

Caractérisation des extraits phénoliques et du latex de l'Iroko (*Milicia excelsa*)

Auteur : de Meeûs, Thomas

Promoteur(s) : Doucet, Jean-Louis; Richel, Aurore

Faculté : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

Diplôme : Master en bioingénieur : gestion des forêts et des espaces naturels, à finalité spécialisée

Année académique : 2018-2019

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/7947>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

CARACTÉRISATION DES EXTRAITS PHÉNOLIQUES ET DU LATEX DE L’IROKO (*MILICIA EXCELSA*)

DE MEEÛS THOMAS

**TRAVAIL DE FIN D’ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L’OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER : BIOINGÉNIEUR EN GESTION DES FORÊTS ET DES ESPACES
NATURELS (À FINALITÉ SPÉCIALISÉE)**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2018-2019

PROMOTEURS: PROF A. RICHEL & PROF J.-L. DOUCET

Copyright©. *Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique ¹ de Gembloux Agro-Bio Tech.*

Le présent document n'engage que son auteur.

¹ Dans ce cas, l'autorité académique est représentée par le promoteur membre du personnel enseignant de GxABT.

CARACTÉRISATION DES EXTRAITS PHÉNOLIQUES ET DU LATEX DE L’IROKO (*MILICIA EXCELSA*)

DE MEEÛS THOMAS

**TRAVAIL DE FIN D’ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L’OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER : BIOINGÉNIEUR EN GESTION DES FORÊTS ET DES ESPACES
NATURELS (À FINALITÉ SPÉCIALISÉE)**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2018-2019

PROMOTEURS: PROF A. RICHEL & PROF J.-L. DOUCET

Remerciements

Ce travail n'aurait pu être réalisé sans la précieuse aide d'innombrables personnes que je souhaite remercier chaleureusement auxquelles je tiens à présenter mes remerciements les plus sincères pour leurs avis, le temps qu'elles m'ont consacré ainsi que pour leur soutien. Mes premiers remerciements vont à mes promoteurs le Professeur Jean-Louis Doucet et le Professeur Aurore Richel pour m'avoir permis d'étudier ce sujet passionnant et de m'avoir encadré.

Ensuite, je remercie également le Programme de promotion de l'exploitation certifiée des forêts (PPECF) partenaire financier du projet EHPVAL (Essence à Haut Potentiel de Valorisation) dont ce travail fait parti.

Je souhaite également remercier toute l'équipe de l'Unité de chimie de la biomasse et des technologies vertes de Gembloux AgroBioTech (Uliège) et particulièrement Thomas Berchem, Quentin Schmetz, Lionel Dumoulin, Isabelle Van de Vreken, Sophie Morin, Jean-Bosco Saha Tchinda et Brioux Lecart. Leur aide et leurs conseils particulièrement avisés m'ont été très précieux et d'une grande utilité.

Je tiens également à remercier toutes les personnes qui m'ont consacré du temps et partagé leur savoir : le Professeur Yves Brostaux et Gauthier Ligot pour leur aide et leurs conseils sur les questions statistiques ; Madame Lynn Doran, Monsieur Paul Mulemba et Monsieur Dominique Cortese pour leur aide et Monsieur Henri Meyo Degboevi pour son savoir et ses nombreuses réponses.

Ce travail n'aurait pu aboutir sans la précieuse collaboration du personnel de l'entreprise Alpicam Industries sarl qui m'a offert son hospitalité et avec qui j'ai vécu une expérience inoubliable. Parmi ces amis, je remercie Messieurs Gianluca Bova, Angelo Piazzalunga, Mirco Moscatelli et Francesco Guerriero.

Pour finir, je tiens à remercier ma famille, mon entourage et toutes les autres personnes ayant participé de loin ou de près à la réalisation de ce mémoire. Je pense particulièrement à mes parents, ma sœur, Christophe Guyot, Edouard Coenraets, Yorick Van Hoef, Madame Régine Leclef, Monsieur Raymond de Crawhez et Nicolas et Sophie du Fontbaré. Leur aide, leurs encouragements, leurs conseils et leurs avis m'ont permis de rédiger ce travail dans les meilleures conditions et de vivre une expérience fantastique.

Résumé

La forêt dense du Bassin du Congo est le deuxième plus grand massif forestier tropical continu du Monde avec ses 169 millions d'hectares. Aujourd'hui menacé, cet écosystème forestier est au cœur d'enjeux socio-économiques et environnementaux majeurs. Les exploitants forestiers, dont les concessions occupent près de 50 millions d'hectares, ont un rôle d'une grande importance dans la protection de cet écosystème par le biais d'une gestion durable des ressources forestières. Toutefois, l'industrie du bois génère une grande quantité de déchets qui ne sont à ce jour que peu valorisés et souvent brûlés. Avec la diminution des ressources pétrolières, l'attrait pour la xylochimie augmente considérablement dans les secteurs pharmaceutiques, agro-alimentaires ou encore cosmétiques. La valorisation des molécules phytochimiques présentes dans le bois, l'écorce et les feuilles apparaît comme une solution idéale pour d'une part valoriser les produits connexes de l'exploitation forestière et d'autre part trouver des alternatives aux produits pétrochimiques. Dans cette optique, la présente étude s'est penchée sur l'Iroko (*Milicia excelsa*), une essence tropicale à haute valeur commerciale présente dans l'Est du Cameroun. L'Iroko fait partie de la famille des Moracées et sécrète un latex dont la composition est proche du latex du caoutchouc naturel. Dans un premier temps, les extraits acétoniques du duramen, de l'aubier, de l'écorce et des feuilles ont été quantifiés et caractérisés en tenant compte des effets du stockage des grumes sur parc et de trois hauteurs d'échantillonnage. Dans un deuxième temps, afin de prouver l'intérêt de valoriser le latex d'Iroko, une analyse du taux protéique et du comportement thermique a été entreprise. Les résultats ont montré que les extraits acétoniques des différents organes contenaient en abondance des composés phénoliques et flavonoïques, par ordre croissant, dans les feuilles, l'écorce, l'aubier et le duramen présentent des teneurs en composés phénoliques importantes. Des hautes teneurs en composés flavonoïques ont été quantifiées, par ordre croissant, dans le duramen, l'aubier, l'écorce et les feuilles. Parmi les composés phénoliques présents dans les extraits, le resvératrol et l'acide rosmarinique ont été identifiés. La hauteur d'échantillonnage n'a pas d'effet ni sur la composition ni sur les teneurs de ces composés phénoliques. Par contre, la durée de stockage du bois sur parc a des effets significatifs sur la composition et les teneurs des composés phénoliques de l'aubier et de l'écorce. Les analyses sur le latex d'Iroko ont dévoilés la présence de protéines en grande quantité qui peuvent toutefois être extraites à raison de près de 95% à l'acétone. Le comportement thermique du latex est caractérisé par une température de transition vitreuse haute (1 - 10°C) et une dégradation thermique rapide et nette semblable à celle du caoutchouc naturel.

Ces résultats ouvrent des perspectives de valorisation des composés phénoliques du duramen et de l'aubier après stockage des grumes sur parc ainsi que l'écorce pour ses composés flavonoïques. L'étude du latex devrait être également poursuivie afin d'envisager une valorisation dans le secteur cosmétique.

Mots-clés : *Milicia excelsa*, extraction du bois, latex, screening phytochimique, flavonoïde, polyphénols totaux, effet de stockage, hauteur d'échantillonnage

Abstract

The Congo Basin rainforest is the second largest continuous tropical forest massif on Earth with 169 million hectares. Currently under threat, this forest ecosystem is at the heart of major socio-economic and environmental stakes. The logging companies, whose concessions cover nearly 50 million hectares, have a key and active role in the protection of this ecosystem by a sustainable management of forest resources. At the same time, the wood industry generates a large amount of waste. With the reduction of oil resources, new opportunities are emerging that could make it possible to use waste in pharmaceutical, cosmetics and food sectors. The present master thesis aims to evaluate the possibility to valorize the molecules extracted from the sawn waste of timber species. It is focusing on Iroko (*Milicia excelsa*), a high value tropical timber species. Iroko is part of Moraceae family and secretes latex with a similar composition to natural rubber latex. First, the acetonetic extracts of heartwood, sapwood, bark and leaves have been quantified and characterized bearing in mind the storage effect of the timbers and the three heights sampling. And second, in order to introduce the interest of valuing this latex, a protein content and thermic behaviour analysis have been carried out. The results showed that the acetonetic extracts from the different organs contained phenolic and flavonoic compounds. In ascending order, the leaves, the bark, the sapwood and the heartwood presented high levels of phenolic compounds. While high levels of flavonoids have been quantified, in ascending order, in the heartwood, the sapwood, the bark and the leaves. Amongst these phenolic compounds, resveratrol and rosmarinic acid have been identified. The sampling height didn't have any effects on the composition and the levels of these phenolic compounds. However the timber storage showed significant effects on the composition and the levels of phenolic compounds of the sapwood and the bark. The latex analysis revealed the presence of protein in large quantities, of which 95% can be extracted by an acetonetic extraction. The thermal behaviour of latex from Iroko was characterized by a high glass transition temperature (1 - 10°C), and a fast and net thermal degradation similar to natural rubber.

We recommend to investigate the potential value of phenolic compounds of the heartwood and the sapwood stored on logyard, and the flavonoic compounds of the bark. The study of the latex should also be deepened to consider a valuation in the cosmetics sector.

Keywords : *Milicia excelsa*, Wood extractives, latex, phytochemical screening, flavonoids, total phenols, storage effect, sampling height,

Table des matières

Remerciements	i
Résumé.....	ii
Abstract.....	iii
Liste des tableaux.....	vi
Liste des figures	vii
Liste des équations	viii
1 Introduction	1
1.1 Des forêts d’Afrique centrale à mieux valoriser.....	1
1.2 L’extraction des molécules du bois, une piste de diversification	2
1.3 Le latex des arbres non domestiqués, une substance peu étudiée	5
1.4 Les objectifs	6
2 Matériels et méthodes d’analyse.....	8
2.1 L’iroko, <i>Milicia excelsa</i>	8
2.2 La matière première utilisée	8
2.3 La méthode d’échantillonnage	10
2.4 La préparation des échantillons	12
2.5 Traitement des échantillons	12
2.5.1 Le taux de matière sèche	12
2.5.2 L’extraction des molécules phytochimiques	13
2.5.3 Choix du solvant.....	13
2.5.4 La caractérisation chimique des extraits	14
2.5.5 Analyse du latex.....	15
2.6 Standards et produits chimiques.....	17
2.7 Analyses statistiques	17
3 Résultats :.....	18

3.1	Analyse des effets de la hauteur et du stockage	18
3.1.1	Rendements d'extraction	18
3.1.2	Polyphénols totaux	19
3.1.3	Flavonoïdes totaux.....	20
3.1.4	Récapitulatif.....	21
3.2	Compositions chimiques des extraits dans les différents compartiments de l'arbre en fonction du stockage.....	21
3.2.1	Rendements d'extraction	22
3.2.2	Polyphénols totaux	23
3.2.3	Flavonoïdes totaux.....	24
3.2.4	Synthèse.....	25
3.3	Identification par HPLC - UV des molécules phytochimiques.....	25
3.4	Caractérisation chimique du latex	30
3.5	Dosage du taux protéique du latex.....	30
3.6	Comportement thermique du latex	31
4	Discussion	35
4.1	Rendements d'extraction, teneurs en polyphénols et flavonoïdes.....	35
4.2	Influence de la hauteur de prélèvement.....	36
4.3	Impact de la conservation des grumes sur parc.....	36
4.4	Teneurs dans les différentes parties de l'arbre.....	36
4.5	Criblage phytochimique.....	38
4.6	Latex	41
5	Conclusion.....	43
6	Bibliographie	45
	Annexes :	53

Liste des tableaux

Tableau 1. Origine et description de la matière première	9
Tableau 2. Teneur en matière sèche des échantillons d'aubier, de duramen et d'écorce	13
Tableau 3. Résultats des rendements d'extraction (g d'extractible/ g de matière sèche)	19
Tableau 4. Résultats du dosage des polyphénols totaux (Phénols totaux contenus en g. éq. acide gallique/g d'extractible)	20
Tableau 5. Résultats du dosage des flavonoïdes totaux (flavonoïdes totaux contenus en g. éq. quercétine/g d'extractible)	21
Tableau 6. Rendement d'extraction par organe (g d'extractible/ g de matière sèche)	22
Tableau 7. Rendements d'extraction des feuilles d'Iroko (g d'extractible/ g de feuilles broyées sèches)	22
Tableau 8. Dosage des polyphénols totaux par organe (Phénols totaux contenus en g éq acide gallique/g d'extractible)	23
Tableau 9. Dosage des polyphénols totaux des feuilles d'Iroko (en g éq. acide gallique/g d'extractible)	23
Tableau 10. Analyse de la variance des extraits phénoliques des feuilles	24
Tableau 11. Dosage des flavonoïdes totaux par organe (en g. éq. quercétine/g d'extractible)	24
Tableau 12. Dosage des flavonoïdes des feuilles d'Iroko (en g. éq. quercétine/g d'extractible)	24
Tableau 13. Analyse de la variance des extraits flavonoïques des feuilles	25
14. Résultats de l'analyse qualitative par HPLC des échantillons de duramen	26
Tableau 15. Résultats de l'analyse qualitative par HPLC des échantillons d'aubier	28
Tableau 16. Résultats de l'analyse qualitative par HPLC des échantillons d'écorce	29
Tableau 17. Résultats du dosage protéique	31
Tableau 18. Moyenne des pertes de masse (%) des différents échantillons de latex d'Iroko ..	32
Tableau 19. Température de transition vitreuse (Tg) du latex d'Iroko	34

Liste des figures

Figure 1. Aperçu d'un Iroko	8
Figure 2. Carte des UFA du Cameroun et localisation des UFA d'Alpicam-Grumcam	9
Figure 3. Schéma des hauteurs échantillonnées	11
Figure 4. Processus de broyage du duramen	12
Figure 5. Exemple de chromatogramme du duramen frais à H2 (I2H2D)	27
Figure 6. Chromatogramme d'un extrait d'aubier frais	28
Figure 7. Chromatogramme d'un extrait d'aubier stocké	28
Figure 8. Chromatogramme d'un extrait d'écorce (I4H2E)	29
Figure 9. Chromatogramme d'un extrait de feuille	30
Figure 10. Graphique des courbes thermogravimétriques des échantillons de latex d'Iroko (IEx & IP) et de caoutchouc naturel (NR)	31
Figure 11. Graphique des dérivées des courbes thermogravimétriques des échantillons de latex d'Iroko (IEx & IP) et de caoutchouc naturel (NR)	32
Figure 12. Courbes calorimétriques des échantillons de latex d'Iroko (IxLE & LxP)	33
Figure 13. Spectre UV de l'acide rosmarinique (Standard)	58
Figure 14. Exemple d'un spectre d'absorption UV de l'acide rosmarinique identifié dans un extrait (I5H2D)	58
Figure 15. Exemple d'un spectre d'absorption UV de l'acide rosmarinique identifié dans un extrait (I3H3D)	59
Figure 16. Spectre UV du resvératrol (Standard)	60
Figure 17. Exemple d'un spectre d'absorption UV d'un composé dérivé du resvératrol identifié dans un extrait (I2H2D)	60
Figure 18. Exemple d'un spectre d'absorption UV d'un composé dérivé du resvératrol identifié dans un extrait de duramen (I2H1D)	61

Liste des équations

Équation 1. Calcul du taux protéique	16
--	----

1 Introduction

1.1 Des forêts d'Afrique centrale à mieux valoriser

La forêt dense d'Afrique Centrale forme le second plus grand massif de forêts tropicales au monde après l'Amazonie. D'une superficie de 169 millions d'hectares (FRM, 2018), elle est aujourd'hui largement exploitée pour produire du bois d'œuvre. Les concessions attribuées aux sociétés forestières couvrent 28% de sa surface (FRM, 2018). Il s'agit de la principale affectation des terres. En 2016, la production totale de bois y a été estimée à 15.485.020 m³, ce qui représente environ 10% du marché mondial du bois tropical (ITTO, 2016).

Après le sommet de Rio, les pays d'Afrique centrale se sont engagés à gérer durablement leurs forêts et ont révisé leurs législations. Dorénavant, les sociétés forestières doivent produire et faire valider des plans d'aménagement dits durables (Bertrand et al., 1999 ; Bayol et al., 2008). Ces plans reposent notamment sur un inventaire systématique de la ressource ligneuse et l'adoption de diamètres minimums d'exploitabilité censés garantir la reconstitution de la ressource au bout d'une rotation (Fargeot et al., 2004 ; Bayol et al., 2008). Toutefois, les normes sont variables d'un pays à l'autre et souvent les exigences se limitent à reconstituer 50 % des effectifs exploités lors du premier passage (Karsenty & Gourlet-Fleury, 2006). Dans ce contexte, les populations des principales espèces exploitées s'amenuisent (Karsenty & Gourlet-Fleury, 2006) même si le couvert forestier demeure peu affecté par une exploitation très sélective (moins de deux pieds par hectare).

Considérées par certains comme un des principaux remparts à la déforestation, en évitant la conversion en terres agricoles, cette exploitation ne pourrait que retarder la menace si des alternatives ne sont pas rapidement trouvées pour mieux valoriser la forêt.

Paradoxalement, le secteur forestier entraîne une grande production de déchets provenant soit de l'abattage et du débardage (houppier, souche, contreforts et rebus), soit de la transformation des grumes lors du sciage ou de la deuxième transformation en usine. Ces co-produits sont des dosses, délignures, écorces, chutes, sciures, copeaux ou encore poussières de ponçage. Aujourd'hui, ces déchets sont soit laissés sur place, soit brûlés, mais rarement valorisés.

On estime que seulement 30% d'un arbre abattu sont réellement valorisés (70% de déchets produits) (Saha Tchinda, 2015). Or une meilleure valorisation apporterait une plus-value aux opérations de transformation, ce qui pourrait réduire la pression sur la forêt. Afin de soutenir le secteur forestier, de nouvelles technologies et solutions innovantes doivent donc être trouvées afin de valoriser les produits connexes de l'exploitation.

1.2 L'extraction des molécules du bois, une piste de diversification

Avec l'épuisement des énergies fossiles et la hausse des prix qui en résulte, la xylochimie semble offrir de nouvelles perspectives et permettre l'accès à de nouveaux marchés. Les molécules bioactives, également appelées molécules extractibles, issues de ressources renouvelables tel que le bois sont déjà sujettes à de nombreuses recherches et valorisations dans différents domaines (pharmaceutique, agroalimentaire, cosmétique). Cependant, celles-ci se limitent en général aux extractibles des essences tempérées. Or, les bois tropicaux présentent des teneurs plus élevées en molécules extractibles, ce qui renforce davantage l'intérêt de les valoriser (Huang et al., 2009 ; Mounguengui, 2008).

Ces molécules phytochimiques sont des métabolites secondaires qui interviennent dans la protection de la matière ligno-cellulosique (Stevanovic, 2007 ; Valette et al., 2017). Leurs rôles dans la définition des caractéristiques du bois sont multiples et elles sont par exemple responsables de l'odeur, de la durabilité, de la couleur, des propriétés mécaniques et acoustiques du bois (Stevanovic, 2007 ; Hernandez, 2007). Elles apparaissent très tôt dans l'arbre suite à des stress environnementaux ou durant le passage d'un stade physiologique à un autre. C'est ainsi que leur concentration dans l'arbre est souvent corrélée à la fréquence et l'intensité des stress environnementaux. En outre, de multiples études ont mis en évidence la différence significative quant à la nature et aux teneurs de ces biomolécules en fonction des différentes parties de l'arbre, notamment entre le duramen, l'aubier et l'écorce (Monties, 1987 ; Fengel et Wegener 1984 ; cité par Mounguengui, 2008). L'aubier, le duramen et l'écorce ont des fonctions distinctes dans l'arbre (Lehnebach et al., 2016). L'aubier est un tissu physiologiquement actif dont les cellules servent à faire circuler la sève (Gartner, 1995). Avec le temps, ces cellules se bouchent, meurent et s'imprègnent de substances phytochimiques. Cette transformation de l'aubier en duramen s'appelle la duraminisation (Hillis, 1987 ; cité par Lehnebach et al., 2016). Le duramen possède systématiquement des concentrations en extractibles plus élevées que l'écorce ou l'aubier dont les teneurs sont globalement assez similaires (Boizot et Charpentier, 2006 ; Monties, 1987 ; Fengel et Wegener 1984). C'est cette particularité qui rend le duramen la partie de l'arbre la mieux valorisée dans l'industrie du bois (Cirad 2011 ; cité par Lehnebach et al., 2016). Pour un même organe étudié, leur teneur et leur nature peuvent également varier en fonction de l'essence, de la région géographique, de la saison et dans le cas d'un arbre abattu, du temps et des conditions de stockage (Doussot et al., 2002 ; Prida et Puech 2006 cité par Mounguengui, 2008).

Les extractibles regroupent plusieurs familles de molécules telles que les polyphénols, les terpènes, les cires, les graisses et les alcaloïdes (Mounguengui 2008, Lutge et al., 2002 ; Marouf & Reynaud, 2007 ; Boudjouref, 2011). Les polyphénols sont le groupe le plus répandu dans le règne végétal (Lugasi et al., 2003 ; Boudjouref, 2011) et souvent présents en grande concentration, ce qui permet une valorisation industrielle (Stevanovic, 2011). Dans ce groupe on distingue les phénols simples, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les quinones, les stilbènes, les lignanes, les tanins, ou encore les saponines. (Saha Tchinda, 2015 ; Kabran et

al., 2012). Différentes techniques existent pour quantifier ces composés phénoliques à partir d'extrait végétal. La méthode classique et habituellement utilisée est la méthode colorimétrique de Folin- Ciocalteu décrite par Scalbert et al. (1989) (Boizot & Charpentier, 2008).

Les flavonoïdes présentent un intérêt particulier de par leurs propriétés antifongique, antivirale, antibactérienne et antioxydante (Cushnie et Lamb., 2005 ; cité par Alghazeer et al., 2017 ; Ng et al., 2019). Ils sont responsables de la coloration des parties végétales dans lesquelles ils se trouvent ainsi que de la protection contre les radiations ultraviolettes, les pathogènes, les herbivores, etc. (Harbone & Williams, 2000). Les propriétés anti-oxydantes et anti-radicalaires sont les plus connues de ces composés. Elles sont à l'origine de nombreuses études sur leur valorisation dans les domaines de la cosmétique et de l'agro-alimentaire (Cao et al. 1997 ; Ghedira, 2005 ; Boudjouref 2011 ; Mounguengui, 2018). En outre, plusieurs chercheurs ont mis en évidence les propriétés antimicrobiennes, antifongiques et inhibitrices de tumeurs d'extraits végétaux liés à la présence de ces flavonoïdes (Harbone & Williams, 2000 ; Haraguchi et al., 1998 ; Iinuma et al., 1994 ; Iniesta et al., 1990 ; Tim et al., 2005 ; Okwu, 2004 ; Kim, 1994 ; cité par Oparanozie Tochukwu, 2015). De nombreuses études font référence à la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) pour la quantification des flavonoïdes dans les extraits végétaux (Besbes Hlila, 2017 ; Khalida, 2007).

Les composés phénoliques sont largement utilisés en médecine (Saha Tchinda, 2015). Environ 52% des médicaments conventionnels actuels sont constitués ou dérivés de molécules bioactives extraites de produits naturels (Newman and Cragg, 2007 ; cité par Saha Tchinda, 2015). Par exemple, on retiendra les extraits de Ginkgo (*Ginkgo biloba*) utilisés contre les troubles de mémoire et les déficiences vasculaires (Qa'dan et al., 2010), la quinine, flavonoïde extrait du quinquina, utilisé pour le traitement de la malaria (Achan et al., 2011) ou encore l'acide salicylique de l'Aspirine® extrait du saule (*Salix sp.*) (Lafont, 2007). Un autre exemple est la gemmothérapie, une branche populaire de la phytothérapie reposant sur les principes actifs des alcaloïdes et des composés phénoliques contenus dans les tissus embryonnaires (bourgeons et jeunes pousses) de certaines plantes (Andrienne, 2004).

De nos jours, les maladies bactériennes provoquent toujours des millions de décès par an. Si cela est principalement dû au manque d'accès aux médicaments antibiotiques, la résistance aux antibiotiques conventionnels peut aussi être évoquée (Lu and Collins, 2009 ; Recio et al., 1989 ; cité par Padayachee and Odhav, 2013). Les bactéries résistantes aux antibiotiques résultent de mutation génétique ou de transfert de gènes entre bactéries. Cela provoque l'inefficacité des traitements habituels contre certaines maladies (Oparanozie Tochukwu, 2015). Une solution efficace pour lutter contre ces résistances microbiennes est l'utilisation d'antioxydants et antimicrobiens d'origine végétale (Liu et al. 2009). Leur origine végétale leur confère une structure particulière n'induisant pas de résistance microbienne (Lee et al., 2004 ; Kubo & Kubo, 1995 ; Padayachee & Odhav ; Ghedadba et al., 2015).

Les quelques récentes études menées sur les essences tropicales d'Afrique Centrale ont pu mettre en évidence des propriétés antimicrobienne, antifongique, colorante, régénératrice cutanée et antioxydante de certains extraits de bois, d'écorce et de feuilles des principales

essences commerciales (Saha Tchinda, 2015 ; Mounguengui et al., 2016 ; Meyo Begdoevi, 2018 ; Chigozie et al., 2014 ; Nagawa et al., 2015). Ces études s'accordent sur le fait que le contenu et le type de molécules extraites varient considérablement d'une essence à l'autre et que de manière générale les propriétés associées aux extraits de bois sont corrélées avec la durabilité naturelle et les contenus phénoliques du bois (Mounguengui et al. 2016 ; Udegbonam et al., 2013).

A cette variabilité interspécifique, s'ajoute le choix du solvant d'extraction. En effet, chaque solvant a ses propres caractéristiques (polarité, miscibilité avec les biomolécules cibles, volatilité) et permet d'extraire des molécules de nature et en quantité différentes (Bourgou et al., 2016 ; Saha Tchinda, 2015 ; Ben Sassi et al., 2007 ; Mounguengui et al., 2017 ; Nagawa et al., 2015). Aucun solvant ne peut extraire seul toutes les molécules extractibles du bois. C'est ainsi que par exemple les extraits hydro-éthanoliques de duramen et d'écorce d'Iroko montrent des propriétés antifongiques, tandis que les mêmes organes extraits au dichlorométhane dévoilent des propriétés antifongiques plus fortes, ou encore que leurs extraits acétoniques aient des propriétés fortement antimicrobiennes. (Meyo Degboevi, 2018)

De manière générale, les extraits éthanoliques permettent d'obtenir des molécules fortement antioxydantes (Mounguengui et al., 2016 ; Bourgou et al., 2016), tandis que les extraits acétoniques permettent d'obtenir des molécules aux propriétés antimicrobiennes et de meilleurs rendements d'extraction par rapport aux autres solvants organiques conventionnels (éthanol, méthanol, dichlorométhane) (Meyo Degboevi, 2018, Ben Sassi et al., 2007). Enfin, les extraits méthanoliques offrent de faibles rendements d'extraction, mais ils sont caractérisés par des molécules antifongiques (Darma et al., 2006 ; Saha Tchinda, 2015). L'étude de ces molécules phytochimiques est cependant loin d'avoir été pleinement exploitée. La caractérisation des molécules responsables de ces propriétés est un facteur clé afin de promouvoir et optimiser leurs valorisations (Kilic & Niemz, 2012).

Les biomolécules, malgré leurs nombreuses propriétés, restent néanmoins sensibles à certains facteurs externes qui peuvent les dénaturer. Les effets du stockage sur les teneurs en composés phénoliques dans les fruits ont déjà été largement étudiés. A température ambiante, ils sont susceptibles de subir des oxydations enzymatiques par des polyphénoloxydases. Toutefois, de manière générale la teneur globale en polyphénols ne varie pas significativement (Dragovic-Uzelac et al., 2005 ; Awad et al., 2000; Van der Sluis et al., 2001).

L'effet du stockage sur les molécules phytochimiques du bois a été peu étudié pour les essences tropicales. Une étude de Silvério et al. (2008) a remarqué que les rendements d'extraction acétonique du bois d'Eucalyptus (*Eucalyptus spp.*) diminuait avec le temps de stockage, avec une différence significative à partir du soixantième jour. Cette diminution de rendements en composés extractibles était principalement due à la présence d'acides gras et de stérols.

Les molécules phytochimiques étant des composés qui s'accumulent dans les vacuoles et les parois cellulaires du bois, leurs concentrations varient aussi en fonction de la hauteur

(Rather et al., 2017). A notre connaissance, aucune étude n'a été menée sur la distribution des extractibles dans l'axe vertical des arbres tropicaux à l'inverse des essences tempérées. Neverova et al. (2013) ont montrés que les quantités d'extractibles sont plus importantes dans la base du Mélèze de Sibérie (*Larix sibirica*) et tendent à diminuer jusqu'à mi-hauteur de l'arbre, pour s'équilibrer ensuite.

1.3 Le latex des arbres non domestiqués, une substance peu étudiée

Le latex naturel est une matière première à haute valeur commerciale qui est récoltée pour la fabrication de nombreux produits (pneumatique, matériau de construction ou médical). Ce biopolymère est un suc végétal généralement blanc et laiteux, que l'on retrouve dans les canaux lactifères de plusieurs familles végétales telles que les Euphorbiacées, les Moracées ou les Apocynacées (Agrawal & Konno, 2009). La composition du latex est variable d'une essence à une autre, mais il y a généralement un polymère naturel de type poly(*cis*- 1,4-isoprène) à raison de 96% de sa masse ainsi que des lipides, protéines, alcaloïdes et des traces de potassium, magnésium et de cuivre (Carvalho & al. 2003 ; Rao & Johns, 2008). Les différents composés non isopréniques présents dans le caoutchouc naturel (protéines, carbohydrates, lipides et composés inorganiques) confèrent à celui-ci des propriétés mécaniques inégalées par les polymères synthétiques (Musigamart, 2015).

La quasi totalité de la production mondiale de caoutchouc est issue de la culture d'un seul arbre, l'hévéa (*Hevea brasiliensis*). Toutefois, Cornish (2017) estime que les cultures d'hévéa actuelles ne pourront soutenir la demande toujours croissante en cette ressource. De plus, le caoutchouc naturel présente plusieurs inconvénients comme ceux de provoquer des allergies cutanées importantes chez certains individus suite à la présence de protéines, ainsi qu'avoir une faible résistance à la chaleur (Turjanmaa et al., 2000 ; Wodds et al., 1997)

On ne dénombre pas moins de 240 protéines différentes dans le latex naturel dont certaines seulement présentent un danger sanitaire (Yeang, 2002 ; Pak et al., 2012). Des méthodes simples ont été mises au point pour éliminer la majeure partie des protéines. Parmi celles-ci on peut citer la déprotéinisation par l'urée, la déprotéinisation enzymatique, au dodécylsulfate de sodium ou encore l'extraction du latex à l'acétone (Fukuhara et al., 2015 ; Chaikumpollert et al., 2012) Cette déprotéinisation se fait au risque de perdre certaines propriétés physiques. En effet, si la présence de protéines est la principale contrainte du caoutchouc naturel, elles ont également un effet positif sur la résistance à la traction du matériau et elles sont les garantes d'un caoutchouc de qualité. D'une part parce que les produits de dégradation des protéines, les acides aminés, promeuvent la durabilité du matériau et favorisent la vulcanisation. Et d'autre part, parce que les protéines améliorent l'absorption de l'eau dans le caoutchouc, ce qui influence directement les propriétés d'isolation thermique ainsi que la conductivité thermique et électrique du matériau (Chaikumpollert et al. 2012 ; Qi et al., 2013).

De nombreuses études se sont penchées sur la recherche de plantes alternatives à l'Hévéa sans avoir pu proposer de réelles solutions car les méthodes d'extraction sont souvent complexes et onéreuses (Mooibroek, 2000).

La caractéristique principale requise pour envisager une valorisation de polymères comme matériau est son comportement thermique, à savoir une température de transition vitreuse basse et une décomposition lente de la matière soumise à très haute température (Asaletha, 1998 ; Rao, 2008).

Les propriétés thermiques peuvent cependant être améliorées en réalisant des mélanges de polymères d'origines différentes (Asaletha, 1997 ; Rao, 2008). La compatibilité du latex étudié avec d'autres sources de latex joue donc un rôle très important dans la stabilité du matériau (Grassie et al., 1970 ; Dodson et al., 1976 ; cité par Asaletha, 2008).

Au-delà de ses propriétés mécaniques, le latex naturel de certains végétaux présente des propriétés très recherchées en cosmétique et en médecine. Citons par exemple les propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et régénératrices cutanées (McCay et al., 1973 ; Essam & Gomah, 2011 ; Altman, 1948 ; Mrue, 2001).

Enfin, en mélange avec certaines résines, le latex d'hévéa bénéficie d'une grande adhésivité. Celle-ci permet notamment d'obtenir des produits cosmétiques (laque, maquillage,...) plus résistants et adhésifs sur la peau (Cruz et al., 2011). La valorisation du latex en cosmétique et pharmacie est très prometteuse car cette matière première est biocompatible et issue d'une ressource 100% renouvelable, ce qui est un atout majeur dans ces domaines. (Balabanian et al., 2006)

1.4 Les objectifs

Ce travail, qui s'inscrit dans le cadre du projet EHPVAL¹ a pour objectif général de donner une valeur ajoutée aux produits connexes de la transformation du bois via une valorisation des molécules extractibles et du latex qu'il contient. Il se focalise sur une espèce ligneuse qui figure parmi les dix espèces les plus exploitées d'Afrique centrale, l'iroko.

L'Iroko (*Milicia excelsa* (welw.) C.C. Berg.) a un bois dur et très durable fortement prisé en construction lourde (pont, construction navale, traverses de chemin de fer), en menuiserie d'intérieur et d'extérieur, ainsi qu'en ébénisterie (Meunier et al., 2015).

¹ Le projet EHPVAL « Essences à Haut Potentiel de VALorisation » est financé par le programme PPECF. Il vise à réduire la pression d'exploitation sur des espèces ligneuses traditionnelles en valorisant des essences peu connues et en utilisant les co-produits de la transformation pour la production de molécules à haute valeur ajoutée.

Son écorce est utilisée contre les migraines et les parasites intestinaux notamment (Ndenecho, 2009).

Les feuilles sont utilisées en décoction contre les morsures de serpent, les migraines et les extraits sont connus pour avoir des propriétés antimicrobiennes et cicatrisantes (Udegbumam et al., 2012). Les feuilles préparées sont utilisées contre les tumeurs, les problèmes intestinaux et les obstructions de la gorge (Oparanozie Tochukwu, 2015 ; Ndenecho, 2009). De la famille des Moraceae, l'arbre produit du latex. Ce latex est utilisé en application externe sur les blessures, les affections cutanées et pour soigner les maux d'estomac (Sokpon, 2003). En dehors de ces propriétés thérapeutiques, l'Iroko est souvent considéré comme un arbre sacré planté à proximité des habitations.

L'identification des extraits phénoliques de l'Iroko a déjà été sujette à plusieurs études. King and Grundson (1949) ont identifiés la chlorophorine et l'iroko, deux stilbènes issus d'extraits étheriques du duramen de l'Iroko (Thiriloshani & Odhav, 2013). Meyo Degboevi (2018) a également identifié dans les extraits acétoniques du duramen la présence de resvératrol et de chlorophorine auxquels on attribue respectivement les propriétés antioxydante, régénératrice cellulaire, termicides, fongicides et antiradicalaires.

Plus spécifiquement, notre travail ambitionne :

- de quantifier et de caractériser la nature des composés phytochimiques de différentes parties (écorce, aubier, duramen et feuilles) de l'Iroko en fonction de la hauteur (base de la grume, haut de la grume et houppier) et du mode de stockage (arbres fraîchement abattus et arbres stockés sur parc) en s'attardant plus particulièrement sur les polyphénols ;
- de déterminer le taux protéique et le comportement thermique du latex d'Iroko non extrait et extrait à l'acétone.

2 Matériels et méthodes d'analyse

2.1 L'iroko, *Milicia excelsa*

L'iroko est un arbre des forêts tropicales africaines qui peut atteindre une hauteur de 55 mètres et un diamètre de 3 mètres (Figure 1). Le tronc possède des contreforts bas, épais et arrondis. L'écorce gris pâle est dure, rugueuse et se détache en écailles anguleuses. Elle est parsemée de lenticelles jaunes-oranges alignées.

La tranche exsude abondamment un latex blanc à l'odeur de savon qui durcit à l'air. Les grandes feuilles ovales sont pétiolées et possèdent une quinzaine de paires de nervures latérales parallèles de couleur jaune-verte ressortant sur la face inférieure. Essence caducifoliée, elle perd ses feuilles durant les saisons sèches. L'arbre est dioïque, avec des fleurs mâles formant de longs chatons (20 cm) blancs et des fleurs femelles formant des courts épis (4cm) verdâtres. Au Cameroun, la fructification et la feuillaison se répartissent de janvier à mai. Ses infrutescences sont semblables à de grosses chenilles vertes à la chaire sucrée et contenant de nombreuses petites akènes (Meunier et al., 2015 ; Daïnou, 2012)



Figure 1. Aperçu d'un Iroko

2.2 La matière première utilisée

Les prélèvements ont été effectués dans la concession forestière sous gestion durable attribuée à la société Alpicam/Grumcam basée à Mindourou dans le Département de la Kadéy, à l'Est du Cameroun et dans les unités forestières d'aménagement (UFA) 10-053, 10-051, 10-23 et 10-026 en vert foncé dans la figure 2.

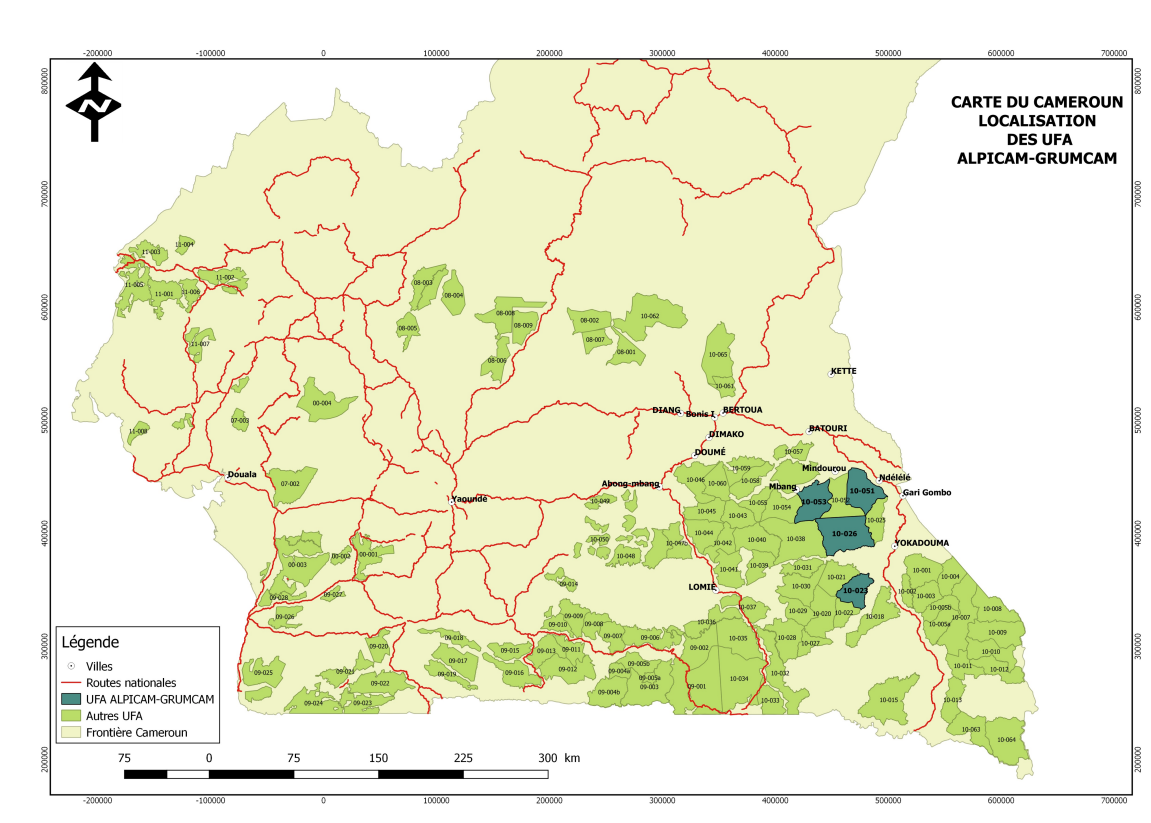


Figure 2. Carte des UFA du Cameroun et localisation des UFA d'Alpicam-Grumcam

Les prélèvements ont été effectués dans un premier temps sur trois arbres fraîchement abattus sur lesquels l'écorce, le bois, les feuilles et le latex ont été récoltés. Dans un second temps, afin d'examiner l'impact du stockage sur la concentration en extractibles, de l'écorce et du bois ont été échantillonnés sur trois arbres d'un parc à grumes jouxtant la scierie (Grumcam).

Tous les prélèvements ont été réalisés entre le 15 février et le 17 avril 2019. Sur tous les arbres, l'aubier et le duramen ont été distingués pour les échantillons de bois. Le tableau 1 synthétise l'ensemble des échantillons collectés.

Tableau 1. Origine et description de la matière première

Echant.	Lot	Date de récolte	Date abattage	Date emballage	Lieu abattage	Ref. grume	Long. grume (m)
Iroko	grume fraiche	20/02/19	20/2/19	22/2/19	UFA 10-051 UFE 5 AAC 4 Poche 1 C2-209	6000 - 1848 -90	30
Iroko 2	grume fraiche	21/02/19	21/2/19	22/2/19	UFA 10-051 UFE 5 AAC 4 Poche 1 C2-212	6000 - 1383 - 100	29
Iroko 3	grume fraiche	28/2/19	28/2/19	28/2/19	UFA 10-051 UFE 5 AAC 4 Poche 1 C2-216	6000 - 762 - 100	28
Iroko 4	parc	12/03/19	13/2/19	12/03/19		303952 - 13	25
Iroko 5	parc	12/03/19	12/02/19	12/03/19		303953 - 04	32
Iroko 6	parc	12/03/19	9/02/19	12/03/19		303952 - 13	20

2.3 La méthode d'échantillonnage

L'échantillonnage a été réalisé sur six arbres différents dont trois sont des arbres ayant été fraîchement abattus et les trois autres sont des grumes stockées sur parc depuis minimum un mois.

Les trois hauteurs d'échantillonnage correspondent à la base de la grume (H1), haut de la grume (H2) et dans le houppier (H3).

Sur les arbres fraîchement abattus, l'aubier, le duramen et l'écorce ont été échantillonnés aux trois hauteurs H1, H2 et H3 (figure 2). Les feuilles du houppier et le latex ont également été échantillonnés sur ces arbres.

Sur les arbres stockés sur parc, seuls l'aubier, le duramen et l'écorce ont été prélevés aux hauteurs H1 et H2.

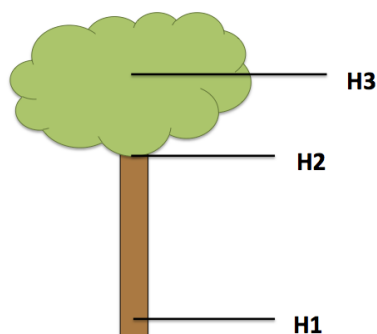


Figure 3. Schéma des hauteurs échantillonnées

L'échantillonnage du bois a été réalisé en distinguant l'aubier du duramen et en respectant les normes TAPPI (2012) : T257 cm-12 "Sampling and preparing wood for analysis" préconisant de ne pas prélever des échantillons ayant directement été coupés à l'aide d'une tronçonneuse (Walkinshaw, 2012). Le protocole d'échantillonnage du bois complet est décrit en annexe 1 et résumé ci-après.

L'aubier et le duramen ont d'abord été échantillonnés à la tronçonneuse puis recoupés à bonnes dimensions à l'aide d'une scie circulaire.

L'écorce a été échantillonnée à l'aide d'une machette directement sur la grume, au-dessus de l'endroit même où les rondelles de bois ont été préalablement prélevées. L'échantillonnage a été réalisé sur une hauteur de maximum 20 cm et sur toute la circonférence du tronc jusqu'à obtenir environ 200 gr de matière fraîche par échantillon.

Les feuilles ont été récoltées à la main dans le houppier fraîchement abattu de manière aléatoire à trois endroits différents. La période d'échantillonnage correspondant à la période de feuillaison des arbres, les lots sont composés exclusivement de jeunes feuilles.

Le latex a été récolté au moment de l'abattage au niveau de la souche. Une entaille a été faite à l'aide d'une tronçonneuse au niveau de la culée. L'entaille diagonale était de 1 m de long. A l'extrémité basse de cette entaille, un récipient en plastique hermétique de 20 ml de contenance a été placé pour récolter le latex. Afin d'obtenir assez de matériel analysable, un minimum de 3 récipients, soit 60 ml de latex, ont été prélevés par arbre.

2.4 La préparation des échantillons

Tous les échantillons une fois découpés ont été emballés à l'aide d'une emballeuse sous vide SilverCrest® et mis à l'abri de la lumière afin d'éviter tout risque de contamination microbienne ou fongique pouvant altérer la teneur et la composition des biomolécules cibles.

Pour finir, les échantillons ont été placés dans un surgélateur à -20°C avant leur transport de leur zone d'échantillonnage (Mindourou, Cameroun) jusqu'à leur lieu d'analyse (Gembloux, Belgique) (SCAN-CM 49:03, 2003).

Avant le broyage des échantillons de bois et d'écorce, un pré-découpage a dû être réalisé à l'aide d'un ciseau à bois afin de produire de plus fins fragments, plus adaptés au broyeur utilisé. Les fins fragments de bois ont ensuite été broyés à l'aide du broyeur Friesch Pulverisette 19 muni d'une grille d'exclusion de 2 mm (figure 3) (SCAN-CM 49:03, 2003).

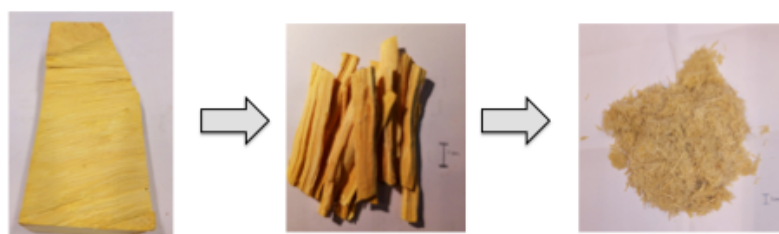


Figure 4. Processus de broyage du duramen

Les échantillons de feuilles ont été séchées jusqu'à obtenir un taux d'humidité de 2,4%. Ensuite elles ont été broyées au moulin Minipimer 5 Braun® durant 1 minute afin d'obtenir une granulométrie similaire aux échantillons de bois et d'écorce après broyage.

2.5 Traitement des échantillons

2.5.1 Le taux de matière sèche

Les calculs du taux de matière sèche des échantillons de latex, d'aubier, d'écorce et de duramen ont été effectués après passage à l'étuve des échantillons (Memmert SNB 100) à 105°C durant 24h selon la méthode « Determination of total solids in biomass and total dissolved solids in liquid process samples » (Sluiter, Hames, Hyman, et al., 2008).

Les teneurs en matière sèche des différents échantillons de bois et d'écorce d'Iroko sont reprises dans le tableau 2.

Tableau 2. Teneur en matière sèche des échantillons d'aubier, de duramen et d'écorce

Echantillons		Taux MS (% massique)
Aubier	Frais	69 ± 8
	Stocké	66 ± 4
Duramen	Frais	67 ± 4
	Stocké	61 ± 6
Ecorce	Frais	68 ± 6
	Stocké	64 ± 8

2.5.2 L'extraction des molécules phytochimiques

L'extraction des molécules phytochimiques a été réalisée sur des échantillons de duramen, d'aubier, de feuilles et d'écorce frais par la méthode du Soxhlet à l'acétone selon le processus standard Tappi T 204 cm-97 (Buchanan, 2007). L'extraction a été effectuée durant 6 heures. Les extraits recueillis ont ensuite été évaporés pour retirer le solvant. Cette étape a été réalisée à l'aide d'un évaporateur sous pression réduite Rotavapor®.

Ces manipulations ont également permis de déterminer les rendements d'extraction selon la méthode "*Determination of Extractives in Biomass*" adaptée avec l'utilisation de l'acétone (Sluiter et al., 2005).

Une fois les rendements d'extraction calculés, les extraits ont été dilués dans du méthanol pour leur conservation.

2.5.3 Choix du solvant

L'extraction au Soxhlet a été réalisée avec comme unique solvant l'acétone. Ce choix se justifie par le fait que ce soit un solvant polaire couramment utilisé pour l'extraction des

polyphénols. De plus, plusieurs études présentent les extraits acétoniques de bois tropicaux comme ceux ayant les meilleurs rendements d'extraction (Saha Tchinda 2015 ; Moyo Degboevi, 2019). Pour finir, l'acétone est un solvant très volatil qui permet une récupération facilitée des molécules (Harmala et al., 1992 ; Gertenbach, 2002 ; cité par Cheah Li Chin, 2009).

2.5.4 La caractérisation chimique des extraits

- Le dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par Scalbert et al. (1989).

L'absorbance des extraits a été mesurée à 755 nm et comparée à celles d'une gamme étalon d'acide gallique à différentes concentrations. Les résultats obtenus sont donc exprimés en mg équivalent acide gallique.

La courbe d'étalonnage d'acide gallique utilisée pour déterminer les concentrations des polyphénols totaux est reprise à l'annexe 2.

- Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes totaux a été effectué par la méthode colorimétrique décrite par Lamaison et Carnat (1990) faisant intervenir le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$).

L'absorbance a ensuite été mesurée à 420 nm et comparée à l'absorbance de différentes solutions de quercétine. Les résultats obtenus sont donc exprimés en mg équivalent quercétine pour chaque extrait. La courbe d'étalonnage de quercétine utilisée pour déterminer les concentrations des flavonoïdes totaux est reprise à l'annexe 3.

- Chromatographie haute performance en phase liquide couplée à un détecteur UV

La caractérisation des molécules présentes dans les extraits acétoniques de feuilles, aubier, duramen et écorce a été réalisée à l'aide du chromatographe haute performance en phase liquide Shimadzu Nexera XR. L'éluant utilisé est un mélange d'eau déminéralisée et d'acide formique (1%) à une température de 30°C. La colonne utilisée pour cette analyse est la

colonne ZORBAX 300 SB - C18 (4,6x150 mm ; 3,5 m Ø). L'appareil est couplé à un détecteur UV-Visible doté de la technologie DAD (Diod Array Detector) mesurant à 280 nm les spectres UV des pics obtenus à partir des extraits et des standards.

Un total de 23 standards a également été analysé dans les mêmes conditions afin de pouvoir comparer les temps de rétention et les spectres UV avec ceux des extraits. Ces standards sont l'acide gallique, l'acide hydroxycinnamique, la catéchine, l'acide vanillique, l'acide chlorogénique, l'acide cafféique, l'acide syringique, l'épicatéchine, l'acide paracoumarique, l'acide transférulique l'acide benzoïque, l'acide salicylique, l'acide synapique, l'acide ellagique, la rutine, l'acide rosmarinique, le resveratrol, l'acide cinnamique, la quercétine, la naringénine, le kaempferol, le flavanol et la flavanone.

2.5.5 Analyse du latex

Dans un premier temps, une analyse a tenté de caractériser la composition chimique du latex en analysant la composition en molécules phytochimiques et en protéines. Dans un deuxième temps, l'analyse du comportement thermique du latex a été investiguée.

- Extraction des molécules phytochimiques

L'extraction à l'acétone au Soxhlet du latex a été réalisée dans les mêmes conditions que l'extraction du bois et de l'écorce réalisée précédemment et suivant le processus standard Tappi (T 204 cm-97, 2007). Chaque extraction a été effectuée durant 6 heures avec de l'acétone pure (>99%).

Le latex extrait a ensuite été concentré à l'aide d'un évaporateur sous pression réduite et conservé à température ambiante.

- Dosage des protéines

Le dosage des protéines a été réalisé selon la méthode de "*Determination of total nitrogen in food and crude proteins calculation*" (Riddellová, 2012). Le taux protéique a été déterminé par une quantification de l'azote totale par la méthode de Kjeldhal. Les résultats obtenus ont ensuite été multipliés par un facteur de conversion de l'azote en protéines de 6,25 (facteur souvent utilisé pour les échantillons de latex) afin d'obtenir le taux protéique des échantillons de latex extraits et non extraits.

Les échantillons de latex ont été pesés puis minéralisés dans un digesteur 1015 TECATOR en présence d'acide sulfurique (H₂SO₄) et d'un catalyseur de minéralisation Kjektab®.

Le contenu en azote minéralisé a ensuite été déterminé à l'aide d'un Kjeltec® 2300 équipé d'un analyseur Foss. Le contenu en protéine a ensuite été calculé à l'aide de l'équation 1.

$$\text{Contenu en protéines (\%)} = \frac{(V_{\text{échantillon}} - V_{\text{blanc}})}{m_{\text{échantillon}}} * 0,02 * 6,25 * 100$$

Équation 1. Calcul du taux protéique

Où :

- $(V_{\text{échantillon}} - V_{\text{blanc}})$ est le volume d'acide sulfurique utilisé pour titrer l'échantillon moins la valeur moyenne du volume (mL) de cet acide utilisé pour le titrage du blanc
- $m_{\text{échantillon}}$ est la masse sèche de l'échantillon (g)

L'analyse de chacun des six échantillons a subi deux répétitions.

- Analyses thermogravimétrique (TGA) & Calorimétrique à Balayage différentiel (DCS)

– TGA

L'analyse thermogravimétrique a été réalisée avec le TGA/DSC1 STAR System de Mettler Toledo avec des échantillons de latex de 20 mg. Les températures de travail ont débuté à température ambiante (+/- 25°C) jusqu'à 600°C par pas de 10°C/min.

Les pertes de masse tous les 50°C ont ensuite été relevées.

– DSC

La calorimétrie à balayage différentiel a été effectuée à l'aide du DSC Q1000 TA Instruments sur des échantillons de latex de 5 mg et entre des températures de -80°C jusqu'à 200°C par pas de 5°C/min avec un flux d'azote de 50 mL/min.

Les températures de transition vitreuse (T_g) et de fusion ont pu être déterminées à l'aide des résultats obtenus.

2.6 Standards et produits chimiques

Les standards, solvants et produits réactifs suivants ont été utilisés pour les extractions et analyses décrites ci dessous : Acide gallique (Sigma, 99%), acide hydroxycinnamique (Sigma, 99%), Catéchine (99% HPLC Analytical Standard), acide vanillique (Aldrich, >97%), acide chlorogénique (Aldrich, >95%), acide cafféique (Aldrich, >98% HPLC), acide syringique (Aldrich, >95%), épicatechine (TCI, >97%), acide paracoumarique (Sigma, >98% HPLC), acide transférulique (TCI, >98%), acide benzoïque (Sigma, 99,5% ACS reagent), acide salicylique (Sigma-Aldrich, >99%), acide synapique (Aldrich, >98%), acide ellagique (Aldrich, >95% from tree bark), rutine hydrate (Sigma, >94% HPLC), acide rosmarinique (Sigma, >98% HPLC from *Rosmarinus officinalis*), resveratrol (Sigma, >99% HPLC), acide cinnamique (Sigma), quercétine (Sigma, >95%), naringénine (Sigma), kaempferol (Sigma, >90% HPLC), flavanol (Sigma), flavanone (Carbosynth), réactif de Folin (Sigma-Aldrich), acétone (Merckx, HPLC grade), méthanol ((Merckx, HPLC grade), bicarbonate de soude Na_2CO_3 (Acros Organic, 99,5%), trichlorure d'aluminium AlCl_3 (Sigma-Adrich), acide formique, acide sulfurique (Merck), acide borique.

2.7 Analyses statistiques

La détermination des rendements d'extraction a été réalisée sur trois arbres différents considérés comme les répétitions ($n=3$). Les données du dosage des polyphénols totaux et du dosage des flavonoïdes totaux ont été répétées deux fois par arbre ($n=6$). Les résultats ont été obtenus grâce à une courbe d'étalonnage moyenne, elle-même obtenue à partir de 4 courbes d'étalonnage différentes. Les écart-types de cette courbe d'étalonnage moyenne ont été calculés.

Pour déterminer les effets du stockage et de la hauteur d'échantillonnage ainsi que la différence entre les trois organes concernant les rendements d'extraction, le dosage des polyphénols et le dosage des flavonoïdes, une analyse non paramétrique de Kruskal-Wallis a été réalisée.

Ensuite, le test de comparaisons multiples Steel-Dwass-Critchlow-Fligner (1984) basé sur la comparaison par pair de Wilcoxon a été effectuée.

Le choix de l'analyse de la variance non paramétrique se justifie par la grande inégalité des variances entre les observations.

L'ensemble des analyses a été effectué à l'aide du logiciel SAS® 9.4.

3 Résultats :

Ce chapitre présente : les résultats des rendements d'extractibles, les résultats du dosage des phénols totaux et des flavonoïdes totaux pour les différents organes en fonction des deux paramètres étudiés (type de stockage et hauteur d'échantillonnage) ainsi que l'identification des profils des composés présents dans les extraits par l'HPLC. Il donne aussi les résultats de la caractérisation chimique et de l'étude du comportement thermique du latex.

Les données relatives aux extractions sont présentées par la moyenne de l'ensemble des répétitions $\pm$ écart-type. Toutefois, les tests non paramétriques ont été effectués sur les médianes.

3.1 Analyse des effets de la hauteur et du stockage

Les influences de la hauteur et du stockage ont été évaluées séparément pour les différentes parties de l'arbre par le test de Kruskal-Wallis. Il convient toutefois de rester prudent dans l'interprétation des résultats compte tenu du faible nombre de répétitions.

3.1.1 Rendements d'extraction

Les rendements d'extraction correspondants sont exprimés en gramme extrait par gramme de matière ligneuse sèche.

Globalement, peu d'influences de la hauteur et du stockage ont été détectées en termes de rendement d'extraction (Tableau 3). Seul le duramen stocké a des rendements qui sont plus faibles à la hauteur H1 comparativement au : (i) duramen frais à cette même hauteur et (ii) au duramen stocké prélevé à la hauteur H2. Ces valeurs pour les échantillons d'aubier ne diffèrent pas significativement ni en fonction de la hauteur ($p = 0,3012$ pour les échantillons frais ; $p = 0,1266$ pour les échantillons stockés), ni en fonction du stockage ($p = 0,2752$ pour H1 ; $p = 0,1266$ pour H2).

Tableau 3. Résultats des rendements d'extraction (g d'extractible/ g de matière sèche)

		H1	H2	H3	p
Duramen	Frais	0,1487 ± 0,04	0,0985 ± 0,068	0,0484 ± 0,042	0,1479
	Stocké	0,0577 ± 0,011	0,0953 ± 0,016	/	0,0495
	p	0,0495	0,8273		
Aubier	Frais	0,013 ± 0,002	0,0144 ± 0,022	0,009 ± 0,003	0,3012
	Stocké	0,017 ± 0,005	0,0263 ± 0,007	/	0,1266
	p	0,2752	0,1266		
Ecorce	Frais	0,0326 ± 0,015	0,1626 ± 0,094	0,0526 ± 0,029	0,5611
	Stocké	0,0293 ± 0,002	0,0976 ± 0,006	/	0,1266
	p	0,8273	0,5127		

p correspond à la p-value du test de Kruskal-Wallis.

A nouveau, pour les échantillons d'écorce il n'y a aucune différence significative entre les trois hauteurs ($p = 0,5611$ pour les échantillons frais ; $p = 0,1266$ pour les échantillons stockés) et entre les échantillons d'écorce frais et stockés ($p = 0,8273$ pour H1 ; $p = 0,5127$ pour H2).

3.1.2 Polyphénols totaux

Les concentrations phénoliques (équivalent acide gallique/g d'extractible) du duramen ne sont impactées ni par la hauteur ni par le stockage (tableau 4).

Tableau 4. Résultats du dosage des polyphénols totaux (Phénols totaux contenus en g éq. acide gallique/g d'extractible)

		H1	H2	H3	p
Duramen	Frais	0,2822 ± 0,089	0,3207 ± 0,066	0,3094 ± 0,053	0,6878
	Stocké	0,2718 ± 0,108	0,2820 ± 0,0504	/	0,8728
	p	0,7488	0,2623		
Aubier	Frais	0,1297 ± 0,0373 ^a	0,1128 ± 0,032 ^a	0,0819 ± 0,022 ^b	0,0038
	Stocké	0,2751 ± 0,07	0,3463 ± 0,005	/	0,1093
	p	0,0039	0,0039		
Ecorce	Frais	0,3123 ± 0,088	0,2795 ± 0,144	0,1861 ± 0,125	0,1641
	Stocké	0,1829 ± 0,04	0,1065 ± 0,018	/	0,0039
	p	0,0163	0,0921		

p correspond à la p-value du test de Kruskal-Wallis. Des lettres différentes indiquent les moyennes significativement différentes entre elles après utilisation du test de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner

Les résultats du dosage des polyphénols totaux de l'aubier sont beaucoup plus variables, avec un minimum de 0,0819g et un maximum de 0,3463g. Une influence positive du stockage très hautement significative a été détectée pour les deux hauteurs H1 et H2. Tandis que les teneurs phénoliques des échantillons frais sont significativement plus élevées pour les hauteurs H1 et H2 par rapport à celles à H3. Aucune influence significative de la hauteur n'a été détectée pour les échantillons stockés.

Les extraits d'écorce des échantillon frais ont des teneurs de polyphénols totaux qui ne diffèrent pas significativement entre les trois hauteurs mais qui sont très significativement différentes entre les hauteurs H1 et H2 pour les échantillons stockés. Dans un même registre, les différences entre les modalités de stockage montrent une différence significative entre les échantillons stockés et frais à la base de la grume H1 mais pas à H2.

3.1.3 Flavonoïdes totaux

Les concentrations flavonoïques des extraits sont exprimées en masse équivalent quercétine/g d'extractible (Tableau 5).

Les extraits de duramen présentent des concentrations significativement plus faibles pour la hauteur H1 par rapport aux hauteurs H2 et H3 ($p = 0,0314$). A l'inverse, il n'y a pas de différences significatives entre les hauteurs pour les échantillons stockés ($p = 0,7844$). L'effet du stockage n'est pas significatif.

Tableau 5. Résultats du dosage des flavonoïdes totaux (flavonoïdes totaux contenus en g. éq. quercétine/g d'extractible)

		H1	H2	H3	p
Duramen	Frais	$0,07 \pm 0,043^a$	$0,2441 \pm 0,201^b$	$0,2041 \pm 0,10^b$	0,0314
	Stocké	$0,2689 \pm 0,298$	$0,1141 \pm 0,025$	/	0,7488
	p	0,1257	0,3367		
Aubier	Frais	$0,3468 \pm 0,124$	$0,3785 \pm 0,067$	$0,3862 \pm 0,044$	0,8539
	Stocké	$0,4445 \pm 0,118$	$0,3020 \pm 0,082$	/	0,25
	p	0,2002	0,1093		
Ecorce	Frais	$0,5898 \pm 0,096$	$0,4680 \pm 0,274$	$0,4920 \pm 0,142$	0,7376
	Stocké	$0,6230 \pm 0,027$	$0,5966 \pm 0,046$		0,2002
	p	0,7488	0,3358		

p correspond à la p-value du test de Kruskal-Wallis. Des lettres différentes indiquent les moyennes significativement différentes entre elles après utilisation du test de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner

Les concentrations flavonoïques de l'aubier et de l'écorce ne sont influencées significativement ni par la hauteur, ni par le stockage.

3.1.4 Récapitulatif

Globalement, les effets de la hauteur et du stockage sur les différents paramètres testés sont faibles puisque sur les 36 tests réalisés seuls huit se sont avérés significatifs.

3.2 Compositions chimiques des extraits dans les différents compartiments de l'arbre en fonction du stockage

Bien que les résultats précédents montrent peu d'effet du stockage, des différences

significatives ont malgré tout été détectées pour les concentrations en extractibles et phénols totaux des échantillons. Pour cette partie les concentrations des différents compartiments de l'arbre (duramen, aubier, écorce) ont été comparées en distinguant les échantillons frais et stockés. Les concentrations des feuilles ont été ajoutées à l'analyse.

3.2.1 Rendements d'extraction

Les rendements d'extraction des échantillons frais de duramen et d'écorce sont très significativement supérieurs aux rendements de l'aubier. Pour les échantillons stockés, le duramen a des rendements très significativement plus hauts que ceux de l'aubier et de l'écorce (Tableau 6).

Tableau 6. Rendement d'extraction par organe (g d'extractible/ g de matière sèche)

	Frais	Stocké
Duramen	0,0911 ± 0,062 ^a	0,074 ± 0,024 ^a
Aubier	0,0115 ± 0,004 ^b	0,0195 ± 0,007 ^b
Ecorce	0,0379 ± 0,023 ^a	0,031 ± 0,003 ^b
p	0,0006	0,0015

p correspond à la p-value du test de Kruskal-Wallis. Des lettres différentes indiquent les moyennes significativement différentes entre elles après utilisation du test de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner

Les rendements d'extraction des feuilles varient quant à elle de 0,2762 g à 0,3668g d'extractible par gramme de feuilles sèches (Tableau 7).

Tableau 7. Rendements d'extraction des feuilles d'Iroko (g d'extractible/ g de feuilles broyées sèches)

Rendements (g d'extractible/ g de feuilles sèches)	
Moyenne	0,03166 ± 0,004

3.2.2 Polyphénols totaux

Concernant le dosage des polyphénols totaux, les différences entre les compartiments de l'arbre sont très hautement significatives pour les échantillons frais et stockés ($p = <0,0001$ frais ; $p = <0,0001$ stockés). Cependant, les concentrations phénoliques des échantillons frais sont plus hautes pour le duramen et l'aubier par rapport celles de l'écorce, tandis que les concentrations des échantillons stockés sont plus hautes pour le duramen et l'écorce par rapport celles de l'aubier (Tableau 8).

Tableau 8. Dosage des polyphénols totaux par organe (Phénols totaux contenus en g équ. acide gallique/g d'extractible)

	Frais	Stocké
Duramen	$0,304 \pm 0,069^a$	$0,306 \pm 0,074^a$
Aubier	$0,102 \pm 0,035^b$	$0,332 \pm 0,057^a$
Ecorce	$0,303 \pm 0,127^a$	$0,127 \pm 0,049^b$
p	$<0,0001$	$<0,0001$

p correspond à la p-value du test de Kruskal-Wallis. Des lettres différentes indiquent les moyennes significativement différentes entre elles après utilisation du test de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner

La moyenne des concentrations en polyphénol totaux est de 0,0855 g équivalent acide gallique/g d'extractible (Tableau 9).

Tableau 9. Dosage des polyphénols totaux des feuilles d'Iroko (en g équ. acide gallique/g d'extractible)

Phénols totaux (g équ. acide gallique/g d'extractible)	
Moyenne	$0,0855 \pm 0,01$

Cette concentration est non significativement différente comparativement à la concentration la plus faible obtenue dans les différents compartiments de l'arbre (échantillons d'aubier à H3 = 0,082 g équ. acide gallique/g d'extractible), avec $p = 0,6304$ (Tableau 10).

Tableau 10. Analyse de la variance des extraits phénoliques des feuilles

	Feuilles	Aubier H3	p
Méd. composition phénolique (g éq. acide gallique / g d'extractible)	0,0855 ± 0,01	0,082 ± 0,22	0,6304

p correspond à la p-value du test de Kruskal-Wallis

3.2.3 Flavonoïdes totaux

Les rendements en flavonoïdes totaux diffèrent de manière très hautement significative selon les trois parties de l'arbre étudiée et ce pour les échantillons frais et stockés (Tableau 11). L'écorce possède les concentrations en flavonoïdes totaux les plus fortes (0,574g pour les échantillons frais et 0,609g pour les échantillons stockés), puis vient ensuite l'aubier (0,393g pour les échantillons frais et 0,356g pour les échantillons stockés) et finalement le duramen (0,114g pour les échantillons frais et 0,105g pour les échantillons stockés).

Tableau 11. Dosage des flavonoïdes totaux par organe (en g. éq. quercétine/g d'extractible)

	Frais	Stocké
Duramen	0,114 ± 0,147 ^a	0,105 ± 0,217 ^a
Aubier	0,393 ± 0,082 ^b	0,356 ± 0,122 ^b
Ecorce	0,574 ± 0,184 ^c	0,609 ± 0,039 ^c
p	<0,0001	<0,0001

p correspond à la p-value du test de Kruskal-Wallis. Des lettres différentes indiquent les moyennes significativement différentes entre elles après utilisation du test de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner

La médiane des concentrations flavonoïques de feuilles d'Iroko est de 0,9075 g équivalent quercétine/g d'extractible (Tableau 12).

Tableau 12. Dosage des flavonoïdes des feuilles d'Iroko (en g. éq. quercétine/g d'extractible)

Flavonoïdes totaux (g éq. quercétine/g d'extractible)	
Médiane	0,8791 ± 0,093

Cette concentration est très significativement différente comparativement à la concentration la plus élevée obtenue dans les différents compartiments de l'arbre (échantillons d'écorce stockés à H1 = 0,6230 g éq. quercétine /g d'extractible), avec $p = 0,0007$ (Tableau 13).

Tableau 13. Analyse de la variance des extraits flavonoïques des feuilles

	Feuilles	Ecorce H1	p
Méd. de la composition			
flavonoïque (g éq. quercétine/g d'extractible)	0,879 ± 0,093	0,6230 ± 0,027	0,0007

p correspond à la p-value du test de Kruskal-Wallis

3.2.4 Synthèse

Globalement, une influence significative de la partie de l'arbre prélevée a été détectée pour l'ensemble des paramètres étudiés, que les échantillons soient frais ou stockés.

3.3 Identification par HPLC - UV des molécules phytochimiques

L'analyse qualitative des extraits acétoniques du duramen, de l'écorce, des feuilles et de l'aubier par HPLC a été effectuée par comparaison du temps de rétention et des spectres UV entre les molécules identifiées dans les extraits et les standards analysés au même moment.

La table reprenant les temps de rétention des standards est reprise à l'annexe 4.

Dans les tableaux de résultats qui suivent, la présence des molécules dans les différents échantillons est notée par un « X », la présence d'une molécule isomère est notée par « X^{*} » et lorsque la molécule n'a pas été détectée le signe « - » a été noté.

- Duramen :

Les extraits acétoniques de duramen frais montrent la présence d'acide rosmarinique (AR).

L'identification de ce composé est confirmée par la comparaison des spectres UV de l'AR avec celui des pics dominants obtenus dans les chromatogrammes des extraits repris à l'annexe 5. Quasiment tous les échantillons de duramen présentent de l'AR (Tableau 14).

14. Résultats de l'analyse qualitative par HPLC des échantillons de duramen

Echantillons de duramen frais	Acide rosmarinique	Resvératrol
I2H1D	-	X*
I1H1D	X*	X*
I3H1D	X	-
I1H2D	-	-
I2H2D	X	X*
I3H2D	X*	X*
I1H3D	X	X
I2H3D	X*	-
I3H3D	X	-
Echantillons de duramen stockés		
I4H1D	X	-
I5H1D	X	-
I6H1D	-	X*
I4H2D	X*	X*
I5H2D	X*	X*
I6H2D	X	-

X = molécule identifiée ; X* = isomère cis identifié ; - = molécule non identifiée

Dans quelques échantillons celui-ci semble avoir subi une isomérisation. En effet, pour ceux-ci, les temps de rétention ainsi que les spectres UV obtenus dans les extraits et identifiés comme AR ne correspondent pas parfaitement avec ceux obtenus pour le standard de l'AR. Cette isomérisation semble indépendante du fait que les échantillons de bois aient été stockés ou pas. On peut dès lors en déduire que l'isomérisation pourrait être effectuée durant le stockage des extraits et non durant le stockage de la grume sur parc. Cette observation est confirmée par la littérature qui rapporte que l'AR est sensible à la lumière en passant de la forme *trans*- à la forme *cis*- (Caniova & Brandsteterova, 2001 ; Boyadzhiev & Dimitrova, 2006 ; cité par Penchev et al., 2010).

L'AR correspondant au pic dominant à 17,87 minutes est présent en grande concentration par rapport aux autres molécules (figure 5).

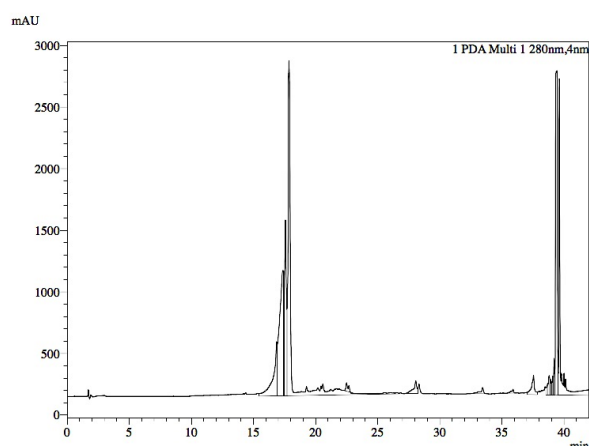


Figure 5. Exemple de chromatogramme du duramen frais à H2 (I2H2D)

De plus, des molécules de resvératrol ont été identifiées. Ces molécules ont un RT (21,70 min.) proche de celui identifié pour le standard de resvératrol (20,59 min.) et leurs spectres ont la même allure générale.

Le spectre UV du standard et des exemples de spectres UV des pics correspondant au resvératrol dans les chromatogrammes des extraits sont repris à l'annexe 6.

- L'aubier

Les chromatogrammes des extraits acétoniques d'aubier ont une structure similaire aux extraits de duramen avec un pic dominant à 17,8 min, deux pics aux alentours de 35 min et un autre à 39 min (figures 6 et 7). Les extraits d'aubier stockés sont caractérisés par deux pics (RT : 17,87 et 39,4 min) à plus de 2700 mAU, tandis qu'ils sont nettement plus faibles pour les échantillons frais (900 mAU).

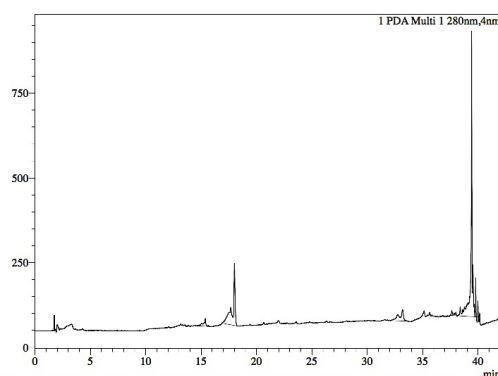


Figure 6. Chromatogramme d'un extrait d'aubier frais

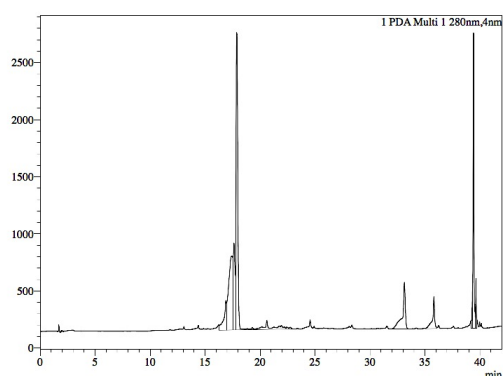


Figure 7. Chromatogramme d'un extrait d'aubier stocké

L'acide rosmarinique et le resvératrol sont aussi présents dans l'entièreté des échantillons d'aubier stockés, tandis qu'ils sont quasiment absents des échantillons frais (Tableau 15).

Tableau 15. Résultats de l'analyse qualitative par HPLC des échantillons d'aubier

Echantillons d'aubier frais	Acide rosmarinique	Resvératrol
I1H1A	-	X*
I2H1A	-	-
I3H1A	-	X*
I1H2A	-	-
I2H2A	-	-
I3H2A	X	-
I1H3A	-	-
I2H3A	-	-
I3H3A	-	-
Echantillons d'aubier stockés		
I4H1A	X*	-
I5H1A	X	X*
I6H1A	X	X*
I4H2A	X	X*
I6H2A	X	X*
I5H2A	X	-

X = molécule identifiée ; X* = isomère cis identifié ; - = molécule non identifiée

Pour finir, de manière similaire aux résultats obtenus avec le duramen, certaines molécules d'acide rosmarinique et de resvératrol ont été identifiées par déduction au vu de

leur temps de rétention et leur spectre UV légèrement différents de ceux obtenus pour leur standard.

- L'écorce

Comparativement à l'aubier et au duramen, les chromatogrammes des extraits d'échantillons d'écorce montrent une plus large gamme de molécules (Figure 8).

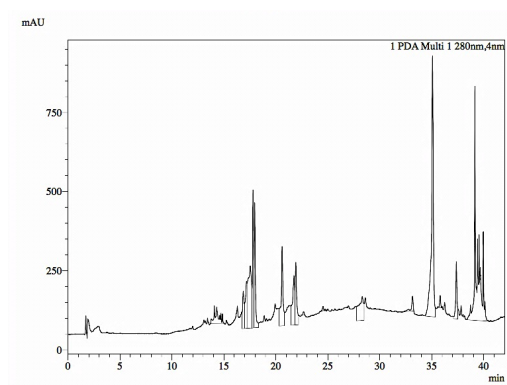


Figure 8. Chromatogramme d'un extrait d'écorce (I4H2E)

Les analyses HPLC ont permis de distinguer la présence de l'acide rosmarinique et de supposer la présence du resvératrol (tableau 16).

Tableau 16. Résultats de l'analyse qualitative par HPLC des échantillons d'écorce

Echantillons d'écorce frais	Acide rosmarinique	Resvératrol
I2H1E	-	-
I1H1E	X	X*
I3H1E	X*	X*
I1H2E	X	-
I2H2E	X*	X*
I3H2E	-	-
I1H3E	X	-
I2H3E	-	X*
I3H3E	-	-
Echantillons d'écorce stockés		
I4H1E	-	X*
I5H1E	-	X*
I6H1E	-	-
I5H1E	-	-
I6H2E	-	-
I4H2E	-	-

X = molécule identifiée ; X* = isomère cis identifié ; - = molécule non identifiée

Les échantillons d'écorce stockés ont une présence plus faible de resvératrol et d'acide rosmarinique comparativement aux échantillons d'écorce frais.

- Les feuilles

Les chromatogrammes des extraits de feuilles montrent peu de pics différents, ce qui peut être interprété par un faible nombre de molécules différentes (Figure 9). Les majorités des pics se trouvent à des temps de rétention de plus de 40 minutes. Parmi ceux-ci aucun ne correspondait à un des standards utilisés.

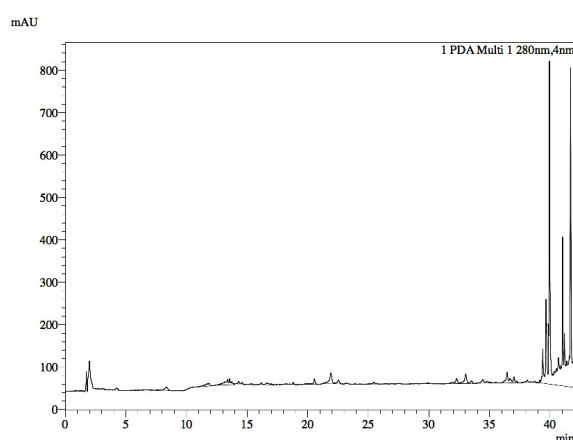


Figure 9. Chromatogramme d'un extrait de feuille

3.4 Caractérisation chimique du latex

L'extraction à l'acétone au Soxhlet du latex n'a pas permis d'extraire de molécules phytochimiques. En effet, le latex d'Iroko étant soluble dans l'acétone, l'extrait obtenu est une fraction de latex. La suite des analyses a permis de caractériser en partie cette fraction.

3.5 Dosage du taux protéique du latex

Le latex d'Iroko possède des teneurs en protéines de 22,79 % $\pm$ 1,671 (Tableau 17). L'extraction du latex à l'acétone fait fortement diminuer le taux de protéines. La différence du

taux protéique entre les deux échantillons devient hautement significative ($p : 0,0037$) passant de 22,79% à 1,49 %.

Tableau 17. Résultats du dosage protéique

Echantillon	Non extrait	Extrait	p
Moyenne taux protéique (%)	$22,79 \pm 1,671$	$1,49 \pm 0,79$	0,0037

p correspond à la p-value du test de Kruskal-Wallis

3.6 Comportement thermique du latex

- TGA

Les courbes des analyses thermogravimétriques des échantillons de caoutchouc naturel (NR), de latex d'Iroko non extrait (IP) et extraits à l'acétone (IEx) ont été comparées (figure 10). Les données concernant le caoutchouc naturel (NR) proviennent d'une étude de Rao & Johns (2008).

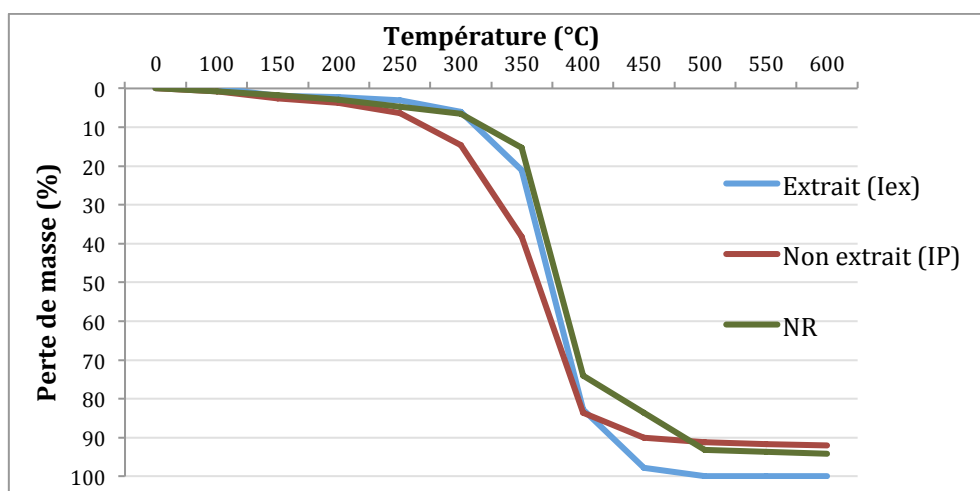


Figure 10. Graphique des courbes thermogravimétriques des échantillons de latex d'Iroko (IEx & IP) et de caoutchouc naturel (NR)

De manière générale, l'allure des courbes de perte de masse des trois types d'échantillon est semblable. On observe une faible perte de masse jusqu'à une certaine température, puis une perte quasi totale.

Les échantillons IP semblent présenter un comportement thermique moins stable comparé à NR et IEx. La dégradation thermique est en effet plus rapide pour cet échantillon par rapport aux deux autres (figure 11).

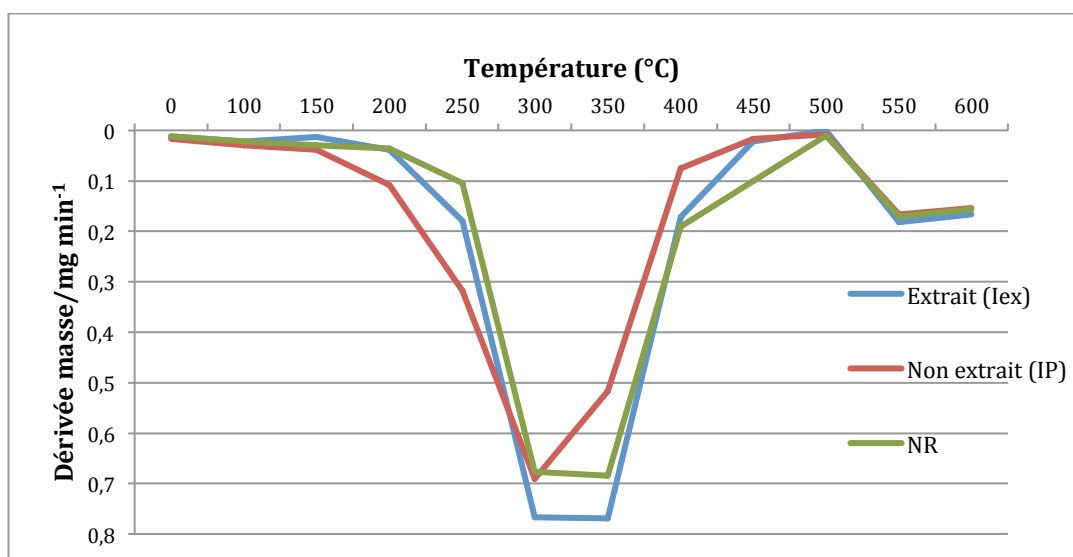


Figure 11. Graphique des dérivées des courbes thermogravimétriques des échantillons de latex d'Iroko (IEx & IP) et de caoutchouc naturel (NR)

Les résultats thermogravimétriques d'IEx sont quant à eux semblables à ceux de NR (Tableau 18).

Tableau 18. Moyenne des pertes de masse (%) des différents échantillons de latex d'Iroko

Echantillon	Perte de masse (%)					
	100°C	200°C	300°C	350°C	400°C	500°C
IEx 1	0,16	2,18	5,42	20,42	82,94	99,62
IEx 2	0,34	0,73	4,65	20,23	83,98	99,56
IEx 3	0,23	0,52	4,36	20,07	89,41	99,53
IP 1	0,72	3,56	13,97	37,40	84,1	91,81
IP 2	0,58	4,05	16	40,65	81,26	89,82
IP 3	0,35	2,57	13,2	36,29	83,46	91,94
NR	0,7	2,9	6,5	15,2	74,1	93,2

Jusqu'à la température de 300°C, la perte de masse d'IEx est de 5% tandis qu'elle est de 6,5% pour NR. Ensuite, la dégradation d'IEX est constante jusqu'à 500°C où 99% de la masse est perdue. Les échantillons de NR se dégradent également de manière constante mais moins rapidement. A 500°C, la perte de masse enregistrée est de 93%. Il se dégrade légèrement plus vite qu'IEX, mais cette dégradation est moins rapide. Ceci montre qu'au-delà de 350°C, NR est plus stable que les échantillons d'IEx (Tableau 18).

- DSC

L'analyse DSC permet de déterminer la température de transition vitreuse (T_g) des polymères. En général, la T_g correspond à la première cassure dans la courbe calorimétrique. La figure 12 présente les courbes DSC du latex d'Iroko extrait à l'acétone (IxLE) et du latex d'Iroko pur (IxLP).

A l'exception des échantillons I3LEa et I3LEb, l'allure générale des courbes indique une bonne reproductivité entre les répétitions et entre les échantillons extraits et non extraits.

Les pics endothermiques aux environs de 55°C correspondent aux flux de chaleur caractéristiques du passage de la température de fusion.

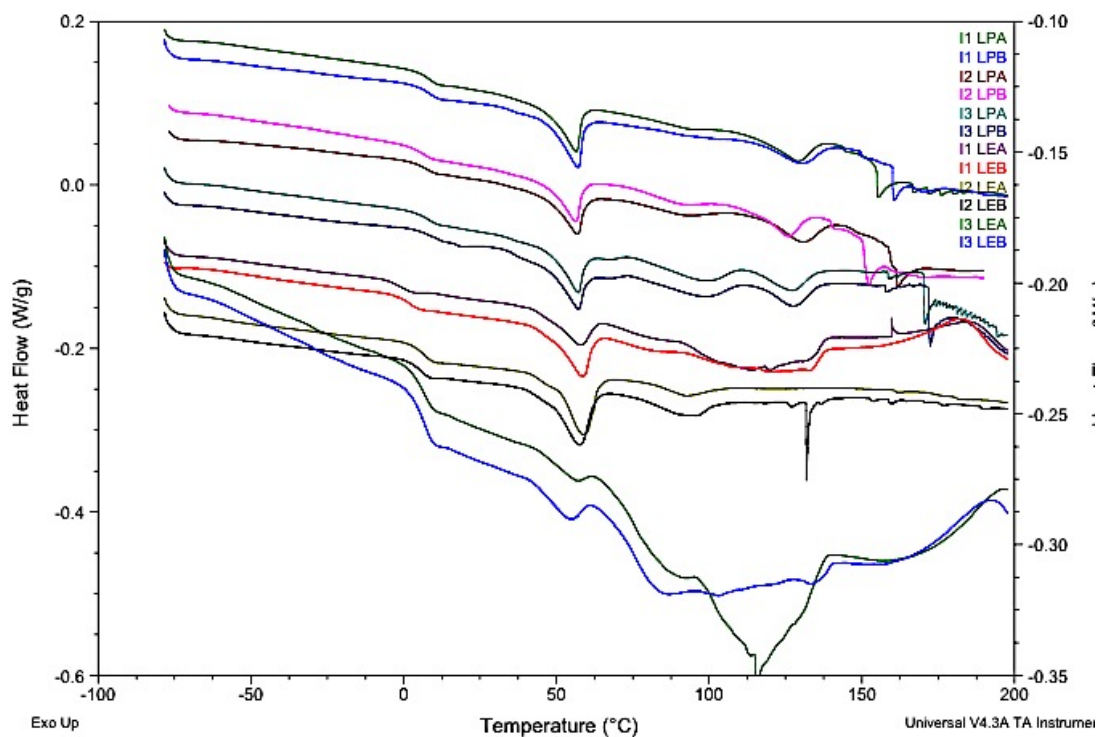


Figure 12. Courbes calorimétriques des échantillons de latex d'Iroko (IxLE & LxP)

Une analyse plus précise des Tg indique qu'elles sont très variables d'un échantillon à l'autre et entre répétitions (Tableau 19). Pour les échantillons d'IP, on obtient une Tg moyenne de $7,5^{\circ}\text{C} \pm 0,86$ tandis que pour les échantillons d'IEx on obtient une Tg moyenne de $5,4^{\circ}\text{C} \pm 4,5$. Toutefois, la différence n'est pas significative ($p = 0,2035$). A titre de comparaison, la Tg du caoutchouc naturel se situe à -63°C (Rao & Johns, 2008).

Tableau 19. Température de transition vitreuse (Tg) du latex d'Iroko

Echant.	Tg (°C)
IEx1	0,08
IEx2	6,28
IEx3	9,80
IP1	8,45
IP2	7,11
IP3	6,83
p	0,2035

4 Discussion

4.1 Rendements d'extraction, teneurs en polyphénols et flavonoïdes.

De manière générale, les résultats obtenus dans cette étude concernant les rendements d'extraction indiquent que l'Iroko contient des teneurs moyennes en molécules extractibles. Par rapport aux résultats de Meyo Degboevi (2018) sur les extraits acétoniques des différentes parties de l'Azobé (*Lophira alata*), nos rendements d'extraction sont supérieurs pour le duramen, mais plus faibles pour l'aubier et l'écorce. Parmi d'autres exemples, une autre étude de Mounquengui et al. (2016) ont obtenus dans les extraits éthanoliques du bois du Bahia (*Hallea ledermannii*), du Bilingua (*Nauclea gillettii*), de l'Ozigo (*Dacryodes buettneri*) et de l'Okoumé (*Aucoumea klaineana*) des rendements d'extraction inférieur à ceux obtenus lors de nos analyses. En revanche, ces rendements sont assez semblables à ceux obtenus pour le Tali (*Erythrophleum ivorense*), le Padouk (*Pterocarpus soyauxii*), le Moabi (*Baillonella toxisperma*) et le Movingui (*Distemonanthus benthamianus*), et inférieurs à ceux obtenus pour le Doussié (*Azelia bipindensis*) et l'Okan (*Cylicodiscus gabunensis*).

A propos des concentrations en composés phénoliques, un tel gradient a aussi été observé par Guleria et al (2011) dans l'écorce et le duramen de l'*Acacia catechu* et ce peu importe le solvant d'extraction utilisé. Ces valeurs peuvent être considérées comme élevées lorsqu'on les compare avec les résultats de Saha Tchinda (2018) pour les extraits acétoniques de l'Ayous (*Triplochiton scleroxylon*), le Moabi (*Baillonella toxisperma*), le Movingui (*Distemonanthus benthamianus*), le Padouk (*Pterocarpus soyauxii*) et le Tali (*Erythrophleum suaveolens*). Cependant, d'après les résultats de Mounquengui et al. (2016), nos résultats sont inférieurs à ceux des extraits éthanoliques du Tali (*Erythrophleum ivorense*), du Movingui (*Distemonanthus benthamianus*), du Doussié (*Azelia bipindensis*) et de l'Okan (*Cylicodiscus gabunensis*).

Enfin, les concentrations en composés flavonoïques des différents extraits montrent de fortes teneurs en flavonoïdes (équivalent quercétine). Une étude de Chigozie et al. (2014) s'est penchée sur la composition flavonoïque de plusieurs essences tropicales telles que l'Ilomba (*Pycnanthus angolensis*), le Kondroti (*Bombax brevicuspe*), l'Acajou d'Afrique (*Khaya angolensis*) ou encore l'Ozouga (*Sacoglottis gabonensis*). Leurs résultats ont montré des teneurs nettement plus faibles en flavonoïdes par rapport aux concentrations obtenues dans notre étude. Une autre étude sur une essence résineuse tempérée, le Mélèze de Sibérie (*Larix sibirica*), relève les mêmes observations. Les concentrations flavonoïques dans le bois d'Iroko peuvent donc être considérées comme très importantes.

4.2 Influence de la hauteur de prélèvement

Nos résultats ont montré que la hauteur de prélèvement n'influçait que très peu les paramètres étudiés. Ces résultats diffèrent de la plupart de ceux obtenus par d'autres auteurs. En effet, Rather et al. (2017) ont obtenu pour l'*Eucalyptus (Eucalyptus terepticornis)* des rendements d'extraction significativement supérieurs dans le bois à la base du tronc comparativement au reste de l'arbre. Il en est de même pour Fernández et al. (2019) qui relatent également les mêmes résultats pour l'écorce d'*Eucalyptus globulus* et *niteus*, à savoir un gradient de concentration en extractibles qui décroît avec la hauteur. Enfin, Neverova et al. (2013) observent les mêmes résultats concernant les taux de flavonoïdes à la base du Mélèze de Sibérie (*Larix siberica*).

4.3 Impact de la conservation des grumes sur parc

Les résultats obtenus ont montré que la conservation des grumes sur parc n'influçait pas les rendements d'extraction et les concentrations flavonoïques des trois compartiments de l'arbre étudiés (duramen, aubier et écorce). En revanche, les résultats ont montré des différences de concentrations phénoliques hautement significatives entre les échantillons d'aubier stockés et frais. La littérature se contredit sur les effets du stockage. D'une part, Silvério et al. (2008) ont montré que le contenu en extractibles du bois d'*Eucalyptus spp.* diminue progressivement en fonction du temps de stockage avec une différence significative observée à partir du soixantième jour de stockage. Et d'autre part, Mireku & Wilkes (1988) ont observé un taux phénolique croissant avec le temps après blessure de l'aubier d'*Eucalyptus maculata*. Ces derniers résultats s'accordent avec les nôtres.

4.4 Teneurs dans les différentes parties de l'arbre

Nos résultats ont montré des rendements d'extraction significativement supérieurs pour le duramen par rapport à l'aubier. Les rendements de l'écorce se situent quant à eux entre ceux du duramen et de l'aubier. Les valeurs obtenues pour les rendements d'extraction des différents compartiments du bois d'Iroko s'accordent parfaitement avec les résultats obtenus par Meyo Degboevi (2018).

Les résultats sont similaires pour le contenu phénolique, à savoir des teneurs supérieures pour le duramen par rapport à l'aubier. Cependant, ces valeurs ne nous permettent pas d'affirmer que les extraits acétoniques de l'Iroko présentent de fortes concentrations en phénols. En effet, lorsqu'on compare ces résultats à ceux de l'écorce du chêne pédonculé

(*Quercus robur*) obtenus par Dedrie (2015) on remarque que les teneurs du duramen de l'Iroko sont très faibles. Cette observation est la même lorsqu'on compare nos résultats aux valeurs identifiées dans l'aubier et le duramen du Chêne faginé (*Quercus faginea*) de Miranda et al. (2017).

Concernant les concentrations en flavonoïdes totaux, nos résultats ont dévoilé des teneurs significativement supérieures pour l'écorce, puis pour l'aubier et enfin le duramen. Wang et al. (2005) confirment des rendements flavonoïques plus élevés pour l'écorce par rapport au bois. Concernant le bois, Neverova et al. (2013) ont observé que le contenu flavonoïque augmentait selon un gradient partant du bois de cœur jusqu'à l'aubier. Toutefois, les solvants d'extraction utilisés étaient différents par rapport à la présente étude.

Nos résultats sur les extraits des feuilles indiquent qu'elles ne possèdent pas de quantités importantes de molécules extractibles et son contenu phénolique est faible. En revanche, elles présentent de fortes teneurs en composés flavonoïques. Udegbuma et al. (2013) ont également obtenu des concentrations en flavonoïdes très élevées dans les feuilles.

En conclusion, les flavonoïdes sont connus et très recherchés par les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires pour leurs nombreuses propriétés biologiques (anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes notamment) (Ghedira, 2005 ; Boudjouref, 2011). Malgré les fortes teneurs en flavonoïdes dans les extraits des feuilles, leurs faibles rendements d'extraction présagent que l'exploitation des feuilles dans le but d'en extraire des composés flavonoïques ne serait pas très intéressante. Cependant, l'écorce d'Iroko semble être une matière première idéale et l'intérêt d'en valoriser les flavonoïdes est double puisque d'une part son contenu flavonoïque est deux à trois fois supérieur à celui présent dans l'aubier ou dans le duramen et d'autre part parce qu'à ce jour l'écorce n'est pas valorisée dans l'industrie du bois en région tropicale.

Enfin, le contenu en polyphénols totaux exprimé en équivalent acide gallique informe sur la capacité anti-oxydante de l'extrait. On peut conclure que le duramen et l'aubier stockés en particulier sont composés de molécules aux propriétés hautement anti-oxydantes. Si le duramen est la partie de l'arbre qui est aujourd'hui la mieux valorisée, une grande partie du duramen ne l'est pas (houppier, déchets de scierie) et l'aubier ne l'est pas du tout. Les antioxydants naturels et biocompatibles sont fortement recherchés dans les industries pharmaceutiques et agro-alimentaires. D'une part parce qu'elles préviendraient les dommages oxydatifs cellulaires à l'origine des changements organoleptiques des aliments et d'autre part qu'elles préviendraient du vieillissement et des pathologies cancéreuses et cardiovasculaires (Leccia, 2008 ; cité par Hilia, 2017).

4.5 Criblage phytochimique

- Duramen

Nos résultats indiquent le pic d'AR est le pic dominant ce qui indique que la molécule est présente en forte concentration. Cependant, cette étude étant uniquement qualitative, une analyse quantitative serait judicieuse afin de connaître précisément les concentrations de cette molécule dans le duramen. L'acide rosmarinique (AR), un acide phénolique aux propriétés antivirales, antibactériennes, anti-inflammatoires et antioxydantes reconnues (Penchev et al., 2010 ; Kim et al., 2010).

L'identification de molécules de resvératrol est petite différence, tant au niveau du RT qu'au niveau des spectres pourrait être expliquée par la grande sensibilité du resvératrol à la lumière. Le resvératrol existe sous deux formes isomériques (*cis* et *trans*) et si la forme *trans* est plus stable que la forme *cis*, elle est également sensible à la lumière qui provoque une isomérisation formant la forme *cis*. (Hospied, 2016 ; Nour et al., 2012). Etant donné que le standard de resvératrol utilisé lors de l'analyse est sous forme *trans*, ces différences se justifient.

Meyo Degboevi (2018) a aussi observé la présence du resvératrol dans les extraits acétoniques du duramen d'Iroko. Le resvératrol est une molécule aux fortes propriétés antioxydantes qui est aujourd'hui largement utilisée dans certains produits cosmétiques. Une analyse quantitative serait ici aussi nécessaire.

- Aubier

Nos résultats indiquent la présence d'acide rosmarinique et de resvératrol dans les extraits d'aubier. Les pics sur les chromatogrammes sont nettement plus intenses pour les échantillons stockés que frais et indiquent donc les concentrations de molécules phytochimiques plus importantes dans les extraits d'échantillons stockés que dans les extraits d'échantillons frais. Cette observation confirme celle réalisée sur les effets du stockage (cfr. Point 4.3) mettant en exergue les concentrations en polyphénols totaux étaient supérieures pour les échantillons stockés par rapport aux échantillons frais. Le stockage semble donc aussi avoir un effet sur la présence de l'acide rosmarinique et du resvératrol.

Plusieurs hypothèses peuvent être émises pour le justifier. Premièrement, la plupart des acides phénoliques présents dans le bois sont sous forme glycosylée (Smith, 1997) à savoir reliés à un sucre tel qu'un glucose ou un dissaccharide (Enaud, 2004). Les composés phénoliques glycosylés ayant une conformation différente de leur forme aglycone, les temps de rétention ainsi que le spectre UV obtenus par l'analyse HPLC sont différents et ne permettent pas une différenciation par rapport à des standards aglycones. L'aubier étant un bois particulièrement sensible aux attaques fongiques et aux enzymes oxydatives (Saha

Tchinda, 2015 ; Mounguengui et al., 2016), le stockage du bois durant une longue période permettrait à ces agents oxydatifs d'hydrolyser ces phénols glycosylés en les rendant aglycones (Woodard & Milner, 2016 ; Shortle et al., 1978). Peu d'études se sont penchées sur la fraction glycosylée des molécules extractibles (Slaghenaufi, 2012), cependant l'aubier serait la zone du bois où se déroule la biosynthèse de ces composés phénoliques qui sont initialement présents sous forme glycosylée (Grandieu-Burtin, 1999). L'aubier en contiendrait donc davantage par rapport à l'écorce ou le duramen.

Une autre hypothèse serait que l'aubier étant la zone biosynthétique des composés phénoliques du bois, lorsqu'une blessure est occasionnée à un arbre, cette partie du bois va activement produire des composés phénoliques dont les propriétés protectrices et antimicrobiennes sont bien connues. La coupe de l'arbre induirait donc un pic de production de ces composés phénoliques dans l'aubier. Cette hypothèse est également avancée par Mireku & Wilkes (1988) qui ont observé un taux phénolique croissant avec le temps après blessure de l'aubier d'*Eucalyptus maculata*. Cette production soudaine de phénols serait stimulée par l'activité enzymatique des micro-organismes phytopathogènes s'attaquant à la blessure. L'échantillonnage sur arbres fraîchement abattus ne permettrait pas à l'aubier de produire ces molécules suffisamment vite à l'inverse des arbres coupés et laissés sur parc durant une longue période.

Enfin, de manière similaire aux résultats obtenus avec le duramen, certaines molécules d'acide rosmarinique et de resvératrol identifiées ne semblent pas tout à fait correspondre avec les standards utilisés. Il pourrait s'agir des formes *cis* qui ont subi l'effet de la lumière durant le stockage des extraits.

- L'écorce

Le nombre plus important de molécules dans les extraits d'écorce a été relevé dans nos résultats. Cette observation a également été faite par Yang & Jaakkola (2011) pour d'autres essences.

Ici encore des molécules d'acide rosmarinique et de resvératrol ont été identifiés. Et tout comme les échantillons de duramen et d'écorce, la présence supposée de resvératrol serait des molécules de resvératrol qui sous l'effet de la lumière se seraient hydrolysées en leurs formes *cis*.

Le nombre de présence nettement entre les échantillons d'écorce stockés et frais plus faible de resvératrol et d'acide rosmarinique comparativement aux échantillons d'écorce frais.

L'hypothèse qui expliquerait cette différence serait que l'écorce est la première partie de la grume qui est soumise aux conditions extérieures et qui est altérée physiquement durant les manipulations de débusquage/débardage ou encore durant le transport et le stockage. Il s'en suit un stockage exposé à la pluie. La plupart des composés phytochimiques étant solubles dans l'eau, une partie des composés phénoliques pourrait avoir été lessivée durant le stockage (Saha Tchinda, 2015 ; Meyo Degboevi, 2018). De plus, les conditions environnementales lors du stockage sont caractérisées par un taux d'humidité et des températures élevées typiques du climat tropical. Ces conditions sont propices aux développements bactérien et fongique pouvant hydrolyser certains composés qui ne sont donc plus identifiables par HPLC avec leurs standards (Silvéro et al., 2008). Toutefois, cette différence entre les échantillons d'écorce stockés et frais n'a pas été relevé avec les rendements d'extraction ou le dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes totaux.

- Conclusion

Les résultats obtenus dans cette partie sont cohérents avec les résultats obtenus dans les parties précédentes et avec la littérature.

Si aucun composé phénolique n'a pu être identifié parmi les extraits de feuilles, en revanche, deux molécules ont été identifiées dans les extraits de duramen, d'aubier et de d'écorce : l'acide rosmarinique et le resvératrol. Toutefois, souvent le resvératrol identifié présente souvent quelques écarts tant au niveau du temps de rétention qu'au niveau du spectre UV avec le standard analysé. Ceci peut être expliqué par l'action de la lumière durant le stockage du bois et des extraits. Le resvératrol étant très sensible à la lumière, une isomérisation a pu se produire, modifiant la configuration des composés de resvératrol.

Comme remarqué avec le dosage des polyphénols, les résultats montrent également des différences nettes entre les échantillons stockés et ceux frais. Le stockage tend à avoir un effet négatif sur les échantillons d'écorce et de duramen, et au contraire avoir un effet positif pour les échantillons d'aubier.

L'acide rosmarinique est un composé phénolique aux multiples propriétés qui peuvent être valorisées dans de nombreux domaines, cependant, on le retrouve également dans de nombreuses plantes vasculaires (Lamiaceae et Boraginaceae) (Peterson & Simmonds, 2003). Ceci limite grandement l'intérêt d'exploiter les produits connexes de bois ou d'écorce de l'Iroko pour en extraire l'acide rosmarinique.

Concernant le resvératrol, ses fortes propriétés antioxydantes sont largement exploitées en cosmétique, cependant d'autres sources existent également telles que dans la Renouée du Japon (*Reynoutria japonica*) ou encore le raisin (*Vitis vinifera*) (Hospied, 2016 ; Singh et al., 2016).

4.6 Latex

L'extraction à l'acétone du latex permet donc de séparer les protéines du latex. Cette observation est confirmée par la littérature où plusieurs études relèvent l'extraction des protéines par l'acétone (Fukuhara et al., 2015 ; Wang et al., 2010).

Le latex d'Iroko non extrait contient près de 20% de protéine. En comparaison, celui de l'hévéa contient 1 à 2 % de protéines (N. L. Qi et al. 2013 ; Aik-hwee et al. 1993). On peut conclure que le latex d'Iroko contient largement plus de protéines que le latex naturel d'hévéa. Cette différence s'équilibre toutefois après extraction du latex d'Iroko.

Si la forte teneur protéique pourrait suggérer que certaines d'entre elles soient allergènes comme c'est le cas pour le latex d'Hévéa, ces protéines sont aussi suspectées d'avoir un impact sur les propriétés mécaniques du latex (Amnuaypornsi et al., 2010). Une analyse approfondie des propriétés mécaniques et physiques du latex d'Iroko devrait être menée.

Concernant l'analyse thermogravimétrique du latex et en comparaison avec les résultats de Rao et Johns (2008), le latex d'Iroko extrait (IEX) est globalement moins stable et se dégrade plus vite que le latex d'Hévéa. Cependant jusqu'à 300°C, IEX est tout de même plus stable que NR. On peut en conclure que toute valorisation dont les températures d'utilisation n'excèdent pas 300°C est intéressante pour le latex d'Iroko extrait. Le latex non extrait (IP) est quant à lui moins stable à la chaleur que NR et IEX.

Toujours en comparaison avec les résultats de Rao et Johns (2008), nos analyses calorimétriques indiquent que les Tg du latex d'Iroko sont nettement plus élevés que celle du caoutchouc naturel. On ne peut donc pas conclure d'une quelconque diminution de la Tg après extraction à l'acétone et ceci concorde avec les résultats observés par Xu et al. (2017). Ces observations ne permettent pas d'envisager une utilisation de ce latex comme biomatériau potentiellement soumis à des températures élevées (pneus, isolation thermique, joint). En effet, ils démontrent que la Tg du caoutchouc naturel se situe à -63°C, ce qui signifie qu'au-delà de cette température, l'état solide mais « caoutchouteux » est conservé et ce jusqu'à la température de fusion. Cette caractéristique est très importante pour bon nombre de valorisations des polymères dans le domaine des matériaux car elle informe sur les propriétés mécaniques du matériau. Le latex d'Iroko, ayant une Tg au-dessus de 0°C, il ne possède pas de propriétés mécaniques dites « caoutchouteuses » ce qui contraint fortement son utilisation.

De plus, nos analyses ont observé la présence à la fois d'une transition vitreuse et d'une température de fusion, ce qui informe sur la présence de polymères cristallins et amorphes typiques des élastomères comme le polyisoprène (Lecomte-Beckers, 2010). Le polymère est ainsi appelé « semi-cristallin ». Une étude plus approfondie concernant le taux de cristallinité devrait être investiguée. Ce taux de cristallinité permettrait de diriger les recherches de valorisations vers un domaine ou un autre. Si les propriétés mécaniques et thermodynamiques

du latex d'Iroko ne semblent pas idéales (T_g haute et dégradation thermique assez rapide), différentes méthodes existent aujourd'hui pour modifier ces caractéristiques et améliorer les propriétés du matériau (réticulation, mélange avec plastifiants...).

En conclusion, au vu des résultats obtenus pour le latex d'Iroko, il pourrait être valorisé dans le domaine cosmétique, comme c'est déjà le cas pour le latex d'hévéa utilisé comme épaississant ou adhésif. Pour ce faire, d'autres études devraient se focaliser notamment sur ses propriétés médicinales, antioxydantes et adhésives, ainsi que les effets allergiques potentiels du latex extrait et non extrait sur la peau.

Il est à noter qu'avant d'envisager une quelconque valorisation, il reste toutefois à déterminer s'il est économiquement viable d'extraire à échelle industrielle du latex d'Iroko ainsi que déterminer si la phase d'extraction à l'acétone du latex peut être implémentée à grande échelle.

5 Conclusion

Dans ce travail, les substances phytochimiques de l'Iroko ont été quantifiées et analysées en fonction de la hauteur tout en déterminant l'effet du stockage du bois. Une analyse thermique et une analyse du taux protéique ont également été menées sur le latex d'Iroko.

L'analyse phytochimique quantitative a révélé la présence de polyphénols et de flavonoïdes en quantités variables dans les extraits acétoniques du duramen, de l'aubier, de l'écorce et de feuilles d'Iroko.

Le duramen est l'organe contenant le plus de composés phénoliques, suivi de l'écorce, de l'aubier, et finalement des feuilles. Concernant les composés flavonoïques, c'est l'écorce qui possède les concentrations les plus hautes suivies par les feuilles, l'aubier et le duramen.

Il n'y a pas d'effets significatifs ni sur la quantité ni sur la composition en composés phytochimiques de la hauteur. A contrario, l'effet du stockage a pu être mis en évidence sur la teneur phénolique des extraits d'aubier ainsi que sur la composition phytochimique de l'écorce et de l'aubier. Si le temps de stockage semble affecté négativement la composition de l'écorce, ce n'est pas le cas avec l'aubier avec lequel on observe systématiquement des taux plus élevés de polyphénols dans les extraits d'échantillons stockés.

La présence de resvératrol et d'acide rosmarinique dans les extraits acétoniques de l'aubier, du duramen et de l'écorce a été observée. On note toutefois une grande sensibilité de ces composés à la lumière et au stockage des échantillons principalement pour les échantillons d'aubier et d'écorce.

Comme la valorisation industrielle du resvératrol et de l'acide rosmarinique ne semble pas être une piste prometteuse au vu de la grande disponibilité de ces composés dans d'autres plantes, l'identification d'autres composés chez l'Iroko devraient être approfondie. Les extraits de végétaux possèdent de nombreux composés qui, seuls, possèdent des propriétés spécifiques. Toutefois, ces molécules rassemblées dans des extraits végétaux peuvent interagir entre elles. Cette synergie peut mener à de nouvelles propriétés ou des propriétés plus puissantes (Ngbolua et al., 2013 ; Chan, 2002). Identifier une ou plusieurs propriétés dans les extraits végétaux pour ensuite déterminer quelles sont les molécules responsables de ces propriétés semblent donc pertinent. Au vu des travaux déjà réalisés sur certaines parties de l'arbre et l'usage médicinal traditionnel notamment de son écorce, ses feuilles et du latex, il serait judicieux d'analyser les propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des extraits de duramen, d'écorce et d'aubier stocké et d'en identifier les composés responsables. Pour ce faire, d'autres solvants d'extraction devraient être testés ainsi que d'autres méthodes d'identification phytochimique telles que la spectrométrie de masse ou la spectroscopie RMN.

Les analyses thermiques indiquent que les caractéristiques thermogravimétriques du latex extrait sont assez similaires à celles du caoutchouc naturel, tandis que le latex non extrait est légèrement moins stable à la chaleur.

La température de transition vitreuse déterminée pour le latex d'Iroko est nettement supérieure à celle du caoutchouc. Si l'extraction tend à diminuer la Tg, elle ne permet toujours pas d'envisager une quelconque valorisation industrielle. En effet, sa température de transition vitreuse étant proche de la température ambiante, son comportement physique risque d'être rapidement modifié avec la température.

Toutefois, différentes techniques permettent aujourd'hui d'améliorer la Tg tel que le mélange avec d'autres polymères, des plastifiants ou la vulcanisation. De tels procédés devraient être testés sur le latex d'Iroko afin de s'assurer des potentialités de valorisations du latex comme biomatériau.

Pour finir, l'analyse du latex a dévoilé des taux protéiques élevés étant jusqu'à dix fois supérieurs au taux protéique du latex d'*Hevea Brasiliensis*. Néanmoins, l'extraction à l'acétone a permis d'éliminer une grande partie de ces protéines. Le latex extrait contient quant à lui un taux de protéines proche de celui du latex du caoutchouc naturel. La grande quantité de protéines présente initialement dans le latex d'Iroko, laisse supposer qu'une partie d'entre elles pourrait être allergène. Une identification approfondie des protéines et leurs effets allergènes serait utile afin de déterminer si une valorisation du latex comme constituant de produits cosmétiques serait envisageable.

6 Bibliographie

- Achan J. et al., 2011. Quinine, an old anti-malarial drug in a modern world: Role in the treatment of malaria. *Malar. J.* **10**, 1–12.
- Agrawal A.A. & Konno K., 2009. Latex: A model for understanding mechanisms, ecology, and evolution of plant defense against herbivory. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **40**(1), 311–331.
- Alghazeer R. et al., 2017. In Vitro antibacterial activity of flavonoid extracts of two selected libyan algae against multi-drug resistant bacteria isolated from food products. *J. Biosci. Med.* **5**(1), 26–48.
- Altman R.F.A., 1948. Natural Antioxidants in Hevea Latex. *Rubber Chem. Technol.* **Vol. 21**, N, 752–764.
- Amnuayporn Sri S., Jitladda S. & Tanaka Y., 2010. Crystallization behavior of poly(ϵ -caprolactone)/layered double hydroxide nanocomposites. *J. Appl. Polym. Sci.* **116**(5), 2658–2667.
- Andrianne P., 2008. La gemmothérapie: Passé, présent et avenir. *Phytotherapie* **6**(1), 29–32.
- Asaletha R., Kumaran M.G. & Sabu T., 1998. Thermal behaviour of natural rubber/polystyrene blends: Thermogravimetric and differential scanning calorimetric analysis. *Polym. Degrad. Stab.* **61**(3), 431–439.
- Awad M., de Jager A. & van Westing L., 2000. Flavonoids and chlorogenic acid level in apple fruit : characterisation of variation. *Sci. Hort. (Amsterdam)*. **83**, 249–263.
- Bagheri S., Amiri I.S., Hamid A. & Yousefi A.T., 2015. Progress on Antimicrobial Latex and its Applications.
- Balabanian C. et al., 2006. Biocompatibility of natural latex implanted into dental alveolus of rats **48**(4), 201–205.
- Bayol N. et al., 2008. La gestion des forêts et la filière bois en Afrique Centrale (January), 1–19.
- Bertrand A., Babin D. & Nasi R., 1999. Evolution et diversité du concept d'aménagement forestier **260**(2).
- Besbes Hlila M. et al., 2017. Etude chimique et biologique des extraits de la plante halophyte *Halocnemum strobilaceum* (Pall .) Bieb Résumé **2**(1), 42–48.

- Boizot N. & Charpentier J.-P., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cah. Tech. l'Inra* 79–82.
- Boudjouref M., 2011. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L. *Univ. Ferhat Abbas, Sétif*.
- Bourgou S., Serairi Beji R., Medini F. & Ksouri R., 2016. Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'Euphorbia helioscopia. *J. New Sci.* **28**(12), 1649–1655.
- Buchanan M., 2007. TAPPI T 204 cm-07 - Solvent extractives of wood and pulp, TAPPI test methods, 4.
- Caniova A. & Brandsteterova E., 2001. HPLC Analysis of Phenolic Acids in Melissa Officinalis. *Liq. chromatogrphy Relat. Technol.* **24**(17), 2647 – 2659.
- Cao G., Sofic E. & Prior R., 1997. Antioxidant and Prooxidant Behavior of Flavonoids: Structure-Activity Relationships. *Free Radic. Biol. Med.* **22**(5), 749–760.
- Chan M., 2002. Antimicrobial effect of resveratrol on dermatophytes and bacterial pathogens of the skin. *Biochem. Pharmacol.* **63**, 99–104.
- Cheah Li Chin E., 2009. Study of extraction processes and their impact on bioactivity of botanicals 294.
- Chigozie M.E., Chukwuma S.E. & Augustine N.E., 2014. Determination of Physical and Phytochemical Constituents of Some Tropical Timbers Indigenous To Niger Delta Area of Nigeria. *Eur. Sci. J.* **10**(18), 247–270.
- CIRAD, 2011. Caractéristiques technologiques de 245 essences tropicales et tempérées. *In: Tropix* 7.
- Cornish K., 2017. Alternative Natural Rubber Crops: Why Should We Care? *Technol. Innov.* **18**(4), 244–255.
- Cruz K., Slobody B. & Levina G., 2011. Cosmetic Adhesive Composition.
- Daïnou K., Doucet J.L., Sinsin B. & Mahy G., 2012. Identité et écologie des espèces forestières commerciales d'Afrique centrale: Le cas de Milicia spp. (Synthèse bibliographique). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **16**(2), 229–241.
- Darma T. et al., 2006. Antifungal activities of the extracts from some tropical and temperate woods. *J. Manaj. Hutan Trop.* **XII**(2), 78–83.
- de Wasseige C., Tadoum M., Eba'a Atyi R. & Doumenge C., 2015. Les forêts du bassin du Congo - forêts et changements climatiques, 127.

- Dedrie M., 2014. Caractérisation et étude des perspectives de valorisation des écorces de chênes indigènes (*Quercus petraea* et *Quercus robur*) en région.
- Dragovi-Uzelac V., Pospisil J., Levaj B. & Delonga K., 2005. The study of phenolic profiles of raw apricots and apples and their puree by HPLC for the evaluation of apricot ceters and jams authenticity. *Food Chem.* **91**(2), 373–383.
- Enaud E., 2004. Fonctionnalisation enzymatique de composés phénoliques: synthèses d'esters aromatiques de flavonoïdes glycosylés catalysées par la lipase B de *Candida antarctica*.
- Essam M. A. & Gomah E. N., 2011. Antimicrobial Activity of Extracts and Latex of *Calotropis procera* (Ait.) and Synergistic Effect with Reference Antimicrobials. *Res. J. Med. Plants*, **5** 706-716.
- Fargeot C., Forni É. & Nasi R., 2004. Réflexions sur l'aménagement des forêts de production dans le bassin du Congo, 19-34.
- Fernández K., Kappes T., González N. & Gutiérrez C., 2019. Influence of tree height on the hydrophilic and lipophilic composition of bark extracts from *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus nitens*. *Wood Res. Technol. - Holzforsch.* **73**(8).
- Francezon N., Meda N.S.B.R. & Stevanovic T., 2017. Optimization of bioactive polyphenols extraction from *Picea mariana* bark. *Molecules* **22**(12), 1–15.
- FRM, 2018. Vision stratégique et industrialisation de la filière bois dans les 6 pays du Bassin du Congo - Horizon 2030, 226.
- Fukuhara L., AiMiyano K., Yamamoto Y. & Ishii H., 2015. Removal of Proteins from natural Rubber Latex and Gloves. *KGK - Elastom. UND KUNSTSTOFFE ELASTOMERS Plast. Nat.* 24–29.
- Gartner B., 1995. Patterns of Xylem Variation within a Tree and Their Hydraulic and Mechanical Consequences. *Acad. Press* pp 125-149.
- Ghedadba N. et al., 2015. Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytotherapie* **13**(2), 118–129.
- Ghedira K., 2005. Les flavonoïdes: Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytotherapie* **3**(4), 162–169.
- Grandieu-Burtin P., 1999. Origine biochimique de la couleur du bois de noyer (*Juglans* sp.).
- Grundon M.F. & King F.E., 1949. Chlorophorin, a constituent of Iroko, the Timber of *Chlorophora excelsa*. *Nature* **163**(4145), 564–565.
- Guleria S. et al., 2011. Antioxidant activity and protective effect against plasmid DNA strand scission of leaf, bark, and heartwood extracts from *Acacia catechu*. *J. Food Sci.* **76**(7).

- Harborne J.B. & Williams C.A., 2000. Review Advances in Flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* **55**, 481–504.
- Hernandez R.E., 2007. Moisture sorption properties of hardwoods as affected by their extraneous substances, wood density, and interlocked grain. *Wood Fiber Sci.* **39**(1), 146–158.
- Hillis W., 1987. *Heartwood and tree exudates.*, Springer.
- Hospied A., 2016. Possibilité d'exploitation et de valorisation de la Renouée du Japon en Wallonie dans une optique de bioraffinage.
- Huang Z., Hashadi K., Makino R., Kawamura F., Kuniyoshi S., Ryuichiro K. O.S., 2009. Evaluation of biological activities of extracts from 22 African tropical wood species. *J. Wood Sci.* (55), 225–229.
- ITTO, 2016. Base de données de la Revue biennale - Production et commerce de bois tropicaux.
- J. Lecomte-Beckers, 2010. PHYSIQUE DES MATÉRIAUX : PARTIE POLYMÈRES
Chapitre 4 : Température de transition des polymères. 1–28.
- Kabran G., Mida R., Mamyrbékova-Békro A. & Békro Y.-A., 2012. Phénols et flavonoïdes totaux dans les extraits organiques de dix plantes utilisées dans la tradithérapie du cancer du sein en Côte d'Ivoire. *Eur. J. Sci. Res.* **68**(2), 182–190.
- Karsenty A. & Gourlet-Fleury S., 2006. Assessing sustainability of logging practices in the Congo Basin's managed forests: The issue of commercial species recovery. *Ecol. Soc.* **11**(1).
- Khalida B., 2007. Identification par HPLC des polyphénols et alcaloïdes de deux espèces de "Fumaria" et leurs activités antioxydantes et antiperoxydase.
- Kilic A. & Niemz P., 2012. Extractives in some tropical woods. *Eur. J. Wood Wood Prod.* **70**(1–3), 79–83.
- Kim H. -J. et al., 2010. Microencapsulation of rosmarinic acid using polycaprolactone and various surfactants. *Int. J. Cosmet. Sci.* **32**(3), 185–191.
- Kubo A. & Kubo I., 1995. Anti-microbial agents from *Tanacetum balsamita*. *J. Natural Prod.* **58**, 1565–1569.
- Lafont O., 2007. Du Saule à l'aspirine. *Rev. Hist. Pharm. (Paris)*. 209–216.
- Lamaison. C.A., 1990. Teneurs en principaux flavonoïdes des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et de *Crataegus lavedigata* (Poiret D. C) en fonction de la végétation. *Pharm Acta Helv.* (65), 315–320.

- Lee M.-K., Williams L., Warnock D. & Arthington-Skaggs B., 2004. Drug resistance genes and trailing growth in *Candida albicans* isolates. *J. Antimicrob. Chemother.* **53**, 217–224.
- Lehnebach R. et al., 2016. Heartwood/sapwood profile and the tradeoff between trunk and crown increment in a natural forest: the case study of a tropical tree (*Dicorynia guianensis* Amsh., Fabaceae). *Trees - Struct. Funct.* **31**(1), 199–214.
- Liu F.S., 2009. Mechanisms of Chemotherapeutic Drug Resistance in Cancer Therapy-A Quick Review. *Taiwan. J. Obstet. Gynecol.* **48**(3), 239–244.
- Lugasi A., Hovari J., Sagi K.V. & Biro L., 2003. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biol. Szeged.* **47**(1–4), 119–125.
- Lutge U., Kluge M. & Bauer G., 2002. *Botanique 3ème Ed : Technique et documentation*, 211.
- Marouf A. & Reynaud J., 2007. *La botanique de A à Z*.
- McCay S. & Mahlberg P., 1973. Study of antibacterial activity and bacteriology of latex from *Asclepias syriaca* L. *Antimicrob. Agents Chemother.* **3**(2), 247–253.
- Meunier Q., Moumougou C. & Doucet J.-L., 2015. *Les arbres utiles du Gabon*, 232-233.
- Meyo Degboevi H., Gérardin C. & Gérardin P., 2018. Valorisation of the by-products generated by the primary wood processing industry in Gabon. 20.
- Michel T., 2011. Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'agousier.
- Miranda I., Sousa V., Ferreira J. & Pereira H., 2017. Chemical characterization and extractives composition of heartwood and sapwood from *Quercus faginea*. *PLoS One* **12**(6), 1–14.
- Mireku E. & Wilkes J., 1988. Production of phenols in the sapwood of *Eucalyptus maculata* after wounding and infection. *For. Pathol.* **18**(2), 121–127.
- Monties B., 1987. Composition chimique des bois de chêne: composés phénoliques, relations avec quelques propriétés physiques et chimiques susceptibles d'influencer la qualité des vins et des eaux-de-vie. *OENO One* **21**(3), 169.
- Mooibroek H. & Cornish K., 2000. Alternative sources of natural rubber. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **53**(4), 355–65.
- Mounguengui S. et al., 2016. Total phenolic and lignin contents, phytochemical screening, antioxidant and fungal inhibition properties of the heartwood extractives of ten Congo Basin tree species. *Ann. For. Sci.* **73**(2), 287–296.

- Mounguengui W.S., 2008. Caractérisation HPLC de marqueurs permettant de prévoir l'évolution de certaines propriétés macroscopiques du bois lors de différents processus de dégradation Wenceslas Steeve Mounguengui To cite this version : HAL Id : tel-01748513 soutenance et mis à.
- Mrue F. & Goiannia-Go, 2001. Topical Formulation containing latex of fraction thereof and cosmetic treatment method.
- Nagawa C.B., Böhmendorfer S. & Rosenau T., 2015. Chemical composition of volatiles extracted from indigenous tree species of Uganda: Composition of bark extracts from *Psorospermum febrifugum* and *Milicia excels.* *Holzforschung* **69**(6), 815–821.
- Natedao M., 2015. Study of the role of lipids from matured coagula from *Hevea brasiliensis* latex on natural rubber behavior in oxidative conditions. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **181**(1).
- Neverova N.A. et al., 2013. Distribution of extractive substances in wood of the Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.). *Russ. J. Bioorganic Chem.* **39**(7), 712–719.
- Ng K.R., Lyu X., Mark R. & Chen W.N., 2019. Antimicrobial and antioxidant activities of phenolic metabolites from flavonoid-producing yeast: Potential as natural food preservatives. *Food Chem.* **270**(April 2018), 123–129.
- Ngbolua K.N. et al., 2013. Evaluation de l'activité anti-drépanocytaire et antipaludique de quelques taxons végétaux de la République démocratique du Congo et de Madagascar. *Ethnopharmacologia* **50**, 7–12.
- Nour V., Trandafir I. & Muntean C., 2012. Ultraviolet irradiation of trans-resveratrol and HPLC determination of trans-resveratrol and cis-resveratrol in romanian red wines. *J. Chromatogr. Sci.* **50**(10), 920–927.
- Padayachee T. & Odhav B., 2016. Antimicrobial activity of plant phenols from *Chlorophora excelsa* and *Virgilia oroboides*. *African J. Biotechnol.* **12**(17), 2254–2261.
- Pak V.M., Watkins M. & Green-Mckenzie J., 2012. What is the role of thiurams in allergy to natural rubber latex products? *J. Occup. Environ. Med.* **54**(5), 649–650.
- Penchev P.I., 2010. Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions.
- Petersena M. & Simmonds M., 2003. Rosmarinic acid. *Phytochemistry* **62**(2).
- Qa'dan F., Nahrstedt A., Schmidt M. & Mansoor K., 2010. Polyphenols from *Ginkgo biloba*. *Sci. Pharm.* **78**(4), 897–907.
- Rao V. & Johns J., 2008. Thermal behavior of chitosan/natural rubber latex blends TG and DSC analysis. *J. Therm. Anal. Calorim.* **92**(3), 801–806.

- Rather S.A., Sharma K.R., Nabi S. & Heena G., 2017. Effect of Sampling Height And Spacing On Wood Extractives In Eucalyptus Tereticornis Smith. *Asian J. Multidiscip. Stud.* **5**(4), 106–109.
- Riddellová K., 2012. Kjeldahl method : Analysis of food and natural products laboratory exercise. Determination of total nitrogen in food and crude protein calculation, 1-12.
- Saha Tchinda J.B. et al., 2018. Inhibition of fungi with wood extractives and natural durability of five Cameroonian wood species. *Ind. Crops Prod.* **123**(March), 183–191.
- Saha Tchinda J.- & Bosco, 2015. Caractérisation et valorisation des substances extractibles de cinq essences camerounaises majeures de l'industrie du bois : Ayous, Moabi, Movingui, Padouk et Tali.
- Scalbert A, Monties B J.G., 1989. Tannins in wood: comparison of different estimation methods. *Agric Food Chem* **37**, 1324–1329.
- Scandinavian Pulp Paper and Board Testing Committee - SCAN, 2003. Content of acetone-soluble matter SCAN-CM 49:03.
- Shortle W.C., Menge J.A. & Cowling E.B., 1978. Interaction of bacteria, decay fungi, and live sapwood in discoloration and decay of trees1. *For. Pathol.* **8**(5–6), 293–300.
- Silvério F. et al., 2008. Effect of storage time on the composition and content of wood extractives in Eucalyptus cultivated in Brazil. *Bioresour. Technol.* **99**(11), 4878–4886.
- Singh C., Xiaoqi L. & Ahmad N., 2016. Resveratrol, in its natural combination in whole grape, for health promotion and disease management, *Ann N Y Acad Sci.*, 289-313.
- Slaghenaufi D., 2012. Contribution à la caractérisation des précurseurs d'arôme glycosylés du bois de chêne Membres.
- Sluiter A. et al., 2005. Laboratory Analytical Procedure : Determination of Extractives in Biomass.
- Sluiter A. et al., 2008. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass.
- Smith K., 1997. *Phenolics and Compartmentalization in the Sapwood of Broad-Leaved Trees*, 189-198 chap 16.
- Sokpon, N.; Ouinsavi, C. & Azonkponon N., 2003. Stratégie de gestion de l'Iroko (*Milicia excelsa*) dans l'aire culturelle Vodun au Bénin.
- Stevanovic T., 2007. Le monde merveilleux des extractibles du bois. 1–36.
- Tochukwu Oparanozie I., 2015. Phytochemical quantification, antioxidant and antimicrobial activities of root extracts of *Dennetia Tripetala* and *Milicia excelsa*.

- Tomazic-Jezic V.J., Lucas A.D., Lamanna A. & Stratmeyer M.E., 1999. Quantitation of natural rubber latex proteins: Evaluation of various protein measurement methods. *Toxicol. Methods* **9**(3), 153–164.
- Turjanmaa K., Alenius H., Reunala T. & Palosuo T., 2000. Natural-Rubber-Latex Allergy (Table 1), 0–1.
- Udegbuma S.O. et al., 2013. Evaluation of herbal ointment formulation of *Milicia excelsa* (Welw.) C. C. Berg for wound healing. *African J. Biotechnol.* **12**(21), 3351–3359.
- Valette N. et al., 2017. Antifungal activities of wood extractives. *ungal Biol. Rev.* 113–123.
- Van der Sluis A.A., Dekker M., De Jager A. & Jongen W.M.F., 2001. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: Effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. *J. Agric. Food Chem.* **49**(8), 3606–3613.
- Walkinshaw J., 2012. Sampling and preparing wood for analysis (Proposed revision of T 257 cm-02 as a Standard Practice).
- Wang X. et al., 2010. A method for protein extraction from different subcellular fractions of laticifer latex in *Hevea brasiliensis* compatible with 2-DE and MS. *Proteome Sci.* **8**, 1–10.
- Woodard A.C. & Milner H.R., 2016. *Sustainability of timber and wood in construction*, Woodhead - Civil and structural engineering, 129-157.
- Xu T. et al., 2017. Effect of acetone extract from natural rubber on the structure and interface interaction in NR/CB composites. *RSC Adv.* **7**(42), 26458–26467.
- Yang G. & Jaakkola P., 2011. Wood Chemistry and isolation of extractives from wood (No. Biotuli Project).
- Yeang H.Y., Arif S.A.M., Yusof F. & Sunderasan E., 2002. Allergenic proteins of natural rubber latex. *Methods* **27**(1), 32–45.
- Zahri S. et al., 2008. Quantitative assessment of total phenol contents of European oak (*Quercus petraea* and *Quercus robur*) by diffuse reflectance NIR spectroscopy on solid wood surfaces. *Holzforschung* **62**(6), 679–687.

Annexes :

Annexe 1 : Protocole d'échantillonnage du bois

- Découpage d'une rondelle de bois d'environ 8-10 cm de hauteur à la tronçonneuse dans la grume/arbre pour les hauteurs H1 et H3 ;

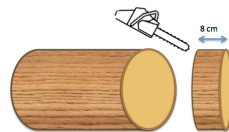


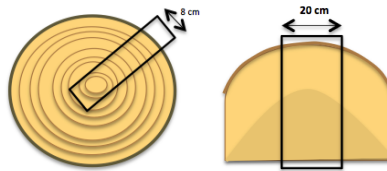
Schéma de l'échantillonnage à H1 et H3

- Pour la hauteur H2, il n'a pas été possible de procéder de la même manière qu'aux hauteurs H1 et H3 étant donné que l'étêtage de l'arbre abattu se réalise plusieurs semaines après la coupe de ce dernier. Prélever une tranche circulaire n'a pas été faisable sans séparer le houppier de la grume. C'est pour cette raison qu'une tranche en forme de V a été échantillonnée à cette H2. La distance entre les 2 incisions de coupe est d'environ 15 cm et la coupe se fera jusqu'au cœur ;



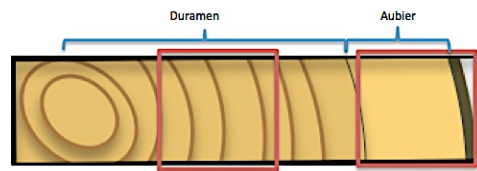
Schéma l'échantillonnage à H2 et d'une tranche prélevée à H2

- Pour chaque tranche/rondelle obtenue, rabotage de la partie ayant directement été coupée à la tronçonneuse sur 0,5 à 1 cm (pour éviter la contamination de l'échantillon). Ensuite, découpage dans le sens du rayon et à la scie circulaire d'un barreau de 8 cm de large pour les rondelles et 20 cm pour les tranches. Cette différence se justifie afin d'obtenir assez de matière tant de duramen que d'aubier dans les 2 échantillons ;



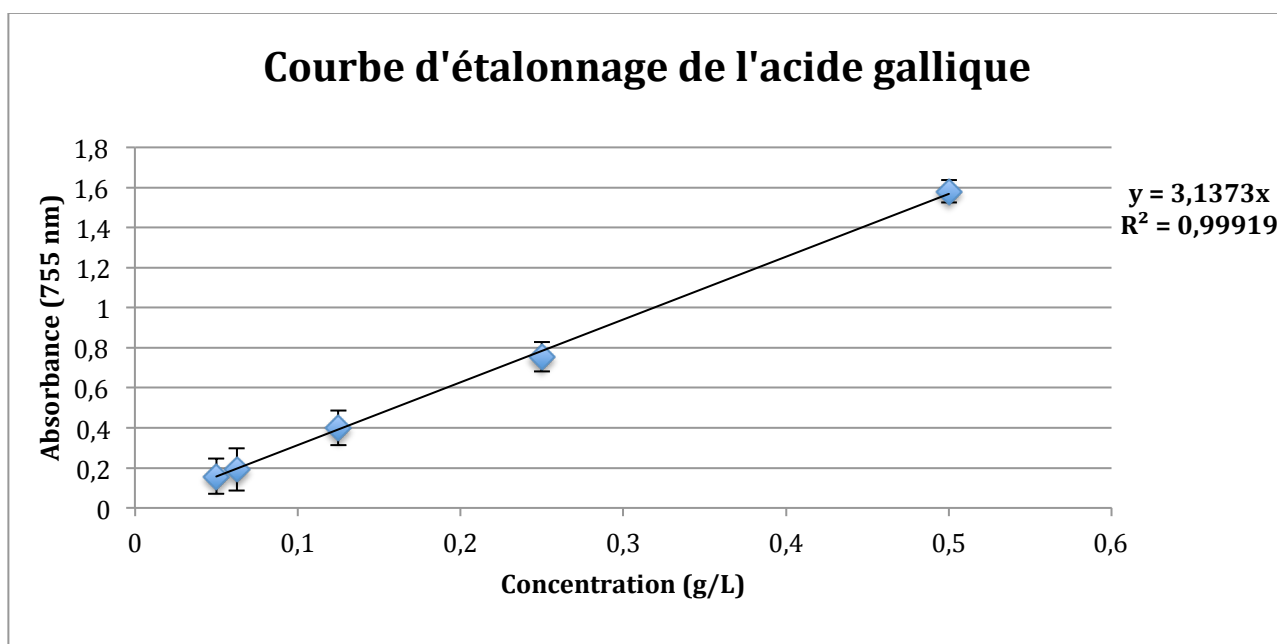
Echantillonnage d'un barreau dans la rondelle et la tranche de bois

- Dans chaque barreau, des échantillons d'aubier et de duramen ont été prélevés à raison de 200 à 300 gr. de matière fraîche par échantillon ;

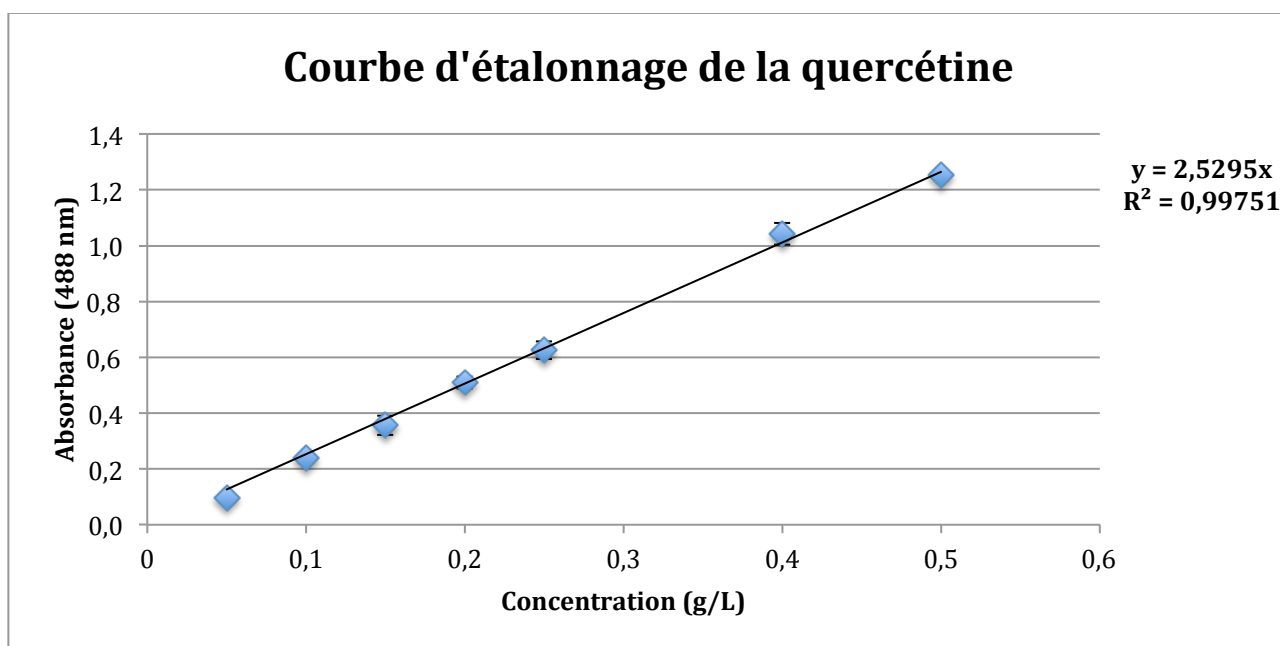


Echantillonnage de l'aubier et du duramen dans le barreau

Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour la détermination des polyphénols totaux



Annexe 3 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour la détermination des flavonoïdes totaux



Annexe 4 : Liste des standards et leur temps de rétention

Standards	Temps de rétention (Min)
Acide benzoïque	16,17
Acide cinnamique	22,01
Acide hydroxycinnamique	12,02 - 11,74 - 13,04
Acide salicylique	16,50
Acide sinapique	16,51
Acide vanillique	13,46
Flavanol	35,31
Flavanone	37,39
Kaempferol	26,83
Resveratrol	20,59
Acide gallique	3,14
Acide cafféique	13,78
Catéchine	13,36
Acide chlorogénique	13,56
Acide paracoumarique	15,27
Acide ellagique	16,68
Epicatechine	14,38
Naringenine	25,35
Quercétine	22,99
Acide rosmarique	19,46
Rutine	16,78
Acide syringique	14,07
Acide transferulique	16,13

Annexe 5 : Spectres UV de l'acide rosmarinique et exemples de spectres UV des pics obtenus dans l'analyse HPLC des extraits acétoniques du duramen

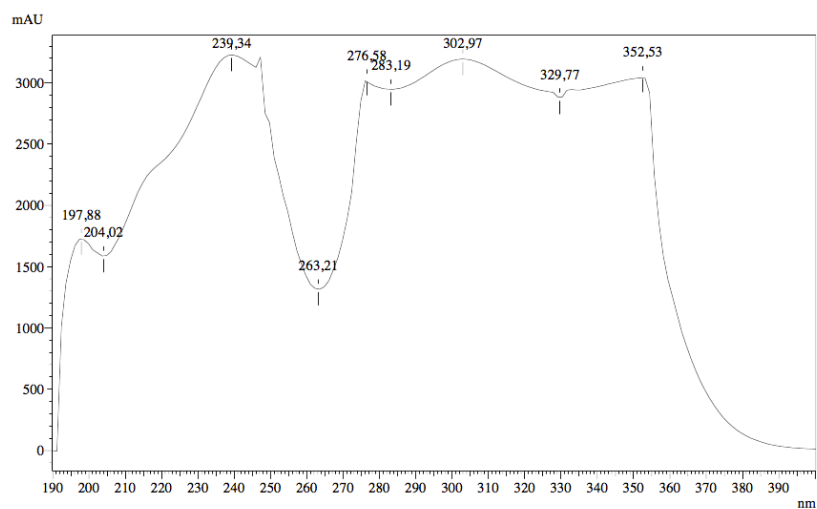


Figure 13. Spectre UV de l'acide rosmarinique (Standard)

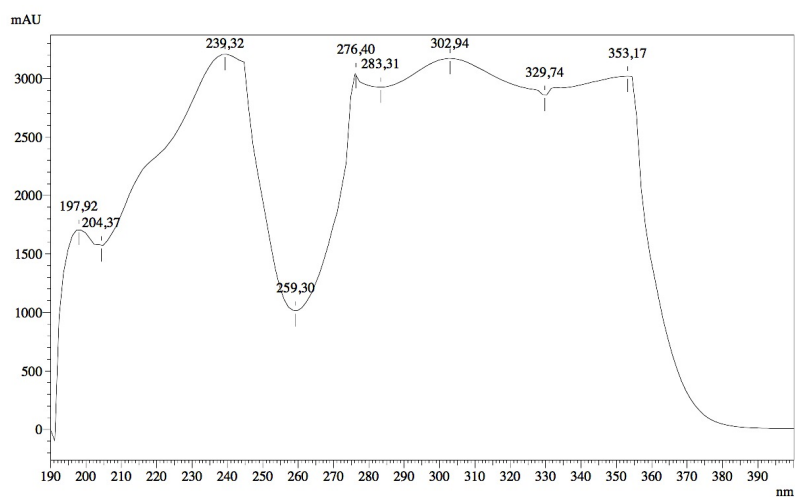


Figure 14. Exemple d'un spectre d'absorption UV de l'acide rosmarinique identifié dans un extrait (15H2D)

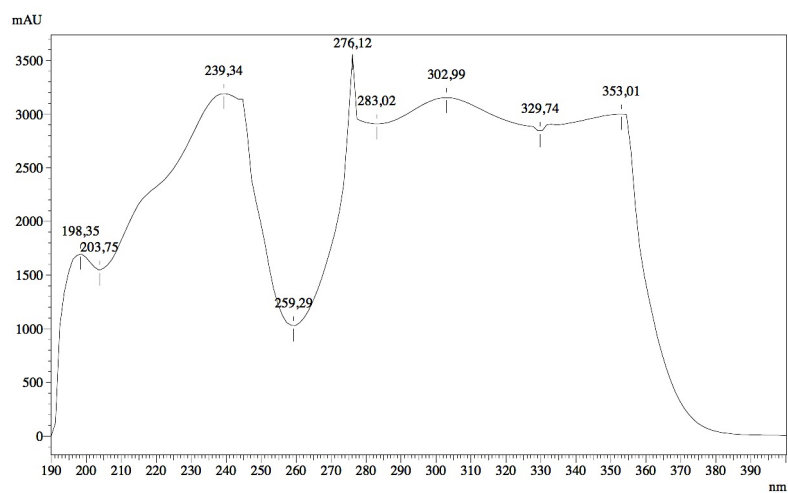


Figure 15. Exemple d'un spectre d'absorption UV de l'acide rosmarinique identifié dans un extrait (I3H3D)

Annexe 6 : Spectre UV du standard de resvératrol et exemples de spectres UV des pics correspondant au resvératrol obtenus dans l'analyse HPLC des extraits acétoniques du duramen

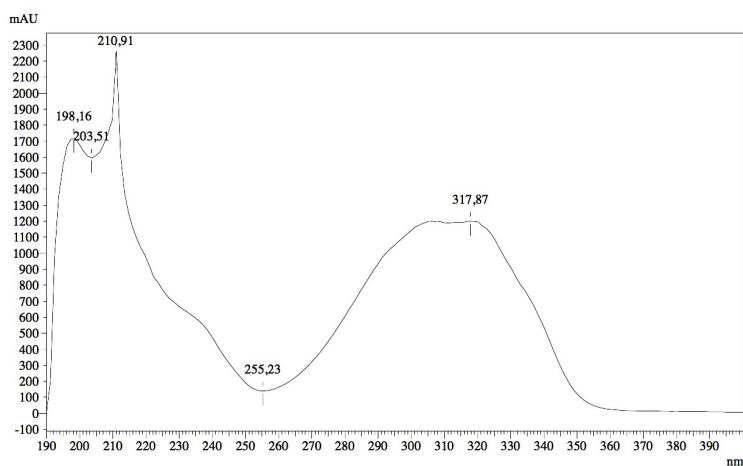


Figure 16. Spectre UV du resvératrol (Standard)

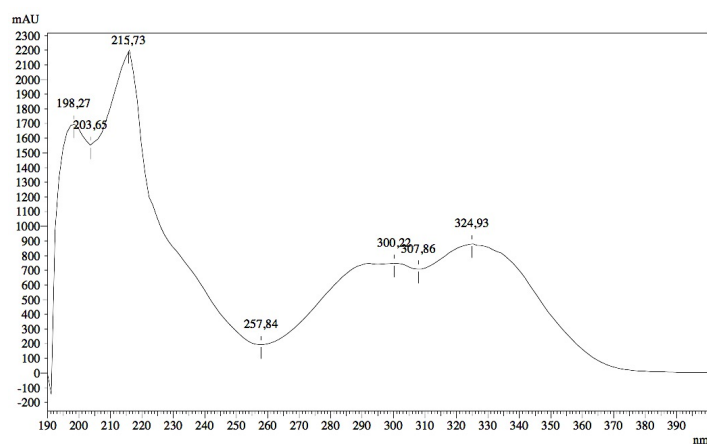


Figure 17. Exemple d'un spectre d'absorption UV d'un composé dérivé du resvératrol identifié dans un extrait (I2H2D)

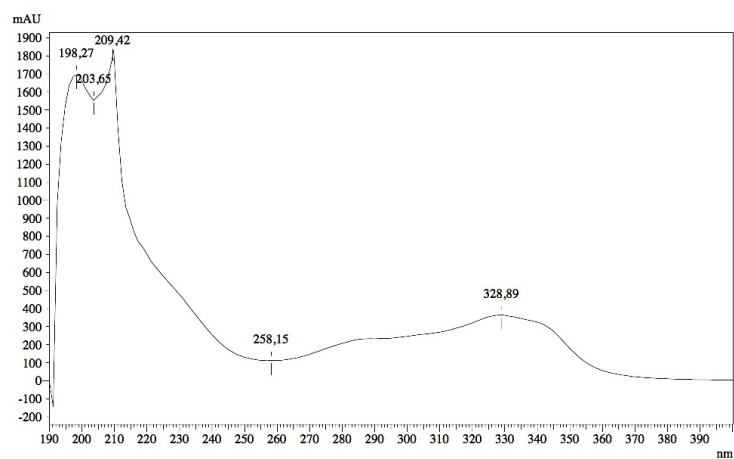


Figure 18. Exemple d'un spectre d'absorption UV d'un composé dérivé du resvératrol identifié dans un extrait de duramen (I2H1D)