouakchott[12] par exemple. Mais, les études de caractérisation n'étant conduites ni de la même manière ni dans la même période, il n'est pas judicieux de comparer les résultats obtenus entre eux.

**Tableau1:** Ratios de production des zones de Tsévié

Zone	Quartier	Ratio (Kg/hab/j)			
		Min	Max	Moyenne	Ecartype
1	DJIDOME	0,103	1,446	0,528	0,190
	WAGBA	0,095	2,714	0,571	0,450
	KPATEFI	0,163	1,057	0,555	0,214
	DEVE	0,238	2,286	0,602	0,332
	CENTRALE	0,300	0,743	0,533	0,137
	Global secteur 1	0,095	2,714	0,558	0,369
2	MIVAKPO	0,171	0,821	0,514	0,144
	BOLOUMODJI NORD	0,135	3,500	0,642	0,519
	KPALI	0,086	0,786	0,512	0,204
	MANOGUIAKPO	0,242	0,786	0,602	0,140
	N'DANYI NORD	0,286	1,500	0,539	0,227
	AKAKPOKONDJI	0,113	1,143	0,534	0,191
	TEKANYI	0,171	0,771	0,541	0,152
	ADIAKPO	0,143	0,800	0,510	0,166
	GBENODOU	0,286	0,786	0,570	0,158
	Global secteur 2	0,086	3,500	0,552	0,264
3	DAVIEMODJI-ATITO	0,143	0,786	0,502	0,165
	BLEVE	0,190	0,762	0,474	0,163
	N'DANYI SUD	0,214	0,762	0,491	0,159
	BOLOUMODJI SUD	0,129	0,714	0,436	0,163
	Global secteur 3	0,129	0,786	0,476	0,163
4	DEME	0,245	0,778	0,597	0,149
	ASSIAMA	0,156	1,214	0,544	0,212
	N'TIFABA	0,286	0,776	0,607	0,121
	WEME SUD	0,429	0,810	0,602	0,104
	Global secteur 4	0,156	1,214	0,587	0,171
<b>Ville Tsévié</b>		<b>0,086</b>	<b>3,500</b>	<b>0,543</b>	<b>0,103</b>

**Tableau2:** Comparaison des ratios de production des DSM de Sokodé (Togo) avec ceux d'autres villes de différents PED

Ville	Pays	Ratio (kg.hab <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> )	Références
Kara	Togo	0,41	Bonah, 2018
Lomé	Togo	0,80	Kpabou, 2017
Nouakchott	Mauritanie	0,21	Aloueimine, 2006
Chittagong	Bangladesh	0,25	Sujauddin et al., 2008
Bujumbura	Burundi	0,31	SETEMU, 2005
Annaba	Algérie	0,49	Cheniti et al., 2013
Kinshasa	Congo	0,5	Nzuzi, 2008
Mexicali	Mexique	0,59	Ojeda-Benitez et al., 2003
Yaoundé	Cameroun	0,60	Ngnikam, 2017
Mostaganem	Algérie	0,62	Guermoud et al., 2009
Abomey-Calavi	Bénin	0,89	Topanou, 2012

### 3.1.2 Gisement des déchets à prendre en compte dans la ville de Tsévié

**Tableau3:** Quantité de déchets produits dans la ville de Tsévié

Quantité de déchets (T)	Jour	Semaine	Mois	Année
Equipements	0,44	3,1	12,4	149
Marchés	2,16	15,4	62	744
Ménages	40	280	1120	13440
Total	42,6	298,5	1194,4	14333

D'après le Tableau 3, 62 tonnes par mois et 744 tonnes par an de déchets sont disponibles dans le grand marché dans la ville de Tsévié. Dans les ménages, on a environ 1120 tonnes et 13440 tonnes de déchets respectivement par

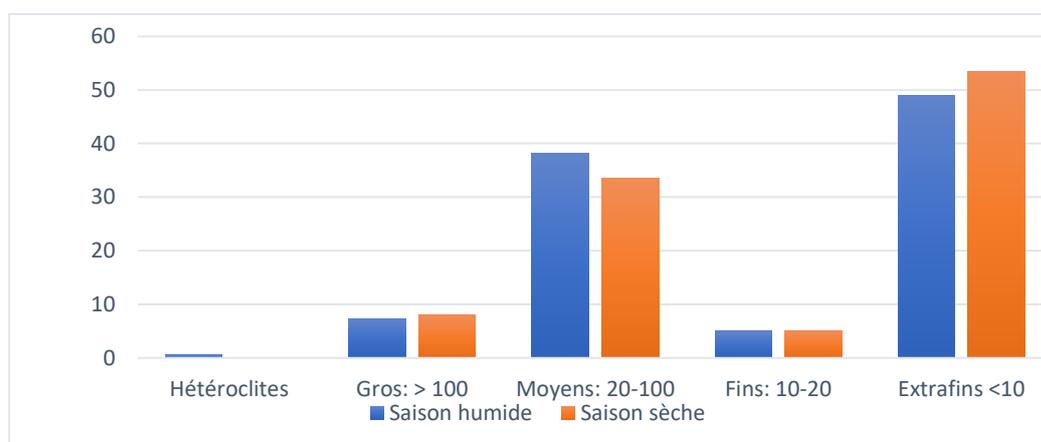
mois et par an. Au niveau des sources commerciales on a environ 12,4 tonnes et 149 tonnes de déchets respectivement par mois et par an.

A l'échelle de la ville, la production journalière est de 42,6 tonnes de déchets soit une production annuelle de 14333 tonnes de déchets.

### 3.2. Caractérisation physique des ordures ménagères

#### 3.2.1. Répartition des ordures ménagères par taille

Cette répartition des déchets par granulométrie permet d'avoir d'une part une idée sur les modes de gestion des déchets. Elle offre d'importantes informations pouvant servir de critères de choix des moyens de transport des DSM [12]. La figure 1 présente la répartition des déchets par taille sur les deux saisons. Les fins (10-20mm) représentent la fraction la plus faible avec un taux de 5% pour les deux saisons suivies des gros (>100 mm) qui représentent 8% en saison sèche et 7,3%. La fraction dominante pour les deux saisons, est celle des extrafines avec des pourcentages de la masse sur déchets humides bruts de plus de 53,5% pendant la saison sèche et environ 49% pendant la saison humide.



**Figure 1** : Répartition des déchets par taille

Les fins (10-20mm) représentent la fraction la plus faible avec un taux de 5% pour les deux saisons suivies des gros (>100 mm) qui représentent 8% en saison sèche et 7,3%, contrairement à Kara (Bonnah et al.,2018) où la fraction la plus faible est celle des gros(>100m). En caractérisant les déchets solides ménagers d'Abomey Calavi (Bénin), [13] a également établi que la fraction de déchets dont le diamètre est supérieur à 100 mm représente la plus faible proportion. Cette faible proportion des fins et des gros serait dû au faible consommation et/ou d'une forte récupération dans cette taille. A cela pourrait s'ajouter la réduction des éléments gros en fractions moyennes et fines pendant la manipulation des déchets à la source. La fraction dominante pour les deux saisons, est celle des extrafines avec des pourcentages de la masse sur déchets humides bruts de plus de 53,5% pendant la saison sèche et environ 49% pendant la saison humide. Ces résultats sont similaires à ceux de Kara dont les extrafines (<10 mm) représentant 32,89-51,20 % des déchets [14]. Ceci est probablement dû au mode de vie de la population. L'utilisation du bois de chauffe et du charbon de bois génère des cendres et des débris de charbons composant ces fractions. Cette forte proportion des extrafines <10 mm est observé aussi, à Lomé (Togo) 46% et 58% [15]. Les fractions extrafines sont plus importantes en saison sèche qu'en saison pluvieuse peut-être parce que les déchets peu humides sont plus facilement réductibles en petites fractions. Aussi, les cours non revêtues ne sont pas arrosées avant d'être balayées et chargent les ordures ménagères des composants du sol en temps sec plus qu'en saison des pluies. La forte proportion des fractions de petite taille(<10mm) serait en partie due à la gestion et au mode de ramassage de déchets à la source

#### 3.2.2. Répartition des ordures ménagères par catégorie

La connaissance de la composition des déchets est essentielle afin d'apprécier les possibilités de valorisation comme le compostage, la récupération de métaux ou d'autres matériaux recyclables : papier-carton, verre, plastiques, et afin de dimensionner les installations de traitement. Cette composition est donnée par la figure 2. Les fractions extrafines représentent en moyenne 54% en saison sèche contre 50% en saison humide suivi des putrescibles 26% en saison sèche et 24% en saison humide. Les plastiques ont un taux de 6,4% en saison humide contre 4,7% en saison sèche, les autres catégories à savoir les CNC, INC, papier-carton, les métaux, les spéciaux ont des taux inférieurs à 4%.

Les fractions extrafines représentent en moyenne 54% en saison sèche contre 50% en saison humide. La diminution des extra fines en saison pluvieuse est due au faible taux de ramassage du sable dans les ménages. Cette forte proportion des extrafines (<10 mm) est observée aussi, à Ouagadougou (Burkina Faso) 74% [16] et à Lomé (Togo) en moyenne 46% en saison sèche contre 56% en saison humide suivie des putrescibles 26% en saison sèche et 24% en saison humide, les fines, des plastiques, et des papiers-cartons. Le taux des putrescibles est plus élevé qu'à Kara, 7,54-10,62 % en saisons sèches et 9,09-18,22 % en saisons humide. Mais ces taux sont faibles devant ceux de Lomé (60 %), d'Abomey-Calavi (50,3 %)[13]. Le taux de putrescibles a diminué en saison sèche, ce qui peut être dû à un changement d'alimentation. A part les plastiques qui ont un taux de 6,4% en saison humide contre 4,7% en saison sèche, les autres catégories à savoir les CNC, INC, papier-carton, les métaux, les spéciaux ont des taux inférieurs à 4%. Ce faible taux de plastiques et de métaux témoigne de l'intensité de la réutilisation et/ou recyclage. Les verres quant à eux ne sont jetés que lorsqu'ils sont cassés, d'où leurs proportions négligeables. La présence des déchets spéciaux (constitués en majorité de piles et de médicaments), même en faibles fractions, prouve qu'ils sont jetés avec les autres catégories dans les mêmes poubelles.

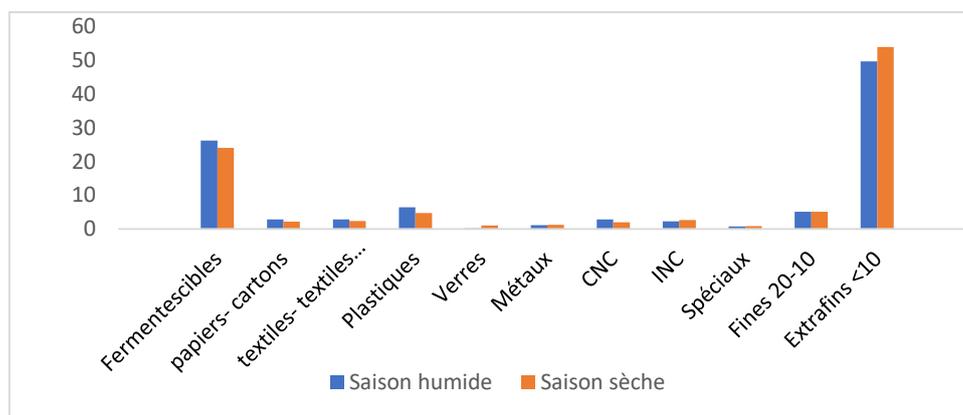


Figure 2 : Répartition des déchets par catégorie

#### 4. Conclusion

La présente étude visait la caractérisation physique et la quantification des ordures ménagères produites à Tsévié en vue de la recherche de solutions adaptées à leur gestion intégrée. Les résultats de la caractérisation physique montrent que la fraction des fines et extra fines représente une grande partie des déchets ménagers, soit moyenne 57,54% en saison sèche et 54,45% en saison humide. L'influence saisonnière en ce qui concerne la composition physique est négligeable. La part importante des putrescibles impose une valorisation de ceux-ci. Les techniques de gestion plus efficaces et un système adéquat de balayage permettra de réduire les fines et les extras fines qui ne sont rien d'autre que du sable. Le recyclage des plastiques sera un atout pour réduire leur pollution dans la ville. A l'heure où la gestion des déchets ménagers doit faire partir des priorités en matière de la santé publique, la question de la quantification des déchets ne doit pas être négligée. La campagne de quantification réalisée dans la ville de Tsévié a permis de constater que la production des déchets varie selon le quartier et la zone et est comprise entre 0,476 kg/hab/j et 0,587 kg/hab/j avec une moyenne pour l'ensemble de la ville égale à  $0,54 \pm 0,10$  kg/hab/j. Ce ratio moyen de production rapporté à la population de toute la ville, on estime à 13440 tonnes par an. Le grand marché Tsévié produit environ 744 tonnes par an et les sources commerciales en produisent 149 tonnes de déchets par an. A l'échelle de la ville, la production annuelle est de 14333 tonnes.

L'optimisation de la valorisation nécessite l'optimisation de la pré-collecte. De plus, la réduction du stockage nécessite l'adoption de la prévention. Ces données pourraient servir de support pour une approche technico-financière pour la gestion efficace et pérenne des déchets de Tsévié.

Comme perspectives, nous envisageons réaliser les analyses chimiques telles que la DCO, la DBO, le COT, le NTK, la conductivité, le pH, les éléments traces afin de déterminer le potentiel polluant de ces ordures ménagères et leurs évolutions dans temps.

#### 5. Références Bibliographiques

- [1]. Souad, M.A. ; Mohamed, M. K. ; Lahlou A. (2011). Valorisation d'un mélange de cendres d'une centrale thermique et de scories d'acierie dans les chaussées routières. Revue francophone d'écologie industrielle N°59
- [2]. Hamza, C. (2014) Gestion des déchets urbains solides : cas de la ville D'ANNABA. Thèse de Doctorat -2014/ Université de Badji Mokhtar Annaba

- [3]. Mizero, et al (2016) Contribution à l'état des lieux de déchets solides ménagers dans la ville D'Uvira, Sud-Kivu, République Démocratique du Congo. International Journal of Biological and Chemical Sciences (IJBCS).
- [4]. Botta, H. ; Berdier, C. ; Deleuil, J.-M. (2002) Enjeux de la propreté urbaine. Press. Polytech. Univ. Romandes, Lausanne 11– 16.
- [5]Kolédzi, K.E. ; BABA G. ; Feuillade, G. ; Matejka, G. (2010) Caractérisation physique des déchets urbains à Lomé dans la perspective du compostage décentralisé dans les quartiers. Colloque Eau, Déchets et Développement Durable, 28 – 31 mars 2010, Alexandrie, Egypte.
- [6]. Samira, B. A. (2006) les enjeux de la caractérisation des déchets ménagers pour le choix de traitements adaptés dans les pays en développement résultats de la caractérisation dans le grand tunis mise au point d'une méthode adaptée. Thèse de doctorat N°-2006/ de l'Université de Nancy.
- [7]. Kolédzi, K. E. ; Matejka, G., Baba G. (2011) Valorisation des déchets solides urbains dans les quartiers de Lomé (Togo) : Approche méthodologique pour une production durable de compost. Thèse de Doctorat N°351 -2011/ de l'Université de Lomé et de l'Université de Limoges.
- [8]. Ademe, Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie, France (1993) – Méthode de caractérisation des ordures ménagères, MODECOM TM – Manuel de base – édité par l'Ademe Centre d'Angers, Septembre 1993 - Réf 1601 - Coll., « Connaître pour agir », 64p.
- [9]. Topanou, N. (2012) Gestion des déchets solides ménagers dans la ville d'Abomey-Calavi (Bénin) : Caractérisation et essais de valorisation par compostage. Thèse de Doctorat N°025-2012/FDCA/FAST/UAC.
- [10]. Bonnah, M. ; Baba, G., Ségbéaya, N. (2018) Quantification des Déchets Solides Ménagers de la Ville de Kara et Scénarisation de la Gestion. European Journal of Scientific Research ISSN 1450-216X / 1450-202X Vol. 148 No 2 January, 2018, pp. 179-187.
- [11]Koledzi, K. E. (2012) Dynamique D'activité des Composts : Cinétique de Minéralisation de la Matière Organique Biodégradable. European Journal of Scientific Research ISSN 1450-216X Vol.81 No.1 (2012), pp.69-77.
- [12]. Aloueimine, S.O. ; Matejka, G. ; Zurbrugg, C. (2006) Méthodologie de caractérisation des déchets ménagers à Nouakchott (Mauritanie) : contribution à la gestion des déchets et outils d'aide à la gestion, Thèse de Doctorat N°012-2006/ de l'Université de Limoges.
- [13]. Aloueimine, S. ; Matejka, G. ; Zurbrug, C. ; Sidi Mohamed M.E. (2005-a). Caractérisation des Ordures Ménagers à Nouakchott : Partie I : Méthode d'Echantillonnage, article en Presse, 7 pages.
- [14]. Tezanou, J. ; Kouliadiati, J. ; Proust, M. (2001) Caractérisation des déchets ménagers de la ville de Ouagadougou (Burkina Faso). Annales de l'Université de Ouagadougou.
- [15]Kolédzi, K.E. ; BABA G. ; Feuillade, G. ; Matejka, G. (2010) Caractérisation physique des déchets urbains à Lomé dans la perspective du compostage décentralisé dans les quartiers. Colloque Eau, Déchets et Développement Durable, 28 – 31 mars 2010, Alexandrie, Egypte.

## Production et utilisation de lipases immobilisées pour la production de biodiesel

Akossi Moya Joëlle Carole<sup>1\*</sup>, Yao Kouassi Benjamin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles : Institut Nationale Polytechnique Felix Houphouët Boigny (INP-HB), Yamoussoukro, Cote d'Ivoire

### Résumé

Notre planète connaît des difficultés telles que le réchauffement climatique, la destruction de la couche d'ozone qui constituent de grandes menaces pour l'humanité par la forte consommation des combustibles fossiles. La synthèse du biodiesel catalysée par les lipases a été élucidée comme présentant des avantages spécifiques, notamment une grande pureté du produit formé, le respect de l'environnement, une faible consommation d'énergie et un haut niveau de sécurité. L'utilisation des lipases immobilisées dans la transestérification a fait l'objet de plusieurs études du fait de leurs nombreux avantages, principalement les lipases microbiennes telles que les champignons, les levures et les bactéries. L'objectif de cette étude est de valoriser la biomasse locale, source de lipase, par la production de biodiesel. Les différentes méthodes d'immobilisation ainsi que les paramètres influençant l'immobilisation des lipases ont fait l'objet d'une étude bibliographique. Il en ressort de cette étude que la méthode d'immobilisation ionique s'avère la bonne. L'Utilisation des lipases immobilisées dans la production du biodiesel est une voie prometteuse pour les industries. Cependant il serait favorable d'approfondir les recherches sur les conditions d'immobilisation de celles-ci.

**Mots clés** : Lipases immobilisées; catalyse enzymatique; bioénergie; biodiesel

### Production and use of immobilized lipases for biodiesel production

#### Abstract

Our planet is experiencing difficulties such as global warming and the destruction of the ozone layer, which are major threats to humanity due to the high consumption of fossil fuels. Biodiesel, which is ecological, biological and renewable, is an alternative to fossil diesel. The synthesis of biodiesel catalyzed by lipases has been elucidated as having specific advantages, including high purity of the product formed, environmental friendliness, low energy consumption and high safety. Immobilized lipases are more stable, recyclable and reusable, thus reducing the cost of production. The use of immobilized lipases in transesterification has been the subject of several studies, mainly microbial lipases such as fungi, yeast and bacteria. The objective of this study is to valorize the local biomass, source of lipase by producing the vegetable lipase. Then immobilize it and use it to produce biodiesel. This study should allow us to determine the parameters influencing the extraction of lipases and their immobilization; to know the optimal conditions of the various reactions and the physicochemical properties of the biodiesel produced. Using immobilized lipases to produce biodiesel is an important parameter. However, it would be favorable to further investigate the techniques.

**Keywords:** Immobilized lipases; enzymatic catalysis; bioenergy; biodiesel

#### 1. Introduction

Les réalités auxquelles est confronté notre planète telles que la destruction de la couche d'ozone, le réchauffement climatique, dus à la forte émission de gaz à effet de serre et la déforestation, constituent un réel danger pour celle-ci. Cela s'explique par consommation d'énergies fossiles comme le gaz, le charbon et le pétrole [1, 2]. En cet effet le biodiesel de son caractère écologique, biologique et renouvelable vient en alternatif au diesel fossile [3, 4].

La production de biodiesel par transestérification enzymatique est d'un avantage par la pureté du produit formé; le respect de l'environnement; faible consommation d'énergie et le haut niveau de sécurité [3, 4]. Les enzymes utilisées dans le procédé de transestérification sont les lipases. Celles-ci peuvent être à l'état libre ou immobilisé. Les recherches montrent que l'utilisation des lipases immobilisées est d'un grand avantage à cause de son fort rendement en biodiesel. Les lipases immobilisées sont plus stables, recyclable et réutilisable ; réduisant ainsi le coût de production du biodiesel [1, 2].

L'utilisation des lipases immobilisées dans la transestérification a fait l'objet de plusieurs études du fait de leurs nombreux avantages, principalement les lipases microbiennes telles que les champignons, les levures et les bactéries. Cependant peu d'études se sont orientées sur la production de biodiesel à partir des lipases végétales immobilisées. L'objectif de cette étude est de valoriser la biomasse locale, source de lipase, par la production de biodiesel. Il s'agira plus spécifiquement d' :

- ❖ Identifier les techniques d'immobilisation existantes;
- ❖ Faire une étude comparée suivant des paramètres;
- ❖ Appliquer cette technique à la production du biodiesel.

#### 2. Etat de l'art

##### 2.1. Techniques d'immobilisation des lipases

Les enzymes sont généralement immobilisées par des méthodes telles que le piégeage [5], l'adsorption [6, 7], la liaison covalente [8, 9], l'encapsulation [10], et la réticulation [11, 12]. Les techniques d'immobilisation sont classées en deux grands groupes (physiques ou chimiques), en fonction de l'interaction entre l'enzyme et le support.

### 2.1.1 Adsorption physique

L'adsorption physique est la méthode la plus simple et la plus rentable [13]. Dans ce procédé, l'enzyme est retenue à la surface d'un support minérale ou organique grâce à différents types de liaisons : interactions de Vander Wals, interactions hydrophobes, liaisons hydrogènes, transfert de charge, échange de ligands, chimiosorption [14].

**Exemples de supports:** la chitosane [15], l'argile (bentonite, kaolin) [16], la celite [17], le carbonate de calcium [18], l'alumine, les verres poreux, le charbon actif, gel de silice, les polymères phénoliques, le collagène concanavalin A-sepharose.

### 2.1.2 Liaison ionique

Dans cette technique les enzymes portent par leurs résidus d'acide aminé des charges ioniques. Elles peuvent donc se prêter aux phénomènes d'échange d'ion. Ces interactions sont très dépendantes du pH du milieu en raison du caractère amphotère des résidus d'acide aminés [14].

**Exemples de supports:** les polysaccharides, les résines échangeuses d'ions, polymères synthétiques ayant des centres d'échange d'ion [14].

### 2.1.3 Liaison covalente

La liaison covalente est l'une des méthodes les plus utilisées pour obtenir une immobilisation irréversible des enzymes [19]. L'enzyme est liée au support par une liaison chimique [20]. Les groupes habituellement utilisés pour la liaison covalente sont les groupes thiol et amine des enzymes [21].

**Exemples de supports:** la silice [22], Eppergit [23], carboxymethylcellulose [24].

### 2.1.4 Emprisonnement dans une matrice ou le piégeage

L'enzyme est dissoute dans une solution aqueuse d'un monomère et d'un réticulant la polymérisation est ensuite effectuée à des conditions moins dénaturantes possibles, on obtient un réseau macromoléculaire tridimensionnel dans les mailles duquel l'enzyme se trouve retenu de façon plus ou moins efficace [14].

**Exemples de supports:** les gels tels que de polyacrylamide, d'alginate, d'amidon et les fibres de polyacétate de cellulose. Les alginate sont l'un des polymères les plus fréquemment utilisés dans ce processus en raison de leurs propriétés de gélification douce et de leur non-toxicité [25].

### 2.1.5 Microencapsulation

L'enzyme en solution aqueuse est enfermée dans des microcapsules sphériques, dont la paroi est une membrane semi-perméable qui peut être liquide ou solide. Cette membrane retient l'enzyme mais laisse passer le substrat et le produit [14, 26].

**Exemples de supports:** les gels tels que de polyacrylamide, d'alginate, d'amidon et les fibres de polyacétate de cellulose [25].

### 2.1.6 Réticulation

L'utilisation d'agrégats d'enzymes de réticulation est une méthode d'immobilisation peu coûteuse, sans support et assez efficace [27]. Le site consiste en la formation de liaisons transversales intermoléculaires par l'action des agents de réticulation. Les agents utilisés peuvent avoir un caractère bi ou multifonctionnel, le glutaraldehyde étant l'exemple le plus utilisé [28].

**Exemples de supports:** le glutaraldehyde est un agent de réticulation parmi les plus utilisés, l'hexaméthylène diamine [14].

## 2.2. Critères de choix du support

Le choix du support est d'une importance fondamentale puisque sur la base de l'interaction support-enzyme [29, 30].

## 2.3. Facteurs influençant l'immobilisation des lipases

Une caractéristique qui a un impact positif à la fois sur l'immobilisation des enzymes et dans la production de biodiesel est l'hydrophobicité du support [31, 32]. Les lipases ont une affinité naturelle pour les interfaces hydrophobes, ce qui fait que leur immobilisation sur le support hydrophobe est différente de celle de l'adsorption hydrophobe des enzymes [27].

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Comparaison de différentes méthodes d'immobilisation

Le résumé des différentes méthodes d'immobilisation avec leurs principales caractéristiques sont énumérées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 1:** Comparaison des différentes techniques d'immobilisation des lipases

Caractéristiques	Réticulation	Adsorption	Ionique	Covalente	Inclusion
<b>Préparation</b>	Intermédiaire	Facile	Facile	Difficile	Difficile
<b>La force de liaison</b>	Forte	Faible	Moyenne	Forte	Moyenne
<b>Activité enzymatique</b>	Faible	Moyenne	Elevé	Forte	Faible
<b>Réutilisation</b>	Impossible	Possible	Possible	Rare	Impossible
<b>Coût</b>	Moyennement coûteuse	Moins coûteuse	Moins coûteuse	Coûteuse	Moyennement coûteuse
<b>Stabilité</b>	Haute	Faible	moyennement	Haute	Haute

Au travers de ces caractéristiques la méthode ionique s'avère la bonne à appliquer à notre travail. Ces résultats corroborent avec ceux de [14].

### 3.1. Choix du support

Le support idéal devrait présenter les caractéristiques suivantes : inertie vis-à-vis des enzymes, biocompatibilité, résistance aux attaques microbiennes et à la compression, facilité d'accès, et à faible coût [33, 34].

### 3.2. Facteurs influençant l'immobilisation des lipases

Les facteurs qui influencent l'immobilisation des lipases sont : la température, le pH, la force ionique, la concentration de l'enzyme, le temps de contact enzyme-support [35].

### 4. Conclusion

Au terme de ce travail l'on retient qu'il existe plusieurs techniques d'immobilisation des lipases et chacune possède des caractéristiques spécifiques. Aussi, la production de biodiesel à partir de lipases immobilisées est la voie la plus utilisée vu ces nombreux avantages.

### 5. Bibliographie

- Kothari, R., Vashishtha, A., Singh, H. M., Pathak, V. V., Tyagi, V. V., Yadav, B. C., ... Singh, D. P. (2020). Assessment of Indian bioenergy policy for sustainable environment and its impact for rural India: Strategic implementation and challenges. *Environmental Technology & Innovation*, 20, 101078. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101078>
- Yasvanthrajan, N., Sivakumar, P., Muthukumar, K., Murugesan, T., & Arunagiri, A. (2020). Production of biodiesel from waste bio-oil through ultrasound assisted transesterification using immobilized lipase. *Environmental Technology & Innovation*, 101199. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101199>
- Aghbashlo, M., Shamshirband, S., Tabatabaei, M., Yee, P. L., & Larimi, Y. N. (2016). The use of ELM-WT (extreme learning machine with wavelet transform algorithm) to predict exergetic performance of a DI diesel engine running on diesel/biodiesel blends containing polymer waste. *Energy*, 94, 443–456. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2015.11.008>
- Qi, D. H., Geng, L. M., Chen, H., Bian, Y. ZH., Liu, J., & Ren, X. CH. (2009). Combustion and performance evaluation of a diesel engine fueled with biodiesel produced from soybean crude oil. *Renewable Energy*, 34(12), 2706–2713. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2009.05.004>
- Du, Y., Gao, J., Zhou, L., Ma, L., He, Y., Huang, Z., & Jiang, Y. (2017). Enzyme nanocapsules armored by metal-organic frameworks: A novel approach for preparing nanobiocatalyst. *Chemical Engineering Journal*, 327, 1192–1197. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.07.021>
- Garcia-Galan, C., Berenguer-Murcia, Á., Fernandez-Lafuente, R., & Rodrigues, R. C. (2011). Potential of Different Enzyme Immobilization Strategies to Improve Enzyme Performance. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 353(16), 2885–2904. <https://doi.org/10.1002/adsc.201100534>
- Tavares, A. P. M., Silva, C. G., Dražić, G., Silva, A. M. T., Loureiro, J. M., & Faria, J. L. (2015). Laccase immobilization over multi-walled carbon nanotubes: Kinetic, thermodynamic and stability studies. *Journal of Colloid and Interface Science*, 454, 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.04.054>
- Narayanan, C. M., & Pandey, A. (2018). Studies on Biodiesel Synthesis Using Nanosilica Immobilised Lipase in Inverse Fluidized Bed Bioreactors. *JOURNAL OF ADVANCES IN CHEMISTRY*, 15(1), 6072–6086. <https://doi.org/10.24297/jac.v15i1.7108>
- Zhiguo, Z., Yiqin, G., Xiaowu, W., Liwang, L., & Yanguo, Z. (2010). Induction of isolated microspore and optimization of their culture system of different radish varieties, 33–38. Retrieved from <https://europepmc.org/article/cba/632834>
- Jun, L. Y., Yon, L. S., Mubarak, N. M., Bing, C. H., Pan, S., Danquah, M. K., ... Khalid, M. (2019). An overview of immobilized enzyme technologies for dye and phenolic removal from wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(2), 102961. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.102961>
- Du, Y., Gao, J., Kong, W., Zhou, L., Ma, L., He, Y., ... Jiang, Y. (2018). Enzymatic Synthesis of Glycerol Carbonate Using a Lipase Immobilized on Magnetic Organosilica Nanoflowers as a Catalyst. *ACS Omega*, 3(6), 6642–6650. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b00746>
- Yang, Y., Yu, H., Zhou, X., & Zhou, Z. (2020). Shallow porous microspheres carriers with core-shell structure based on glass beads cross-linking chitosan for immobilizing inulinase. *Molecular Catalysis*, 486, 110871. <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2020.110871>
- Alloue, W. A. M., Aguedo, M., Destain, J., Ghalfi, H., Blecker, C., Wathelet, J.-P., & Thonart, P. (2008). Les lipases immobilisées et leurs applications. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 13.

14. Samah, B. (2010). *Immobilisation de la lipase de Candida rugosa sur la résine Amberjet 4200Cl Optimisation de l'énantioselectivité par la méthode des surfaces de réponse*. Université Badji Mokhtar-Annaba.
15. Foresti, M. L., & Ferreira, M. L. (2007). Chitosan-immobilized lipases for the catalysis of fatty acid esterifications. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(4), 769–777. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.06.009>
16. Abdul Rahman, M. B., Tajudin, S. M., Hussein, M. Z., Abdul Rahman, R. N. Z. R., Salleh, A. B., & Basri, M. (2005). Application of natural kaolin as support for the immobilization of lipase from *Candida rugosa* as biocatalyst for effective esterification. *Applied Clay Science*, 29(2), 111–116. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2004.12.001>
17. Kaewthong, W., Sirisansaneeyakul, S., Prasertsan, P., & H-Kittikun, A. (2005). Continuous production of monoacylglycerols by glycerolysis of palm olein with immobilized lipase. *Process Biochemistry*, 40(5), 1525–1530. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2003.12.002>
18. Ghamgui, H., Miled, N., Karra-chaâbouni, M., & Gargouri, Y. (2007). Immobilization studies and biochemical properties of free and immobilized *Rhizopus oryzae* lipase onto CaCO<sub>3</sub>: A comparative study. *Biochemical Engineering Journal*, 37(1), 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2007.03.006>
19. Wahab, R. A., Elias, N., Abdullah, F., & Ghoshal, S. K. (2020). On the taught new tricks of enzymes immobilization: An all-inclusive overview. *Reactive and Functional Polymers*, 152, 104613. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2020.104613>
20. Hwang, H. T., Qi, F., Yuan, C., Zhao, X., Ramkrishna, D., Liu, D., & Varma, A. (2014). Lipase-catalyzed process for biodiesel production: Protein engineering and lipase production. *Biotechnology and Bioengineering*, 111(4), 639–653. <https://doi.org/10.1002/bit.25162>
21. Brena, B., González-Pombo, P., & Batista-Viera, F. (2013). Immobilization of Enzymes: A Literature Survey. In J. M. Guisan (Ed.), *Immobilization of Enzymes and Cells: Third Edition* (pp. 15–31). Totowa, NJ: Humana Press. [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-550-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-550-7_2)
22. Bai, Y.-X., Li, Y.-F., Yang, Y., & Yi, L.-X. (2006). Covalent immobilization of triacylglycerol lipase onto functionalized novel mesoporous silica supports. *Journal of Biotechnology*, 125(4), 574–582. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2006.04.003>
23. Knezevic, Z., Milosavic, N., Bezbradica, D., Jakovljevic, Z., & Prodanovic, R. (2006). Immobilization of lipase from *Candida rugosa* on Eupergit® C supports by covalent attachment. *Biochemical Engineering Journal*, 30(3), 269–278. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2006.05.009>
24. Dalla-Vecchia, R., Sebrão, D., Nascimento, M. da G., & Soldi, V. (2005). Carboxymethylcellulose and poly(vinyl alcohol) used as a film support for lipases immobilization. *Process Biochemistry*, 40(8), 2677–2682. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.12.004>
25. Won, K., Kim, S., Kim, K.-J., Park, H. W., & Moon, S.-J. (2005). Optimization of lipase entrapment in Ca-alginate gel beads. *Process Biochemistry*, 40(6), 2149–2154. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.08.014>
26. Cao, L. (2006). *Carrier-bound Immobilized Enzymes: Principles, Application and Design*. John Wiley & Sons.
27. Zhong, L., Feng, Y., Wang, G., Wang, Z., Bilal, M., Lv, H., ... Cui, J. (2020). Production and use of immobilized lipases in/on nanomaterials: A review from the waste to biodiesel production. *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, 207–222. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.258>
28. Voběrková, S., Solčány, V., Vršanská, M., & Adam, V. (2018). Immobilization of ligninolytic enzymes from white-rot fungi in cross-linked aggregates. *Chemosphere*, 202, 694–707. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.088>
29. Datta, S., Christena, L. R., & Rajaram, Y. R. S. (2013). Enzyme immobilization: an overview on techniques and support materials. *3 Biotech*, 3(1), 1–9. <https://doi.org/10.1007/s13205-012-00717>
30. Sheldon, R. A. (2007). Cross-linked enzyme aggregates (CLEA®s): stable and recyclable biocatalysts. *Biochemical Society Transactions*, 35(6), 1583–1587. <https://doi.org/10.1042/BST0351583>
31. Bartha-Vári, J.-H., Moissã, M. E., Bencze, L. C., Irimie, F.-D., Paizs, C., & Toşa, M. I. (2020). Efficient Biodiesel Production Catalyzed by Nanobioconjugate of Lipase from *Pseudomonas fluorescens*. *Molecules*, 25(3), 651. <https://doi.org/10.3390/molecules25030651>
32. Dizge, N., Keskinler, B., & Tanriseven, A. (2009). Biodiesel production from canola oil by using lipase immobilized onto hydrophobic microporous styrene-divinylbenzene copolymer. *Biochemical Engineering Journal*, 44(2), 220–225. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.12.008>
33. Mohamad, N. R., Marzuki, N. H. C., Buang, N. A., Huyop, F., & Wahab, R. A. (2015). An overview of technologies for immobilization of enzymes and surface analysis techniques for immobilized enzymes. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29(2), 205–220. <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1008192>
34. Tufvesson, P., Lima-Ramos, J., Nordblad, M., & Woodley, J. M. (2011). Guidelines and Cost Analysis for Catalyst Production in Biocatalytic Processes. *Organic Process Research & Development*, 15(1), 266–274. <https://doi.org/10.1021/op1002165>
35. Anand, A. (2020). Study and deployment of methacrylate-based polymer resins for immobilized lipase catalyzed triglyceride hydrolysis. *Food and Bioprocess Processing*, 12 3(13), 164–176.

## Métaux lourds dans l'eau et leur transfert dans le tilapia (*Oreochromis niloticus*) d'élevage

Sanou Ali<sup>1,2,3\*</sup>, Coulibaly Safiatou<sup>4</sup>, Coulibaly Mariame<sup>3</sup>, Dable Pierre Jean-Marie Richard<sup>2</sup> Et Atse Boua Célestin<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB), Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèses de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), BP 1313 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire

<sup>2</sup>Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB), Laboratoire de Thermodynamique ; Traitement et Sciences des Surfaces et Interfaces ; Ingénierie et Physicochimie des Procédés et de Mécanique des Matériaux (L2-TSIPM), BP 1093 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire

<sup>3</sup>Ecole Normale Supérieure (ENS), Laboratoire des Sciences Physiques Fondamentales et Appliquées (LSPFA), 08 BP 10 Abidjan, Côte d'Ivoire

<sup>4</sup>Centre de Recherches Océanologiques (CRO), Département Aquaculture, BPV 18, Abidjan, Côte d'Ivoire

### Résumé

L'aquaculture contribue à la sécurité alimentaire et à la satisfaction des besoins humains en poissons. Les fermes piscicoles sont soumises à des activités anthropiques pouvant nuire à la qualité des eaux et des poissons. Cependant, très peu d'étude existe sur la contamination métallique des fermes piscicoles en Côte d'Ivoire. Cette étude vise donc à déterminer les concentrations de métaux lourds et à évaluer leur bioconcentration dans le tilapia d'élevage. Des échantillons d'eau et de tilapia ont été collectés dans la ferme de février à juillet 2017. Un dosage au spectrophotomètre d'absorption atomique a permis de déterminer les concentrations d'arsenic, de cadmium, de mercure et de plomb. Les résultats ont révélé que l'eau avait des concentrations d'arsenic ( $0,050 \pm 0,029$  mg/L) et de cadmium ( $0,047 \pm 0,059$  mg/L) élevées tandis que le muscle du poisson avait des teneurs plus élevées en plomb ( $0,077 \pm 0,029$  mg/kg) et en arsenic ( $1,455 \pm 0,383$  mg/kg). Les concentrations d'arsenic dans le muscle ont dépassé la norme autorisée. Les résultats montrent que le muscle du poisson était contaminé par les métaux lourds traduisant un risque pour la survie des poissons et la consommation humaine. Le développement d'une stratégie efficace pour réduire la pollution et la contamination métallique des fermes est nécessaire.

**Mots clés :** Métaux lourds ; eau ; poisson d'élevage ; Facteur de bioconcentration

## Heavy metals in water and their transfer to farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*)

### Abstract

Aquaculture contributes to food security and the satisfaction of human fish needs. Fish farms are subject to human activities that can adversely affect the quality of water and fish. However, very few studies were carried out on the metal contamination of fish farms in Côte d'Ivoire. This study therefore aims to determine the concentrations of heavy metals and to assess their bioconcentration in farmed tilapia. Water and tilapia samples were collected from the farm from February to July 2017. An atomic absorption spectrophotometer assay helped determine the concentrations of arsenic, cadmium, mercury and lead.

The results revealed that the water had high concentrations of arsenic ( $0.050 \pm 0.029$  mg / L) and cadmium ( $0.047 \pm 0.059$  mg / L) while fish muscle had higher levels of lead ( $0.077 \pm 0.029$  mg / kg) and arsenic ( $1.455 \pm 0.383$  mg / kg). Arsenic concentrations in muscle exceeded the authorized standard. The results showed that the muscle of the fish was contaminated with heavy metals, resulting in a risk for the survival of the fish and for human consumption. Setting up an effective strategy to reduce pollution and metal contamination of farms is therefore necessary.

**Keywords:** Heavy metals; water; farmed fish; Bioconcentration factor

### 1. Introduction

Le poisson est une source peu coûteuse de protéines animales qui renferme plusieurs micronutriments essentiels, des vitamines (A, B et D), des sels minéraux (calcium, iode, zinc, fer et sélénium) et des acides gras polyinsaturés oméga-3 [1]. Il représente dans de nombreux pays en voie de développement une source très importante de protéines de bonne qualité alimentaire et d'un prix accessible [2]. En Côte d'Ivoire, le poisson constitue la première source de protéines animales pour les populations [3].

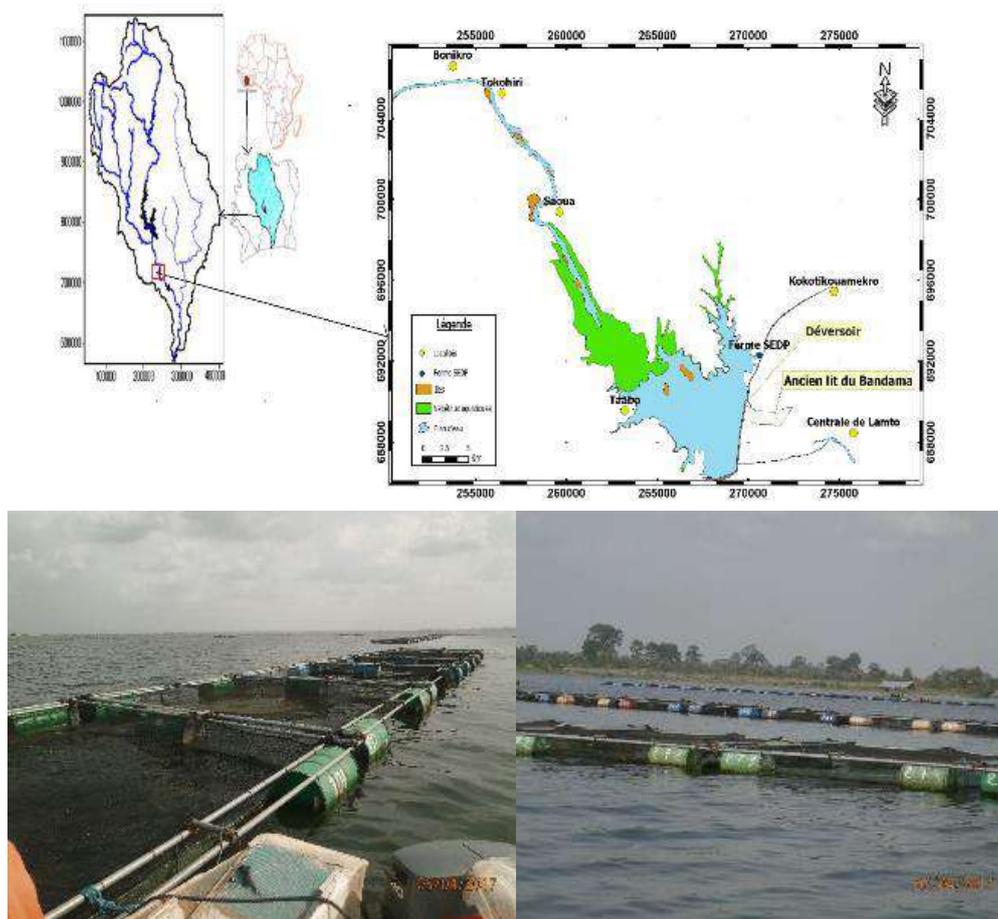
Cependant, le poisson pourrait devenir un vecteur de contamination métallique de l'homme à travers la chaîne alimentaire [4]. En effet, les poissons élevés dans des eaux contaminées par les métaux lourds contiennent très probablement des métaux lourds dans leur chair [5, 6]. Plusieurs études [7,8] ont mis en évidence la pollution anthropique des eaux et des sédiments des fermes piscicoles par les métaux lourds.

Cependant, en Côte d'Ivoire, aucune étude n'existe à ce jour sur la bioconcentration des métaux lourds dans les tissus des poissons d'élevage. L'objectif de la présente étude est de déterminer les concentrations de métaux lourds, pour évaluer leur niveau de contamination dans l'eau ainsi que leur bioconcentration dans le tilapia d'élevage *Oreochromis niloticus*.

### 2. Matériel et méthodes

#### 2.1. Présentation du milieu d'étude

La ferme piscicole est située sur le fleuve Bandama à Taabo (Centre de la Côte d'Ivoire) entre la latitude 6°13'32,2 N et la longitude 5°4'55,8 W (**Figure 1**). Le grossissement des poissons se fait dans des cages flottantes de volume 62,5 m<sup>3</sup> chacune avec une densité de 2500 poissons. La ferme est en système intensif et est située non loin du barrage hydroélectrique de Taabo.



**Figure 55:** Ferme piscicole à Taabo [9]

## 2.2. Prélèvement et conservation des échantillons d'eau et de poissons

Les échantillons ont été prélevés mensuellement de février à juillet 2017. L'eau a été prélevée à l'aide de bocaux en polyéthylène neufs d'une capacité de 1 litre. Une fois remplis, fermés, étiquetés et conservés dans une glacière à 4 °C pour être transportés au laboratoire. L'eau est ensuite filtrée sous vide sur une membrane filtrante et acidifiée à pH < 2 en ajoutant 0,5 mL d'acide chlorhydrique puis stockée pour une détermination ultérieure du taux des métaux lourds.

Des épuisettes ont été utilisées pour échantillonner les poissons. Les poissons sont capturés vivants et conservés dans une glacière à la température de 4°C pour être transportés au laboratoire. 5 g d'échantillon de muscle sont pesés, conservés dans des piluliers et stockés à -20°C pour les analyses ultérieures.

## 2.3. Détermination des taux des métaux lourds dans l'eau et les poissons

La concentration des métaux lourds dans les échantillons a été déterminée par un spectrophotomètre d'absorption atomique de marque Shimadzu.

Les dosages ont été effectués selon [10] aux longueurs d'ondes de 253,7 nm pour le mercure (Hg) ; 228,8 nm pour le cadmium (Cd) ; 283,3 nm pour le plomb (Pb) et 193,7 nm pour l'arsenic (As).

## 2.4. Analyse statistique

Le logiciel STATISTICA 7.1 nous a permis de réaliser l'analyse des variances (ANOVA) afin de tester les différences significatives entre les teneurs en métaux lourds. Chaque fois que le résultat du test était significatif, le test de Ducan

d'ANOVA a été effectué à  $P < 0,05$  soit 5 % pour identifier les groupes qui ont été particulièrement différents les uns des autres.

### 2.5. Facteur de bioconcentration (BCF)

Le facteur de bioconcentration est défini par le rapport de la concentration en métal de l'organisme à celle de l'eau [11] :

$$BCF = \frac{C_{MP}}{C_{ME}} \quad (\text{mg/L})$$

Où  $C_{MP}$  représente la concentration du métal dans le muscle du poisson et  $C_{ME}$  sa concentration dans l'eau.

## 3. Résultats

### 3.1. Concentrations saisonnières des métaux lourds dans l'eau

Les concentrations moyennes saisonnières et les valeurs moyennes de Cd et Hg sont supérieures à la norme pour l'aquaculture en eau douce tandis que celles de Pb et As en sont inférieures (**Tableau I**). Les concentrations moyennes saisonnières de Cd présentent une différence significative ( $P < 0,05$ ) entre la saison sèche et la saison des pluies. L'ordre d'accumulation des métaux lourds dans l'eau est : As > Cd > Hg > Pb (**Tableau I**).

**Tableau I** : Valeurs saisonnières et moyennes du Cadmium, Mercure, Plomb et Arsenic dans l'eau (mg/L)

		Métaux lourds			
		Cd	Hg	Pb	As
Saison Sèche	Minimum	0,018	0,011	0,006	0,033
	Maximum	0,022	0,012	0,007	0,061
	Moyenne	0,020±0,002 <sup>a</sup>	0,011±0,001	0,006±0,001	0,047±0,014
Saison Pluvieuse	Minimum	0,028	0,012	0,006	0,003
	Maximum	0,167	0,015	0,009	0,083
	Moyenne	0,075±0,080 <sup>b</sup>	0,013±0,002	0,007±0,002	0,052±0,043
Valeur moyenne		0,047±0,059	0,012±0,002	0,007±0,001	0,050±0,029
<b>Mélar, 1999 [12]</b>		<b>0,005</b>	<b>0,0002</b>	<b>0,02</b>	<b>0,4</b>

Les valeurs avec les lettres a, b en exposant présentent une différence entre les saisons ( $p < 0,05$ )

### 3.2. Concentrations saisonnières des métaux lourds dans le muscle des poissons

Il existe une différence significative ( $p < 0,05$ ) des valeurs de plomb et de l'arsenic entre les saisons (**Tableau II**). L'ordre d'accumulation des métaux est As > Pb > Hg > Cd. Les concentrations moyennes du cadmium, du mercure et du plomb sont inférieures à celles indiquées dans les normes tandis que celle de l'arsenic est supérieure à toutes les normes référencées (**Tableau II**).

**Tableau II** : Valeurs saisonnières et moyennes du Cadmium, Mercure, Plomb et Arsenic dans le muscle (mg/kg) de *Oreochromis niloticus*

		Métaux lourds			
		Cd	Hg	Pb	As
Saison Sèche	Minimum	0,021	0,061	0,042	1,75
	Maximum	0,026	0,08	0,067	1,89
	Moyenne	0,024±0,003	0,068±0,010	0,052±0,013 <sup>a</sup>	1,800±0,078 <sup>b</sup>
Saison Pluvieuse	Minimum	0,018	0,078	0,1	1,07
	Maximum	0,019	0,094	0,105	1,18
	Moyenne	0,019±0,001	0,084±0,009	0,102±0,003 <sup>b</sup>	1,110±0,061 <sup>a</sup>
Valeur moyenne		0,021±0,003	0,076±0,012	0,077±0,029	1,455±0,383
<b>FAO/OMS (1991) [13]</b>		<b>0,05</b>	<b>0,5</b>	<b>0,3</b>	<b>0,1</b>
<b>EU (2008) [14]</b>		<b>0,05</b>	<b>0,5</b>	<b>0,3</b>	<b>0,1</b>

Les valeurs avec les lettres a, b en exposant présentent une différence entre les saisons ( $p < 0,05$ )

### 3.3. Bioconcentration des métaux lourds dans le muscle de *Oréochromis niloticus*

Le facteur de bioconcentration (BCF) des métaux lourds est donné dans le **tableau III**. Les résultats indiquent que le facteur de bioconcentration des métaux est rangé dans l'ordre décroissant suivant BCF (As) > BCF (Pb) > BCF (Hg) > BCF (Cd). Le facteur de bioconcentration est plus élevé en saison des pluies sauf pour le cadmium.

**Tableau III** : Valeurs saisonnières et moyennes de BCF (L/kg)

		Métaux lourds			
		Cd	Hg	Pb	As
Saison Sèche	Minimum	1,091	5,083	6,000	28,689
	Maximum	1,667	7,273	11,167	57,273
	Moyenne	1,209±0,143	6,028±1,126	8,389±2,605	40,876±14,750
Saison Pluvieuse	Minimum	0,108	6,000	11,333	14,217
	Maximum	0,679	6,667	16,667	356,667
	Moyenne	0,481±0,323	6,311±0,336	14,333±2,729	128,698±197,427
Valeur moyenne		0,845±0,457	6,170±0,759	11,361±4,037	84,787±134,134

#### 4. Discussion

L'étude révèle la présence de métaux lourds dans l'eau de la ferme piscicole. Les concentrations en plomb et en arsenic sont inférieures aux concentrations maximales admissibles de ces métaux dans l'eau des fermes piscicoles. Cela pourrait être dû au fait que dans les eaux de surfaces, l'arsenic et le plomb s'accumulent en grande partie dans les sédiments de fond que dans l'eau [15]. Les résultats de l'étude ont révélé des concentrations de cadmium et de mercure dans l'eau supérieures aux normes recommandées pour l'aquaculture en eau douce qui sont respectivement 0,005 et 0,0002 mg/L [12]. Cela indique que les eaux de la ferme piscicole sont contaminées par le cadmium et le mercure. Cette contamination peut être attribuée à l'utilisation régulière d'engrais à des fins agricoles autour de la ferme [16]. Ces eaux contaminées pourraient augmenter les teneurs en métaux lourds dans le muscle des poissons [17].

Notre étude révèle la présence de métaux lourds dans le muscle du tilapia d'élevage échantillonné. Les quantités de métaux accumulés dans le muscle du poisson indiquent que l'arsenic est le métal le plus accumulé dans l'organe étudié. Ces fortes teneurs en arsenic pourraient être liées au fait que ce métal à des concentrations plus élevées dans l'eau de la ferme piscicole. Selon [18], les métaux lourds ayant une forte biodisponibilité pourraient être absorbés par les organismes aquatiques. Par ailleurs, les taux élevés d'arsenic par rapport aux autres métaux dans le muscle du poisson seraient probablement dus au fait que l'arsenic est le métal facilement accumulé dans le tilapia en comparaison aux autres poissons d'élevage [19]. Les concentrations Cd, Pb, Hg et As dans le muscle ont été comparées aux valeurs limites autorisées pour la consommation. Il ressort de cette comparaison que le muscle du poisson est fortement contaminé par l'arsenic, indiquant un risque pour la consommation humaine [13,14].

Cependant, les teneurs en métaux lourds dans la chair du poisson ne suffisent pas à elles seules pour montrer l'efficacité de l'accumulation de ces derniers. Pour une évaluation plus approfondie du transfert des métaux lourds de l'eau vers le poisson, le facteur de bioconcentration a été calculé. Les facteurs de bioconcentration élevés (BCF > 1) du mercure, du plomb et de l'arsenic montrent que ces métaux contenus dans l'eau étaient susceptibles de s'accumuler à des concentrations plus élevées et potentiellement toxiques dans les poissons.

De plus, les teneurs de ces métaux sont plus élevées dans le muscle que dans l'eau traduisant ainsi le phénomène de la bioconcentration. Le facteur de bioconcentration du cadmium inférieur à 1 (BCF < 1) indique une bioconcentration quasi nulle.

Le niveau élevé du facteur de bioconcentration de l'arsenic, du plomb et du mercure montre que *Oréochromis niloticus* est un bon bio-indicateur pour la surveillance de la pollution pour ces métaux lourds dans les fermes piscicoles.

#### 5. Conclusion

Cette étude a montré que les eaux de la ferme piscicole avaient des concentrations élevées en cadmium et en mercure. De manière générale, les valeurs des métaux dans le muscle des poissons ont été acceptées par les limites des législations internationales (FAO, OMS et UE) et sont sans danger pour la consommation humaine. Cependant, les valeurs d'arsenic dépassaient ces limites, indiquant ainsi un risque pour la santé des consommateurs. Le calcul du facteur de bioconcentration (BCF) a indiqué qu'il y avait un transfert des métaux (mercure, plomb et arsenic) de l'eau vers le poisson. De plus, ces résultats démontrent une forte contamination des poissons à l'arsenic, une aptitude des poissons à la bioconcentration qui constitue un facteur de risque pour la vie des poissons et pour la santé humaine.

#### 6. Remerciements

Nous remercions l'Académie des sciences, des arts, des cultures d'Afrique et des Diasporas Africaines (ASCAD) pour le financement de cette étude. Nous remercions également le propriétaire de la ferme et le personnel technique pour leur assistance au cours des travaux de recherche.

## 7. Bibliographie

- [1] FAO, La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture. Possibilités et défis. **2014**, Rome. 275p.
- [2] **Ipungu L., Ngoy K., Banze K., Lumfwa K., Kafund M.**, L'étude de la croissance de *Oreochromis niloticus* par la fertilisation des étangs: le cas de la ferme NaviunduLubumbashi. Journal of Applied Biosciences, **2015**, (91), 8503 – 8510.
- [3] **Failler P., El Ayoubi H., Konan A.**, Industrie des pêches et de l'aquaculture en Côte d'Ivoire. Rapport n°7 de la revue de l'industrie des pêches et de l'aquaculture dans la zone de la COMHAFAT, **2014**, 99p. doi:10.13140/RG.2.1.2919.1843.
- [4] **Das P.R., Hossain M.K., Sarker B.S., Parvin A., Das S.S., Moniruzzaman M., Saha B.**, Heavy Metals in Farm Sediments, Feeds and Bioaccumulation of Some Selected Heavy Metals in Various Tissues of Farmed *Pangasius hypophthalmus* in Bangladesh. *Fish Aqua J*, **2017**, 8 (3): 218. doi: 10.4172/2150-3508.1000218
- [5] **Benzer S., Arslan H., Uzel, N., Gül A., Yilmaz M.**, Concentrations of metals in water, sediment and tissues of *Cyprinus carpio* L., 1758 from Mogan Lake (Turkey). Iranian Journal of Fisheries Sciences, **2013**, 12 : 45-55.
- [6] **Junianto A., Zahidah H., Apriliani I.M.**, Evaluation of heavy metal contamination in various fish meat from Cirata Dam, West Java. Indonesia. Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation-International Journal of the Bioflux Society, **2017**, 10 (2):241-246.
- [7] **Adeyemi M.M. and Ugah, A.I.**, Evaluation of concentration of some heavy metals in water, soil, and fish from ponds in Lugbe, Idu and Kuje in the Federal Capital Territory (FCT), Abuja, Nigeria. IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology, **2017**, 11 (5): 39 – 43.
- [8] **Junejo S.H., Baig J. A., Kazi T.G., Afridi H.I.** Cadmium and Lead Hazardous Impact Assessment of Pond Fish Species. Biological Trace Element Research, **2019**, 191: 502–511. doi: 10.1007/s12011-018-1628-z.
- [9] **Sanou A.**, Détermination du niveau de contamination métallique des eaux et des sédiments de trois fermes piscicoles en Côte d'Ivoire. Mémoire de Master, Université Jean Lorougnon Guédé Daloa (Côte d'Ivoire), **2018**, 100p.
- [10] **EPA.**, SW-846 test methods for evaluating solid waste, physical-chemical methods, method 6010 C: inductively coupled plasma-atomic, **2007**
- [11] **Kennish M.J.** Ecology of estuaries: Anthropogenic effects. Institute of marine and coastal science fisheries and aquaculture, Rutgers University New Brunswick, New Jersey, **1992**, 1-6.
- [12] **Mélarde C.**, Bases biologiques de l'aquaculture : Notes de cours. Université de Liège (Belgique) : Centre de Formation et de Recherche en Aquaculture, **1999**, 238p.
- [13] **FAO/OMS.**, Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires. Rapport de la vingt-troisième session du comité du codex sur les additifs alimentaires et les contaminants, **1991**, 81 p.
- [14] **European Union (EU)**. Commission Regulation N° 629/2008/CE of 2 July 2008. Amending regulation N° 1881/2006/CE, setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official journal of the European Union, **2008**, 173: 6 – 9.
- [15] **Svobodova Z., Lloy R., Machova J., Vykusova B.** Water quality and fish health. EIFAC, technical paper 54, FAO, Rome, **1993**, p. 71. (Consulté le 14/4/2020)
- [16] **Mutlu E. and Kurnaz A.** Assessment of physicochemical parameters and heavy metal pollution in Çelték Pond water. Indian Journal of Geo Marine Sciences, **2018**, 47 (06): 1185 – 1192.
- [17] **Yasmeen, K.; Mirza, M. A.; Khan, N. A.; Kausar, N.; Rehman, A-U. and Hanif M** Trace metals health risk appraisal in fish species of Arabian Sea. SpringerPlus, **2016**, 5(1): 859, 7p. doi: [10.1186/s40064-016-2436-6](https://doi.org/10.1186/s40064-016-2436-6)
- [18] **Kouakou A. R. (2017)**. Evaluation de la spéciation, de la biodisponibilité et de la toxicité potentielle des métaux cadmium, cuivre, plomb et zinc dans les sédiments du canal de Vridi (Côte d'Ivoire). Thèse de Doctorat, Université Félix Houphouët Boigny, 180 p.
- [19] **Jiang, D. ; Hu, Z.; Liu, F.; Zhang, R.; Duo, B.; Fu, J.; Cu, Y and Li, M. (2014)**. Heavy metals levels in fish from aquaculture farms and risk assessment in Lhasa, Tibetan Autonomous Region of China. Ecotoxicology, 23 (4): 577–583. doi: 10.1007/s10646-014-1229-3

## Présence de pesticides dans les sols agricoles et ressources hydriques du bassin versant agricole de Sinani (94 km<sup>2</sup>) en zone soudanienne du Mali.

Amadou M<sup>1</sup>, Amadou F<sup>1</sup>, Ibrahima M D<sup>2</sup>, Habi S<sup>2</sup>, Amakon D<sup>3</sup>, Hamadoun B M<sup>3</sup>, Keletigui D<sup>1</sup>, Aboudou D<sup>4</sup> et Issiaka K<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), BP : E 423 Bamako, Mali

<sup>2</sup> Institut Polytechnique Rural de Formation et de Recherche Appliquée (IPR/IFRA), BP : 06 Koulikoro, Mali

<sup>3</sup> École Nationale d'Ingénieur Abdourhamame Baba TOURÉ, BP : 242 Bamako, Mali

<sup>4</sup> Institut des Sciences Appliquées, BP : E 3206, Bamako, Mali



### Présence de pesticides dans les sols agricoles et ressources hydriques du bassin versant agricole de Sinani (94 km<sup>2</sup>) en zone soudanienne du Mali.

Amadou M<sup>1</sup>, Amadou F<sup>1</sup>, Ibrahima M D<sup>2</sup>, Habi S<sup>2</sup>, Amakon D<sup>3</sup>, Hamadoun B M<sup>3</sup>, Keletigui D<sup>1</sup>, Aboudou D<sup>4</sup> et Issiaka K<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), BP : E 423 Bamako, Mali  
<sup>2</sup> Institut Polytechnique Rural de Formation et de Recherche Appliquée (IPR/IFRA), BP : 06 Koulikoro, Mali  
<sup>3</sup> École Nationale d'Ingénieur Abdourhamame Baba TOURÉ, BP : 242 Bamako, Mali  
<sup>4</sup> Institut des Sciences Appliquées, BP : E 3206, Bamako, Mali



#### 1. Contexte et problématique

Au Mali, la croissance de la culture du coton, résulte principalement de l'extension de surfaces agricoles (déboisement, augmentation de pâturages etc.) et aussi de l'usage intensif d'intrants chimiques notamment les pesticides. Dans les zones cotonnières de la Compagnie Malienne du Développement de Textiles et de l'Office de la Haute Vallée du Niger, 80% des pesticides utilisés sont des insecticides (organochlorés, organophosphorés, pyrèthrinoides, etc.). Cependant, l'usage intensif de tels produits chimiques n'est pas toujours sans conséquences sur la santé des agriculteurs et la qualité des eaux et des sols agricoles.

#### 2. Objectifs

- Identifier la liste des différentes pratiques agricoles, modes de gestion des sols agricoles, usages ancien et/ou récent d'intrants chimiques (pesticides et engrais) pendant la campagne agricole de 2018 à 2019;
- Expérimenter en cases lysimétriques les mécanismes de contamination des eaux et sols agricoles du bassin versant de Sinani par les pesticides les plus toxiques utilisés par les agriculteurs dudit bassin versant dans la production du coton ;
- Mesurer les concentrations des résidus des pesticides dans des échantillons représentatifs de sols sous culture cotonnière, cours d'eau à proximité des champs de culture, dans les eaux des puits domestiques et de forages de 2018 à 2019 et en cases lysimétriques ;
- Décrire l'évolution de la teneur et/ou du stock du carbone organique dans les sols agricoles dudit bassin versant après chaque campagne agricole de 2018 à 2019.

#### 3. Matériel & méthodes

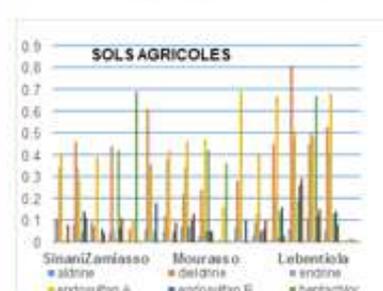
- **Présentation de la zone d'étude**  
Le bassin versant agricole de Sinani (94 km<sup>2</sup>, cercle de Sikasso) est occupé par 4 principaux villages ou hameaux de culture (fig.1) (Zamiasso, Sinani, Mourasso et Lebentia). L'exutoire est situé à Sinani à l'altitude de 323 m. Les cultures de céréales et de coton sont majoritaires ;
- **Sites de prélèvement des échantillons**  
Avant et après la campagne cotonnière 2018-2019, les échantillons d'eau ont été prélevés dans les puits domestiques, forages et cours d'eau. Les échantillons composites de sols ont été prélevés à l'horizon 0-20cm dans les champs de coton (fig.1) ;
- **Analyse des échantillons**  
Après extraction au solvant et purification, les pesticides ont été analysés dans les échantillons de sol et d'eau par un chromatographe en phase gazeuse (CPG-μECD).



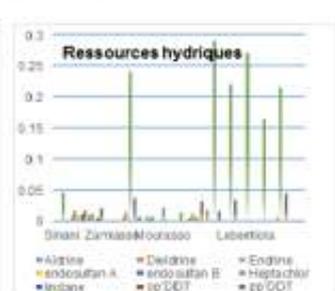
Figure 1: Occupation du sol, sites et points d'échantillonnage (Bassin versant Sinani, Cercle Sikasso-Mali, 10-14 Novembre 2019).

#### 4. Résultats & discussion

Présence de pesticides organochlorés (endosulfan, endrine, DDT etc.) dans les sols et les eaux alors que ces derniers étaient interdits d'usage agricole depuis 2008 en Afrique francophone. Leur présence dans ces matrices est due à leur persistance dans l'environnement. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus au Togo (Mawussi, 2008), Sénégal (Cissé et al, 2003), Burkina Faso (Savadogo et al, 2006), Côte d'Ivoire (Traoré et al, 2006), Mali (Maiga et al, 2014) et en Tanzanie (Kishimba et al, 2004).



**SOLS AGRICOLES**



**Ressources hydriques**

#### 5. Conclusion & perspectives

- Cette étude préliminaire a permis de montrer une contamination des sols agricoles et des ressources hydriques du bassin versant de Sinani (Sikasso, Mali) par l'usage récent et/ou ancien de pesticides organochlorés pendant la production cotonnière.
- Ces travaux seront étendus à plus de champs de coton, ressources hydriques et auprès d'un nombre significatif d'agriculteurs afin de mieux comprendre la dynamique de transfert des pesticides dans les sols agricoles et eaux dudit bassin versant.

## Valorisation des biomasses locales en biochar : amendement des sols avec du biochar

Ibrahim Grema Maman Hamissou<sup>1,2\*</sup>, Yao Kouassi Benjamin<sup>1</sup>, Brou Yao Casimir<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN),  
Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB), Yamoussoukro, BP 1093, Côte d'Ivoire

<sup>2</sup>Département de l'Agriculture et des Ressources Animales, Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB),  
Yamoussoukro, BP 1093, Côte d'Ivoire

### Résumé :

Les biomasses solides (déchets) jadis abandonnés par la population qui dégradent l'environnement, peuvent contribuer à l'atteinte d'autosuffisance alimentaire. Le but de notre travail est d'amender les sols avec le biochar 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 3 heures à 400°C. Les valeurs respectives de pH, de taux des cendres, de taux d'humidité, de matières sèches et d'indice d'iode sont respectivement 10,75 ; 18,525% ; 4,9% ; 95,09% ; 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 : Biomasse solides, Biochar, Amendement, Sol.

### Abstract :

Solid biomass (waste), which was once abandoned by the population and which degrades the environment, can contribute to the achievement of food self-sufficiency. The aim of our work is to amend the soils with biochar for agricultural purposes. It is to transform these local solid biomasses (waste) into 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 as well as crop yield [3]. This can promote the growth of certain groups of organisms beneficial to plant growth [4]. Cassava peel Biochar was developed by pyrolysis for 3 hours at 400°C. The respective values of pH, ash content, moisture content, dry matter and iodine value are 10.75; 18.525% ; 4.9% ; 95.09% ; 666.225mg/g respectively. These results show that the developed biochar can be beneficial for soil amendment. We plan to conduct further analysis.

Keywords : Biomass solids, Biochar, Amendment, Soil.

## 1 Introduction

Le biochar est un résidu organique solide obtenu à partir de la pyrolyse de la biomasse. Il est 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 [1]. La pyrolyse est une technologie thermo-chimique 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 [5]. Cependant, les processus thermo-chimiques qui produisent le biochar sous sa forme solide sont la pyrolyse et la gazéification [6]. En plus, au cours de la dégradation de la biomasse, trois phases sont générées par la pyrolyse. Il y a une partie solide (biochar), une partie liquide organique (biohuile) et une partie gazeuse (gaz de synthèse). La quantité de chaque composante (gaz, liquide et biochar) est différente selon la méthode de pyrolyse utilisée. Il existe plusieurs systèmes de pyrolyse [7].

Les systèmes les plus utilisés sont les « pyrolyseurs rapides » et « pyrolyseurs lents » [8] [9]. Un système de pyrolyse rapide va chauffer très rapidement (au-dessus de 1000°C s<sup>-1</sup>) la biomasse sèche en absence d'oxygène et le temps de séjour dans le système est très court (environ 2 secondes). Le but d'une pyrolyse rapide est de maximiser la production de la biohuile. C'est pour cette raison que le chauffage est très rapide et de courte durée. Pour ce qui est du système traditionnel (la pyrolyse lente), la biomasse sèche est chauffée très lentement (1°C à 20°C min<sup>-1</sup>) en absence d'oxygène et avec un temps de séjour dans le système variant de quelques heures à quelques jours [10]. Selon [11], la pyrolyse lente facilite une plus grande production de biochar (36%) que la pyrolyse rapide (environ 17%) ou la gazéification (12%). La pyrolyse lente est également connue sous le nom de carbonisation conventionnelle, elle produit du biochar en appliquant de la chaleur à la biomasse, ce qui est comparativement faible pendant un long

temps de séjour (cela peut prendre des jours) [12]. Cependant, pour une pyrolyse rapide, le biochar est produit à une température plus élevée avec un temps de séjour très court (1 s). En bref, la principale différence entre les techniques de pyrolyse lente et rapide réside dans leurs rendements. Dans la production de biochar, la procédure commence par le séchage de la biomasse, où la particule est davantage chauffée afin que les matières volatiles soient libérées du solide [13]. Les composés volatils formés peuvent être : du dioxyde de carbone, du monoxyde de carbone, du méthane et d'hydrogène ou des composés organiques condensables, tels que les acides acétiques et le méthanol. Les réactions de craquage et de polymérisation en phase gazeuse modifient l'ensemble du spectre des produits [14]. Le biochar comprend généralement du carbone et des cendres.

Ses compositions élémentaires et ses propriétés varient à cause de la nature des matières premières et des conditions de pyrolyse.

La structure squelettique du biochar comprend principalement du carbone et des minéraux de plusieurs tailles de pores [15]. Les micropores du biochar sont responsables de la capacité d'absorption et de la surface élevées ; cependant, les mésopores sont vitaux pour les processus d'adsorption liquide-solide, tandis que les macropores sont essentiels pour la structure du sol en vrac, l'hydrologie, l'aération et le mouvement des racines [16]. Le motif et la taille des pores du biochar sont comparés à la composition des matières premières et température utilisée lors de sa formation. La Microscopie Electronique à Balayage (SEM) examine la morphologie et la distribution de la taille des pores de la charge d'alimentation différente de biochar [17]. De nos jours, son utilisation ne cesse de se répandre et connaît un grand essor, car il présente plusieurs effets bénéfiques sur la qualité et les rendements des cultures agricoles ainsi que sur les propriétés des sols [17][18].

## I. Matériel et Méthodes

### 1.1 Matériel

#### ➤ Matériel végétal

Nous avons utilisé les épluchures de manioc comme matière première afin de les transformer en biochar.

#### ➤ Matériel de laboratoire

Nous avons utilisé le four à moufle pour la carbonisation, le pH-mètre pour la mesure de pH, une balance de précision, un broyeur, des verreries etc.

### 2.2 Méthodes

#### 2.2.1 Mesure de l'humidité et de matière sèche

L'humidité correspond à l'eau contenue dans le charbon (biochar) éliminée par chauffage à 105°C pendant 2 h ; et si le résultat de la pesée n'est pas stable, il sera maintenu à cette température jusqu'à obtention d'une masse constante. La teneur en humidité est calculée à partir de la masse perdue de l'échantillon. Deux grammes (2 g) de biochar préalablement broyés et tamisés (2mm) seront transférés dans un verre rond équipés d'un couvercle (tare de la verrerie initialement connue) et le tout est placé à l'étuve à 105°C pendant 2 h. Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage TH et la teneur en matière sèche (% MS) ont été déterminés selon les formules des relations 1 et 2.

$$\%TH = \frac{(m_1 - m_2)}{(m_1 - m_0)} * 100 \quad 1$$

$$\%MS = \frac{(m_2 - m_0)}{(m_1 - m_0)} * 100 \quad 2$$

%TH = Taux d'humidité

%MS=Taux de matière sèche

$m_0$ = masse de creuset vide (g) ;

$m_1$ = masse du creuset avec l'échantillon avant oxydation thermique (g) ;

$m_2$ =masse de creuset avec l'échantillon après oxydation thermique (g)

#### 2.2.2 Détermination de la teneur en cendres

Les cendres sont les résidus provenant du charbon (biochar). En moyenne 2 g de biochar seront pesés et mis dans un creuset dont la masse de celui-ci à vide est connu. Le taux de cendres est déterminé à partir de la quantification des matières minérales contenues dans l'échantillon. Pour cela, l'échantillon est placé dans un four à moufle porté à 575°C sous air pendant 3 heures jusqu'à l'obtention des cendres sans présence de points noirs (résidus de carbone). Après refroidissement, le résidu de combustion sera pesé de sorte à déterminer le taux de cendres de l'échantillon à partir de l'équation suivant :

$$\%A = \frac{(m_3 - m_1)}{(m_2 - m_1)} * 100$$

A=Taux de cendres (%)

$m_1$ = masse de creuset vide (g) ;

$m_2$ = masse du creuset avec l'échantillon avant oxydation thermique (g) ;

$m_3$ =masse de creuset avec l'échantillon après oxydation thermique (g)

### 2.2.3 Détermination du pH

Le pH du biochar sera déterminé selon la méthode [19][20]. En moyenne 2 g de biochar seront ajoutés à 40 ml d'eau distillée puis agités pendant 30 min. La suspension est laissée au repos pendant 10 min avant la mesure du pH à l'aide d'un pH-mètre.

### 2.2.4 Détermination d'indice d'iode

Le biochar est tamisé à 0,5 mm et l'indice d'iode a été déterminé par la méthode de dosage utilisé par [21].

## 3. Résultats et discussion

Les résultats d'analyses immédiates de biochar produit à base de déchets agricoles pendant 3H de pyrolyse à 400°C sont présentés dans le tableau suivant.

21<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM ; 10 – 13 Août 2021 ; Niamey – Niger

**Tableau 1: Résultats d'analyses immédiates de biochar fabriqué**

Analyses immédiates	pH	Taux de cendre	Taux de Taux d'humidité	Taux de matières sèches	Indice d'iode
Biochar d'Epluchures de Manioc produit à 400°C pendant 3H	10,75	18,255	4,9%	95,09%	666,225mg/g

Le biochar fabriqué à base d'épluchures de manioc à 400°C pendant 3H d'après le tableau a un pH alcalin et l'augmentation de température de pyrolyse a augmenté légèrement la valeur du pH.

Ce résultat est en adéquation avec ceux trouvés par [21], [22]. Selon la littérature, le pH des biochars issus des biomasses agricoles varie entre 8.8 et 10.8 en fonction des conditions de pyrolyse et les biomasses (précurseurs) utilisées.

Les analyses immédiates faites sur le biochar fabriqué à 400°C, montrent qu'il a de faible taux d'humidité (4.9%), une grande quantité de matières sèches (95.09%) et de taux de cendre (18,255%) peu élevé.

La valeur de l'indice d'iode trouvée (666,225mg/g) confirme la présence des pores microporeux dans biochar.

## 4. Conclusion

Les résultats des analyses immédiates montrent des pourcentages de matières sèches, de taux d'humidité, de taux de cendres, et indice d'iode très satisfaisant. Le pH de biochar est basique.

Ainsi, indice d'iode déterminé nous montre que le biochar possédera des pores microporeux.

D'après les résultats d'analyses obtenu, on peut conclure que le biochar produit sera bénéfique pour une application à des fins agricoles.

## Références bibliographiques

- [1] 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.
- [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.2018.01.034L. 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>.
- [3] Y. M. Harel *et al.*, « Biochar impact on plant development and disease resistance in pot trials », p. 8, 2012.
- [4] A. K. Varma, R. Shankar, et P. Mondal, « A Review on Pyrolysis of Biomass and the Impacts of Operating Conditions on Product Yield, Quality, and Upgradation », in *Recent Advancements in Biofuels and Bioenergy Utilization*, P. K. Sarangi, S. Nanda, et P. Mohanty, Éd. Singapore: Springer, 2018, p. 227\_259. doi: 10.1007/978-981-13-1307-3\_10.
- [5] J. Lehmann, M. C. Rillig, J. Thies, C. A. Masiello, W. C. Hockaday, et D. Crowley, « Biochar effects on soil biota – A review », *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 43, n° 9, p. 1812\_1836, sept. 2011, doi: 10.1016/j.soilbio.2011.04.022.
- [6] A. O. Babalola, O. Olubukola, et O. Obembe O, « L'importance de l'application du biochar pour l'environnement et l'économie », *Annals of Agricultural Sciences*, vol. 64, p. 15, 2019.

- [7] 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 », *Journal of Environmental Quality*, vol. 41, n° 4, p. 1115\_1122, 2012, doi: <https://doi.org/10.2134/jeq2011.0118>.
- [8] E. W. Bruun, P. Ambus, H. Egsgaard, et H. Hauggaard-Nielsen, « Effects of slow and fast pyrolysis biochar on soil C and N turnover dynamics », *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 46, p. 73\_79, mars 2012, doi: 10.1016/j.soilbio.2011.11.019.
- [9] B. Dutta, G. S. V. Raghavan, et M. Ngadi, « Surface Characterization and Classification of Slow and Fast Pyrolyzed Biochar Using Novel Methods of Pycnometry and Hyperspectral Imaging », *Journal of Wood Chemistry and Technology*, vol. 32, n° 2, p. 105\_120, avr. 2012, doi: 10.1080/02773813.2011.607535.
- [10] M. Uchimiya, L. H. Wartelle, K. T. Klasson, C. A. Fortier, et I. M. Lima, « Influence of Pyrolysis Temperature on Biochar Property and Function as a Heavy Metal Sorbent in Soil », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 59, n° 6, p. 2501\_2510, mars 2011, doi: 10.1021/jf104206c.
- [11] Cao, X., Ma, B. , Gao, W. , Harris, E., « Dairy-Manure Derived Biochar Effectively Sorbs Lead and Atrazine | Environmental Science & Technology », *American Chemical Society*, n° 43, p. 3285— 3291, mars 2009.
- [12] A. H. Rhodes, A. Carlin, et K. T. Semple, « Impact of Black Carbon in the Extraction and Mineralization of Phenanthrene in Soil », *Environ. Sci. Technol.*, vol. 42, n° 3, p. 740\_745, févr. 2008, doi: 10.1021/es071451n.
- [13] E. Cetin, R. Gupta, et B. Moghtaderi, « Effect of pyrolysis pressure and heating rate on radiata pine char structure and apparent gasification reactivity », *Fuel*, vol. 84, n° 10, p. 1328\_1334, juill. 2005, doi: 10.1016/j.fuel.2004.07.016.
- [14] W. Lu *et al.*, « Biochar suppressed the decomposition of organic carbon in a cultivated sandy loam soil: A negative priming effect », *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 76, p. 12\_21, sept. 2014, doi: 10.1016/j.soilbio.2014.04.029.
- [15] A. Freddo, C. Cai, et B. J. Reid, « Environmental contextualisation of potential toxic elements and polycyclic aromatic hydrocarbons in biochar », *Environmental Pollution*, vol. 171, p. 18\_24, déc. 2012, doi: 10.1016/j.envpol.2012.07.009.
- [16] R. S. Quilliam, H. C. Glanville, S. C. Wade, et D. L. Jones, « Life in the ‘charosphere’ – Does biochar in agricultural soil provide a significant habitat for microorganisms? », *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 65, p. 287\_293, oct. 2013, doi: 10.1016/j.soilbio.2013.06.004.
- [17] R. Singh, J. N. Babu, R. Kumar, P. Srivastava, P. Singh, et A. S. Raghubanshi, « Multifaceted application of crop residue biochar as a tool for sustainable agriculture: An ecological perspective », *Ecological Engineering*, vol. 77, p. 324\_347, avr. 2015, doi: 10.1016/j.ecoleng.2015.01.011.
- [18] J. M. Novak, W. J. Busscher, D. L. Laird, M. Ahmedna, D. W. Watts, et M. A. S. Niandou, « Impact of Biochar Amendment on Fertility of a Southeastern Coastal Plain Soil », *Soil Science*, vol. 174, n° 2, p. 105\_112, févr. 2009, doi: 10.1097/SS.0b013e3181981d9a.
- [19] D. J. Lehmann et S. Joseph, *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*. Earthscan, 2009.
- [20] H. Koné, K. E. Kouassi, A. S. Assémian, K. B. Yao, et P. Drogui, « Investigation of breakthrough point variation using a semi-industrial prototype packed with low-cost activated carbon for water purification », p. 20, 2021.
- [21] T. M. E. Shareef et B. Zhao, « Review Paper: The Fundamentals of Biochar as a Soil Amendment Tool and Management in Agriculture Scope: An Overview for Farmers and Gardeners », *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, vol. 6, n° 1, Art. n° 1, Février 2017, doi: 10.4236/jacen.2017.61003. [23] A. Abderahim, « Réduction de la mycotoxicité dans l’agriculture malienne à partir de l’utilisation de biochar obtenu des sous-produits de la filière cajou », THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR, UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER, MONTPELLIER, 2019.

## **Mono-digestion anaérobie des eaux usées de l'abattoir principal de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire) : Évaluation du potentiel de biogaz et élimination de la pollution organique.**

Kouakou Eric Adou<sup>a\*</sup>, Okon Albert Alle<sup>a</sup>, Adjoumani Rodrigue Kouakou<sup>b</sup>, Kopoin Adouby<sup>a</sup>,

Patrick Drogui<sup>c</sup>, Rajeshwar Dayal Tyagi<sup>c</sup>

<sup>a</sup> *Laboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse de l'Environnement et des Énergies Nouvelles (LAPISEN), Institut National Polytechnique Houphouët-Boigny, BP 1313, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire*

<sup>b</sup> *Laboratoire de Thermodynamique et de Physico-Chimie du Milieu (LTPCM), UFR-SFA, Université Nangui Abrogoua, 02 BP 801 Abidjan 01, Côte d'Ivoire*

<sup>c</sup> *Institut National de la Recherche Scientifique (INRS Eau Terre et Environnement), Université du Québec, 490 rue de la Couronne, Québec City, Canada*

### **Résumé :**

En Côte d'Ivoire, le rejet dans la nature des eaux usées des abattoirs constitue un problème environnemental car industries ne disposent d'aucun système de traitement. La mono digestion anaérobie représente une possibilité pour le traitement des eaux usées des abattoirs. L'objectif principal de cette étude est d'évaluer la performance de la mono-digestion anaérobie sur le traitement des eaux usées de l'abattoir principal de Yamoussoukro. L'étude a été réalisée en utilisant un réacteur batch de laboratoire de 5 L dans des conditions mésophiles ( $32 \pm 3$  °C). Dans le réacteur, les eaux usées ont été maintenues sous agitation constante par un agitateur magnétique à une vitesse de 300 tr/min jusqu'à épuisement du biogaz. Le pH, l'azote ammoniacal et le rapport AGV/TAC ont été contrôlés afin de vérifier la stabilité du processus. Le biogaz et l'élimination de la matière organique (DCO, DCOs et DBO) ont permis d'évaluer la performance d'épuration du traitement. Les résultats ont montré que la durée du traitement était de 60 jours et que la stabilité du réacteur était obtenue pour un rapport AGV/TAC inférieur à 0,4. La concentration en azote ammoniacal, variant de 684 à 1239 mg L<sup>-1</sup>, n'a pas inhibé la méthanogénèse. Le volume total de biogaz (20,870 mL) a prouvé que les eaux usées de l'abattoir fournissaient elles-mêmes les micro-organismes nécessaires à la digestion anaérobie. L'efficacité d'élimination de la DCO, de la DCOs et de la DBO de 49,93, 65,85 et 82,22 % respectivement ont montré la haute performance d'épuration de la mono-digestion anaérobie.

**Mots clés :** Digestion anaérobie, inoculum, eaux usées d'abattoir, élimination de la matière organique

## **Anaerobic mono-digestion of wastewater from the main slaughterhouse in Yamoussoukro (Côte d'Ivoire): Evaluation of biogas potential and removal of organic pollution**

### **Abstract:**

In Côte d'Ivoire, the rejection of wastewater into nature from slaughterhouses is an environmental problem because these agro-industries do not have any treatment system. Anaerobic mono-digestion is a possibility for the treatment of slaughterhouse wastewater. The main objective of this study is to evaluate the performance of the anaerobic mono-digestion of wastewater from the main slaughterhouse in Yamoussoukro. The study was carried out using a 5 L laboratory batch reactor under mesophilic conditions ( $32 \pm 3$  °C). In the reactor wastewater was kept under constant stirring by a magnetic stirrer at a speed of 300 rpm until the biogas exhausted. The pH, ammonia nitrogen and VFA/TA ratio were monitored so as to verify the stability of the process. Biogas production and organic matter (TCOD, SCOD and BOD) removal permitted to evaluate the treatment purification performance. The results showed that the duration of the treatment was 60 days and the reactor stability was obtained at VFA/TA ratio lower than 0.4. The ammonia nitrogen concentration varying from 684 to 1239 mg L<sup>-1</sup>, had no inhibition effect on methanogenesis. The total volume of biogas (20,870 mL) proved that slaughterhouse wastewater itself provided the microorganisms necessary for AD. The TCOD, SCOD and BOD removal efficiency of 49.93, 65.85 and 82.22 % respectively showed the high purification performance of anaerobic mono-digestion of slaughterhouse wastewater.

**Keywords :** Anaerobic digestion, Inoculum, Slaughterhouse wastewater, Organic matter removal

### **1. Introduction**

La pollution de l'environnement par les effluents d'eaux usées dans les pays en développement reste une préoccupation majeure au niveau mondial [1]. Les abattoirs sont des industries où l'eau est utilisée pour laver la viande et pour éliminer les excréments, les débris et le sang provenant de l'abattage des animaux [2]. Les eaux usées d'abattoirs sont généralement chargées en matières organiques [3]. Ces eaux usées deviennent une source importante de pollution pour le milieu récepteur tels que les lacs, les étangs, les cours d'eau, les rivières, les estuaires et les océans [4]. Cette pollution a de nombreuses conséquences sur la biodiversité et la santé humaine [5]. La réduction de la teneur en polluants organiques de ces eaux est nécessaire. Ainsi, le traitement anaérobie des eaux usées d'abattoirs est une méthode de traitement de plus en plus utilisée [6-10].

La digestion anaérobie (DA) est un procédé de dégradation biologique contrôlé dans lequel l'élimination de la matière organique se fait par l'action combinée d'un consortium microbien en l'absence d'oxygène [11,12]. En outre, la digestion anaérobie contribue à la destruction des agents pathogènes. Les principaux produits sont le biogaz

(un mélange de CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> et de traces d'autres gaz) et les boues digérées utilisées comme engrais en agriculture [13]. Quatre étapes résument le processus de DA. L'hydrolyse, qui est la première étape, implique la dégradation de composés organiques complexes en composés organiques simples tels que comme les acides gras, les alcools et les sucres. Dans la deuxième étape (acidogénèse), les acides gras et les alcools volatils sont convertis en acide acétique et en hydrogène. L'acide acétique est ensuite converti en acétate au cours de l'acétogénèse (3ème étape). Au stade final (méthanogénèse), le méthane (CH<sub>4</sub>) et le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) sont produits à partir de l'acétate et de l'hydrogène [14]. Les paramètres couramment utilisés pour évaluer la digestion anaérobie sont la demande biochimique en oxygène (DBO), la demande chimique en oxygène (DCO), les acides gras volatils (AGV) et l'ammoniac azote (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) [15]. Habituellement, les pH compris entre 6,5 et 7,6 sont avantageux pour la digestion anaérobie. Cependant, l'accumulation d'AGV peut entraîner l'instabilité du processus, voire l'échec de la digestion [14]. Les principales formes d'azote ammoniacal inorganique produit sont l'ion ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) et l'ammoniac libre (NH<sub>3</sub>). L'azote libre ammoniacal, qui est considéré comme la principale cause d'inhibition, est prédominant à un pH élevé et les microorganismes méthanogènes sont probablement les plus touchés [16]. En outre, la production de biogaz et l'élimination de la matière organique sont généralement utilisées comme indicateurs de performance des DA [17].

En général, le traitement anaérobie des eaux usées par co-digestion avec du fumier et des déchets agricoles améliore l'efficacité [18-20]. Cependant, il reste un problème environnemental en raison de l'élimination du digestat car celui-ci est le plus souvent enfoui dans le sol après le traitement. Afin d'éviter ce problème, il est suggéré d'utiliser la mono-digestion pour le traitement anaérobie des eaux usées [4].

En Côte d'Ivoire, le rejet des eaux usées des abattoirs constitue un problème environnemental car les abattoirs ne disposent d'aucun système de traitement [21]. Cependant, aucune étude sur le traitement des eaux usées d'abattoirs par co-digestion anaérobie et mono-digestion anaérobie n'a été réalisée. Contrairement à la co-digestion, la mono-digestion anaérobie est définie comme la capacité du substrat à fournir lui-même les micro-organismes nécessaires à la digestion anaérobie. L'avantage est qu'elle réduit les coûts de fonctionnement et produit des boues stabilisées qui peuvent être utilisées comme engrais. En outre, il existe un intérêt pour le développement de la mono-digestion anaérobie, car le traitement d'un grand volume d'eaux usées par co-digestion anaérobie nécessite une quantité suffisante de co-substrats qui peut être difficile à obtenir [22]. En outre, la quantité élevée de fumier de vache dans les eaux usées des abattoirs, qui est généralement utilisée comme source de micro-organismes, montre que celle-ci peut être traitée par mono-digestion anaérobie. Par conséquent, une bonne connaissance des paramètres de fonctionnement contribuerait à une meilleure applicabilité de la mono-digestion anaérobie au traitement et à la récupération d'énergie de des eaux usées des abattoirs.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer la performance de purification de la mono-digestion anaérobie en réacteur batch des eaux usées provenant de l'abattoir municipal de Yamoussoukro.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Collecte et caractérisation des eaux usées

Les eaux usées utilisées dans cette étude ont été collectées à l'abattoir municipal de Yamoussoukro (capitale politique de la Côte d'Ivoire). Cet abattoir fonctionne tous les jours avec une production moyenne de viande fraîche estimée à 25 carcasses par jour. Deux types d'eaux usées sont produits. La première, de couleur verdâtre, est composée de fragments de viande, de graisse, de lisier, d'urine et de bouse de vache. Elles résultent du lavage des réservoirs digestifs et représentait le plus gros volume des eaux usées. L'autre, à forte teneur en sang, provient du processus d'abattage. Les eaux usées des abattoirs ont été collectées dans des bidons en polypropylène fermés et soigneusement stockées à 4 °C avant les analyses de laboratoire.

### 2.2. Méthode expérimentale

La digestion anaérobie a été réalisée à l'échelle du laboratoire en utilisant un réacteur de 5 L en mode batch (Fig. 1). Aucun ajustement initial du pH (6,86) n'a été effectué avant le traitement des eaux usées. Le réacteur a été rempli avec 4,5 L d'eaux usées d'abattoir. L'expérience a été menée dans des conditions de température mésophiles (32 ± 3 °C). Pour assurer un meilleur contact entre les micro-organismes et le substrat, l'homogénéisation des eaux usées a été réalisée à l'aide d'un agitateur magnétique à la vitesse de 300 rpm pendant la digestion anaérobie. Le volume de biogaz a été mesuré une fois par jour par la méthode du déplacement d'eau. Afin d'évaluer la stabilité de la digestion anaérobie et l'efficacité de l'épuration du processus, 30 mL du substrat contenu dans le réacteur ont été collectés tous les 3 jours à l'aide d'une pompe péristaltique (MASTERflex easy-load II). Le pH, l'alcalinité, les AGV, l'azote ammoniacal (NNH<sub>4</sub><sup>+</sup>), DBO et demande chimique en oxygène (DCO et DCOs) ont été mesurés.

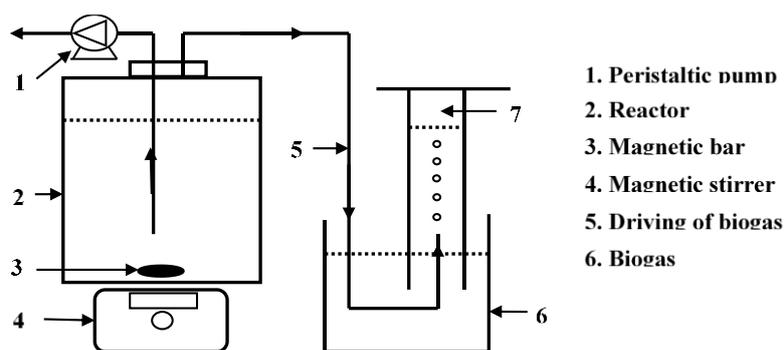


Figure 1 : Dispositif de digestion anaérobie

### 2.3. Analyses chimiques

Le pH, le  $N-NH_4^+$ , DBO, DCO et DCOs ont été analysés selon les méthodes décrites par méthode de Rodier [23]. Le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre HANNA HI 98150 GLP pH /ORP METER équipé d'une électrode HI 1618 smart avec un capteur de température intégré, d'un connecteur DIN et d'un câble de 1m 3.3'). Le  $N-NH_4^+$  a été titré en utilisant une solution d'acide sulfurique 0,1 N ( $H_2SO_4$ ) après avoir distillation de 50 mL de l'échantillon d'eau usée diluée. La demande chimique en oxygène (DCOT et DCOs), qui est la quantité d'oxygène nécessaire à l'oxydation des éléments inorganiques (sulfures, nitrates et certains métaux) et de la matière organique, a été déterminée par titrage après digestion en présence de dichromate de potassium ( $K_2Cr_2O_7$ ) en un milieu acide sulfurique à 150 °C pendant 2 h dans un minéralisateur HACH DRB 200. Pour le DCOs, les échantillons ont été préalablement filtrés à l'aide d'un filtre Wattman (0,45  $\mu m$ ) et le filtrat a été utilisé pour la mesure. La demande biologique d'oxygène à 20 °C pendant 5 jours (DBO), qui est la quantité d'oxygène nécessaire à la décomposition de l'eau de la matière organique par les micro-organismes, a été mesurée par respirométrie.

L'alcalinité a été déterminée selon la méthode proposée par Jenkins et al [24]. 20 ml de substrat, préalablement centrifugé à 3000 rpm pendant 3 min ont été titrés par pH-métrie avec une solution de  $H_2SO_4$  à 0,04 N en deux étapes. Dans la première étape, le dosage est effectué jusqu'à pH 5,75. Dans la dernière étape, le dosage s'est poursuivi jusqu'à pH 4,3. L'alcalinité totale (TA) obtenue à pH 4,3 ; l'alcalinité partielle (PA) associée à l'alcalinité du bicarbonate et de l'eau et au pouvoir tampon du système est obtenu à pH 5,75 et l'alcalinité intermédiaire (IA). L'IA, associée à la concentration en AGV a été obtenue par la différence entre TA et PA.

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Caractérisation du substrat

Le tableau 1 présente les résultats de la caractérisation physico-chimique des eaux usées de l'abattoir. Le contenu de ces eaux usées dépend des volumes d'eau utilisés dans les usines de transformation de la viande. Ces eaux usées contenaient des niveaux élevés de matières organiques avec une concentration élevée en DBO, DCOS et DCOT. Le pH (6,86) est conforme à la plage de pH optimale de la digestion anaérobie [6,5-8,2] [25]. La concentration en  $NH_4^+$  égale à 684 mg L<sup>-1</sup> ne représente pas une cause d'inhibition de la digestion anaérobie. En effet, selon [26], l'ammoniac ( $NH_3$ ), considéré comme la principale cause d'inhibition de la digestion anaérobie, est prédominant est prédominant à un pH basique et les méthanogènes sont probablement les plus affectés par l'ammoniac. Le rapport SCOD/TCOD (0,51) indique qu'une grande partie de la matière organique est disponible sous forme dissoute. La biodégradabilité élevée (rapport DBO/DCOT = 0,57) est idéal pour l'application de la digestion anaérobie.

Tableau I: Caractéristiques des eaux usées d'abattoir

Paramètres	Valeurs
pH	6.86 ± 0.03
TCOD (mg/L)	11931 ± 640
SCOD (mg/L)	6152 ± 274
BOD (mg/L)	6750 ± 500
BOD/TCOD ratio	0.57 ± 0.02
TN (mg/L)	1467 ± 69.25
$N-NH_4^+$ (mg/L)	684 ± 48
TA (mg/L $CaCO_3$ )	3068 ± 30
VFA (mg/L $CaCO_3$ )	1526 ± 25
VFA/TA ratio	0.50 ± 0.01

### 3.2. Stabilité de la digestion anaérobie

#### 3.2.1. pH et rapport VFA/TA

La variation du pH pendant la DA est illustrée à la figure 2. Le pH de substrat varie de 6,86 à 8,03. Ces valeurs se situent dans la plage de pH optimaux pour la digestion anaérobie [6,5-8,78] [25,27]. Cette augmentation du pH est liée à deux facteurs, dont le pouvoir tampon élevé des eaux usées d'abattoir et la production d'alcalinité. En fait, les eaux usées des abattoirs utilisées étaient principalement composées de fumier de vache et de sang. Le fumier de vache, couramment utilisé comme substrat à haute alcalinité, a la capacité d'augmenter le pouvoir tampon et la production d'alcalinité. En outre, les micro-organismes produisent de l'alcalinité au cours de la dégradation des substrats riches en protéines [28]. Ainsi, ces deux paramètres offrent une alcalinité suffisante pour masquer l'acidité des acides gras volatils. L'évolution de TA est présentée dans la figure 3. L'augmentation de l'alcalinité (TA) atteint 5147 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>. Cette augmentation de l'alcalinité est attribuée à la digestion des substrats riches en protéines par les micro-organismes [28]. Au cours du traitement, la concentration en AGV est restée constante avec une valeur moyenne autour de 1500 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>. Selon [29], une valeur d'AGV supérieure à 1500-2000 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> pourrait conduire à l'inhibition de la DA. Cependant, si le VFA est inférieure à 1500 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>, c'est l'augmentation soudaine ou constante de sa valeur qui est un signe d'instabilité du digesteur. Contrairement à l'alcalinité, le rapport VFA/TA diminue progressivement de 0,5 à 0,32. Le rapport VFA/TA entre 0,1 et 0,4 reflète une meilleure stabilité du procédé et un rapport VFA/TA supérieur à 0,4 indique une instabilité du digesteur [30]. Pour éviter l'instabilité, le pH du substrat peut être ajusté en ajoutant des acides ou des bases. Les valeurs VFA/TA étant inférieures à 0,4 ; aucun ajustement du pH n'a été effectué.

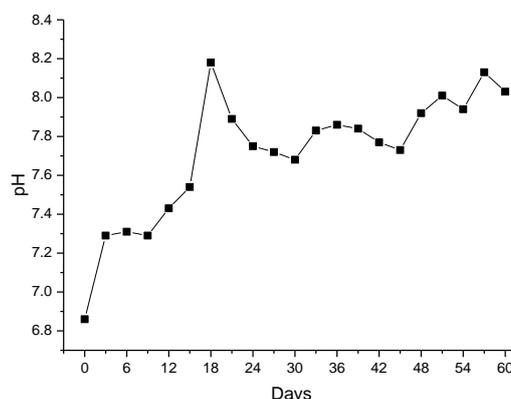


Figure 2 : Évolution du pH durant le traitement

#### 3.2.2. Profil d'azote ammoniacal

Le profil de l'azote ammoniacal est illustré à la figure 4. Un taux élevé d'azote ammoniacal est enregistré pendant les 15 premiers jours (de 684 à 1135 mg L<sup>-1</sup>) suivi d'une légère augmentation de 1135 à 1239 mg L<sup>-1</sup>. La libération d'azote ammoniacal provenant de l'hydrolyse des protéines augmente la valeur du pH et l'alcalinité, comme le montrent les figures 2 et 3. Deux formes d'azote azote ammoniacal ont été libérées, à savoir l'ion ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) et l'ammoniac libre (NH<sub>3</sub>). Ce dernier (NH<sub>3</sub>) a été identifié comme la principale source d'inhibition des réacteurs en raison de sa forte capacité à diffuser à travers la membrane cellulaire des microorganismes [31]. Plusieurs études ont été menées pour évaluer le pouvoir inhibiteur de l'azote ammoniacal mais aucune valeur limite de la concentration d'azote ammoniacal capable d'inhiber la méthanogénèse n'a été définie [32]. Malgré l'augmentation de la concentration d'azote ammoniacal, le rapport VFA/TA (Fig. 3) est inférieur à 0,4. Ces résultats révèlent ainsi l'absence d'inhibition du réacteur par l'azote ammoniacal.

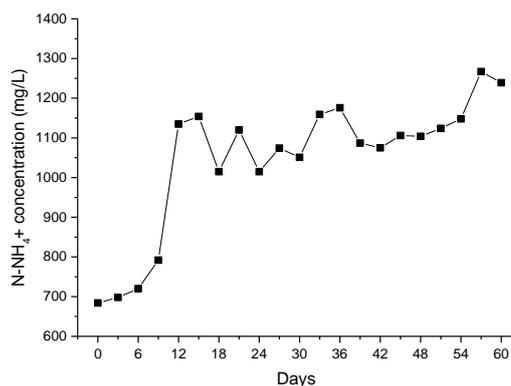


Figure 4 : Évolution de la concentration d'azote ammoniacal

### 3.3. Cinétique de la production de biogaz

La cinétique de la production de biogaz est illustrée à la figure 5. Elle comporte deux phases, à savoir une phase de forte et de faible production de biogaz. La phase de production élevée de biogaz s'étend du jour 0 au jour 33 et du jour 46 au jour 52. La phase de faible production se situe entre les périodes de forte production (du jour 33 au jour 46). À partir du jour 52, le volume de biogaz est tombé à zéro le jour 60. Le rendement maximal de biogaz était de 112 mL L<sup>-1</sup> j<sup>-1</sup>.

La production de biogaz résulte de l'action du consortium bactérien fourni par le substrat. Les eaux usées des abattoirs contenaient de la bouse de vache, qui sont chargées de micro-organismes nécessaires à la digestion anaérobie. La diminution de la production de biogaz entre le jour 33 et le jour 46 pourrait être due au début d'une phase de latence induite [33] qui peut être causée par un changement soudain de certains facteurs environnementaux tels que la température, qui entraîne une diminution de la production de biogaz [32]. La diminution de la production de biogaz n'a pas eu d'impact significatif sur la méthanogénèse car le biogaz a immédiatement augmenté pour atteindre un taux maximum de 112 mL L<sup>-1</sup> au jour 52. La chute soudaine de la production de biogaz observée au jour 54, qui a atteint la valeur 0 au jour 60, résulte de l'épuisement de la matière biodégradable des eaux usées de l'abattoir. Au jour 54, la biodégradabilité des eaux usées est de 0,21. Cette valeur montre que les eaux usées contenaient de faibles quantités de matière organique biodégradable pour la production de biogaz. En outre, le volume total de biogaz (20,87 L) prouve le haut potentiel de biogaz des eaux usées d'abattoir. Ces résultats démontrent que le substrat a la capacité de fournir des micro-organismes pour la production de biogaz.

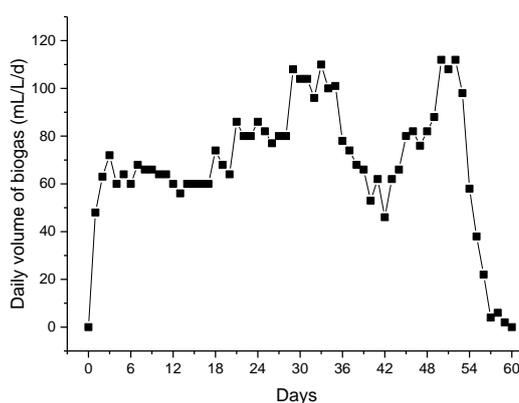


Figure 5 : Cinétique de production de biogaz

### 3.4. Élimination de la DCOt, DCOs et DBO<sub>5</sub>

La figure 6 montre les concentrations de la DCOt, DCOs et DBO<sub>5</sub> ainsi que le rapport DBO/DCO. L'élimination de la DCOt, DCOs et DBO<sub>5</sub> sont réalisées en trois phases. La première phase, du jour 0 au jour 15, montre une légère efficacité d'élimination de DCOt, DCOs et DBO<sub>5</sub> avec respectivement 4,16 ; 11,11 et 11,93 %. L'efficacité moyenne

d'élimination de la DCOs est plus faible que celle du DCOt et de la DBO5 qui présentent des valeurs similaires. Dans la deuxième phase, du jour 15-51, l'élimination de la DCOt, de la DCOs et de la DBO5 augmente de manière significative avec une efficacité respective de 49,52 ; 63,91 et 77,78 %. L'efficacité moyenne de l'élimination des DCOs est plus grande que celle du DCOt jusqu'à la fin du traitement. Enfin, pendant la dernière phase (du jour 51-60), les concentrations de DCOt, DCOs et DBO5 restent constante avec des efficacités d'élimination respectives de 49,93, 65,85 et 82,22 % pour le DCOt, DCOs et la DBO5. La biodégradabilité (rapport DBO5/DCOt) évolue pour atteindre la valeur finale de 0,2 après la digestion anaérobie.

La faible efficacité d'élimination de la DCOt, DCOs et de la DBO5 dans la première phase est due à la prédominance de l'hydrolyse. Selon Ometto et al. [34], un faible taux d'hydrolyse peut être une étape limitante de la digestion anaérobie lorsque des structures complexes restent non digérées et ne sont pas disponibles pour la AD. L'amélioration de l'élimination de la DCOt, de la DCOs et DBO5 au cours de la seconde phase est due aux conditions idéales de méthanogénèse avec des valeurs de pH compris entre 7,54 et 8,01 (figure 2). La faible efficacité d'élimination de la DCOt, de la DCOs et de la DBO5 a résulté de l'épuisement de la matière organique biodégradable avec un rapport DBO/DCOt=0,20. L'efficacité moyenne d'élimination de la DCOt de cette étude (49,93 %) a été comparée à celle obtenue par Córdoba et al. [31] lors du traitement des eaux usées porcines par digestion anaérobie. Les résultats montrés une efficacité plus élevée de notre étude car ces auteurs ont obtenus un abattement de 18,41 % DCOt lors du traitement par mono-digestion. Cependant, notre résultat reste proche de ceux obtenus par co-digestion anaérobie avec des boues d'épuration (52,05 % DCOt) et des eaux usées stabilisées des porcs (53,06 % TCOD). Ce résultat montre également une similarité avec celui de Yazdani et al. [33] qui ont obtenu une efficacité d'élimination de 51 % de DCOt en utilisant la co-digestion pour le traitement des eaux usées d'abattoir. D'autre part, l'efficacité d'élimination de l'élimination de la DCOt de notre étude est plus faible que celle obtenue par [35] qui est 70 % avec un réacteur à lit de boue anaérobie à écoulement ascendant (UASB) à un taux de charge organique de 8,15 g COD L-1 d-1. La différence entre ces taux d'élimination peut être attribuée aux réacteurs mis en jeu. Aux termes de cette étude, les taux d'élimination de la matière organique (DCOt, DCOs et DBO5) démontrent la capacité de la mono-digestion anaérobie à éliminer la forte teneur en matières organiques des eaux usées d'abattoirs sans ajout d'inoculum. Cependant, la matière organique résiduelle des eaux usées digérées, illustrée par le tableau 2, nécessite un post-traitement pour être conforme aux normes ivoiriennes de rejet des eaux.

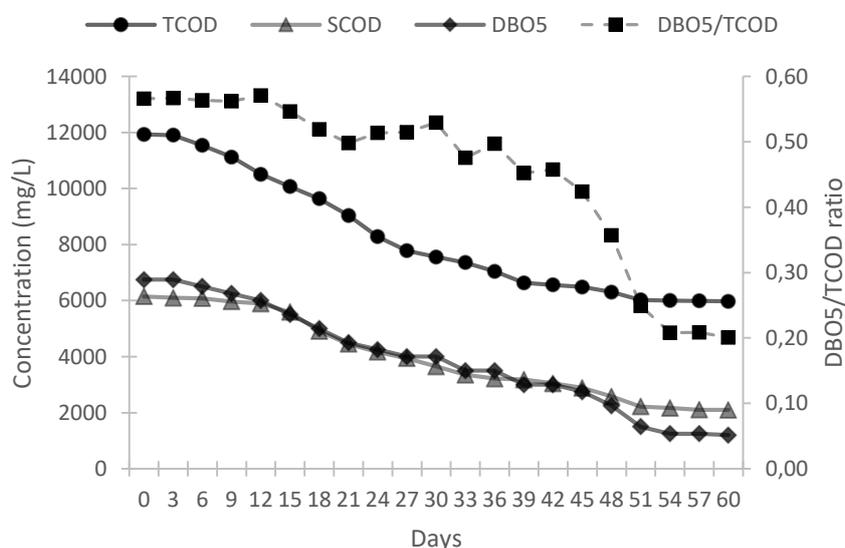


Figure 6 : Évolution de la DCOt, DCOs et DBO<sub>5</sub> durant le traitement

Tableau 2 : Caractéristiques des eaux usées traitées

Paramètres	Avant digestion anaérobie	Après digestion anaérobie	Standards ivoiriens [34]
pH	6.86 ± 0.03	8.03 ± 0.02	5.5-9.5
TCOD (mg/L)	11931 ± 640	5974 ± 276	300
SCOD (mg/L)	6152 ± 274	2101 ± 92	-
BOD (mg/L)	6750 ± 500	1200 ± 100	100
BOD/TCOD ratio	0.57 ± 0.02	0.20 ± 0.01	-
TN (mg/L)	1467 ± 69.25	-	50
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	684 ± 48	1239 ± 39	-
TA (mg/L CaCO <sub>3</sub> )	3068 ± 30	5147 ± 77	-
VFA (mg/L CaCO <sub>3</sub> )	1526 ± 25	1645 ± 31	-
VFA/TA ratio	0.50 ± 0.01	0.32 ± 0.01	-

#### 4. Conclusion

La mono-digestion anaérobie des eaux usées de l'abattoir principal de Yamoussoukro dans un réacteur batch à l'échelle du laboratoire a été réalisée. Les principales conclusions suivantes ont été tirées.

- Le réacteur était stable avec un rapport AGV/TA inférieur à 0,4.
- Aucune inhibition de la méthanogénèse n'a été générée par l'azote ammoniacal, qui a varié de 684 à 1239 mg L-1.
- Le volume total de biogaz (20,87 L) a montré que les eaux usées de l'abattoir ont fourni elles-mêmes les microorganismes nécessaires à la production de méthane.
- L'efficacité d'élimination de la DCOt, DCOs et DBO5 de 49,93 ; 65,85 et 82,22 % ont démontré le fort potentiel d'épuration de la mono-digestion anaérobie.

#### Références bibliographiques

- [1] T.H. Furley, J. Brodeur, H.C.S. de Assis, P. Carriquiriborde, K.R. Chagas, J. Corrales, M. Denadai, J. Fuchs, R. Mascarenhas, K.S. Miglioranza, D.M.M. Caramés, J.M. Navas, D. Nuggeoda, E. Planes, I.A. Rodriguez-orquera, M. Orozco-Medina, A.B. Boxall, M.A. Rudd, B.W. Brooks, Toward sustainable environmental quality: Identifying priority research questions for Latin America, *Integr. Environ. Assess. Manage.* 14 (2018) 344–357, <https://doi.org/10.1002/ieam.2023>.
- [2] C.G. Nwachukwu, Environmental sanitation situation in abattoirs in Onitsha metropolis, *Knowledge Rev.* 32 (2015) 37–44.
- [3] E.T. Ogbomida, B. Kubeyinje, L.I. Ezemonye, Evaluation of bacterial profile and biodegradation potential of abattoir wastewater, *Afr. J. Environ. Sci. Technol.* 10 (2016) 50-57–57., <https://doi.org/10.5897/AJEST2015.1945>.
- [4] C.F. Bustillo-Lecompte, M. Mehrvar, Treatment of an actual slaughterhouse wastewater by integration of biological and advanced oxidation processes: modeling, optimization, and cost-effectiveness analysis, *J. Environ. Manage.* 182 (2016) 651–666, <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.07.044>.
- [5] A.-N. Husam, A. Nassar, Slaughterhouses wastewater characteristics in the Gaza strip, *J. Water Resource Prot.* 11 (2019) 844, <https://doi.org/10.4236/jwarp.2019.117051>.
- [6] P.D. Jensen, S.D. Yap, A. Boyle-Gotla, J. Janoschka, C. Carney, M. Pidou, D.J. Batstone, Anaerobic membrane bioreactors enable high rate treatment of slaughterhouse wastewater, *Biochem. Eng. J.* 97 (2015) 132–141, <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.02.009>.
- [7] S. Wang, U. Jena, K.C. Das, Biomethane production potential of slaughterhouse waste in the United States, *Energy Convers. Manage.* 173 (2018) 143–157, <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2018.07.059>.
- [8] F. Ardestani, M. Abbasi, Poultry slaughterhouse wastewater treatment using anaerobic fluid bed reactor and aerobic mobile-bed biological reactor, *Int. J. Eng.* 32 (2019) 634–640, <https://doi.org/10.5829/ije.2019.32.05b.02>.
- [9] J. Vidal, A. Carvajal, C. Huiliñir, R. Salazar, Slaughterhouse wastewater treatment by a combined anaerobic digestion/solar photoelectro-Fenton process performed in semicontinuous operation, *Chem. Eng. J.* 378 (2019) 122097, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122097>.
- [10] H. Zamani, H. Golestani, S.M. Mousavi, R. Zhiani, M.S. Hosseini, Slaughterhouse Wastewater Treatment Using Biological Anaerobic and Coagulation-flocculation Hybrid Process, (2019), <https://doi.org/10.5004/dwt.2019.23914>.
- [11] K. Ziemiński, M. Frąc, Methane fermentation process as anaerobic digestion of biomass: transformations, stages and microorganisms, *Afr. J. Biotechnol.* 11 (2012) 4127–4139–4139, <https://doi.org/10.5897/AJBX11.054>.
- [12] S. Kavitha, S. Saji Pray, K.N. Yagalakshmi, S. Adish Kumar, I.-T. Yeom, J. Rajesh banu, Effect of chemo-mechanical disintegration on sludge anaerobic digestion for enhanced biogas production, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23 (2016) 2402–2414, <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5461-z>.

- [13] M. Solé-Bundó, M. Cucina, M. Folch, J. Tàpias, G. Gigliotti, M. Garfi, I. Ferrer, Assessing the agricultural reuse of the digestate from microalgae anaerobic digestion and co-digestion with sewage sludge, *Sci. Total Environ.* 586 (2017) 1–9, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.006>.
- [14] J.N. Meegoda, B. Li, K. Patel, L.B. Wang, A review of the processes, parameters, and optimization of anaerobic digestion, *Int. J. Environ. Res. Public Health* 15 (2018) 2224, <https://doi.org/10.3390/ijerph15102224>.
- [15] K.M. Cyril, K.A. Rodrigue, K. Essi, T. Albert, A. Agboue, Biochemical methane potential of food wastes from Akouedo Landfill, côte d'Ivoire, *Green Sustain. Chem.* 8 (2018) 288–293, <https://doi.org/10.4236/gsc.2018.83019>.
- [16] O. Yenigün, B. Demirel, Ammonia inhibition in anaerobic digestion: a review, *Process. Biochem.* 48 (2013) 901–911, <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.04.012>.
- [17] M. Kawai, N. Nagao, N. Kawasaki, A. Imai, T. Toda, Improvement of COD removal by controlling the substrate degradability during the anaerobic digestion of recalcitrant wastewater, *J. Environ. Manage.* 181 (2016) 838–846, <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.06.057>.
- [18] H. Bouallagui, B. Rachdi, H. Gannoun, M. Hamdi, Mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion of abattoir wastewater and fruit and vegetable waste in anaerobic sequencing batch reactors, *Biodegradation* 20 (2008) 401, <https://doi.org/10.1007/s10532-008-9231-1>.
- [19] J. Pagés-Díaz, I. Pereda-Reyes, J.L. Sanz, M. Lundin, M.J. Taherzadeh, I.S. Horváth, A comparison of process performance during the anaerobic mono- and co-digestion of slaughterhouse waste through different operational modes, *J. Environ. Sci.* 64 (2018) 149–156, <https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.06.004>.
- [20] P. Latifi, M. Karrabi, S. Danesh, Anaerobic co-digestion of poultry slaughterhouse wastes with sewage sludge in batch-mode bioreactors (effect of inoculum-substrate ratio and total solids), *Renew. Sustain. Energy Rev.* 107 (2019) 288–296, <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.03.015>.
- [21] K.V. Kouamé, A.C.D. Yapi, I.M. Bamba, S.A. Tidou, Evaluation of physico-chemical and algal properties in the Estuary Bay of Bietry in the neighborhood of Port-Bouet Slaughterhouse (Abidjan, Cote D'Ivoire), *Res. J. Environ. Sci.* 11 (2017) 58–64, <https://doi.org/10.3923/rjes.2017.58.64>.
- [22] M. Ortner, D. Wöss, A. Schumergruber, T. Pröll, W. Fuchs, Energy self-supply of large abattoir by sustainable waste utilization based on anaerobic mono-digestion, *Appl. Energy* 143 (2015) 460–471, <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2015.01.039>.
- [23] J. Rodier, B. Legube, N. Merlet, C. Alary, A. Belles, L'analyse de l'eau Contrôle et interprétation, in: (2016), p. 1297.
- [24] S.R. Jenkins, J.M. Morgan, C.L. Sawyer, Measuring anaerobic sludge digestion and growth by a simple alkalimetric titration, *J. (Water Pollut. Control Federation)* 55 (1983) 448–453 <https://www.jstor.org/stable/25041903>.
- [25] R.E. Speece, Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment, *Environ. Sci. Technol.* 17 (2008) 416–427, <https://doi.org/10.1021/es00115a001>.
- [26] Y. Chen, J.J. Cheng, K.S. Creamer, Inhibition of anaerobic digestion process: a review, *Bioresour. Technol.* 99 (2008) 4044–4064, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.057>.
- [27] P. Antwi, J. Li, P.O. Boadi, J. Meng, F. Koblah Quashie, X. Wang, N. Ren, G. Buelna, Efficiency of an upflow anaerobic sludge blanket reactor treating potato starch processing wastewater and related process kinetics, functional microbial community and sludge morphology, *Bioresour. Technol.* 239 (2017) 105–116, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.124>.
- [28] R.A. Labatut, J.L. Pronto, Chapter 4 - sustainable waste-to-energy technologies: anaerobic digestion, in: T.A. Trabold, C.W. Babbitt (Eds.), *Sustainable Food Waste-To-Energy Systems*, Academic Press, 2018, pp. 47–67, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811157-4.00004-8>.
- [29] R.A. Labatut, C.A. Gooch, Monitoring of Anaerobic Digestion Process to Optimize Performance and Prevent System Failure, (2014) <https://ecommons.cornell.edu/handle/1813/36531>.
- [30] R. Loganath, D. Mazumder, Performance study on organic carbon, total nitrogen, suspended solids removal and biogas production in hybrid UASB reactor treating real slaughterhouse wastewater, *J. Environ. Chem. Eng.* 6 (2018) 3474–3484, <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.05.031>.
- [31] V. Córdoba, M. Fernández, E. Santalla, The effect of different inoculums on anaerobic digestion of swine wastewater, *J. Environ. Chem. Eng.* 4 (2016) 115–122, <https://doi.org/10.1016/j.jece.2015.11.003>.
- [32] Ia.M. Swinnen, K. Bernaerts, J.F.V. Impe, Modelling the work to be done by *Escherichia coli* to adapt to sudden temperature upshifts, *Lett. Appl. Microbiol.* 42 (2006) 507–513, <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.01896.x>.
- [33] M. Yazdani, M. Ebrahimi-Nik, A. Heidari, M.H. Abbaspour-Fard, Improvement of biogas production from slaughterhouse wastewater using biosynthesized iron nanoparticles from water treatment sludge, *Renew. Energy* 135 (2019) 496–501, <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.12.019>.
- [34] F. Ometto, A. Karlsson, J. Ejlerthsson, A.V. Bjorn, S.Y. Shaker, Anaerobic digestion: an engineered biological process, *Anaerobic Digestion: An Engineered Biological Process*, (2019), pp. 63–74 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128155547000052>.

## Valorisation des résidus de feuilles de *Lippia multiflora* après extraction de l'huile essentielle

Sibiri Ferdinand Sanou<sup>1\*</sup>, Yaya Soro<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut National Polytechnique Félix HOUPOUET-BOIGNY (INPHB), Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), BP 1093 Yamoussoukro, cote d'ivoire

**Résumé :** *Lippia multiflora* est une plante aromatique utilisée non seulement pour ses extraits volatils (huiles essentielles)[1], mais aussi pour ses extraits non volatils, tous 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]. Pour apporter des explications scientifiques à ces activités biologiques, les teneurs en flavonoïdes totaux et en polyphénols totaux des échantillons de feuilles de *Lippia multiflora* avant et après extraction de l'huile essentielle ont été déterminées. Ainsi les échantillons de feuilles ont été séchés, broyés puis macérés dans un mélange éthanol/eau (70/30). Les extraits hydroéthanoliques (1) et (2) ont été fractionnés par différents solvants à polarités croissantes. Les résultats de l'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux obtenus ont montré que 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'évaluation des activités antioxydantes montre dans l'ensemble une faible activité comparée à celle du témoin. L'élucidation des structures de ces flavonoïdes augmenterait l'intérêt pour ces résidus de feuilles.

**Mots clés :** *Lippia multiflora*, Huile essentielle, Flavonoïdes totaux.

### Abstract

*Lippia multiflora* is an aromatic plant used not only for its volatile extracts (essential oils) [1], but also for its non-volatile extracts, both rich in bioactive molecules. However, after the extraction of the essential oil, the residues which represent more than 98% of the plant organ [2] are very often neglected. Yet extracts of these residues have shown very good biological activities [3]. To provide scientific explanations for these biological activities, the total flavonoid and total polyphenol contents of *Lippia multiflora* leaf samples before and after extraction of the essential oil were determined. Thus, the leaf samples were dried, ground and then macerated in an ethanol/water mixture (70/30). The hydroethanol extracts (1) and (2) were fractionated by different solvents with increasing polarities. The results of the quantitative estimation of the total polyphenols obtained and of the total flavonoids showed that the flavonoid contents increase with the extraction of the essential oil in spite of the decrease of those of the total polyphenols in the hydroethanolic extracts. The evaluation of antioxidant activities shows over all a low activity compared to the control. Elucidation of the structures of these flavonoids would increase the interest in these leaf residues.

**Keywords :** *Lippia multiflora*, Essential oil, Total flavonoids.

### 1. 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 environ 80 % de la population des pays en développement [4]. Elles sont utilisées sur le plan économique, alimentaire, social, environnemental et médicinal [5]. Les plantes aromatiques sont utilisées aussi bien pour leurs extraits non volatils que pour leurs extraits volatils (huiles essentielles), avec une teneur en huile essentielle relativement faible. Toutefois, l'utilisation massive des plantes pourraient provoquer leur disparition. Dès lors il faut développer des moyens pour la gestion durable des espèces.

Les plantes aromatiques en général et en particulier *Lippia multiflora* sont utilisées non seulement pour leurs extraits volatils (huiles essentielles) [6], mais aussi pour leurs extraits non volatils, tous les deux riches en molécules bioactives. *Lippia multiflora* est une espèce très riche en minéraux, en vitamines A, C et contenant des fibres et des substances polyphénoliques ; ces feuilles sont utilisées dans la pharmacopée africaine pour le traitement de l'insuffisance hépatique, de la fièvre, de l'hypertension artérielle et de la malaria. L'huile essentielle possède des activités insecticides [7], antimicrobienne [8], antioxydante et antiradicalaire [9], sédative et analgésique [10].

Cependant, après l'extraction de l'huile essentielle, les résidus qui représentent plus de 98% de l'organe de la plante [11] sont très souvent négligés. Pourtant les extraits de ces résidus ont montré de très bonnes activités biologiques [12]. Dès lors, il s'est posé la question de recherche suivante : Que deviendront les 98% de composés bioactifs non volatils après extraction de l'huile essentielle ?

Ce qui nous a conduit à la problématique de l'optimisation de l'emploi de la plante par la valorisation de ces composés non volatils après extraction de l'huile essentielle.

L'objectif principal visé est de montrer que les résidus de feuilles de *Lippia multiflora* après extraction de l'huile essentielle sont une source potentielle de molécules bioactives ; cela va se faire en extrayant et quantifiant les différentes familles de métabolites secondaires présents dans les deux matrices végétales d'une part et d'autre part en évaluant les propriétés biologiques.

## 2. Matériel et méthodes

Les feuilles de *Lippia multiflora* ont été récoltées en Aout 2018 à Yamoussoukro dans le village de Djamlabo au centre de la Côte d'Ivoire. 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.

Les feuilles sèches avant et après extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation, ont été broyées 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 colorés à 4 °C jusqu'à leur utilisation ultérieure.

### 2.1. Préparation des extraits hydroalcooliques totaux

Les extraits hydroalcooliques totaux ont été préparés selon la méthode décrite par Yapi Yayé et al [13]. 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 ( $E_{HA1}$ ) et après ( $E_{HA2}$ ) extraction de l'huile essentielle

### 2.2. 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 [14]. 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.

### 2.3. Dosages des polyphénols et flavonoïdes totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon la méthode décrite par Wood *et al* [15]. A un volume de 30µL d'extrait ont été ajoutés 2,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/10<sup>e</sup>. 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<sup>e</sup> 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* [16]. 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).

### 2.4. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits et fractions

#### 2.4.1. Par la méthode d'inhibition du radical cation DPPH

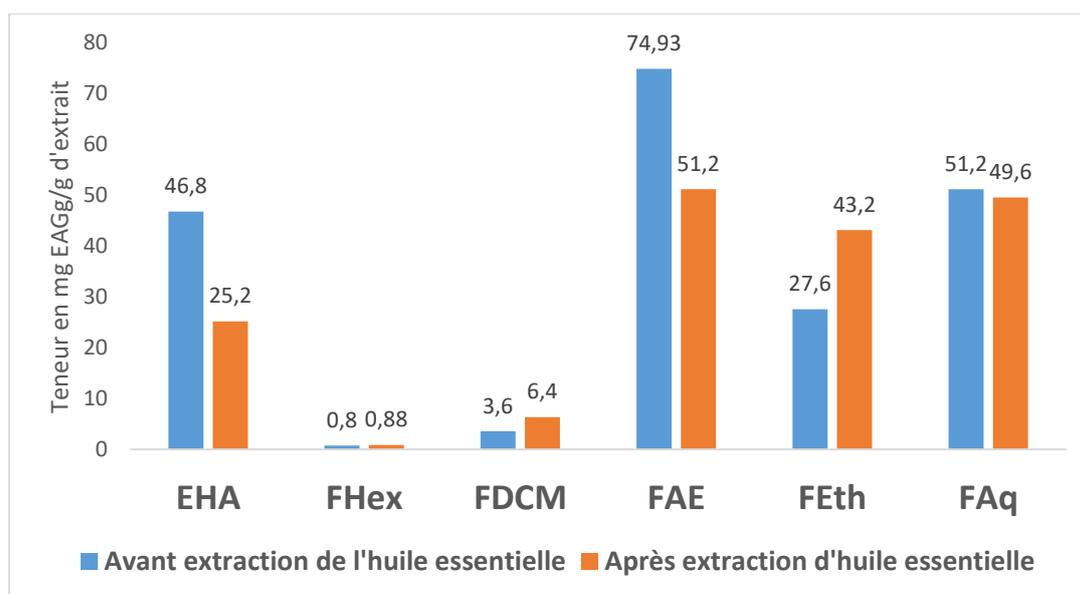
La méthode décrite par Benhammou *et al*, (2007) a été utilisée avec une légère modification pour la détermination du potentiel antioxydant [17]. 50 µL de l'extrait hydroalcoolique, des fractions et de l'acide ascorbique a été ajouté à 1950 µL de la solution méthanolique de DPPH. Le mélange est bien 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 ;  $A_0$  = absorbance du blanc. Le paramètre communément utilisé pour exprimer cette activité est la concentration inhibitrice à 50 %  $CI_{50}$ .

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Dosage des polyphénols totaux

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 46,8 et 25,2 mg EAG/g d'extrait selon la figure 3. Cette baisse serait liée au caractère hydrosoluble des composés phénoliques [qui auraient été extraits en partie par l'eau florale pendant l'hydrodistillation [18]. Nous observons que les polyphénols sont généralement bien extraits avec un solvant polaire (éthanol, méthanol) que les solvants non / moins polaires [19]. Les teneurs en polyphénols totaux des différentes fractions avant et après extraction de l'huile essentielle varient respectivement de 0,80-74,93 et 0,88-51,20 mg EAG/g de la fraction. De façon générale, les teneurs en polyphénols totaux diminuent avec l'extraction de l'huile essentielle pour les fractions à l'acétate d'éthyle et à l'eau mais augmentent avec l'extraction de l'huile essentielle pour les fractions à l'hexane, au dichlorométhane et à l'éthanol. Cette augmentation de la teneur en polyphénols totaux extraits par l'hexane, le dichlorométhane et l'éthanol serait probablement liée à la transformation de certains glycosides hydrosolubles en génines, par perte de leurs sucres, sous l'effet de la chaleur [20] ce qui les rendrait plus solubles dans les solvants [21]. La fraction acétate d'éthyle (FAE), dont les teneurs avant et après sont respectivement de  $74,93 \pm 0,07$  et  $51,20 \pm 0,00$  mg EAG/g, reste le solvant qui extrait le maximum de composés phénoliques suivi de l'eau (FAq) ( $51,2 \pm 0,01$  et  $49,6 \pm 0,03$  mg EAG/g). Cependant, ces teneurs sont plus élevées dans les fractions à l'acétate d'éthyle après extraction de l'huile essentielle. 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 *Lippia multiflora* ni d'autres plantes afin de les comparer à nos résultats.



**Figure 1 :** Teneurs en polyphénols totaux des extraits hydroéthanoliques et des fractions avant et après extraction de l'huile essentielle

#### 3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 2. Les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits hydroalcooliques (EHA) de feuilles de *Lippia multiflora* avant et après extraction de l'HE sont respectivement de  $20,4 \pm 0,39$  et  $27,6 \pm 0,22$  mg EQ/g 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 [22] [20]. Cette augmentation de la teneur en flavonoïdes est en accord avec l'accentuation des activités antifongiques de l'extrait

hydroalcoolique des feuilles de *Lippia multiflora* après extraction de l'huile essentielle telle que rapportée par nos travaux antérieurs [13].

En effet, les flavonoïdes sont reconnus pour leurs propriétés antioxydant et antifongiques [24]. Les teneurs en flavonoïdes totaux des différentes fractions avant et après extraction de l'huile essentielle sont respectivement de 2,4-66,4 et 2,8-56,8 mg EQ/g de la fraction.

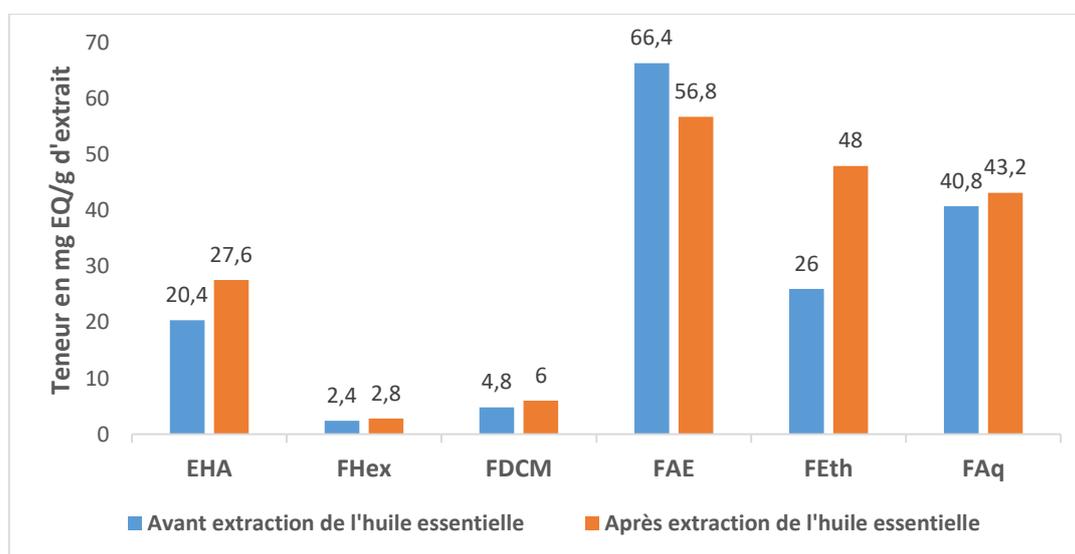
De façon générale, Les flavonoïdes sont beaucoup plus abondants après extraction de l'huile essentielle exceptée dans les fractions à l'acétate d'éthyle où l'on note une diminution de la teneur en flavonoïdes de 66,4 à 56,8mg EQ/g de la fraction. Cette diminution de la teneur en flavonoïdes dans la fraction à l'acétate d'éthyle après extraction de l'huile essentielle serait due à l'extraction d'une certaine quantité de flavonoïdes glycosylées hydrosolubles par l'acétate d'éthyle au cours de l'hydrodistillation [23].

Les fractions à l'acétate d'éthyle ( $F_{AE}$ ) avant et après extraction de l'HE ( $66,4 \pm 0,026$  à  $56,80 \pm 0,017$  mg EQ/g) sont les plus riches en flavonoïdes suivies des fractions aqueuses ( $40,8 \pm 0,01$  à  $43,2 \pm 0,01$  mg EQ/g) et éthanolique ( $F_{Eth}$ ) ( $26 \pm 0,017$  à  $48 \pm 0,01$  mg EQ/g).

D'autres parts les fractions apolaires (Hexane et Dichlorométhane) ont montrés des valeurs voisines et 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 [26].

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 *Lippia multiflora* ni d'autres plantes afin de les comparer à nos résultats.



**Figure 3 :** Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits hydroéthanoliques et des fractions avant et après extraction de l'huile essentielle.

### 2.3 Activité antioxydante des extraits hydroalcooliques et des fractions par inhibition du radical DPPH

D'après le **tableau 1** L'étude de l'activité antioxydant des fractions issues des différents extraits hydroéthanoliques selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH, exceptées les fractions à l'hexane et au dichlorométhane, a montré que ces fractions ont toutes une concentration inhibitrice  $IC_{50}$  élevée par rapport à celle de l'acide ascorbique exceptées la fraction éthanolique avant extraction de l'huile essentielle qui a une  $IC_{50}$  faible de l'ordre de  $0,04316 \mu\text{g/mL}$ . Les extraits hydroalcooliques (EHA) de feuilles de *Lippia multiflora* avant et après extraction de l'HE présentent des valeurs d' $IC_{50}$  très largement différentes. L'extrait après extraction de l'huile essentielle a une  $IC_{50}$  ( $242 \mu\text{g/mL}$ ) inférieure à celle d'avant extraction de l'HE ( $1317 \mu\text{g/mL}$ ), donc une grande activité antioxydante ; cela pourrait s'expliquer par le fait que cet extrait présente une richesse en flavonoïdes par rapport à l'autre.

La fraction à l'éthanol présente la plus faible valeur d' $IC_{50}$  ( $0,04316 \mu\text{g/mL}$ ) avant l'extraction de l'HE et la plus grande valeur après extraction comparés aux autres fractions ; suivi de la fraction à l'acétate d'éthyle qui a pour  $IC_{50}$  ( $127,8 \mu\text{g/mL}$  et  $151,5 \mu\text{g/mL}$ ) respectivement avant et après extraction de l'HE. L'accentuation des activités antioxydante et antibactériennes après extraction de l'huile essentielle [12] serait probablement due aux flavonoïdes. Les résultats de l'estimation quantitative des polyphénols totaux obtenus par la méthode de Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes totaux par la méthode au trichlorure d'aluminium, ont montré que les fractions à l'acétate d'éthyle sont

riches en ces composés par rapport aux autres fractions dans les deux échantillons. Ces fractions ont la capacité de piéger le radical DPPH avec une IC<sub>50</sub> de 127,8 et 151,5 µg/mL pour les extraits et montrent une activité inférieure à celle de l'acide ascorbique (122,7µg/mL). L'activité anti oxydante de fraction éthanolique avant extraction de l'huile essentielle est supérieure à celle de l'acide ascorbique. Par conséquent les fractions éthanoliques sont les plus actifs des différentes fractions. Dans cette considération, Constantin M. Dabire et al ont déclaré dans une étude sur les feuilles de *Lippia multiflora* du Burkina Faso que l'extrait brut à l'éthanol (IC<sub>50</sub> = 38,2 µg / mL) est l'extrait le plus actif comparé aux extraits au DCM (IC<sub>50</sub> = 175) et à l'acétate d'éthyle (IC<sub>50</sub> = 370 µg / mL), voire à l'acide ascorbique (IC<sub>50</sub> = 80,33 µg / mL) utilisé comme contrôle positif [27]. Il est de constater que les teneurs en polyphénols et particulièrement en flavonoïdes ne concordent pas avec les valeurs de l'activité antioxydante. Cela peut être dû à la présence d'autres métabolites secondaires responsables de cette activité antioxydante. Nous n'avons pas trouvé dans la littérature d'études axée sur la détermination de l'activité anti oxydante des fractions après extraction de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* ni d'autres plantes par la méthode DPPH afin de les comparer à nos résultats.

**Tableau 1 :** Valeurs des IC<sub>50</sub> des extraits, des fractions et du standard des feuilles de *Lippia multiflora* avant et après extraction de l'huile essentielle.

Extraits ou Fractions	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
Extrait HA 1	131754416
Extrait HA 2	242
Fraction AE 1	127,8
Fraction AE 2	151,5
Fraction Eth 1	0,04316
Fraction Eth 2	265838310
Fraction Aq 1	232,4
Fraction Aq 2	364,7
Acide ascorbique	122,7

HA : hydroalcoolique ; AE : acétate d'éthyle ; Eth : ethanol ; Aq : Aqueuse  
(1) Avant extraction d'HE et (2) Après extraction d'HE

#### 4. Conclusion

Nous disons que ce travail de recherche a permis d'établir que les feuilles de *Lippia multiflora* après extraction de l'huile essentielle d'une part contiennent la quasi-totalité des composés recherchés avec une facilitation de leur extraction après le départ de l'huile essentielle. D'autre part, ces résidus ont une bonne teneur en polyphénols et surtout en flavonoïdes. Ce qui justifierait leur activité antifongique et antioxydante. En somme, les résidus de feuilles de *Lippia multiflora* après extraction de l'huile essentielle sont une source potentielle de molécules bioactives.

#### 1- Bibliographie

- [1] Bayala B., 2014. Etude des propriétés antioxydantes, 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 de glioblastomes, Thèse de doctorat, Université BLAISE PASCAL.
- [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] 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
- [5] Baumer M., 1995. Arbres, arbustes et arbrisseaux nourriciers en Afrique occidentale. ENDA Editions, Dakar, p.260-266.
- [6] 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 de glioblastomes, Thèse de doctorat, Université BLAISE PASCAL
- [7] Bruneton J. 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. 3<sup>ème</sup> édition, *Lavoisier Tec. & Doc, Paris (France)* Paris, 1120 P.

- [8] G Lucchesi M.E.;Extraction Sans Solvant Assistee Par Micro-Ondes: Conception Et Application A L'Extraction Des Huiles Essentielles ; Thèse De Doctorat En Science ; Université De La Réunion ; 2005, P: 14-23.
- [9] Santos-Buelga, C. & Scalbert, A., « Proanthocyanidins and Tannin-Like Compounds-Nature, Occurrence, Dietary Intake and Effects on Nutrition and Health », Dans *J. Sci. Food Agric.*, 2000, (80), P.1094-1117.
- [10] Harbone J.B. 1998, Phytochemical Methods, A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis; *New York, ISBN:0-412-57260-5*.
- [11] 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, Israel. pp. 99-116.
- [12] GOLY K. R. C., **2015**. Thèse de doctorat, Activités antimicrobiennes d'extraits de feuilles de *Hyptis suaveolens* (Poir) et de *Lippia multiflora* (Moldenke) et application à la conservation du poisson maquereau (*Scomber scombrus* Linnaeus, 1758) fume, Université Nangui ABROGOUA, 157p.
- [13] 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.
- [14] Bouamama H, Noël T, Villard J, Benharref A and Jana M. Antimicrobial activities of the leaf extracts of two Moroccan *Cistus* L. species. *J. Ethnopharmacol.* (2006) 104(1-2), 104–107.
- [15] Wood JE, Senthilmohana ST, Peskin AV. Antioxidant activity of procyanidin-containing plant extracts at different pHs. *Food Chemistry* (2002) 7(2),155–161.
- [16] 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.
- [17] Benhammou et al 2017
- [18] Bonnaille, 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
- [19] Turkmen N, Sari F, Velioglu YS, *Food Chem*, 2005, 99, 835-841.
- [20] Muyonga JH, Andabati B & Ssepuuya G. Effect of heat processing on selected grain amaranth physicochemical properties. *Food Science & Nutrition* (2014) 2(1), 9-16.
- [21] Munin A and Edwards-Lévy F. Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds; a Review. *Pharmaceutics* (2011) 3(4), 793–829.
- [22] Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales 4e ed. 1999, Paris.
- [23] 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-resistant bacteria. *Rasayan J. Chem.* (2015) 8(4), 396–403.
- [24] Konaté K, Hilou A, Mavoungou JF, Lepengué AN, Souza A, Barro N, Datté JY, M'Batchi B and Nacoulma OG. Antimicrobial activity of polyphenol-rich fractions from *Sida alba* L. (4alvaceae) against cotrimoxazolresistant bacteria strains. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* (2012) 11(5), 1-6.
- [25] 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.
- [26] Marco GJ. A rapid method for evaluation of antioxidants. *J. Am. Oil Chem.* (1968) 45.
- [27] Constantin M. Dabire, Rémy K. Bationo, Adama Hema, Roger C.H. Nebie, Eloi Pale, S. P. Dhanabal et Mouhoussine Nacro teneur totale en composés phénoliques, profil des flavonoïdes et activité antioxydante des extraits de feuilles de *lippia multiflora* du Burkina faso. *Asian J. Plant Sci. Res.*, 2015, 5(5):28-33.

## Dépollution des sols contaminés du site d'orpaillage à Komabangou (Niger)

<sup>1\*</sup>Alassane Boukari Soumaila ; <sup>1</sup>soro Yaya ; <sup>2</sup>Tankari Dan Badjo Abdourahamane

<sup>1</sup> Ecole Doctorale Polytechnique de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny. Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN),

<sup>2</sup>Département Science des sols, Faculté d'Agronomie, Université Abdou Moumouni de Niamey, Niger, BP: 10960 Niamey.

### Résumé :

Au Niger, l'exploitation artisanale aurifère ou orpaillage est devenue une activité en pleine expansion. Elle occupe une place prépondérante dans les économies du Liptako nigérien en général et particulièrement de la zone de Komabangou (IPEC, 2009). Dans la région de Tillabéri, précisément à Komabangou la recherche d'or coexiste avec les activités d'agroforesterie. Cependant, Tankari Dan-Badjo et al. (2019) ont montré que les eaux et les sols de Komabangou sont pollués par des métaux lourds. Lorsqu'ils sont en excès dans le milieu, ils peuvent être toxiques, atteindre la chaîne alimentaire et présenter des risques pour la santé humaine (Smouni et al., 2010; Sonter et al., 2018). L'objectif est d'effectuer la phytoremediation comme méthode afin de garantir le retour de couvert végétal, les activités de l'agriculture en utilisant certaines espèces végétales in situ accumulatrices des métaux. Les analyses au Fluorescence à Rayon X (XRF) des sols prélevés destinés aux cultures d'expérimentations, donnent ces résultats : Zn (5552,88 mg/kg) ; As (11,51 mg/kg) ; Cu (166,13 mg/kg) ; Pb (12,34mg/kg) etc. Leurs Index de Pollution IP > 1, les teneurs dépassent les normes (Tankari Dan-Badjo et al., 2019). En vue de remédier ce fléau, un plan d'expérimentation sera utilisé sur certaines des espèces végétales évoluant sur le site. L'analyse à la spectrométrie (ICP-MS) permettra d'évaluer le traitement des sols et les espèces végétales cultivées.

**Mots clés :** Dépollution ; Métaux Lourds ; Phytoremediation ; Komabangou.

## Remediation of contaminated soil at the Komabangou gold panning site (Niger)

### Abstract

In Niger, artisanal gold mining or gold panning has become a rapidly expanding activity. It occupies a predominant place in the economies of Niger's Liptako region in general and the Komabangou area in particular (IPEC, 2009). In the Tillabéri region, specifically in Komabangou, gold mining coexists with agroforestry activities. However, Tankari Dan-Badjo et al., (2019) have shown that the water and soil of Komabangou are polluted by heavy metals. When they are in excess in the environment, they can be toxic, reach the food chain, and pose risks to human health (Smouni et al., 2010; Sonter et al., 2018). The objective is to perform phytoremediation as a method to ensure the return of vegetation cover, agriculture activities using some in situ plant species accumulators of metals. The X-ray Fluorescence (XRF) analyses of the soils collected for the experimental crops gave these results: Zn (5552.88 mg/kg); As (11.51 mg/kg); Cu (166.13 mg/kg); Pb (12.34 mg/kg) etc. Their IP Pollution Index > 1, the levels exceed the standards (Tankari Dan-Badjo et al., 2019). In order to remedy this scourge, an experimental design will be used on some of the plant species evolving on the site. The spectrometry analysis (ICP-MS) will allow to evaluate the treatment of the soils and the cultivated plant species.

**Keywords:** Depollution; Heavy Metals; Phytoremediation; Komabangou.

### 1. Introduction

La question sur le changement climatique, la contamination de l'environnement et la dégradation du milieu naturel, sont au centre des débats dans le monde (Gado et al., 2018). L'une des plus grands facteurs économiques qui constitue une source de revenus pour un nombre important des populations dans plusieurs pays africains tout en suscitant de nombreux espoirs de développement est l'exploitation minière (Tankari Dan-Badjo et al., 2019). Les principales sources de pollution atmosphérique sont les productions industrielles, la combustion de combustibles fossiles. Aujourd'hui l'exploitation minière artisanale de l'or est reconnue par tous utilise des méthodes inadéquates et des substances peu respectueuses de l'environnement comme le mercure et le cyanure (Tankari Dan-Badjo et al., 2015). Elle génère énormément de pollution des sites dont la contamination du sol et de l'eau par divers produits chimiques. Pour réduire les polluants contenus dans les sols, tout en favorisant un aménagement paysager, la phytoremediation est utilisée comme méthode moins onéreuse.

### 2. Matériels et méthodes

La zone d'étude est le site d'orpaillage de Komabangou, situé dans la région de Tillabéri, à environ 150 km au Nord-Ouest de la ville de Niamey. De Niamey, il est accessible via la route bitumée de Tillabéri, ou celle de Namaro, le bac Farié, la route nationale N°103 vers Dargol et Boura, puis par la piste (26 km) latéritique à sablonneuse jusqu'au site. C'est une vaste zone à forte densité d'indices et d'anomalies géochimiques aurifères. Les échantillons des sols ont été collectés sur les trois 3 sites différents. Le Site se trouvant entre la latitude 14°01'41'' et 14°07'56'' Nord et la longitude 01°02'12'' et 01°10'00'' Est (Figure 1).

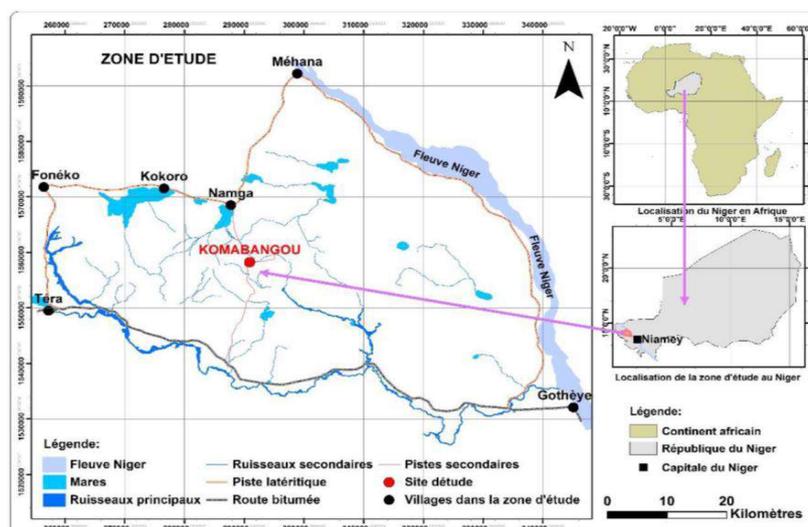


Fig.1:Localisation du site aurifère de Komabangou. (Tankari Dan-Badjo et al., (2019)

### 2.1. Prélèvement des échantillons des sols

Les échantillons sont prélevés sur la classe de sol, ces prélèvements sont effectués de deux manières suivantes :

- Pour les échantillons destinés aux analyses, le sol (de 0 à 1 kg) est prélevé suivant une profondeur de 0 à 30 cm de manière graduelle.
- Pour les échantillons destinés aux tests de cultures des espèces végétales, le prélèvement de sol d’une quantité d’environ 10 kg est effectué sur une profondeur (0 à 30 cm), acceptable pour les cultures maraichères.

### 2.2. Détermination des taux des métaux lourds dans les sols

La concentration des métaux lourds dans les échantillons des sols a été déterminée par spectrométrie de Fluorescence à Rayon X.

### 3. Résultats

Les résultats obtenus par l’analyse à la spectrométrie de Fluorescence à Rayon X des sols prélevés sur la profondeur variant de 0-30 cm sont présentés dans le tableau 1. La figure 2 donne la représentation en Histogramme des certains éléments traces métalliques (Zinc, Arsenic Cuivre Plomb).

Tab. 1. Teneur (mg/kg) des éléments traces métalliques de sols (0-30 cm)

Metaux lourds	Zinc	Arsenic	Cuivre	Plomb
Teneur (mg/kg)	5552,88	11,51	166,13	12,34

IP = 5,55

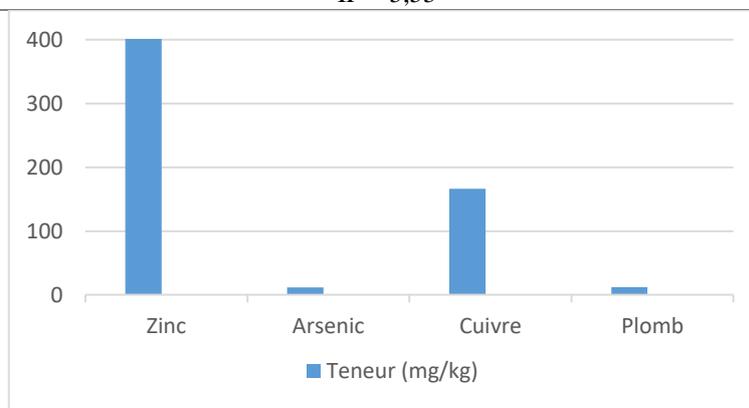


Fig. 2. Histogramme des ETM (0-30cm)

#### 4. Discussion

L'étude révèle la présence de métaux lourds dans le sol. Les concentrations en Zinc en plomb et en arsenic en cuivre.

L'interprétation du tableau nous permet de dire que l'index de pollution calculé de la zone minière à savoir le site de Komabangou est pollué. L'index de pollution IP est supérieur à 1 ( $IP > 1$ ).

Le calcul de l'index de pollution de ces éléments est donné selon Chon *et al.* (1998) :  $IP = ((Pb/100) + (As/6) + (Zn/300) + (Cu/100))/4$

On constate, au niveau des échantillons la teneur en Pb enregistrée ne dépasse pas valeur critique en Pb qui est 100 mg/kg indiquée par l'OMS. Les plus fortes concentrations en ETM obtenues sont détectés dans la zone minière montre que l'orpaillage est une source de pollution des sols. Les teneurs élevées en Zn peuvent s'expliquer non seulement par le fait que les minerais de Zn comme la blende (ZnS) sont intimement associés aux minerais d'or mais aussi par l'utilisation des copeaux de zinc pour la cémentation de l'or ; copeaux qui sont parfois déversés au sol sur les sites miniers (Tankari Dan-Badjo *et al.*, 2019).

#### 5. Conclusion

Cette étude a montré que les sols avaient des concentrations élevées en Zinc, Cuivre et en Arsenic. De manière générale, les valeurs des métaux dans le sol ont dépassé les valeurs normes notamment celui de de l'Arsenic fixé à 6 mg/kg, et celui de zinc fixé à 300 mg/kg comme seuil par OMS. Cependant, à valeurs de Plomb ne dépasse pas la limite qui est de 100mg/kg. Le calcul de l'index de pollution a indiqué qu'il y avait une pollution des métaux (Zinc, Cuivre, plomb et arsenic) dans le sol de Komabangou.

#### 6. Références bibliographiques :

Chon HT, Ahn JS, Jung MC. 1998. Seasonal variations and chemical forms of heavy metals in soils and dusts from the satellite cities of Seoul, Korea. *Environmental Geochemistry and Health* 20(2) : 77-86 DOI: 10.1023/A:1006593708464.

Gado, F., Tankari, A., Tankari Dan-Badjo, A., Guero, Y., 2018. Phytoremediation by *Cyperus esculentus* of soils polluted by Metallics Traces Elements Phytoremédiation par *Cyperus esculentus* de sols pollués par les Eléments Traces Métalliques 2, 55–62.

IPEC (Programme international pour l'abolition du travail des enfants) 2009. Sécurité et optimisation des techniques d'exploitation et de traitement sur les sites d'orpaillage de Komabangou et M'Banga. Rapport d'étude de l'OIT (Organisation International de Travail).

Smouni A., Ater M., Auguy F., Laplaze L., El Mzibri M., Berhada F., Filali-Maltouf A., Dumas P. 2010. Evaluation de la contamination par les éléments-traces métalliques dans une zone minière du Maroc oriental. *Cah Agric*, vol. 19 • N° 4 • juillet-août 2010.

Sonter, L.J., Gourevitch, J., Koh, I., Nicholson, C.C., Richardson, L.L., Schwartz, A.J., Singh, N.K., Watson, K.B., Maron, M., Ricketts, T.H., 2018. Biodiversity offsets may miss opportunities to mitigate impacts on ecosystem services. *Front. Ecol. Environ.* 16, pp.143–148. <https://doi.org/10.1002/fee.1781>.

Tankari Dan-Badjo, A., Ibrahim, O.Z., Guéro, Y., Morel, J.L., Feidt, C., Echevarria, G., 2019. Impacts of artisanal gold mining on soil, water and plant contamination by trace elements at Komabangou, Western Niger. *J. Geochem. Explor.* 205, 106328. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2019.06.010>

Tankari Dan-Badjo, A., Tidjani, D., Idder, T., Guero, Y., Dan Lamso, N., Matsallabi, A., Ambouta, J., Feidt, C., Sterckeman, T., Echevarria, G., 2015. Diagnostic de la contamination des eaux par les éléments traces métalliques dans la zone aurifère de Komabangou – Tillabéri, Niger. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 8, 2849. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v8i6.41>

## Optimisation de la production du biométhane à partir des déchets organiques du Niger pour une valorisation énergétique

Karidio Daouda I. Oumoul-Kairou<sup>1\*</sup>, Tsuanyo David<sup>2</sup>, Kouakou Adjoumani<sup>3</sup>, Yao Kouassi Benjamin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire des procédés Industriels, de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles : Institut National Polytechniques Felix Houphouët Boigny (INP-HB), Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

<sup>2</sup> Ministère de la Recherche Scientifique et de l'Innovation, Yaoundé, Cameroun.

<sup>3</sup> Laboratoire de Thermodynamique et de Physico-Chimie du Milieux, Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire.

**Résumé :** Estimé à plus de 2 milliards de tonnes en 2018, le gisement mondial en déchets est devenu important en raison de la croissance démographique [1]. La biométhanisation constitue une méthode de traitement des déchets municipaux fermentescibles [2]. Cependant, le rendement faible en méthane dû à des problèmes opérationnels, à la caractérisation des déchets et à l'instabilité des processus empêche cette technologie d'être largement appliquée. Ce travail analyse les paramètres statiques et dynamiques influençant le rendement du biogaz pour en assurer une optimisation de production. Le biogaz est constitué approximativement de 50-70% de CH<sub>4</sub> ; 30-50% de CO<sub>2</sub> des traces d'autres gaz [3][4]. Des solutions d'amélioration de la production du CH<sub>4</sub> incluent les techniques de pré-traitement, de co-digestion, la conception des biodigesteurs multi-étages et la maîtrise des facteurs influençant le rendement. Ces facteurs sont : le pouvoir méthanogène, le ratio C/N, la température et le pH. C'est dans cette optique que les caractéristiques physico-chimiques des substrats ont été déterminés afin de choisir les substrats satisfaisant les critères de production. Ainsi sur sept substrats caractérisés, quatre sont retenus pour la suite du travail. Il s'agira ensuite d'établir un plan expérimental de mélange. Ces travaux apporteront une contribution au problème d'ordre énergétique, sanitaire et environnementale.

**Mots clés :** Biométhane ; Déchets organiques ; Optimisation ; Valorisation énergétique

## Optimization of biomethane production from organic waste for energy valorization

**Abstract:** Estimated at more than 2 billion tons in 2018, the world's waste supply has become significant due to population growth [1]. Biomethanization is a method for treating fermentable municipal waste [2]. However, the low methane yield due to operational problems, waste characterization and process instability prevents this technology from being widely applied. This work analyzes the static and dynamic parameters influencing the biogas yield to ensure an optimization of its production. Biogas consists of approximately 50-70% CH<sub>4</sub> ; 30-50% CO<sub>2</sub> and traces of other gases [3][4]. Solutions to improve CH<sub>4</sub> production include pre-treatment techniques, co-digestion, multi-stage biodigester design and control of factors influencing yield. These factors are : methanogenic potential, C/N ratio, temperature and pH. It is in this perspective that the physico-chemical characteristics of the substrates were determined in order to choose the substrates satisfying the production criteria. Thus on seven characterized substrates, four are retained for the continuation of the work. It will then be necessary to establish an experimental plan of mixture. This work will contribute to the problem of energy, health and environment.

**Keywords:** Biogas; Energy valorization; Optimization; Organics waste.

### 1. Introduction

La gestion des déchets solides municipaux est une préoccupation majeure, en raison de leurs effets négatifs sur l'environnement et sur le développement durable. Les gisements sont devenus beaucoup plus importants en raison de la croissance de l'économie mondiale et de la démographie galopante [1]. La gestion inefficace de ceux-ci est à l'origine de nombreux problèmes environnementaux et des risques sanitaires. Ainsi depuis quelques années, la nécessité de réduire la dépendance vis-à-vis des ressources fossiles et d'assurer une gestion optimale des déchets a accentué la réflexion sur les procédés de production des bioressources surtout dans certains pays d'Afrique. C'est le cas du Niger où la gestion des déchets agricoles, industrielles, domestiques, artisanales, boues d'épurations et par extension la salubrité urbaine est un problème majeur, en raison de leurs effets sur l'environnement et le développement durable. Par ailleurs nous remarquons un déficit énergétique prononcé et marqué par les coupures intempestives de l'énergie électrique. Aucun développement n'est cependant possible sans une disponibilité continue de l'énergie de bonne qualité. Aussi les problèmes causés par les énergies d'origines fossiles mènent à une quête pour des sources d'énergie propre.

A cet effet plusieurs voies de valorisation énergétique des déchets sont développées parmi lesquelles nous avons la méthanisation ou production de biogaz (mélange gazeux constitué essentiellement de CH<sub>4</sub> et de CO<sub>2</sub>) à partir des déchets par voie de digestion anaérobie. Cette technique s'avère être une solution très intéressante dans la mesure où elle peut s'étendre aux centrales électriques pour la production de l'électricité, dans la production de chaleur, dans la cogénération et dans le transport ; de plus le digestat peut être évalué dans les processus d'amendement du sol et de compostage [2]. L'utilisation du biogaz pour la production d'énergie pourrait ainsi remplacer les combustibles fossiles, réduire les émissions de gaz à effet de serre et réduire la dépendance à l'égard de l'énergie importée. Cependant, le

processus de transformation des déchets en vecteur énergie (biogaz) par voie de digestion anaérobie conduit jusqu'ici à des proportions de production du biométhane assez faibles. Plusieurs études ont démontré cela notamment Halil Şenol, Erika Winquist et al. qui montrent que le biogaz est constitué approximativement de 50 à 70% de CH<sub>4</sub> ; 30 à 50% de CO<sub>2</sub> ; 0,1 à 1% de N<sub>2</sub>, 0,01 à 0,2% de O<sub>2</sub> ; 10-4000 ppm de H<sub>2</sub>S[3], [4]. Ceci nous amène à chercher à savoir pourquoi ce problème de non optimisation et comment atteindre de meilleurs rendements énergétiques car plus le biogaz est constitué de CH<sub>4</sub> mieux est la qualité du biogaz

## 2. Matériel et Méthodes

Comme matériel utilisés dans le travail nous avons :

- Etuve de chauffage universelle UN110 Memmert
- FOUR A MOUFLE NABERTHERM L 9/12/B410
- Agitateur magnétique avec chauffage UC152 - Stuart
- pH-mètre
- Distillateur
- Des biodigesteurs ou bioréacteurs
- Des petits matériels de laboratoires

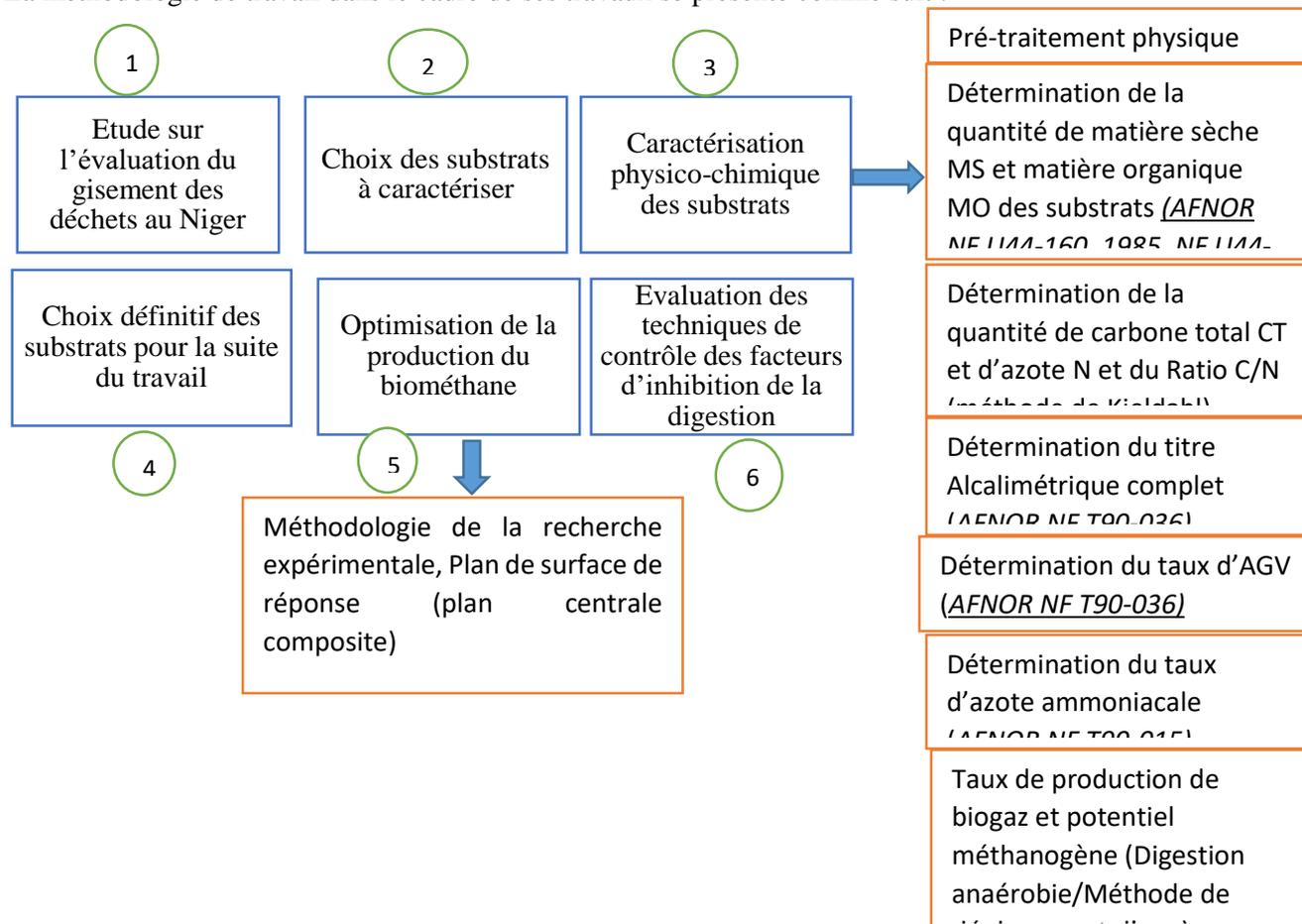
A cela s'ajoute des réactifs tels que :

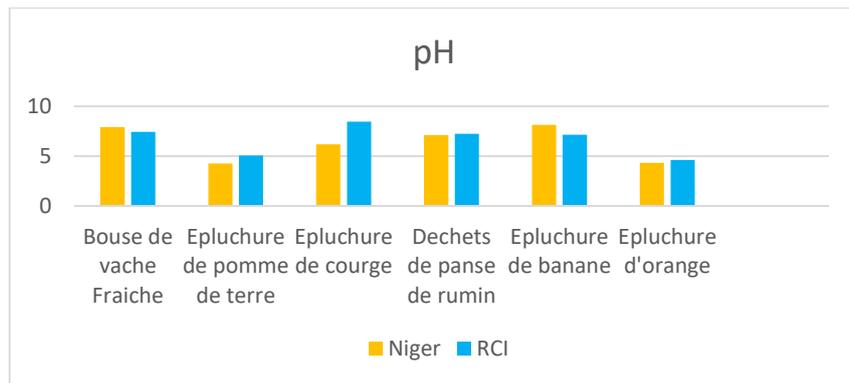
- Acide sulfurique H<sub>2</sub>S
- Bicarbonate de sodium NA<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>
- Hydroxyde de potassium KOH
- Hydroxyde de sodium NaOH

Avec utilisation d'un Outils de travail

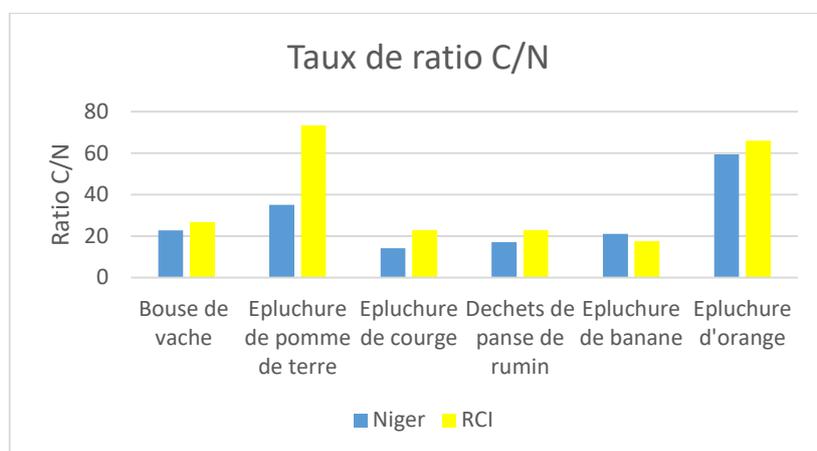
- Outils BEFS de la FAO

La méthodologie de travail dans le cadre de ses travaux se présente comme suit :





Le pH est un paramètre clé de la digestion anaérobie. Avoir une bonne digestion anaérobie revient selon plusieurs auteurs à stabiliser le pH autour de 7. Un pH favorable à la survie et à l'activité des espèces microbiennes peut donc se situer selon la littérature entre 6,2 et 8,2. Dans notre cas constate que l'épluchure d'orange, de courge et de pomme de terre ne respecte pas cette plage. Néanmoins il existe des techniques pour stabiliser des pH au cours d'une digestion anaérobie.



Pour se développer, les bactéries utilisent de l'azote et du carbone. Le contenu des nutriments, respectivement le rapport C/N devrait être bien équilibré pour éviter l'échec du processus par accumulation d'ammoniac. Le ratio C/N devrait se situer entre 15 et 30.

A la suite de cette caractérisation l'écart type et la moyenne des valeurs ont été calculés on constate que  $2\xi < \text{moyenne}$  cela implique un écart type faible donc les valeurs sont autour de la moyenne et peuvent être considérés comme identique.

#### 4. Conclusion

- Ces résultats ont permis de connaître le gisement de déchets disponibles au Niger
- De constater que les substrats caractérisés au Niger et en Côte d'Ivoire sont pratiquement identiques
- De voir également le comportement physico-chimique et le pouvoir méthanogène des substrats.

A la fin de ces travaux il s'agira d'apporter une contribution à cette problématique d'ordre environnementale, énergétique et sanitaire.

#### Référence :

- [1] L. Appels *et al.*, « Anaerobic digestion in global bio-energy production : Potential and research challenges », *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 15, n° 9, p. 4295-4301, déc. 2011, doi : 10.1016/j.rser.2011.07.121.
- [2] N. Abdullah, C. Senem Önen, Q. Hani Abu, et K. Kerstin, « Optimizing the performance of a large scale biogas plant by controlling stirring process : A case study », 2019.
- [3] H. Şenol, « Biogas potential of hazelnut shells and hazelnut wastes in Giresun City », *Biotechnol. Rep.*, vol. 24, p. e00361, déc. 2019, doi : 10.1016/j.btre. 2019.e00361.
- [4] E. Winqvist, P. Rikkonen, J. Pyysiäinen, et V. Varho, « Is biogas an energy or a sustainability product ? - Business opportunities in the Finnish biogas branch », *J. Clean. Prod.*, vol. 233, p. 1344-1354, oct. 2019, doi : 10.1016/j.jclepro.2019.06.181.

## Élimination des ions fluorure des eaux souterraines destinées à la consommation humaine à partir de la poudre de coquilles de *Corbula trigona* régénérée

Yapo N'zébo Sylvestre<sup>1\*</sup>, Briton Bi Gouessé Henri<sup>1</sup>, Aw Sadat<sup>1</sup>, Reinert Laurence<sup>2</sup>, Drogui Patrick<sup>3</sup>, Yao Kouassi Benjamin<sup>1</sup>, Adouby Kopoin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse, de l'Environnement et des Énergies Nouvelles (LAPISEN), Institut National Polytechnique Houphouët-Boigny, BP 1313, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

<sup>2</sup>Laboratoire Chimie Moléculaire et Environnement (LCME), Université Savoie Mont Blanc, 73000 Chambéry, France.

<sup>3</sup>Institut National de la Recherche Scientifique (INRS Eau Terre et Environnement), Université du Québec, 490 rue de la Couronne, Québec City, Canada.

### Résumé :

Les eaux souterraines constituent la principale source d'alimentation en eau potable pour de nombreux ménages à faible revenu à travers le monde. Malheureusement, au cours de ces dernières décennies, plusieurs sources naturelles ou anthropiques sont responsables de la présence excessive du fluorure dans les eaux souterraines. La défluoruration des eaux de boisson s'avère nécessaire. Cette étude vise à réduire le fluorure dans les eaux souterraines par adsorption-précipitation dans un réacteur discontinu en utilisant la poudre de coquilles de *Corbula trigona* régénérée (PCCTR). La PCCTR a été caractérisée par différentes techniques analytiques comme la diffraction des rayons X (DRX), l'infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF) et la microscopie électronique à balayage (MEB). L'influence du pH, de la dose et de la concentration initiale de fluorure a été étudiée. L'efficacité du procédé pour l'élimination de 2,20 mg/L était de 66,8% à pH3. En outre, la cinétique d'adsorption a montré que le modèle de pseudo-second ordre ajustait le mieux les données expérimentales et le modèle de Langmuir était le mieux adapté pour décrire le phénomène d'adsorption. Par finir, il serait intéressant d'améliorer la capacité d'adsorption de l'adsorbant en modifiant les propriétés de surface des coquilles de *Corbula trigona*.

**Mots clés :** Eau souterraine ; Fluorure ; *Corbula trigona* ; Adsorption

## Removal of fluoride ions from groundwater intended for human consumption using regenerated *Corbula trigona* shell powder

### Abstract

Groundwater is the primary source of drinking water supply for many low-income households worldwide. Unfortunately, in recent decades, several natural and anthropogenic sources have been responsible for the excessive presence of fluoride in groundwater. The defluoridation of drinking water is necessary. This study aims to reduce fluoride in groundwater by adsorption-precipitation in a batch reactor using regenerated *Corbula trigona* shell powder (RCTSP). RCTSP was characterized by different analytical techniques such as X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared (FTIR) and scanning electron microscopy (SEM). The influence of pH, dose and initial fluoride concentration was studied. The process efficiency for removal of 2.20 mg/L was 66.8% at pH3. Furthermore, the adsorption kinetics showed that the pseudo-second order model best fit the experimental data and the Langmuir model was the best fit to describe the adsorption phenomenon. Finally, it would be interesting to improve the adsorption capacity of the adsorbent by modifying the surface properties of *Corbula trigona* shells.

**Keywords:** Groundwater ; Fluoride ; *Corbula trigona* ; Adsorption

### Introduction

Le fluor est le treizième élément le plus abondant de la croûte terrestre [1]. Son lessivage par les eaux de pluie entraîne une contamination en fluorures aussi bien des eaux de surface que des eaux souterraines [2]. En plus de cette source naturelle, il y a aussi une source anthropogène, constituée par le secteur industriel [3]. En Afrique, principalement les pays situés dans la vallée du Rift Est-africain tels que l'Éthiopie, l'Ouganda, le Kenya et la Tanzanie, les eaux de surface et souterraine présentent une concentration élevée en fluorure [4]. Cependant, la présence de fluorure dans les eaux de consommation peut avoir des effets aussi bien bénéfiques que néfastes sur la santé humaine selon leur concentration. En effet, les faibles teneurs favorisent la minéralisation normale des os et la calcification de l'émail dentaire [5,6] alors que les doses excessives sont à l'origine des fluoroses dentaire et squelettique lorsque la période d'exposition est prolongée [7].

En outre, d'autres effets indésirables, notamment le cancer, les troubles digestifs et nerveux suite à la formation de H<sub>2</sub>F dans l'estomac, la baisse du taux d'hémoglobine, la réduction de l'immunité, les problèmes urinaires et respiratoires, la stérilité féminine et le syndrome d'Alzheimer ont été également rapportés [8 - 11]. A ce jour, les travaux récents de Xia et al. [11] ont révélé que plus de 200 millions de personnes sont victimes de maladies liées à la consommation des eaux chargées en fluorures. Ce constat a conduit l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) à recommander moins de 1,5 mg/L de fluorure dans les eaux destinées à la consommation humaine [12].

De ce fait, de nombreuses techniques de défluoruration des eaux destinées à la consommation humaine ont été développées. Parmi celles-ci, on peut citer la nanofiltration, l'osmose inverse, l'électrodialyse,

l'électrocoagulation, la précipitation et l'adsorption [13–15]. En effet, l'électrodialyse, la filtration membranaire, l'échange ionique et l'électrocoagulation sont très efficaces pour réduire la concentration en fluorures dans les limites prescrites par l'OMS. Mais ces procédés restent coûteux et nécessitent une régénération régulière, en plus du nettoyage des dépôts et des encrassements [16].

Ces dernières années, plusieurs études ont exploré divers supports poreux moins coûteux mais efficaces tels que l'oxyde de fer hydraté [17], l'alumine activée [18], la paille de blé, la sciure de bois, le charbon actif [19], la calcite [20] pour éliminer les ions fluorures dans les eaux de boisson. Par ailleurs, la réutilisation de la poudre de coquilles *Corbula trigona* régénérée (PCCTR) peut être une alternative à ces matériaux ayant fait leur preuve dans l'élimination des polluants en solution aqueuse. Au meilleur de nos connaissances, aucune étude n'a été rapportée sur son utilisation pour la réduction des ions fluorure dans les eaux destinées à la consommation.

L'objectif de cette étude vise à éliminer l'excès de fluorures contenus dans les eaux souterraines en utilisant la PCCTR. Cela pourrait élargir la liste des matériaux adsorbants non toxiques pour le traitement des eaux de consommation riches en fluorure. A cet effet, ce matériau a été caractérisé par la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF), la Morphologie structurale par microscopie électronique à balayage couplée avec la spectrométrie à dispersion d'énergie (MEB/EDS). Ensuite, par la méthode batch, la PCCTR a été mise en contact avec une quantité d'eau souterraine pour suivre la cinétique de défluoruration, les effets de pH, de la dose de l'adsorbant.

## Matériel et méthodes

### Dispositif expérimental en batch

Les études sont réalisées dans un réacteur discontinu selon le dispositif de la **figure 1**. Ce dispositif comprend un bain thermostaté réglé à 25 °C déposé sur un agitateur magnétique multipostes de type IKA MAG EOA 9, Janke & Kunkel.



**Figure 1** : Dispositif expérimental en mode discontinu

### Régénération de la poudre de coquille de *Corbula trigona* (PCCT) et cycles successifs d'élimination

Pour la régénération de la PCCT, des tests de désorption des ions fluorure ont été effectués après contamination du matériau. Pour cela une quantité de 10 g de PCCT est mise en contact avec une solution de 1 litre de NaOH à 0,5 mol/L. Après 1 heure d'agitation, la PCCT est séparée de la solution par filtration et les filtrats sont analysés pour déterminer la concentration de fluorure désorbée. La PCCT récupérée a été lavée 5 fois avec de l'eau distillée et séchée à 80°C pendant 2 heures à l'étuve pour être réutilisée. Ainsi, des cycles d'adsorption-désorption sont réalisés cinq fois selon le même protocole. La quantité des ions fluorure désorbés de la PCCT est donnée par la relation suivante :

$$\text{Désorption (\%)} = \frac{\text{Quantité d'ion fluorure désorbée}}{\text{Quantité d'ion fluorure adsorbée}} \times 100 \quad (1)$$

## Résultats et discussion

### Désorption des ions fluorures et cycles d'adsorption

Les ions fluorure fixés sur la PCCT peuvent être désorbés par la solution de NaOH, ainsi elle peut être utilisée plusieurs fois dans des cycle successifs d'adsorption-désorption. Le **tableau 1** montre les efficacités d'élimination et

de désorption au cours des différents cycles de régénération. Les résultats de cette étude montrent une diminution de la capacité d'adsorption sur la PCCT pour ces 5 cycles. En effet, les ions fluorure enregistre une perte de leur capacité maximale d'adsorption de 7,57%. Concernant la désorption successive des ions fluorure, on enregistre une diminution de l'efficacité de désorption de 13,63%. Les résultats montrent que la PCCT pourrait être utilisée plusieurs fois au cours de l'élimination des ions fluorure sans perte significative de leur capacité maximale d'adsorption.

En revanche, à chaque réutilisation de la PCCT, la quantité de fluorure nouvellement adsorbée diminue du fait de l'occupation des sites actifs par des ions fluorure non désorbés pendant la régénération de l'adsorbant. Tan *et al* [21] ont utilisé des armatures organométalliques à base de zirconium dans quatre cycles de régénération d'adsorption/désorption du fluorure sans perte significative de la capacité d'adsorption de l'adsorbant. En effet, les résultats obtenus dans cette étude confirment que cet adsorbant pouvait éliminer jusqu'à 79% des ions fluorure après le quatrième cycle.

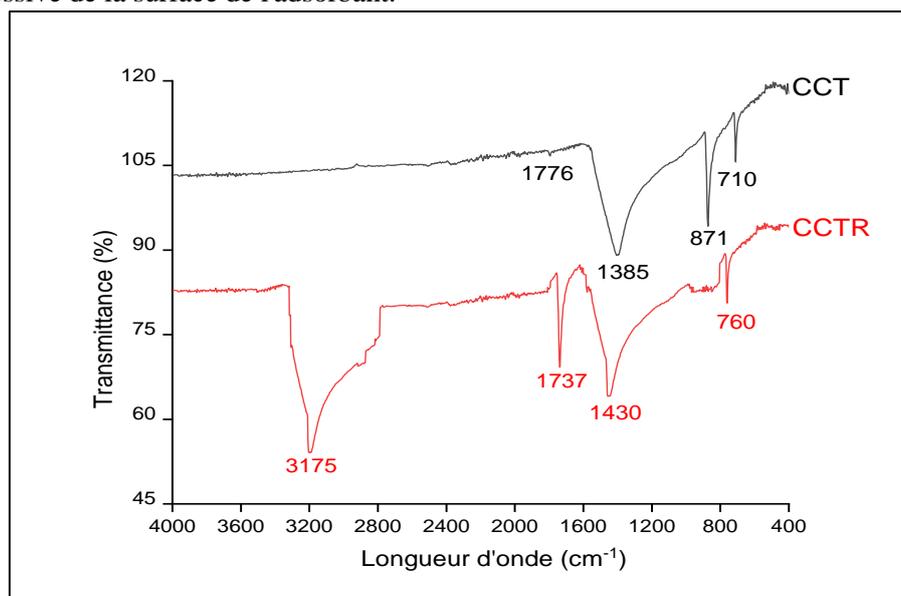
**Tableau 1** : Efficacité d'élimination et de désorption des ions fluorure (Concentration initiale : 2,2 mg/L, dose de CCTB : 10 g/L, température : 25°C et temps de contact : 60 min)

Nombre de cycles	Efficacité d'élimination (%)	Efficacité de désorption (%)
Cycle 1	68,18	-
Cycle 2	66,67	98,48
Cycle 3	65,15	96,97
Cycle 4	63,64	87,88
Cycle 5	60,61	84,85

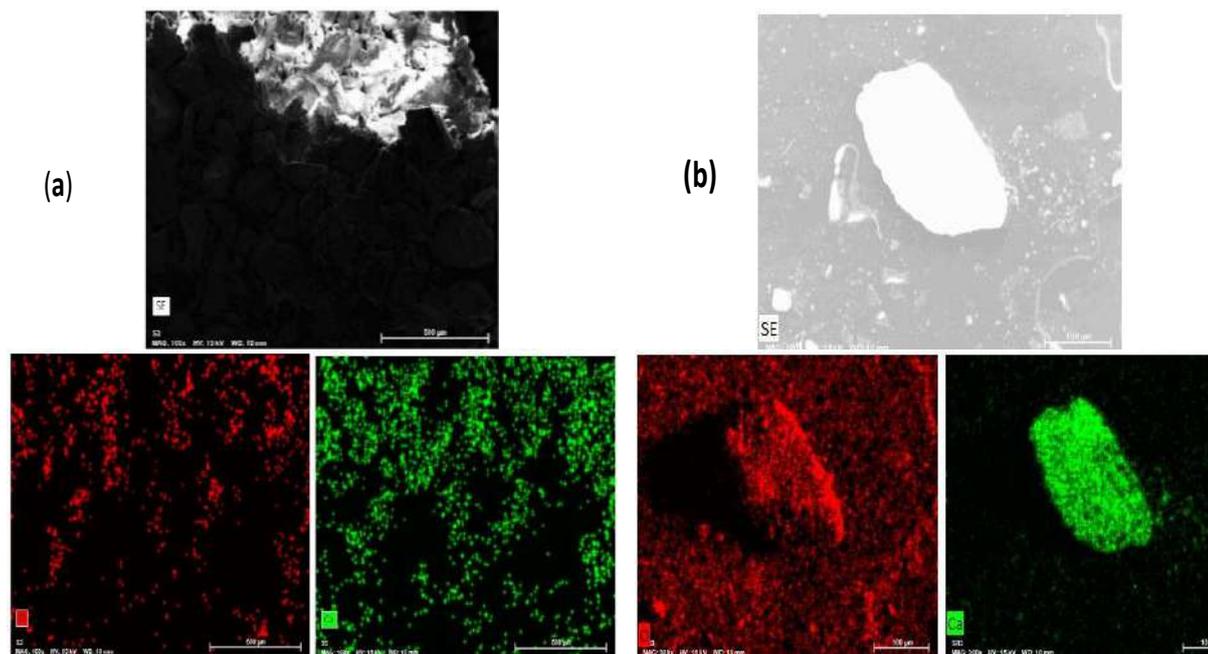
### 5.1. Comparaison des caractéristiques des poudres de coquille de *Corbula trigona* brute (PCCTB) et régénérée (PCCTR)

La **figure 2** présente le spectre IR-TF de la PCCT et celui de la PCCTR. En comparant le spectre de PCCTB à celui de PCCTR, il ressort de cette analyse l'apparition d'une nouvelle bande située à 3175  $\text{cm}^{-1}$  correspondent à la liaison OH. En effet, la présence de cette bande pourrait s'expliquer par la réaction d'adsorption en milieu aqueux. De plus, on note un déplacement des bandes observées sur le spectre IR-TF de la PCCTB suite à la réutilisation de celle-ci. Cela montre que la surface de la CCTB après les 5 cycles de régénération a subi une légère modification.

En revanche, les images MEB et les cartographies EDX de la PCCT et la PCCTR (**Figure 3**) montrent qu'il y a une modification de la surface de l'adsorbant après les cycles de recyclage. En effet, les atomes d'oxygène sont nettement plus présents que ceux du calcium au niveau de recyclés. Ceci reflète la dissolution du  $\text{CaCO}_3$  et la dégradation progressive de la surface de l'adsorbant.



**Figure 3** : Spectres infrarouges de PCCT avant (PCCT) et après régénération (PCCTR)



**Figure 3** : Photographie MEB et cartographie des éléments chimiques de la PCCT avant (a) et après régénération (b)

## 6. Conclusion

L'étude portant sur l'élimination des ions fluorure par les procédés d'adsorption sur la PCCTR a permis d'évaluer son efficacité au de sa réutilisation. Ainsi, les efficacités d'élimination et de désorption au cours des différents cycles de régénération ont montré une diminution de la capacité d'adsorption sur la PCCT pour ces 5 cycles. Par conséquent, les ions fluorure enregistre une perte de leur capacité maximale d'adsorption de 7,57%. Concernant la désorption successive des ions fluorure, on enregistre une diminution de l'efficacité de désorption de 13,63%. La PCCT pourrait être utilisée plusieurs fois au cours de l'élimination des ions fluorure sans perte significative de leur capacité maximale d'adsorption.

## 7. Bibliographie

- [1] S. R. Taylor, « Abundance of chemical elements in the continental crust: a new table », *Geochim. Cosmochim. Acta*, vol. 28, n° 8, p. 1273-1285, août 1964, doi: 10.1016/0016-7037(64)90129-2.
- [2] J. E. Podgorski, P. Labhasetwar, D. Saha, et M. Berg, « Prediction Modeling and Mapping of Groundwater Fluoride Contamination throughout India », *Environ. Sci. Technol.*, vol. 52, n° 17, p. 9889-9898, sept. 2018, doi: 10.1021/acs.est.8b01679.
- [3] M. Barathi, A. S. K. Kumar, et N. Rajesh, « Impact of fluoride in potable water – An outlook on the existing defluoridation strategies and the road ahead », *Coord. Chem. Rev.*, vol. 387, p. 121-128, mai 2019, doi: 10.1016/j.ccr.2019.02.006.
- [4] J. Malago, E. Makoba, et A. N. N. Muzuka, « Fluoride Levels in Surface and Groundwater in Africa: A Review », *Am. J. Water Sci. Eng.*, vol. 3, n° 1, p. 1, févr. 2017, doi: 10.11648/j.ajwse.20170301.11.
- [5] P. Loganathan, S. Vigneswaran, J. Kandasamy, et R. Naidu, « Defluoridation of drinking water using adsorption processes », *J. Hazard. Mater.*, vol. 248-249, p. 1-19, mars 2013, doi: 10.1016/j.jhazmat.2012.12.043.
- [6] B.-S. Lee, P.-H. Chou, S.-Y. Chen, H.-Y. Liao, et C.-C. Chang, « Prevention of enamel demineralization with a novel fluoride strip: enamel surface composition and depth profile », *Sci. Rep.*, vol. 5, p. 13352, août 2015, doi: 10.1038/srep13352.
- [7] W. Wei, S. Pang, et D. Sun, « The pathogenesis of endemic fluorosis: Research progress in the last 5 years », *J. Cell. Mol. Med.*, vol. 23, n° 4, p. 2333-2342, 2019, doi: 10.1111/jcmm.14185.
- [8] J. K. Fawell, K. Bailey, W. H. Organization, J. Chilton, et E. Dahi, *Fluoride in Drinking-water*. World Health Organization, 2006.
- [9] M. Islam et R. Patel, « Thermal activation of basic oxygen furnace slag and evaluation of its fluoride removal efficiency », *Chem. Eng. J.*, vol. 169, n° 1, p. 68-77, mai 2011, doi: 10.1016/j.cej.2011.02.054.
- [10] A. M. Barberio, F. S. Hosein, C. Quiñonez, et L. McLaren, « Fluoride exposure and indicators of thyroid functioning in the Canadian population: implications for community water fluoridation », *J Epidemiol Community Health*, vol. 71, n° 10, p. 1019-1025, oct. 2017, doi: 10.1136/jech-2017-209129.
- [11] Y. Xia, X. Huang, W. Li, Y. Zhang, et Z. Li, « Facile defluoridation of drinking water by forming shell@fluorapatite nanoarray during boiling egg shell », *J. Hazard. Mater.*, vol. 361, p. 321-328, janv. 2019, doi: 10.1016/j.jhazmat.2018.09.007.

- [12] L. Craig, A. Lutz, K. A. Berry, et W. Yang, « Recommendations for fluoride limits in drinking water based on estimated daily fluoride intake in the Upper East Region, Ghana », *Sci. Total Environ.*, vol. 532, p. 127-137, nov. 2015, doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.05.126.
- [13] N. Nabbou *et al.*, « Removal of fluoride from groundwater using natural clay (kaolinite): Optimization of adsorption conditions », *Comptes Rendus Chim.*, vol. 22, n° 2, p. 105-112, févr. 2019, doi: 10.1016/j.crci.2018.09.010.
- [14] A. Addoun, W. Bencheikh, L. Temdrara, M. Belhachemi, et A. Khelifi, « Adsorption behavior of phenol on activated carbons prepared from Algerian coals », *Desalination Water Treat.*, vol. 52, n° 7-9, p. 1674-1682, févr. 2014, doi: 10.1080/19443994.2013.807010.
- [15] K. K. Yadav, N. Gupta, V. Kumar, S. A. Khan, et A. Kumar, « A review of emerging adsorbents and current demand for defluoridation of water: Bright future in water sustainability », *Environ. Int.*, vol. 111, p. 80-108, 2018, doi: 10.1016/j.envint.2017.11.014.
- [16] D. Cohen et H. M. Conrad, « 65,000 GPD fluoride removal membrane system in Lakeland, California, USA », *Desalination*, vol. 117, n° 1, p. 19-35, sept. 1998, doi: 10.1016/S0011-9164(98)00063-0.
- [17] A. Ghosh, S. Paul, S. Bhattacharya, P. Sasikumar, K. Biswas, et U. C. Ghosh, « Calcium ion incorporated hydrous iron(III) oxide: synthesis, characterization, and property exploitation towards water remediation from arsenite and fluoride », *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 26, n° 5, p. 4618-4632, févr. 2019, doi: 10.1007/s11356-018-3872-3.
- [18] A. A. Aghapour, H. Khorsandi, A. Dehghani, et S. Karimzade, « Preparation and characterization and application of activated alumina (AA) from alum sludge for the adsorption of fluoride from aqueous solutions: new approach to alum sludge recycling », *Water Supply*, vol. 18, n° 5, p. 1825-1831, oct. 2018, doi: 10.2166/ws.2018.006.
- [19] X. Liao et B. Shi, « Adsorption of Fluoride on Zirconium(IV)-Impregnated Collagen Fiber », *Environ. Sci. Technol.*, vol. 39, n° 12, p. 4628-4632, juin 2005, doi: 10.1021/es0479944.
- [20] B. D. Turner, P. Binning, et S. L. S. Stipp, « Fluoride Removal by Calcite: Evidence for Fluorite Precipitation and Surface Adsorption », *Environ. Sci. Technol.*, vol. 39, n° 24, p. 9561-9568, déc. 2005, doi: 10.1021/es0505090.
- [21] T. L. Tan, P. A. Krusnamurthy, H. Nakajima, et S. A. Rashid, « Adsorptive, kinetics and regeneration studies of fluoride removal from water using zirconium-based metal organic frameworks », *RSC Adv.*, vol. 10, n° 32, p. 18740-18752, mai 2020, doi: 10.1039/D0RA01268H.

## Caractérisation et valorisation des graines de *Vitex doniana* en produits alimentaires

Anien Marcelle Ghislaine <sup>1</sup>, Kone Kisselmina Youssouf <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut National Polytechnique Houphouët-Boigny (INP-HB), Laboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse et de l'Environnement, BP 1313 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire

### Résumé

Le prunier des savanes (*Vitex doniana*) est une ressource ligneuse forestière et sauvage dont les fruits sont très appréciés par les populations locales [1]. Les graines de la prune noire, fruits de *Vitex doniana* sont comestibles. Malheureusement, ces graines sont négligées, sous-utilisées (généralement rejetée après consommation de la pulpe comme un déchet) et ne sont pas valorisées [2], [3]. L'objectif de ce travail sera donc de valoriser les graines de la prune noire (*Vitex doniana*) en développant des méthodes de sa transformation en produits alimentaire. Ainsi, les fruits de *Vitex doniana* seront récoltés dans trois régions du Nord de la Côte d'Ivoire. Des méthodes classiques d'analyses biochimiques seront utilisées dans un premier temps pour établir un profil physico-chimique de ces graines. Ensuite, Il sera question de déterminer le mode de valorisation des graines de *Vitex doniana* en un produit alimentaire. Enfin, de formuler ce produit alimentaire. Au terme de ce travail, les graines de *Vitex doniana* seront caractérisées et le produit alimentaire à base de graines de *Vitex doniana* sera formulé. Toutefois, l'utilisation de ce produit alimentaire à haute valeur ajoutée pourrait constituer un gain économique pour les populations locales.

**Mots clés** : Caractérisation, valorisation, *Vitex doniana*, Produit alimentaire

### Characterization and valorization of *Vitex doniana* seeds in food products

#### Abstract

The savanna plum (*Vitex doniana*) is a forest and wild woody resource whose fruits are highly valued by local populations [1]. The seeds of the black plum, fruit of *Vitex doniana*, are edible. Unfortunately, these seeds are neglected, underutilized (generally rejected after consumption of the pulp as waste) and are not valued [2], [3]. The objective of this work will be to valorize the seeds of the black plum (*Vitex doniana*) by developing methods for its transformation into food products. The fruits of *Vitex doniana* will be harvested in three regions of northern Côte d'Ivoire. Classical methods of biochemical analysis will be used in a first step to establish a physicochemical profile of these seeds. Then, it will be a question of determining the mode of valorization of the seeds of *Vitex doniana* in a food product. Finally, to formulate this food product. At the end of this work, the seeds of *Vitex doniana* will be characterized and the food product based on the seeds of *Vitex doniana* will be formulated. However, the use of this food product with high added value could be an economic gain for the local populations.

**Keywords** : Characterization, Valorization, *Vitex doniana*, Food product

## 1. Introduction

Le prunier noir (*Vitex doniana*) est une espèce d'arbre à usages multiples (alimentaires, thérapeutiques, culturels). Cet arbre de la famille des Lamiaceae, est beaucoup prisé pour ses fruits comestibles [4]. En effet, le fruit du prunier noir (pulpe et graine) est très répandue en Afrique de l'Ouest tropicale, s'étendant vers l'Est jusqu'à l'Ouganda, la Tanzanie, au Kenya [5].

En Côte d'Ivoire, il se rencontre au centre dans le V-Baoulé, au Nord-Ouest (Séguéla) [6], au nord (Korhogo, Tengréla) [7] et au Nord-Est (Bondoukou) [8].

Du point de vue nutritionnel, la pulpe de *Vitex doniana* constitue une bonne source de glucides, de micronutriments tels que le calcium (320 mg / 100 g de MS), le magnésium (45,05 mg / 100 g de MS), le fer (5,20 mg / 100 g) et le phosphore (16,50 mg / 100 g de MS) et de vitamines [9]. La graine de *Vitex doniana*, constitue quant à elle, une bonne source de composés phénoliques, de lipides et d'acides aminés essentiels [10]. Malheureusement, en Côte d'Ivoire, les graines de *Vitex doniana* ne sont pas comestibles. Elles sont négligées et sous-utilisées (généralement rejetée après consommation de la pulpe comme un déchet). Pourtant, dans certains pays de l'Afrique tropicale, notamment le soudan, cette graine est valorisé traditionnellement en boissons. L'objectif de cette étude est de valoriser les graines de la prune noire (*Vitex doniana*) en développant des méthodes de sa transformation en produits alimentaire.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel

Les fruits mûrs de *Vitex doniana* seront récoltés, au nord de la Côte d'Ivoire, dans les zones de forte production de ces fruits. Ils seront ensuite acheminés au laboratoire, où ils seront lavés avec de l'eau de robinet puis stockés dans une chambre froide à -18°C jusqu'au moment des analyses.

### 2.2. Méthodes

Dans la suite de ce travail, les fruits seront sortis de la chambre froide et mis à dégivrer à température ambiante. Après dépulpage, les graines obtenues seront séchées à l'air libre et un échantillon composite de graines sera moulu pour la caractérisation physico-chimique des graines.

### 2.2.1. Caractérisation physico-chimique des graines de *Vitex doniana*

Afin d'effectuer un profil physico-chimique des graines de *Vitex doniana* les analyses suivantes seront effectuées :

- pH: pH mètre
- Acidité titrable : titration
- Acidité volatile : distillation
- Teneur en eau et matière sèche :

• Dosage des protéines (méthode de Kjeldahl)

Cette étape permettra de déterminer la teneur en protéines totaux contenu dans le broyat de graines de *Vitex doniana*, en multipliant la quantité d'azote protéique obtenue par un facteur de conversion correspondant.

- Détermination du profil des acides aminés essentiels (par chromatographie).
- Dosage des lipides (méthode de soxhlet).

La détermination de la teneur en lipides se fera par la méthode de soxhlet. Les matières grasses seront extraites à ébullition par de l'hexane pur. Le solvant est ensuite éliminé par évaporation et le résidu est séché et pesé.

- Quantification des acides gras essentiels (chromatographie)
- Dosage des glucides (méthode différentielle)
- Dosage des fibres
- Dosage des polyphénols totaux
- Dosage des flavonoïdes
- Teneur en cendres totaux (méthode thermogravimétrique)

### 2.2. Voie de valorisation du produit alimentaire et formulation

La seconde partie de ce travail sera consacrée à la détermination du produit alimentaire. Le produit alimentaire sera déterminé en fonction des propriétés nutritives des graines obtenues. Pour conclure, le produit alimentaire déterminé sera formulé.

### 3. Résultats attendus

Au terme de cette étude,

- Les propriétés nutritives de la graine de *Vitex doniana* seront déterminées,
- Le produit alimentaire à base des graines de *Vitex doniana* sera déterminé et formulé.

### 4. Conclusion

Le Prunier des savanes (*Vitex doniana*) est une espèce naturelle. Les graines de *Vitex doniana* ont une valeur ajoutée et regorgent de nombreuses potentialités capitalisables au niveau nutritionnel. Par ailleurs aucune méthode de transformation de la graine n'existe. La transformation de la graine de *Vitex doniana* en produits alimentaires contribuera en revanche à sa valorisation. Toutefois, l'utilisation du produit alimentaire formulé pourrait constituer un gain économique pour les populations locales.

### 5. Bibliographie

- [1] K.-S. Haffiata, K. K. Youssouf, A. K. David, et S. Doudjo, « Effet du procédé de valorisation de la pulpe de prunes noires (*Vitex doniana*) en nectars sur les caractéristiques physicochimiques et nutritionnelles », *International Journal of Innovation and Applied Studies*, vol. 30, n° 3, p. 728-739, 2020.
- [2] O. Okogeri et U. J. Amah, « Chemical Properties of Indigenous Wild Black Plum (*Vitex doniana*) Seed », p. 4, 2019.
- [3] F. K. Traore, P. A. Ahi, Y. K. Kone, D. Soro, et E. N. Assidjo, « Profils des consommateurs et caractérisations physiques et chimiques des fruits de la prune noire (*Vitex doniana*) du Département de Bondoukou au Nord-Est de la Côte d'Ivoire », *International Journal of Innovation and Applied Studies*, vol. 25, n° 1, p. 121-130, 2018.
- [4] M. Larwanou, « Rapport du Niger », éditeurs. 2002. Réseau «Espèces Ligneuses Alimentaires». *Compte rendu de la première réunion du Réseau tenue 11–13 décembre 2000 au CNSF Ouagadougou, Burkina Faso. Institut International des Ressources Phytogénétiques*, vol. 30677, p. 108, 2002.
- [5] M. Oumorou, T. Sinadouwirou, M. Kiki, R. G. Kakaï, G. A. Mensah, et B. Sinsin, « Disturbance and population structure of *Vitex doniana* Sw. in northern Benin, West Africa », *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, vol. 4, n° 3, 2010.
- [6] G.-A. Ambé, « Les fruits sauvages comestibles des savanes guinéennes de Côte-d'Ivoire : état de la connaissance par une population locale, les Malinké. », *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, vol. 5 (1), p. 43-58, 2001.
- [7] D. Ouattara, D. Kouame, M.-S. Tiebre, Y. J.-C. Kouadio, et K. E. N'guessan, « Biodiversité végétale et valeur d'usage en zone soudanienne de la Côte d'Ivoire », *Int. J. Bio. Chem. Sci.*, vol. 10, n° 3, p. 1122, déc. 2016, doi: 10.4314/ijbcs.v10i3.18.

- [8] D. Ouattara, D. Kouame, M.-S. Tiebre, Y. J.-C. Kouadio, et K. E. N'guessan, « Biodiversité végétale et valeur d'usage en zone soudanienne de la Côte d'Ivoire », *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, vol. 10, n° 3, p. 1122-1138, 2016.
- [9] S. O. Ajenifujah-Solebo et J. O. Aina, « Physico-chemical properties and sensory evaluation of jam made from black-plum fruit (*Vitex doniana*) », *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, p. 4772-4784 p., 2011.
- [10] N. Salih et E. M. Yahia, « Phenolics and fatty acids compositions of vitex and baobab seeds used as coffee substitutes in Nuba Mountains, Sudan », *Agriculture and Biology Journal of North America*, vol. 6, p. 90-93, 2015.

## Poster : Activités antiaflatoxinogènes des huiles essentielles *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus* et *Cymbopogon schoenanthus* seules et en combinaison

### Activités antiaflatoxinogènes des huiles essentielles *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus* et *Cymbopogon schoenanthus* seules et en combinaison



Institut de Recherche en Sciences  
Appliquées et Technologies

Apply Science and Technology  
Research Institute



Ignace Sawadogo<sup>1\*</sup>, Donatien Kabore<sup>1</sup>, Judicaël Thomas Ouilly<sup>2</sup>, Didier Montet<sup>3</sup>, Noël Durand<sup>3</sup>, Roger Honorat Charles Nebie<sup>1</sup>, Imaël Henri Nestor Bassole<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies, 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

<sup>2</sup>UFR-SVT, Université Joseph Ki-Zerbo, 09 BP 848 Ouagadougou, Burkina Faso

<sup>3</sup>UMR Qualisud, TA B-95/16 73, rue Jean-François Breton, 34398, Montpellier cedex 5, France

\*Corresponding author: [sawaigna@yahoo.fr](mailto:sawaigna@yahoo.fr)

#### Introduction

Les mycotoxines posent un problème de santé publique récurrent et entraînent des pertes économiques importantes dans les pays du Sud<sup>[1]</sup>. Plusieurs approches ont été adoptées pour minimiser la contamination par les mycotoxines dans les aliments, mais la fréquence de contamination des cultures mondiales a montré que d'autres stratégies doivent être développées pour compléter ou remplacer celles déjà existantes<sup>[2]</sup>.

En vue de trouver une alternative à la lutte chimique classique aux conséquences néfastes sur l'Homme et sur l'équilibre des écosystèmes, l'activité des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus* et de *Cymbopogon schoenanthus* a été évaluée sur la production de l'aflatoxine par *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*,

#### Matériel

Les feuilles de *Cymbopogon schoenanthus*, de *Cymbopogon citratus* et de *Cymbopogon nardus* récoltées au Burkina Faso ont été utilisées pour l'extraction des huiles essentielles,



(a) *Cymbopogon schoenanthus*



(b) *Cymbopogon citratus*



(c) *Cymbopogon nardus*

#### Discussion

Les huiles essentielles de *C. schoenanthus*, *C. citratus* et *C. nardus* inhibent la synthèse des aflatoxines à de moindres concentrations. Les concentrations inhibant totalement la synthèse varient entre 0.5 et 1.25 µL/mL en fonction des huiles essentielles et du type de toxine en présence. *C. schoenanthus* et *C. citratus* (1 µL/mL) présentent la plus petite concentration inhibant la synthèse des quatre aflatoxines. Les combinaisons *C. citratus*/*C. schoenanthus* et *C. citratus*/*C. nardus* réduisent totalement la synthèse des aflatoxines B1, B2, G1 et G2. Ces résultats permettent d'envisager une exploitation des huiles essentielles ainsi que de leurs combinaisons comme une alternative à la lutte chimique dans la protection des denrées alimentaires contre la production des toxines

#### Méthodes

##### Extraction et analyses des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont été extraites des feuilles par hydro-distillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger, puis collectées par décantation. Les compositions chimiques ont été déterminées par GC-MS.

##### Détermination de l'effet des huiles essentielles sur la production de l'aflatoxine

La méthode décrite par De Billerbeck et al. (2001) a été utilisée pour déterminer l'effet de chaque huile essentielle sur la production de l'aflatoxine.

##### Détermination de l'effet des combinaisons sur la production de l'aflatoxine

Pour évaluer l'effet des combinaisons d'huiles essentielles sur la production de l'aflatoxine, la méthode de l'échiquier inspirée de Zore et al. (2011) a été utilisée pour déterminer les différents couples de Concentration Minimales Inhibitrices (CMI) des huiles essentielles en combinaison.

#### Résultats

L'huile essentielle de *C. citratus* a inhibé totalement la synthèse des aflatoxines B2, G1 et G2 à la concentration de 0.5 µL/mL tandis que pour inhiber totalement l'aflatoxine B1, 1 µL/mL a été nécessaire. Ces inhibitions correspondent à une réduction de la croissance mycélienne à ces mêmes concentrations de 43.7 et 91.2% respectivement. L'HE de *C. nardus* a inhibé totalement la production de l'aflatoxine B1 et G2 à la concentration de 1 µL/mL tandis que pour l'aflatoxine B2 et G1 une concentration de 1.25 µL/mL a été nécessaire. Pour cette HE une réduction de la croissance mycélienne de 85.9 et 100% a été constatée respectivement à 1 et 1.25 µL/mL. L'HE de *C. schoenanthus* a inhibé la synthèse de B2, G1 et G2 à la concentration de 0.75 µL/mL correspondant à une réduction de 30% de la croissance tandis que pour inhiber celle de B1, une concentration de 1 µL/mL a été nécessaire pour un taux de réduction de la croissance de 55%.

#### Références

- [1] B. Prakash, P. Singh, S. Yadav, S. C. Singh, and N. K. Dubey, "Safety profile assessment and efficacy of chemically characterized Cinnamomum glaucescens essential oil against storage fungi, insect, aflatoxin secretion and as antioxidant," *Food Chem. Toxicol.*, vol. 53, pp. 160–167, 2013;
- [2] R. D. Virginia G de Billerbeck, Christine G Roques, Jean-Marie Bessière, Jean-Louis Fonvieille, "Effet de C nardus EO on growth and morphogenesis of ANiger.pdf." pp. 9–17, 2001;
- Virginia G de Billerbeck, Christine G Roques, Jean-Marie Bessière, Jean-Louis Fonvieille, Robert Dargent. 2001. "Effet de C Nardus EO on Growth and Morphogenesis of ANiger.Pdf." 9–17.
- Zore, Gajanan B., Archana D. Thakre, Sitaram Jadhav, and S. Mohan Karuppayil. 2011. "Terpenoids Inhibit Candida Albicans Growth by Affecting Membrane Integrity and Arrest of Cell Cycle." *Phytomedicine* 18(13):1181–90.