



**HAL**  
open science

# Caractérisation et valorisation des substances extractibles de cinq essences camerounaises majeures de l'industrie du bois : Ayous, Moabi, Movingui, Padouk et Tali

Jean-Bosco Saha Tchinda

► **To cite this version:**

Jean-Bosco Saha Tchinda. Caractérisation et valorisation des substances extractibles de cinq essences camerounaises majeures de l'industrie du bois : Ayous, Moabi, Movingui, Padouk et Tali. Matériaux. Université de Lorraine, 2015. Français. NNT : 2015LORR0113 . tel-01751831

**HAL Id: tel-01751831**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01751831v1>**

Submitted on 29 Mar 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



UNIVERSITÉ  
DE LORRAINE



CFRD/STG



THESE EN COTUTELLE PRESENTE POUR OBTENIR LE GRADE DE  
**DOCTEUR/Ph.D DE L'UNIVERSITE DE LORRAINE (FRANCE)**

Ecole doctorale Sciences et Ingénierie Ressources Procédés Produits Environnement

Spécialité : Science du bois et des fibres

**DOCTEUR/Ph.D DE L'UNIVERSITE DE YAOUNDE I (CAMEROUN)**

Ecole doctorale : Sciences, Technologies et Géosciences

Spécialité : Chimie Inorganique

Par **Jean-Bosco SAHA TCHINDA**

\*\*\*\*\*

Caractérisation et valorisation des substances extractibles de cinq  
essences camerounaises majeures de l'industrie du bois : Ayous,  
Moabi, Movingui, Padouk et Tali

\*\*\*\*\*

Directeurs de thèse : Philippe GERARDIN et Maurice Kor NDIKONTAR

Soutenue le Jeudi 29 Octobre 2015

Devant la commission d'examen formée de :

**Rapporteurs :**

Tatjana STEVANOVIC  
Marie France THEVENON

Professeur, Université de Laval, Québec, Canada  
Chargé de Recherche, HDR, CIRAD Montpellier, France

**Président :**

Tatjana STEVANOVIC

Professeur, Université de Laval, Québec, Canada

**Examineurs :**

Philippe GERARDIN  
Maurice Kor NDIKONTAR

Professeur, Université de Lorraine, France  
Maître de Conférences, Université de Yaoundé I, Cameroun

**Invités :**

Stéphane DUMARÇAY  
Christine GERARDIN  
Paul MINGO GHOGOMU  
Joseph KETCHA MBADCAM

Maître de Conférences, Université de Lorraine, France  
Professeur, Université de Lorraine, France  
Maître de Conférences, Université de Yaoundé I, Cameroun  
Professeur, Université de Yaoundé I, Cameroun



LCIA/CM

## **DEDICACES**

A ma mère G nevi ve YEMELONG

A ma femme Doudou TCHONGO TAOBATCHI

A mes enfants Stéphane SAHA YEMELONG et Alfred SAHA FOUTE



## REMERCIEMENTS

Ce travail de thèse a été réalisé en cotutelle entre l'Université de Yaoundé 1 (Cameroun) et l'Université de Lorraine (France). Les travaux ont été développés en alternance entre le Laboratoire d'Etude et de Recherches sur le Matériau Bois (LERMAB) à l'Université de Lorraine et le Laboratoire de Chimie Macromoléculaire de l'Université de Yaoundé 1. Ma reconnaissance s'adresse aux personnes qui ont rendu la réalisation de ce mémoire possible, et bien plus encore à ceux qui l'ont rendue agréable. Cette longue relation entre mon mémoire et moi a connu ses hauts et ses bas, mais j'y ai pris en grande majorité un plaisir énorme. Je désire alors exprimer ma profonde gratitude accompagnée de l'expression de mon respect :

J'adresse mes sincères remerciements à Marie France THEVENON, Chargé de Recherche au CIRAD Montpellier et Tatjana STEVANOVIC, Professeur de l'Université de Laval, Québec au Canada pour avoir accepté d'être rapporteur de ce travail. A Paul MINGO GHOGOMU, Maître de Conférences de l'Université de Yaoundé I, Joseph MBADCAM KETCHA, Professeur à l'Université de Yaoundé I et Christine GERARDIN-CHARBONNIER, Professeur à l'Université de Lorraine pour avoir accepté de participer à ce jury.

Je désire exprimer ma profonde gratitude accompagnée de l'expression de mon respect aux professeurs Philippe GERARDIN et Maurice KOR NDIKONTAR, directeurs de thèse respectivement en France et au Cameroun. Ce travail n'aurait pu voir le jour sans leurs confiances. Je leurs suis très reconnaissant pour le soutien constant, de la période d'apprentissage d'utilisation des appareils jusqu'à la phase finale de la rédaction de cette thèse. Ils ont mis à ma disposition les moyens nécessaires à cette étude. Je leur suis également reconnaissant pour les conseils, leurs disponibilités et leurs multiples corrections et critiques qui ont permis à ce travail de prendre forme. Un merci particulier au Professeur Philippe GERARDIN pour les nombreux efforts effectués pour m'accueillir en France durant mes différents séjours. Cela n'a pas été facile mais il a mis tous les moyens nécessaires pour que ce travail de thèse se déroule dans les meilleures conditions.

Je tiens également à remercier de regretté mémoire le Professeur Joseph NGAMVENG NOAH pour m'avoir accueilli au sein de son équipe de recherche et guider mes premiers pas dans la recherche, que la terre de nos ancêtres lui soi légère.

Je remercie tous les enseignants du département de Chimie Inorganique de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé 1.

Je tiens à remercier le Docteur Stéphane DUMARCAY, Maître de Conférences à l'Université de Lorraine qui a bien voulu codiriger cette thèse malgré ses nombreuses occupations. J'ai eu le privilège d'avoir été encadré de façon exemplaire par quelqu'un de dynamique, doué et courageux.

Merci à Dominique PERRIN, Maître de Conférences à l'Université de Lorraine de m'avoir encadré dans les réalisations des tests de propriétés antioxydantes et merci pour ses conseils et sa disponibilité.

Je tiens à remercier particulièrement Madame Anélie PETRISSANS, Maître de Conférences à l'Université de Lorraine de m'avoir encadré dans les réalisations des tests de propriétés colorantes, ses corrections pour mon article, ses conseils et sa disponibilité.

J'exprime ma vive reconnaissance à Stéphane MOLINA, Maître de Conférences à l'Université de Lorraine pour son encadrement et la mise à ma disposition des matériels pour la réalisation des tests de coloration. Son soutien, ses conseils, sa disponibilité et notamment pour ses interprétations de certains résultats sur la teinte des fibres qui m'ont été d'un précieux secours. Lorsque je faiblissais, il me remontait le moral et me demandait de patienter et les résultats suivront. Je lui dis grandement merci.

Je tiens à remercier particulièrement le Professeur André MERLIN, qui m'a guidé vers le Professeur Philippe GERARDIN, pour ses conseils et les nombreuses discussions effectuées durant mes différents séjours au LERMAB.

Mes remerciements à mes camarades de bureau et de paillasse du LERMAB en particulier Joël HAMADA, Solafa SALMAN, Zineb KEBBI-BENKEDER pour leur gentillesse et leur sens de l'amitié.

Aux personnels techniques et administratifs du LERMAB, plus particulièrement à Corinne COURTEHOUX, Nicolas HOUSSEMENT, Emmanuel MARTIN et Laetitia MOURITANY pour leurs différentes aides lors de mes séjours.

Au Docteur Steve WENCESLAS MOUNGUENGUI, pour ses nombreux conseils, ses propositions de manipulations, la collaboration gabonaise mise en place et ses nombreuses corrections.

Au Docteur Arnaud YONA CHEUMANI, pour ses multiples conseils et corrections de mon document.

Je remercie mon papa Pierre-Flaubert TCHINDA pour son éducation et ses nombreux

conseils durant mon cursus scolaire primaire et secondaire.

Je tiens également à remercier toute ma famille plus particulièrement mon petit frère Ferdinand TCHINDA TCHOUPOU et ma petite sœur Laure Christelle TCHINDA NGUETSA, qui ont toujours été à mon écoute et m'ont soutenu durant les périodes difficiles de ma thèse.

Aux Docteurs Jean-Aimé MBEY, Antoine Marie BOGSO et le père Jean de Dieu NDJEE pour m'avoir accueilli chaleureusement à Nancy et m'ouvrir leurs portes, pour leurs conseils et les différentes discussions enrichissantes que nous avons eues.

A mes aînés de laboratoire de Chimie Macromoléculaire Docteur Emmanuel NJUNGAB, Docteur Richard MPON, Docteur Jacques Richard MACHE, Docteur Clotaire Morvan ABUIBOTO NKO'O, Abel TAME, pour les conseils, leur soutien moral, matériel et toutes les discussions que nous avons eues.

A mon beau frère Ismaïl HOJI YEROUA, un grand ami de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé 1 qui m'a fait confiance et m'a donné sa sœur comme épouse. Je tiens à lui dire merci de m'avoir donné ma moitié qui m'a supporté pendant mes multiples voyages à Nancy, elle n'a jamais douté de moi et m'a toujours fait confiance.

A mes amis Jean-Bosco JOUDA, Tchoukoua ABDOU, Ghislain Hervé DJEUMENI DJIELE, Miraine NDACNOU KAPEUA, David Vernon YOUMSSI CHOKOUADEU, Viviane Gertrude NOUGANG, Yves Didier BAMPÉL MODTEGUE, Eric KEGAKO, pour la confiance et la fraternité qui a toujours existé entre nous. Au Docteur Duclair SA'A KUETE et Docteur Patrice TSOPNANG KENFACK avec qui j'ai géré le stress durant mes différents séjours à Nancy.

A mes camarades de promotion de DEA plus particulièrement au Dr Serges DJEPANG, Daouda ABIA et Joseph YIMGA pour l'ambiance conviviale et fraternelle qui a toujours régné entre nous.

A mes camarades de promotion de l'Ecole Normale Supérieure de Maroua plus particulièrement Giscard ADJOH, Bernard DJAMOU, Enselme KENGNE, Noffe TEDONGO MANDJI, Marquise WOUAFO TOUOMO, Herman Fabryce MILONG EBONGUE, Tatiana MOLANDI, Christelle Larissa TAKOUGOUM NGOUDJOU et Christophe CHAPI pour les moments de joie partagés ensemble durant notre formation. A mes petits frères de laboratoire Thomas SANGO, Désiré YOMENI CHIMENI, Désiré BELINGA FOUA, Martial KUETE et Olivier KANEMOTO.

Sans oublier, TOI qui pense avoir été oublié.

## SOMMAIRE

DEDICACES.....	2
REMERCIEMENTS.....	3
SOMMAIRE .....	6
LISTE DES TABLEAUX.....	10
LISTE DES FIGURES ET SCHEMAS.....	13
INTRODUCTION.....	17
CHAPITRE 1 .....	20
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE .....	20
1.1. Rappels sur le matériau bois .....	20
1.1.1. Structure et anatomie du bois.....	20
1.1.2. Composition chimique.....	21
1.1.2.1. Cellulose .....	21
1.1.2.2. Hémicelluloses .....	22
1.1.2.3. Lignine.....	23
1.1.2.4. Extractibles .....	25
1.1.2.4.1. Terpènes et terpénoïdes.....	26
1.1.2.4.2. Cires et Graisses .....	26
1.1.2.4.3. Composés phénoliques.....	27
1.1.2.5. Substances minérales .....	35
1.2. Durabilité naturelle.....	35
1.2.1. Agents biologiques d'altération du bois .....	36
1.2.1.1. Bactéries.....	37
1.2.1.2. Champignons .....	37
1.2.1.3. Insectes xylophages .....	40
1.2.1.4. Tarets .....	41
1.3. Description des essences étudiées .....	42

1.3.1. Ayous.....	42
1.3.2. Moabi.....	42
1.3.3. Movingui.....	43
1.3.4. Padouk .....	45
1.3.5. Tali .....	47
1.4. Valorisation des extractibles .....	48
1.4.1. Activité antiradicalaire et antioxydante des extractibles .....	48
1.4.1.1. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante et anti radicalaire .....	50
1.4.2. Capacité des extractibles à teindre les fibres naturelles et artificielles .....	53
1.5. Valorisation industrielle des extractibles.....	56
CHAPITRE 2 .....	57
MATERIELS ET METHODES .....	57
2.1. Matériels .....	57
2.1.1. Produits chimiques .....	57
2.1.2. Matériel végétal.....	57
2.1.3. Champignons .....	58
2.1.4. Bactéries .....	58
2.2. Méthodes .....	58
2.2.1 Extraction des sciures .....	58
2.2.2. Analyse chimique.....	60
2.2.3. Evaluation de l'effet des extractibles sur la durabilité naturelle .....	64
2.2.3.1. Test d'inhibition fongique.....	64
2.2.3.2. Préparation des éprouvettes de bois.....	66
2.2.3.3. Confrontation des éprouvettes aux agents de dégradation .....	66
2.2.4. Evaluation du pouvoir antioxydant des extractibles.....	67
2.2.4.1 Inhibition de l'oxydation induite du linoléate de méthyle induite par l'azobisisobutyronitrile .....	67

2.2.4.2 Méthode thermodynamique : détermination de la concentration efficace (CE50) en composés phénoliques telle 50% du DPPH ait réagi .....	68
2.2.5. Evaluation de la capacité des extractibles à teindre une fibre naturelle, le coton et deux fibres artificielles, les viscoses de cellulose de bois et de cellulose de bambou.....	69
2.2.5.1. Extraction du colorant.....	69
2.2.5.2. Mesure de l'absorbance du filtrat .....	69
2.2.5.3. Méthode de coloration .....	69
2.2.5.4. Mesure de la couleur.....	70
2.2.6. Evaluation de l'activité antibactérienne des extractibles.....	71
CHAPITRE 3 .....	73
EXTRACTION, QUANTIFICATION ET CARACTERISATION DES EXTRACTIBLES.....	73
3.1. Taux d'extractibles des différentes essences de bois.....	73
3.2. Criblage phytochimique des extractibles.....	74
3.3. Dosage des phénols totaux.....	76
3.4. Dosage des proanthocyanidines ou tanins condensés.....	77
3.5. Analyse GC-MS .....	78
3.5.1. Extractibles d'ayous .....	78
3.5.2. Extractibles du moabi .....	80
3.5.3 Extractibles du movingui .....	82
3.5.4. Extractibles de padouk.....	84
3.5.5. Extractibles de tali .....	86
CHAPITRE 4 .....	89
EFFET DES EXTRACTIBLES SUR LA DURABILITE NATURELLE DU BOIS .....	89
4.1. Durabilité naturelle du bois massif face à l'attaque fongique.....	89
4.2. Inhibition des extractibles sur la croissance des champignons .....	95
4.3. Inhibition des sciures sur la croissance des champignons .....	98
CHAPITRE 5 .....	109
VALORISATION DES EXTRACTIBLES .....	109

5.1. Valorisation des extractibles en tant qu'antioxydant.....	109
5.2. Valorisation en tant que colorant .....	116
5.2.1. Teinte des fibres sans l'utilisation d'un mordant. ....	116
5.2.2. Influence des mordants à base de fer et d'aluminium .....	125
5.2.5. Solidité de la coloration avec mordantage sur la fibre .....	134
5.3. Propriétés antibactériennes des extractibles.....	139
CONCLUSION .....	142
REFERENCES .....	145
RESUME .....	160
ABSTRACT .....	161

## **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 1 : Taux de cellulose de quelques végétaux.....	21
Tableau 2 : Classes de durabilité naturelle du bois vis-à-vis des champignons lignivores d'après les pertes de masse relative et absolue.....	35
Tableau 3 : Listes de quelques mordants métalliques et sources de biomordants.....	55
Tableau 4:	
(a) Taux d'extractible (moyenne de quatre essais, écart type) obtenus par une extraction en parallèle.....	73
(b) Taux d'extractible (moyenne de quatre essais, écart type) obtenu par une extraction successive.....	73
Tableau 5 : Criblage phytochimique des extractibles (extraction successive).....	75
Tableau 6 : Phénols totaux contenus en mg éq acide gallique/g d'extractible (écart type sur les valeurs est de $\pm 0.003$ )	
(a) Extraction successive.....	76
(b) Extraction en parallèle.....	76
Tableau 7 : Proanthocyanidines contenus en g cyanidine équivalents/100 g de matière sèche de l'extraction successive.....	77
Tableau 8 : Composés identifiés dans les extractibles d'ayous.....	80
Tableau 9 : Composés identifiés dans les extractibles de moabi.....	82
Tableau 10 : Composés identifiés dans les extractibles de movingui.....	84
Tableau 11 : Composés identifiés dans les extractibles de padouk.....	86
Tableau 12 : Composés identifiés dans les extractibles de tali.....	88
Tableau 13 : Perte de masse des échantillons après 16 semaines d'exposition aux champignons.....	89
Tableau 14 : comparaison des taux d'extractible issus de l'extraction bois massif et de la sciure.....	91
Tableau 15 : Durabilité naturelle des essences étudiées selon la norme EN 350-1, 1994.....	91



Tableau 16 : Taux d'humidité des éprouvettes après 16 semaines d'exposition aux champignons.....	93
Tableau 17 : Indice antifongique des extractibles acétoniques.....	95
Tableau 18 : Indice antifongique des extractibles au toluène-éthanol.....	96
Tableau 19 : Indice antifongique des différents extractibles aqueux.....	97
Tableau 20: Paramètres de couleurs des fibres de coton, viscosse de bois et viscosse de bambou obtenus après mordantage à 1% de mordant à base d'aluminium, ensuite teint avec les extraits aqueux de movingui et de padouk suivi du lessivage .....	135
Tableau 21: Paramètres de couleurs des fibres de coton, viscosse de bois et viscosse de bambou obtenus après mordantage à 1% de mordant à base d'aluminium, ensuite teint avec les extraits alcalins de movingui et de padouk suivi du lessivage.....	135
Tableau 22: Paramètres de couleurs des fibres de coton, viscosse de bois et viscosse de bambou obtenus après mordantage à 3% de mordant à base d'aluminium, ensuite teint avec les extraits aqueux de movingui et de padouk suivi du lessivage .....	136
Tableau 23: Paramètres de couleurs des fibres de coton, viscosse de bois et viscosse de bambou obtenus après mordantage à 3% de mordant à base d'aluminium, ensuite teint avec les extraits alcalins de movingui et de padouk suivi du lessivage.....	136
Tableau 24 : Paramètres de couleurs des fibres de coton, viscosse de bois et viscosse de bambou obtenus après mordantage à 1% de mordant à base de Fer, ensuite teint avec les extraits aqueux de movingui et de padouk suivi du lessivage .....	137
Tableau 25 : Paramètres de couleurs des fibres de coton, viscosse de bois et viscosse de bambou obtenus après mordantage à 1% de mordant à base de Fer, ensuite teint avec les extraits alcalins de movingui et de padouk suivi du lessivage .....	137
Tableau 26 : Paramètres de couleurs des fibres de coton, viscosse de bois et viscosse de bambou obtenus après mordantage à 3% de mordant à base de Fer, ensuite teint avec les extraits aqueux de movingui et de padouk suivi du lessivage .....	138
Tableau 27 : Paramètres de couleurs des fibres de coton, viscosse de bois et viscosse de bambou obtenus après mordantage à 3% de mordant à base de Fer, ensuite teint avec les extraits aqueux de movingui et de padouk suivi du lessivage .....	138
Tableau 28 : Indice antibactérien (%) dans le cas d' <i>Escherichia coli</i> .....	139

Tableau 29 : Indice antibactérien (%) dans le cas du *staphylocoque*.....140

Tableau 30 : Indice antibactérien (%) dans le cas du *Bacillus*.....141

## LISTE DES FIGURES ET SCHEMAS

Figure 1 : Schéma d'une essence de bois à bois parfait distinct.....	21
Figure 2 : Schéma de la structure de la cellulose.....	22
Figure 3 : Différents sucres constituant les hémicelluloses .....	23
Figure 4 : Modèle de structure de la lignine d'épicéa proposé par Alder (1977) cité par Stevanovic et Perrin (2009).....	24
Figure 5 : Les monomères précurseurs de la lignine.....	25
Figure 6 : Isoprène.....	26
Figure 7 : Schéma des structures de terpènes et terpénoïdes extraites du bois (Mellouk, 2007).....	26
Figure 8 : Graisses et cires isolés du bois.....	27
Figure 9 : Quelques phénols simples isolés du bois.....	28
Figure 10 : Différentes familles de flavonoïdes rencontrées dans le bois.....	29
Figure 11 : Structure de la dihydromorine, de l'aromadendrine et du -(-) mesquitol.....	29
Figure 12 : Structures des santalines A, B, Y et AC.....	30
Figure 13 : Quinones extraites du bois de teck.....	31
Figure 14 : Quelques composés quinoliques isolés responsables de la durabilité des bois.....	31
Figure 15 : Isomère du 1,2-diphényléthylène.....	32
Figure 16 : Structure de quelques stilbènes responsables de la durabilité du bois.....	32
Figure 17 : Structure de quelques lignanes extraits des feuillus et résineux.....	33
Figure 18 : Structures de quelques tanins hydrolysables.....	34
Figure 19 : Structure des tanins condensés.....	34
Figure 20 : Bleuissement sur bois fraîchement scié.....	38
Figure 21 : Pourriture cubique causée par <i>Anthrodia sp.</i> .....	39
Figure 22 : Structure de l'Oxyayanine A et B, de l'Ayanine et de le Destemonanthin.....	44
Figure 23 : Structure de la prunétine et du santal isolée du padouk.....	46
Figure 24: Structures des Ptérosine A-F isolées du bois de cœur de Padouk.....	46

Figure 25 : Dihydromyricétine extraite du bois de cœur de tali.....	48
Figure 26 : Structures de quatre antioxydants synthétiques utilisés en industrie agroalimentaire.....	49
Figure 27 : Structures de quelques antioxydants naturels.....	50
Figure 28 : Formation de l'ABTS radicalaire et réaction avec un composé phénolique (Zhuqi and Guochuan, 2015).....	52
Figure 29 : Schéma du système d'extraction accélérée au Dionex (AES).....	59
Figure 30 : Courbe d'étalonnage : absorbance à 760 nm de différentes concentrations en acide gallique.....	62
Figure 31 : Courbe d'étalonnage : Absorbance à 550 nm de différentes concentrations en cyanidin-3-O-glucoside.....	63
Figure 32 : Appareil de GC-MS.....	64
Figure 33 : Schéma de l'évaluation de l'activité antifongique par mesure du diamètre de croissance du mycélium.....	65
Figure 34 : (a) Eprouvettes poncées ; (b) extraction des éprouvettes au Soxhlet.....	66
Figure 35 : (a) Inoculation du champignon ; (b) colonisation de la boîte par le mycélium...	66
Figure 36 : Schéma de l'influence d'un extractible sur l'autooxydation d'un substrat.....	68
Figure 37 : Schéma des différentes étapes d'absorption et de fixation du colorant sur la fibre.....	70
Figure 38 : Espace colorimétrique du système CIE-L*a*b*.....	71
Figure 39 : Chromatogrammes des différents extractibles d'ayous.....	79
Figure 40 : Chromatogrammes des différents extractibles de moabi.....	81
Figure 41 : Chromatogrammes des différents extractibles de movingui.....	83
Figure 42 : Chromatogrammes des différents extractibles de padouk.....	85
Figure 43 : Chromatogrammes des différents extractibles de tali.....	87
Figure 44 : (a) Tali non extrait exposé à <i>Trametes versicolor</i> , (b) Tali extrait exposé à <i>Trametes versicolor</i> , (c) Tali non extrait exposé à <i>Poria placenta</i> , (d) Tali extrait exposé à	

<i>Poria placenta</i> , Hêtre exposé à <i>Trametes versicolor</i> , Ayous exposé à <i>Trametes versicolor</i> .....	92
Figure 45 : Corrélation entre les phénols totaux et les pertes de masse des différentes éprouvettes en présence des différents champignons : (a) extraits acétoniques, (b) des extraits aqueux.....	94
Figure 46 : Extraits obtenus après extraction à l'eau et à la soude. (a) avec le movingui, (b) avec le padouk.....	124
Figure 47 : Teinte obtenue après coloration avec les extraits aqueux et alcalins de movingui. De gauche à droite on a le coton, la viscose de bois et la viscose de bambou.....	124
Figure 48 : Teinte obtenue après coloration avec les extraits aqueux et alcalins de padouk. De gauche à droite on a le coton, la viscose de bois et la viscose de bambou.....	124
Figure 49: Mécanisme d'action entre une fibre cellulosique, un colorant (santal) et le mordant $Al^{3+}$ (Alun) en milieu alcalin.....	125
Figure 50 : Variations de paramètres de teintes ( $\Delta E$ , $\Delta a^*$ , $\Delta b^*$ , et $\Delta L$ ) obtenues après utilisation d'un mordant à base d'aluminium à 1% pour la teinture du coton, viscose de bois et viscose de bambou avec les extraits de movingui : (a) extrait alcalin et (b) extrait aqueux.....	126
Figure 51 : Variations de paramètres de teintes ( $\Delta E$ , $\Delta a^*$ , $\Delta b^*$ , et $\Delta L$ ) obtenues après utilisation d'un mordant en aluminium à 3% pour teinte du coton, viscose de bois et viscose de bambou avec les extraits de movingui : (a) extrait alcalin et (b) extrait aqueux.....	127
Figure 52 : Variations de paramètres de teintes ( $\Delta E$ , $\Delta a^*$ , $\Delta b^*$ , et $\Delta L$ ) obtenues après utilisation d'un mordant en aluminium à 1% pour la teinture du coton, viscose de bois et viscose de bambou avec les extraits de padouk : (a) extrait alcalin et (b) extrait aqueux.....	128
Figure 53 : Variations de paramètres de teintes ( $\Delta E$ , $\Delta a^*$ , $\Delta b^*$ , et $\Delta L$ ) obtenues après utilisation d'un mordant en aluminium à 3% pour teinture du coton, viscose de bois et viscose de bambou avec les extraits de padouk : (a) extrait alcalin et (b) extrait aqueux.....	129
Figure 54 : Variations de paramètres de teintes ( $\Delta E$ , $\Delta a^*$ , $\Delta b^*$ , et $\Delta L$ ) obtenues après utilisation d'un mordant à base de fer à 1% pour teinture du coton, viscose de bois et viscose	

de bambou avec les extraits de movingui : (a) extrait alcalin et (b) extrait aqueux.....130

Figure 55 : Variations de paramètres de teintes ( $\Delta E$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ , et  $\Delta L$ ) obtenues après utilisation d'un mordant en fer à 3% pour la teinture du coton, viscose de bois et viscose de bambou avec les extraits de movingui : (a) extrait alcalin et (b) extrait aqueux.....131

Figure 56 : Variations de paramètres de teintes ( $\Delta E$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ , et  $\Delta L$ ) obtenues après utilisation d'un mordant en fer à 1% pour teinte du coton, viscose de bois et viscose de bambou avec les extraits de padouk : (a) extrait alcalin et (b) extrait aqueux.....132

Figure 57 : Variations de paramètres de teintes ( $\Delta E$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ , et  $\Delta L$ ) obtenues après utilisation d'un mordant en fer à 3% pour teinte du coton, viscose de bois et viscose de bambou avec les extraits de padouk : (a) extrait alcalin et (b) extrait aqueux.....133

## INTRODUCTION

Les avancées scientifiques dans le domaine de la valorisation des substances naturelles issues des plantes (feuilles, écorces, sciures) permettent d'envisager à terme que des produits de la chimie verte, substituables et compétitifs, remplacent ceux issus des matières fossiles, dans les domaines des énergies, des matériaux et de la chimie fine. Ces matières fossiles étant en voie d'épuisement, les chercheurs se tournent ainsi vers des sources facilement renouvelables comme le bois. Notons que 52% de médicaments actuels sont constitués ou dérivés de produits naturels (Newman and Cragg, 2007). Les déchets issus de la première transformation du bois constituent un gisement de matière première considérable qu'il convient de valoriser. Le Cameroun dispose d'un important patrimoine forestier, représentant près de 22 millions d'hectares soit environ 42% de la superficie nationale. Ce patrimoine est constitué de près de 300 espèces dont seulement environ 80 subissent une exploitation régulière. C'est la deuxième plus grande forêt d'Afrique après celle de la République Démocratique du Congo. Le secteur forestier contribue pour environ 6% au produit intérieur brut (PIB) du Cameroun (Cerruti *et al.*, 2008). Le bois est le deuxième produit d'exportation après le pétrole. Selon le Ministère de l'Environnement et des Forêts Camerounais, les essences les plus exploitées sont l'ayous (37,2%), le sapelli (18,9%), l'azobé (6,6%), le tali (5,7%), le movingui (2,0%), le moabi (1,8%) et le padouk (1,3%) (SGS Cameroun S.A., 1997 ; Cerruti *et al.*, 2008). Ces exploitations entraînent la production de déchets provenant soit directement de l'extraction des grumes (environ 40 % de l'arbre abattu ; la partie supérieur du tronc et les branches sont abandonnées), soit des industries de première transformation (scieries) et de deuxième transformation (menuiseries, fabriques de meubles, de parquets, de charpentes...) qui produisent des dosses et délignures, des écorces, des chutes, des sciures, des copeaux et des poussières de ponçage. En 2006, l'activité a généré 245 millions de m<sup>3</sup> de résidus de bois, soit environ 1,20 millions de tonnes (équipe technique du GTZ). Ainsi pour une entrée en usine de 2500000 m<sup>3</sup>, on a seulement 748 000 m<sup>3</sup> de bois produit soit un rendement en matière de 30% (70% de déchets produit). On note ainsi que l'industrie du bois au Cameroun génère de grandes quantités de déchets qui sont le plus souvent utilisés comme combustibles ou laissés à l'abandon dans la nature (équipe technique du GTZ).

Dans de nombreux pays industrialisés, ses déchets sont valorisés dans la fabrication de panneaux de particules, de matériaux composites, de la production de l'énergie et représentent un réel potentiel économique et d'emplois divers. Afin d'optimiser la gestion de résidus de l'exploitation du bois, la valorisation des extractibles sans toutefois nuire aux usages habituels

a été envisagée ; l'extraction des substances extractibles étant réalisée antérieurement aux procédés de transformations habituels. Les études ont montré que les extractibles pouvaient être utilisés dans différents domaines tels que : la cosmétique, l'agroalimentaire, la pharmacie, la préservation du bois, la teinture et les adhésifs. L'un des exemples très connus est celui des tannins hydrolysables de chêne réputés pour leur pouvoir antioxydant, antiseptique, anticancéreux et de prévention de maladie cardio-vasculaire. De même l'hydroxymatairésinol extrait des nœuds de l'épicéa de Norvège qui est un additif alimentaire et lutte contre le cancer de la prostate et le cancer de sein (Stevanovic *et al.*, 2009 ;Amarowicz *et al.*, 2008).

Au Cameroun la valorisation des déchets commence à être envisagée petit à petit. Des sociétés telles que la société GTZ/ProPSFE veulent valoriser ces déchets dans la production d'énergie et de charbons de bois. A l'Unité de Chimie Macromoléculaire du Laboratoire de Chimie Inorganique Appliquée de l'Université de Yaoundé 1, des travaux sur l'utilisation des déchets pour la production des charbons actifs pour l'élimination des effluents organiques et inorganiques dans les eaux usées ont été initiés, ainsi que des travaux sur des composites bois-ciment (Abuiboto *et al.*, 2013 ; Cheumani 2009).

Les bois tropicaux présentent en général un pourcentage élevé d'extractibles dans leurs structures, ce qui renforce particulièrement leur intérêt dans une optique de valorisation. Les molécules extraites peuvent être utilisées comme colorants naturels, substances antiseptiques, antioxydants, agent de protection du bois (Mburu *et al.*, 2007) et des principes actifs pour la médecine, la parfumerie et la pharmacie. Par ailleurs, une meilleure connaissance des substances extractibles responsables de la durabilité naturelle des bois camerounais, peut permettre une utilisation optimale du bois. Il est également envisageable d'utiliser ces extractibles pour augmenter la durabilité d'essence naturellement peu durable.

Notre intérêt s'est porté sur cinq espèces de bois allant d'un bois non durable au bois très durables. Il s'agit de l'ayous, du moabi, du movingui, du padouk et du tali. Ces essences, en dehors de l'ayous, possèderaient des grandes quantités d'extractibles, et présentent une bonne durabilité naturelle face à l'attaque des agents d'altérations du bois selon le Centre Technique Forestier Tropical (C.T.F.T., 1976, 1978, 1977).

Ce travail a pour objectifs :

- de quantifier et caractériser la nature des substances extractibles présentes dans les connexes de cinq essences utilisées de la filière bois au Cameroun.



- d'étudier l'effet antifongique des extractibles vis-à-vis des champignons afin de mieux comprendre les raisons de la durabilité naturelle de ces essences.
- de mesurer les propriétés antioxydantes, antibactériennes de ces extractibles et leur aptitude à teindre des fibres naturelles et artificielles.

L'objectif général de ce travail est de donner une valeur ajoutée aux résidus des bois camerounais par la valorisation des extractibles qui s'y trouvent.

La thèse est subdivisée en cinq parties :

- le premier chapitre qui est essentiellement bibliographique est consacré aux rappels sur le matériau bois, les antioxydants, anti radicalaires, les agents d'altérations du bois, les applications des extractibles et une description de chaque essence étudiée.
- le deuxième se rapporte à la partie expérimentale
- le troisième chapitre dans lequel sont présentés les résultats de l'extraction des bois, de la quantification des extractibles et de la caractérisation de ces derniers par différentes méthodes chromatographiques.
- le quatrième chapitre qui présente les résultats des pertes de masse des éprouvettes des différentes essences et l'effet des extractibles sur la croissance du mycélium de deux champignons de pourritures blanches et deux champignons de pourritures brunes
- le cinquième chapitre qui présente les résultats de la valorisation des extractibles comme antioxydants, anti radicalaire, antibactériens et comme substance pour teindre une fibre naturelle et deux fibres artificielles.

## CHAPITRE 1

### REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

#### 1.1. Rappels sur le matériau bois

##### 1.1.1. Structure et anatomie du bois

Le bois est un matériau cellulaire, hygroscopique, anisotrope et compact, plus ou moins dure qui compose le tronc, les branches, les racines des arbres et des arbrisseaux. Sa composition chimique, ses propriétés physiques et mécaniques varient avec l'espèce, à l'intérieur d'une même espèce, en fonction de l'origine géographique et la position dans l'arbre (Mounguengui, 2008). C'est un matériau biodégradable constitué de carbone, hydrogène, oxygène et azote (Nguila *et al.*, 2006). Le bois est subdivisé en deux grandes catégories : les gymnospermes, plus communément appelés conifères et les angiospermes qui correspondent aux feuillus. Chacune de ces classes renferme des milliers d'espèces différentes. Le bois est constitué majoritairement de trois polymères : la cellulose, les hémicelluloses et des lignines. A côté de ces trois polymères majeurs se trouvent également des substances organiques de faibles poids moléculaires appelées substances extractibles ou métabolites secondaires et des substances inorganiques correspondant aux cendres obtenus après combustion du bois (Mounguengui, 2008). La proportion relative de ces constituants varie d'une essence à l'autre et à l'intérieur d'une même essence. Ces constituants ne sont pas distribués uniformément dans le bois et leurs taux varient en fonction de la partie de l'arbre étudié. Les essences tropicales contiennent approximativement 85 à 90% des trois polymères du fait de la présence de taux élevés des substances extractibles alors que les essences tempérées contiennent aux alentours de 90 à 97% de ces polymères (Mounguengui, 2008). En général le taux de cellulose varie de 40 à 45% chez les feuillus et résineux ; celui des hémicelluloses de 25 à 30% chez les résineux et de 30 à 35% chez les feuillus ; le taux de lignine varie de 25 à 30% chez les résineux et de 15 à 25% chez les feuillus. Les substances extractibles représentent environ 2 à 5% de la composition des bois de résineux, 3 à 8% des bois de feuillus de zones tempérées et jusqu'à 18 à 22% des bois tropicaux (Huang *et al.*, 2009). Ces substances extractibles sont constituées de cires, de graisses, de terpènes et terpénoïdes, d'acides gras, de monosaccharides et des composés phénoliques se divisant en plusieurs catégories : les phénols simples, les lignanes, les flavonoïdes et les tanins. La matière minérale quant à elle dépasse rarement les 1% chez les essences de zones tempérées et peu atteindre des taux allant jusqu'à 2% chez les bois tropicaux (Fengel et Wegener, 1984 cité par Mounguengui, 2008).

L'examen d'une section d'une bille montre de l'extérieur vers l'intérieur les parties suivantes : l'écorce interne, le liber, le cambium, l'aubier et le duramen comme l'indique la figure 1. Dans certaines espèces l'aubier et le duramen qui constituent le bois proprement dit sont indiscernables. C'est le cas de certains bois tropicaux.

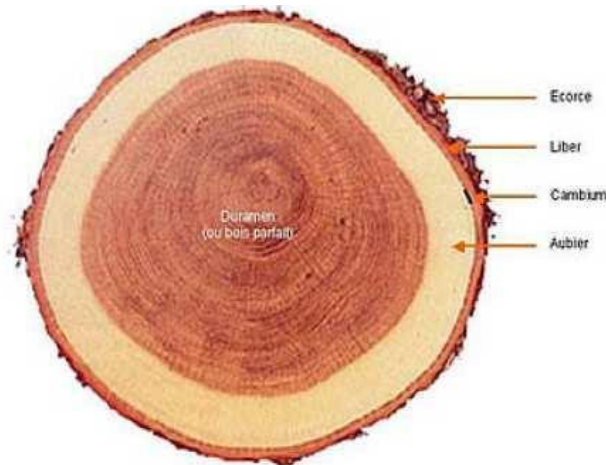


Figure 1 : Schéma d'une essence de bois à bois parfait distinct (Triboulot, 2007)

Selon l'origine (zone tempérée ou tropicale) et la nature de l'essence (feuillus ou résineux), la structure anatomique du bois peut être plus ou moins complexe. Il est possible d'utiliser les critères anatomiques pour classer et identifier les bois. Nous noterons que le bois des feuillus présente une anatomie plus complexe que celle des résineux.

## 1.1.2. Composition chimique

### 1.1.2.1. Cellulose

La cellulose est l'homopolymère naturel se trouvant en plus grande quantité sur la terre. Elle constitue principalement la paroi cellulaire de nombreux végétaux avec une teneur variant de 17 à 99%. Le tableau 1 rapporte le taux de cellulose de quelques végétaux.

Tableau 1 : Taux de cellulose de quelques végétaux (Sjöström, 1993 ; Roggenstein, 2011)

Espèce végétale	Taux de cellulose (%)
Bois	40 – 45
Coton	95 – 99
Lin	70 – 75
Bambou	46 – 58
Maïs	17 - 20

La cellulose est un polymère linéaire constitué d'unité cellobiose correspondant à deux unités de  $\beta$ -D-glucopyranoses (glucoses) reliées entre elle par une liaison glycoside  $\beta$ ,1-4.

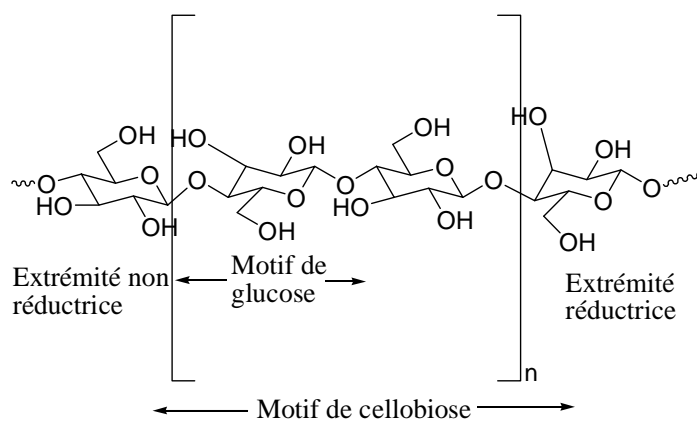


Figure 2 : Schéma de la structure de la cellulose

En fonction de l'origine de la cellulose le degré de polymérisation moyen varie de 7000 et 15000 unités de glucose. Les macromolécules de celluloses, ayant des groupements hydroxyles libres, peuvent former des liaisons hydrogènes intramoléculaires ou intermoléculaires. Elles peuvent ainsi former des microfibrilles de taille variable présentant des zones fortement ordonnées (zone cristalline) ou moins (zone amorphe). Les fibres de cellulose sont biodégradables, recyclables et considérées comme naturelles. Elles sont une matière première pour l'industrie papetière.

### 1.1.2.2. Hémicelluloses

Les hémicelluloses sont des hétéropolysaccharides ramifiés et amorphes constitués de sucres incluant des hexoses tels que le glucose, le galactose et le mannose, des pentoses tels que le xylose et l'arabinose et des acides uroniques. Elles présentent une grande diversité structurale. Les macromolécules d'hémicelluloses ont un degré de polymérisation inférieur aux macromolécules de cellulose : 100 à 200 unités osidiques pour les xylanes des feuillus par exemple. Les hémicelluloses des résineux sont différentes de celles des feuillus. Les hémicelluloses des feuillus des zones tempérées sont constituées principalement de glucuronoxylanes (15 à 30%).

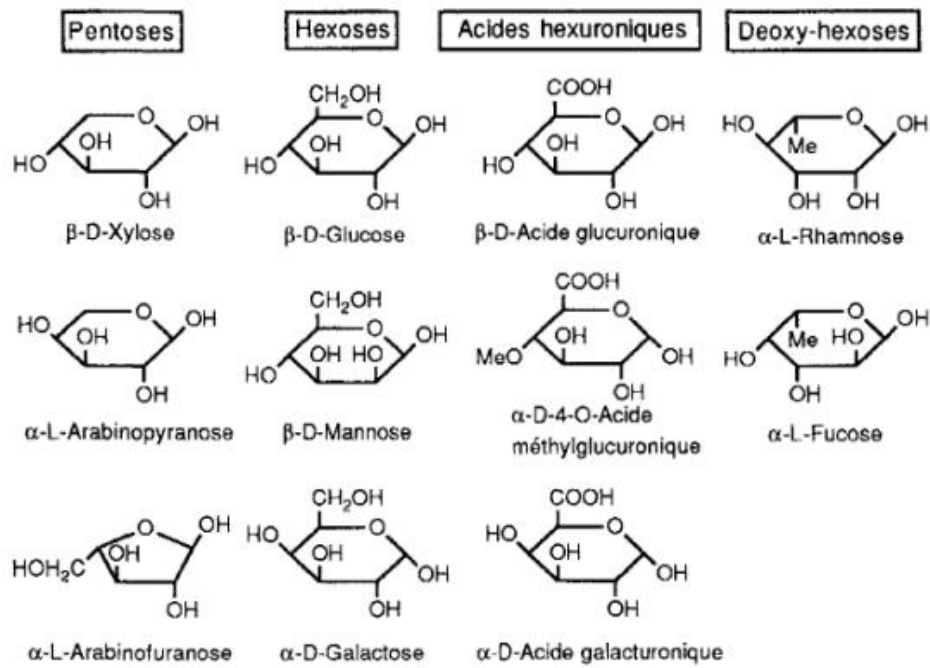


Figure 3 : Différents sucres constituant les hémicelluloses

### 1.1.2.3. Lignine

La lignine est un copolymère amorphe constituée d'unités de phényle-propane. Elle est le deuxième biopolymère renouvelable après la cellulose. La lignine est constituée d'une structure très complexe comme l'indique la figure 4 ci-dessous.

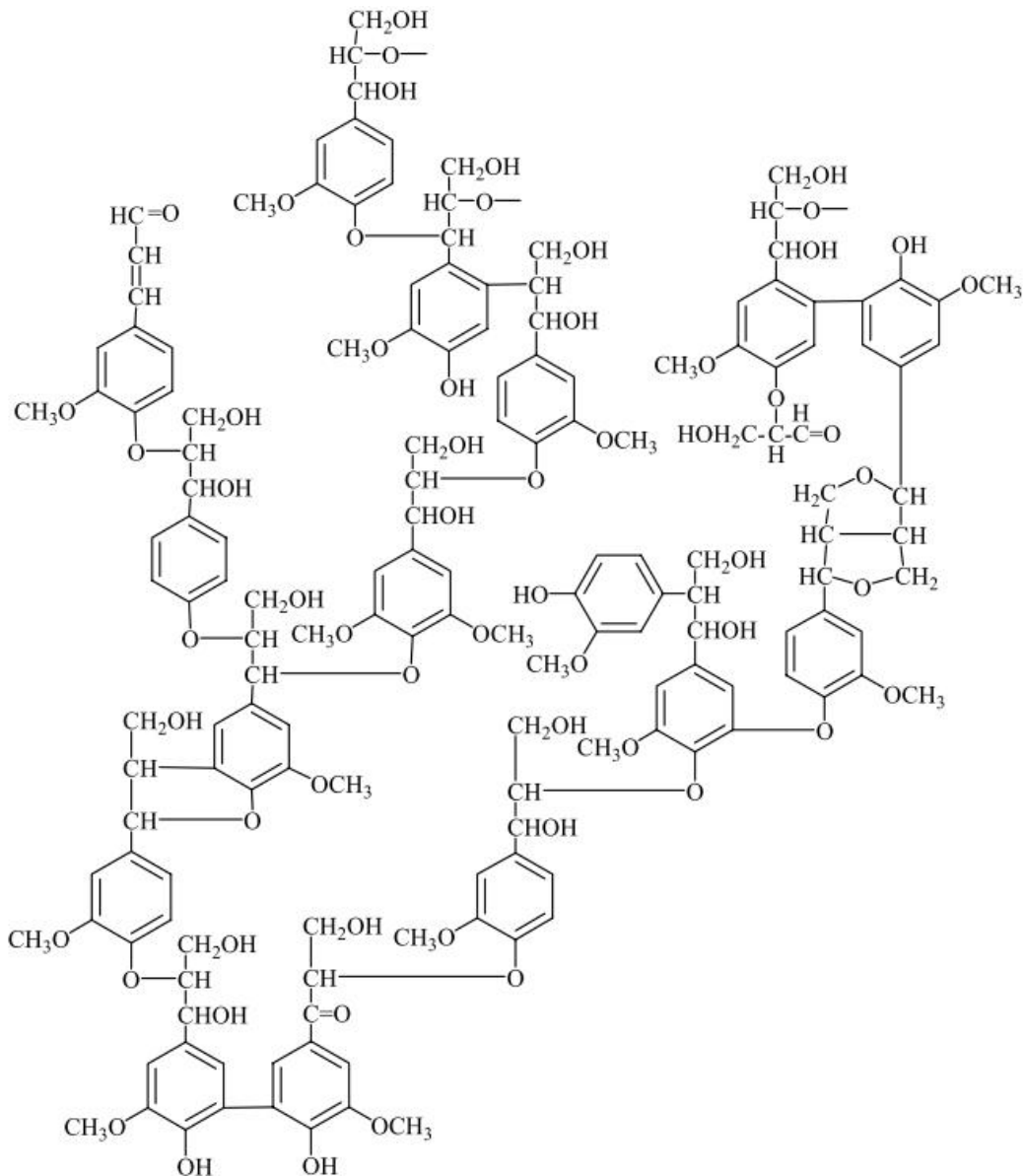


Figure 4 : Modèle de structure de la lignine d'épicéa proposé par Alder (1977) cité par Stevanovic et Perrin (2009)

Elle est présente dans les plantes vasculaires, ligneuses, herbacées et dans quelques algues (Martone *et al.*, 2009). Les principales fonctions de la lignine sont d'apporter la rigidité, une résistance à l'eau et une résistance à l'attaque des agents d'altération du bois. La teneur en lignine varie de 3 à 5% dans les feuilles, 5 à 20% dans les tiges herbacées et 15 à 35% dans les tiges ligneuses. Elle est synthétisée au niveau de la paroi cellulaire à partir de trois alcools : p-coumarylique, coniférylique et sinapylique.

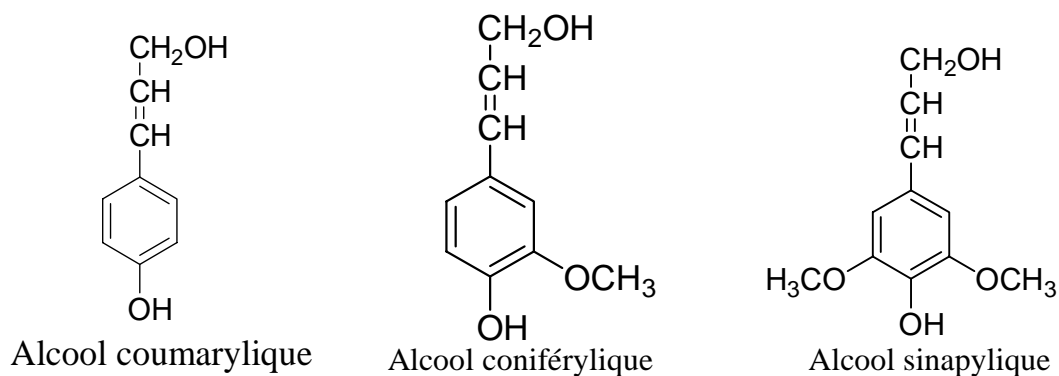


Figure 5 : Les monomères précurseurs de la lignine

Au niveau moléculaire, la lignine des résineux est différente de celle des feuillus. Dans les feuillus, le noyau aromatique des lignines comporte un ou deux groupements méthoxy, elle est dite guaiçyle ou syringyle alors que chez les résineux, elle ne comporte qu'un seul groupement méthoxy et dite guaiacyle (dérivé de l'alcool coniférylique). Certains feuillus contiennent les trois monomères précurseurs de la lignine.

#### 1.1.2.4. Extractibles

Les substances extractibles sont des molécules de faible poids moléculaire se trouvant dans la structure poreuse du bois. On les appelle extractibles parce qu'elles sont solubles dans les différents solvants organiques usuels (hexane, dichlorométhane, acétone, toluène/éthanol, méthanol ...) ou dans l'eau, et peuvent en conséquence être extraites du bois. Les extractibles sont constitués en grande partie de métabolites secondaires, c'est-à-dire des composés qui ne sont pas indispensables à la croissance de l'arbre. Ces molécules peuvent être lipophiles ou hydrophiles. La teneur et la composition des extractibles varient en fonction de l'essence, de la partie de l'arbre étudiée, de l'âge, du site géographique, de la saison de récolte et du temps d'entreposage. Les extractibles sont responsables de certaines caractéristiques des bois telles que la couleur, l'odeur, la durabilité naturelle (résistance aux agents de dégradation biologique), les propriétés acoustiques et influencent certains procédés de transformation (collage, finition, mise en pâte) (Gierlinger *et al.*, 2004 ; Krutul, 1992 ; Aloui *et al.*, 2004). Ces substances peuvent être extraites par différentes méthodes telles que l'extraction à chaud à l'aide d'un Soxhlet ou d'un système accéléré d'extraction Dionex, la macération, la distillation à la vapeur. Ces composés sont très variés et peuvent se diviser en trois grandes catégories en fonctions de leur structure.

### 1.1.2.4.1. Terpènes et terpénoïdes

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par couplage d'unités isoprènes en C<sub>5</sub> (Figure 6: isoprène).

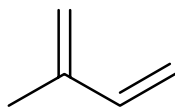


Figure 6 : Isoprène

Les terpènes peuvent être classés en fonction du nombre d'unités d'isoprène. On distingue ainsi en fonction du nombre d'unité C<sub>5</sub> des monoterpènes C<sub>10</sub> constitués de deux unités C<sub>5</sub>. Des sesquiterpènes C<sub>15</sub> constitués de trois unités C<sub>5</sub> parmi lesquelles les huiles essentielles. Des diterpènes C<sub>20</sub> constitués de quatre unités C<sub>5</sub> dont les acides constituent majoritairement les résines et bien d'autres classes. Les terpénoïdes quant à eux sont des terpènes ayant un groupement fonctionnel qui peut être : soit un alcool, un éther, une cétone, un acide carboxylique.... Ces composés ont des propriétés fongicides et insecticides (Sirmah, 2009). Comme exemples de terpènes et terpénoïdes isolés des bois on a :

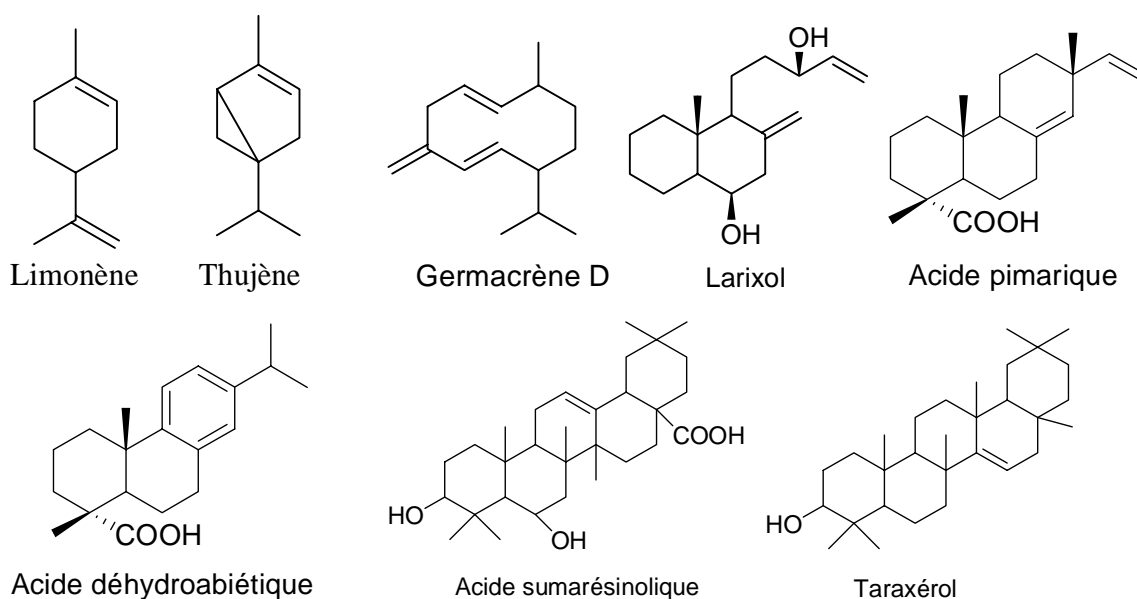


Figure 7 : Schéma des structures de terpènes et terpénoïdes extraites du bois (Mellouk, 2007)

### 1.1.2.4.2. Cires et Graisses

Les cires peuvent être définies comme des esters d'alcool gras et d'acides gras. Les graisses quant à elles sont constituées de glycérides (esters d'acides gras et de glycérol) voir figure 8 ci-dessous.



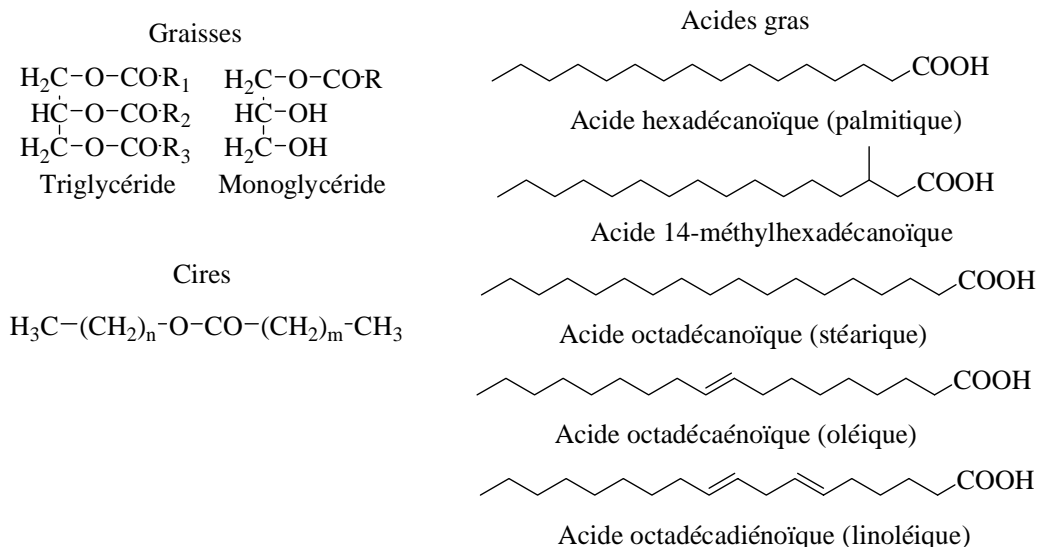


Figure 8 : Graisses et cires isolés du bois

Il existe des mono, di ou triglycérides dans les extractibles de bois. Les graisses et les cires quant à eux peuvent influencer le procédé de fabrication de la pâte à papier et la mouillabilité du bois (Coelho et al., 2007).

#### 1.1.2.4.3. Composés phénoliques

Ceux-ci sont constitués d'un grand nombre de molécules possédant un ou plusieurs noyaux aromatiques et portant un ou plusieurs groupements hydroxyles. On identifie à l'heure actuelle plus de 8000 molécules qui ont été isolées et identifiées. Les composés phénoliques naturels regroupent plusieurs familles de composés selon leur squelette de base. On peut distinguer : les phénols simples, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les quinones, les stilbènes, les lignanes, les tanins...

##### ➤ Phénols simples

Le bois contient des phénols simples dont le squelette correspond à une structure C6-C3 ou C6-C1 correspondent aux unités phénylpropane présentes dans les différents précurseurs de la lignine. L'unité C6-C1 correspondant à la forme oxydée des dérivés de la lignine. Le phénol simple le plus connu est l'acide salicylique (acide 2-hydroxybenzoïque) qui a été isolé du saule. Dans certains cas, les phénols simples sont présents dans le bois sous forme combinée avec d'autres molécules comme les sucres. La figure 9 rassemble différents phénols simples isolés du bois.

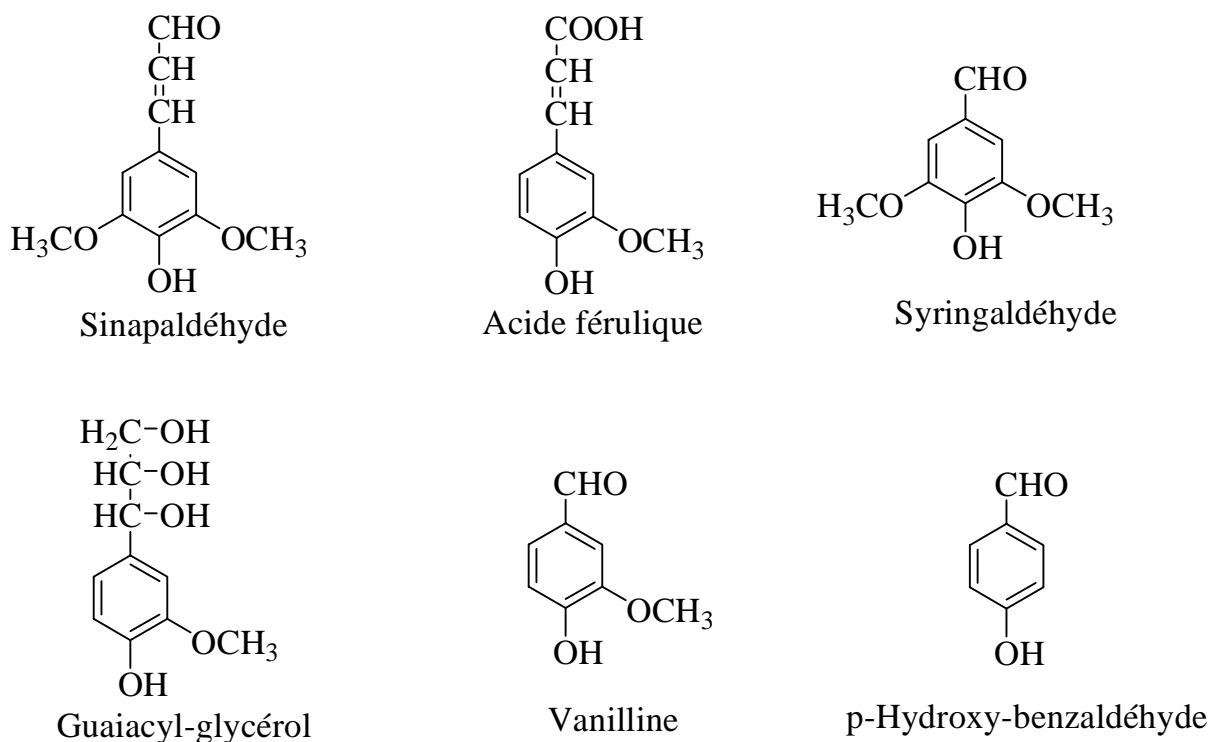


Figure 9 : Quelques phénols simples isolés du bois

➤ Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires produits naturellement dans toutes les plantes. Il existe plusieurs familles de flavonoïdes présentant un squelette de base différent et dont la structure de base générale est formée par deux cycles aromatiques reliés en eux par trois carbones (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). On distingue ainsi les flavane-3-ols, les flavanones, les flavones, les isoflavones, les chalcones, les aurones, les flavane-3,4-diols, les anthocyanidins, les isoflavanoïdes et les néoflavanoïdes. Nous avons décrit quelques classes de flavonoïdes sur la figure 10 ci-dessous. Les principales familles rencontrées dans le bois sont les flavane-3-ols, les flavanones, les flavones, les isoflavones, les chalcones, les flavanonols.

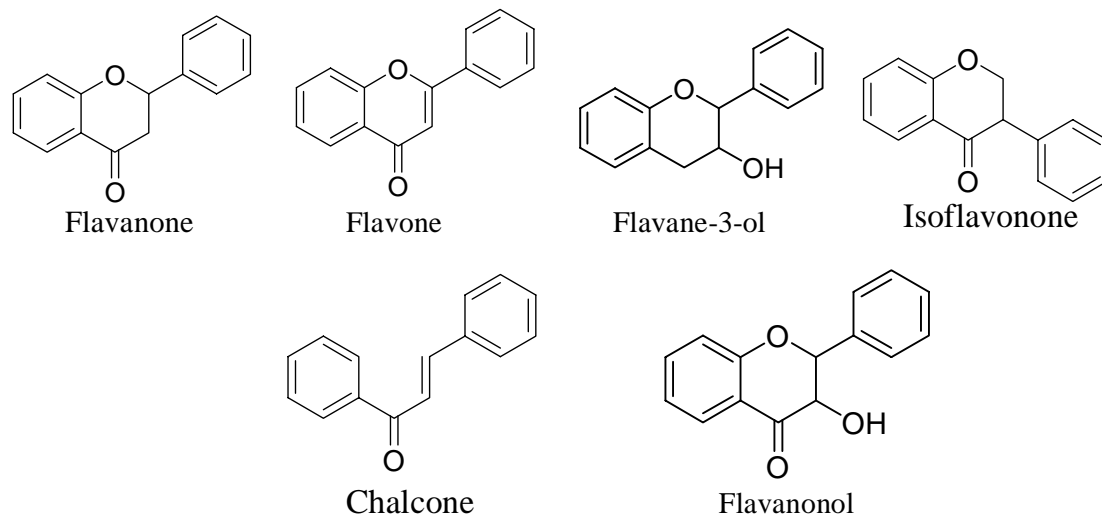


Figure 10 : Différentes familles de flavonoïdes rencontrées dans le bois

Ces composés servent de protection contre les radiations ultraviolet, les pathogènes, les herbivores (Harbone and Williams, 2000) et donnent aussi la coloration de certaines fleurs et fruits ainsi que du bois. Les flavonoïdes sont de très bons antioxydants et jouent un rôle important dans la durabilité naturelle du bois. De nombreux chercheurs ont montré que la durabilité naturelle de certains bois est due à la présence de flavonoïdes. C'est le cas de la dihydromorine et de l'aromadendrine qui sont contenus dans les extractibles des essences d'Acacia (Schultz *et al.*, 1995). Sirmah *et al.* en 2009 ont montré que la durabilité naturelle du *Prosopis juliflora* est due à la présence du (-) mesquitol. Les structures de ces composés sont présentées à la figure 11.

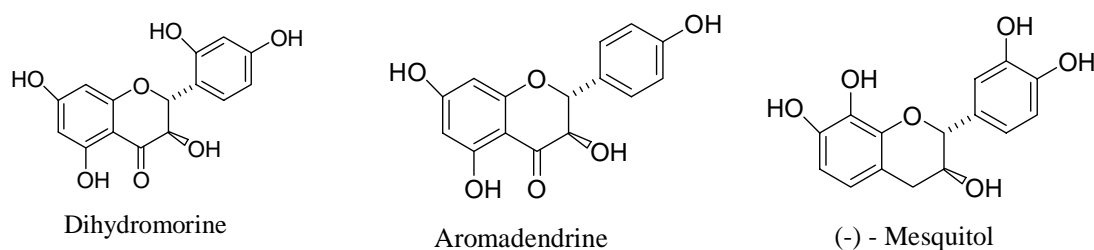


Figure 11 : Structure de la dihydromorine, de l'aromadendrine et du (-) mesquitol

D'autres flavonoïdes appartenant à la famille des Pterocarpanes présentent une activité anti-appétante. Certains flavonoïdes tels que la naringénine et le tamoxifène sont connus pour leurs activités antivirales, antibactériennes, anti-tumorales, anti-allergiques, anti-inflammatoires, vasculo-protectrice et anti-cancérogène (Arima *et al.*, 2002). D'autres flavonoïdes tels que le 3,4,7,8-tetrahydroxyflavanone et le 4,7,8-trihydroxyflavanone ont des propriétés antifongiques, antibactériennes et antitermites.

Les flavonoïdes sont des composés qui sont responsables de la coloration des bois. La couleur caractéristique de certains bois tels que *Pterocarpus santalin*, *Pterocarpus indicus*, ou *Pterocarpus soyauxii* est due à certains flavonoïdes. Les molécules de la famille des santalines confèrent la couleur rouge ou jaune du bois. Elles sont très utilisées dans l'industrie du textile comme colorants (Cardon and Jansen, 2005). La couleur rouge peut être attribuée aux santalines A et B et la couleur jaune aux santalines Y et AC dont les formules sont représentées à la figure 12 ci-dessous (Kinjo *et al.*, 1995).

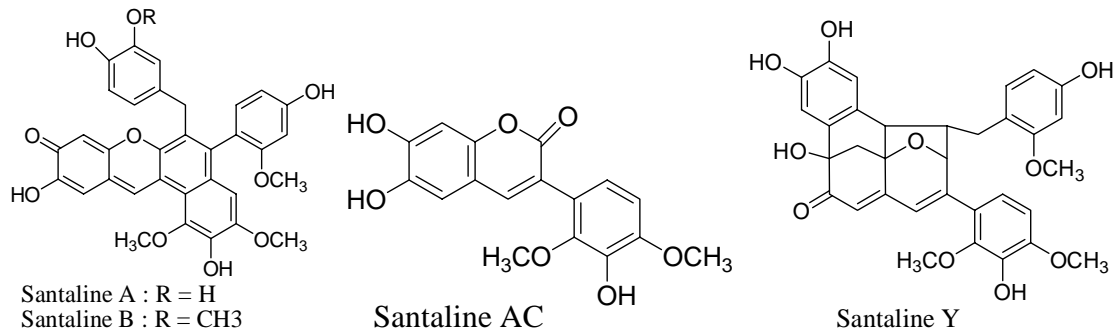


Figure 12 : Structures des santalines A, B, Y et AC

En dehors de conférer la couleur et la durabilité naturelle, les flavonoïdes peuvent être utilisés comme une source importante d'antioxydants (Harborne and Williams, 2000 ; Peitta, 2000). On les retrouve naturellement dans les fruits et les légumes que nous consommons. On peut également les retrouver dans de nombreuses boissons telles que : le lait de soja, le thé vert, le pamplemousse, les tomates... Les flavonoïdes sont aussi utilisés en cosmétique et empêchent l'oxydation des cellules et la libération des radicaux libres responsables de l'altération des cellules causant le vieillissement de celles-ci.

#### ➤ Quinones

On distingue plusieurs types de quinones (benzoquinones, naphthoquinones et anthraquinones) pouvant se trouver dans les plantes (Sirmah, 2009). La figure 13 ci-dessous présente différents types de quinones rencontrées dans le bois de teck.

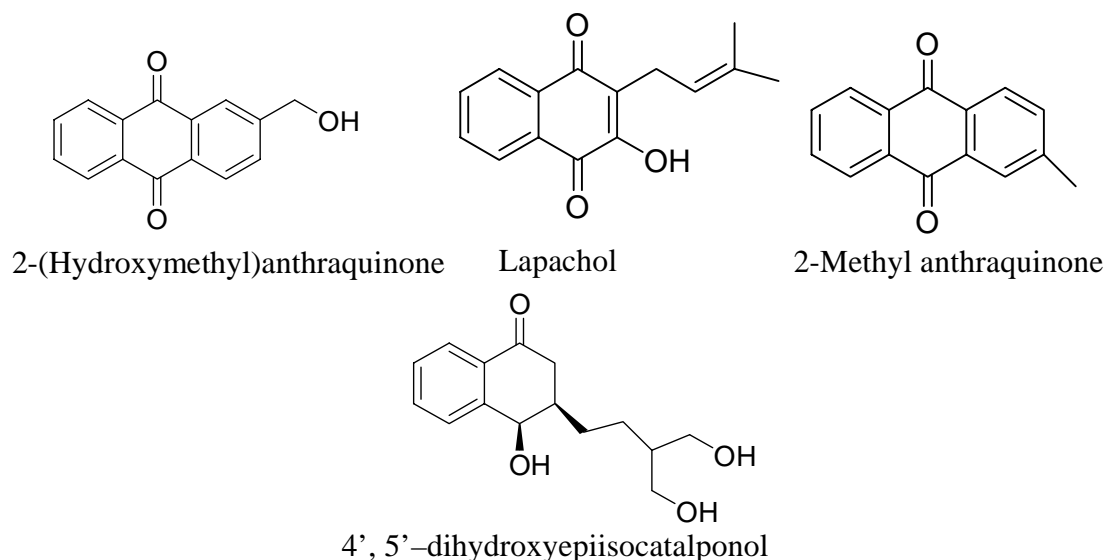


Figure 13 : Quinones extraites du bois de teck

Les quinones ont différentes activités biologiques. La 4', 5'-dihydroxyepiisocatalponol joue un rôle important dans la durabilité naturelle du bois de teck contre l'attaque des champignons (Niamké *et al.*, 2012). Niamké *et al.* (2012) ont montré que ce composé était un fongicide capable d'inhiber la croissance de *Trametes versicolor*. La tectoquinone isolé du bois de cœur du teck, le catalponol et la catalponone isolés du bois de cœur de *Catalpa bignonioides* (Bignoniaceae) présentent des activités antitermicides (Kokutse *et al.*, 2006 ; Castillo and Rossini, 2010). La 7-méthyljuglone et ses dérivés isolés du bois de cœur de *Diospyros virginiana L.* (Ebenaceae) présente également des activités termiticides.

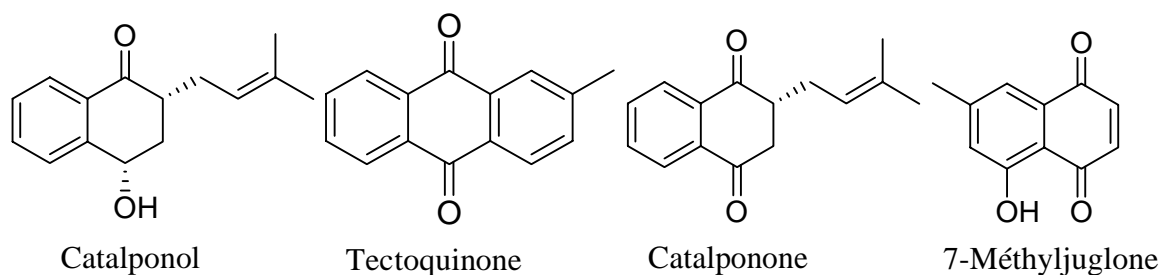


Figure 14 : Quelques composés quinoniques isolés responsables de la durabilité des bois

#### ➤ Stilbènes

Les stilbènes sont des composés ayant une structure 1,2-diphényléthène et constitués d'un squelette C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>. Ils possèdent ainsi deux cycles benzéniques reliés par deux carbones eux même unis par une double liaison. Il existe deux isomères du 1,2-diphényléthylène à savoir le *trans*-stilbène et le *cis*-stilbène (figure 15).



Figure 15 : Isomère du 1,2-diphényléthylène

La toxicité des stilbènes varie en fonction de leurs structures, mais également en fonction de la souche bactérienne ou fongique étudiée (Venalainen *et al.*, 2004 ; Lee *et al.*, 2005). Les *trans*-stilbènes jouent un rôle important dans la durabilité du bois de cœur contre l'attaque des champignons. La durabilité naturelle du bois de *Pinus sylvestris* (Pinaceae) contre les pourritures est due à la présence de pinosylvines dans ces extractibles. Le 2,4,3',5'-tetrahydroxystilbene et le 2,4,5,3',5'-pentahydroxystilbene sont responsables de la durabilité des bois contre les champignons lignivores (Schultz *et al.*, 1995). La pinosylvine, le resvératrol et bien d'autres stilbènes présentent différentes fonctions : ils jouent le rôle de piègeurs de radicaux libres, de biocides et chélateurs de métaux (Sirmah, 2009).

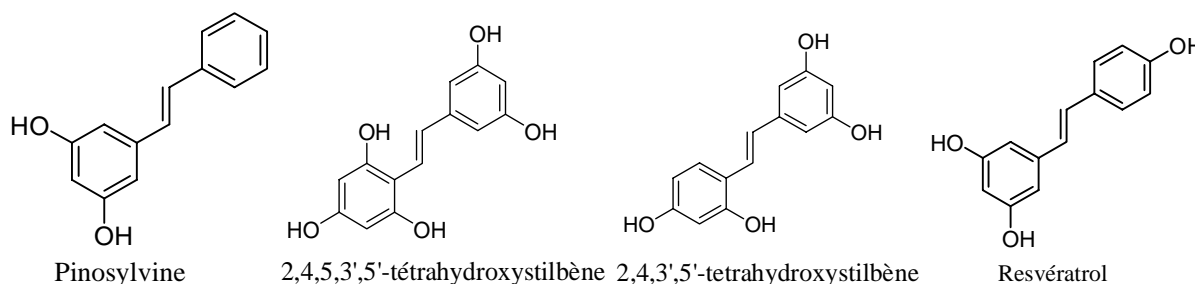


Figure 16 : Structure de quelques stilbènes responsables de la durabilité du bois

Les stilbènes sont aussi utilisés en pharmacologie. Le resvératrol a des propriétés anticancéreuses, cardioprotectrices, antioxydantes et anti-inflammatoires (Qiang and Liang-Yi, 2012 ; Das Manika and Das K. Dipak, 2010).

#### ➤ Lignanes

Les lignanes sont des composés phénylpropanes se trouvant dans de nombreuses plantes et bois (résineux et feuillus). Ils résultent du couplage oxydatif des unités phénylpropane impliqués dans la biosynthèse de la lignine. La figure 17 décrit les structures de quelques lignanes extraits des résineux et feuillus.

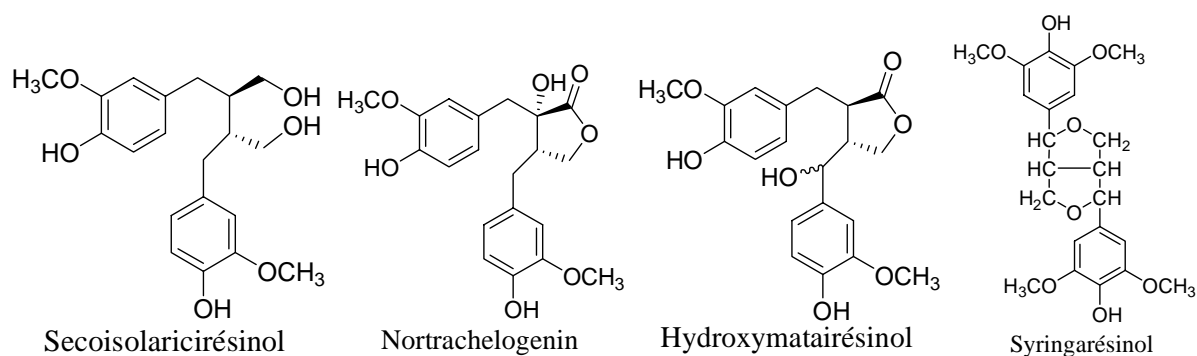


Figure 17 : Structure de quelques lignanes extraits des feuillus et résineux

Les lignanes sont intermédiaires dans la biosynthèse de la lignine et peuvent exister sous forme de di-, tri-, tétra- ou penta-lignanes. Ces molécules peuvent se trouver en quantités abondantes dans les nœuds des bois (Kebbi-Benkeder *et al.*, 2014 ; Holmbom *et al.*, 2003 ; Smeds *et al.*, 2013). Certains lignanes ont montrés une toxicité vis-à-vis des agents destructeurs du bois et sont très difficiles à décomposer. Ils peuvent présenter des activités antifongiques contre les champignons (Pandey and Pitman, 2004), comme dans le cas de différentes structures identifiées de l'écorce de l'essence d'*Obvata*. En dehors de ces propriétés, les lignanes possèdent aussi des activités biologiques antitumorales (matairesinol, podophyllotoxine et steganacine), antimitotiques (podophyllotoxine), antioxydantes (acide nordihydroguaiarétique et sesaminol) et antiviral (podophyllotoxine) (Sirmah, 2009).

#### ➤ Tanins

Les tanins sont des substances phénoliques capables de précipiter les alcaloïdes, la gélatine, certaines protéines et donnent une coloration verte ou bleue en présence du chlorure de fer. Ils possèdent un poids moléculaires compris entre 500 et 20000 Daltons. Ils se trouvent dans presque toutes les parties des végétaux (écorce, racines, feuilles, fruits, bois ...). Généralement les tanins se subdivisent en deux classes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

#### ✓ Tanins hydrolysables

Les tannins hydrolysables, sont constitués d'esters d'acide gallique et de ses dimères (l'acide ellagique, l'acide digallique), et de monosaccharides principalement le glucose. Ils s'hydrolysent facilement. L'hydrolyse des gallotanins conduit à de l'acide gallique et celle des ellagitanins conduit à l'acide éllagique. La figure 18 donne quelques exemples de tanins hydrolysables.

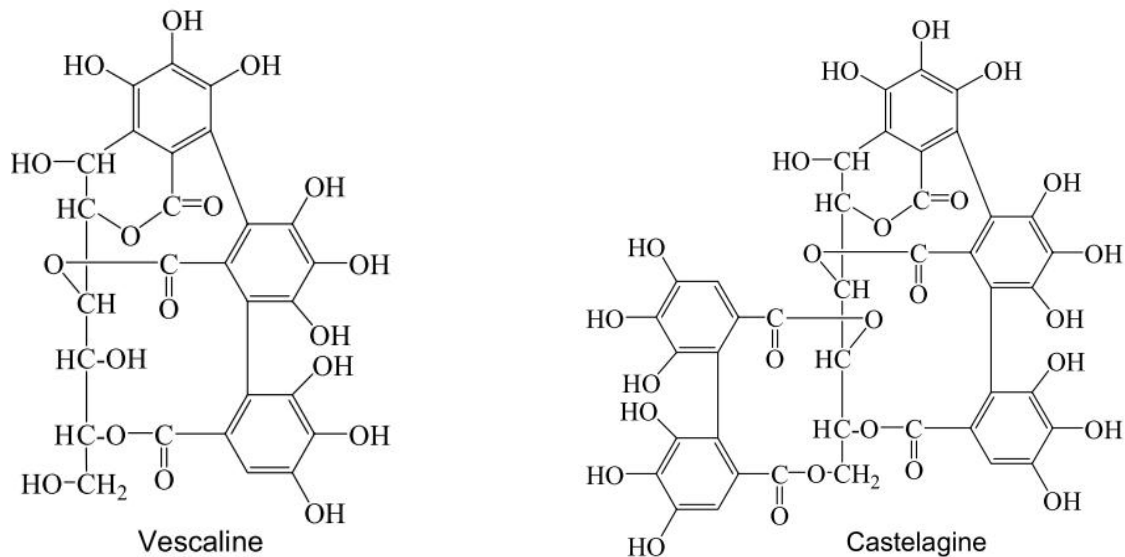


Figure 18 : Structures de quelques tanins hydrolysables

✓ Tanins condensés

Les tanins condensés sont probablement les composés phénoliques les plus répandus dans les plantes. Ils sont présents dans les écorces et le bois de cœur. Ce sont des oligomères d'unité de flavanoïdes (flavan-3-ol) liés par des liaisons carbone-carbone assez résistantes à l'hydrolyse (Sirmah 2009). Les tanins condensés ont été utilisés pour produire des adhésifs pour les matériaux tels que les panneaux de particules et contreplaqué. Des formulations pour la préservation du bois à base des tanins ont été proposées par Thévenon *et al.* (2001). Ils peuvent aussi jouer le rôle de protection de l'arbre contre les agents d'altérations, antifongiques contre les champignons et d'antioxydants. Sur la figure 19 ci-dessous sont représentées les structures de quelques tanins condensés.

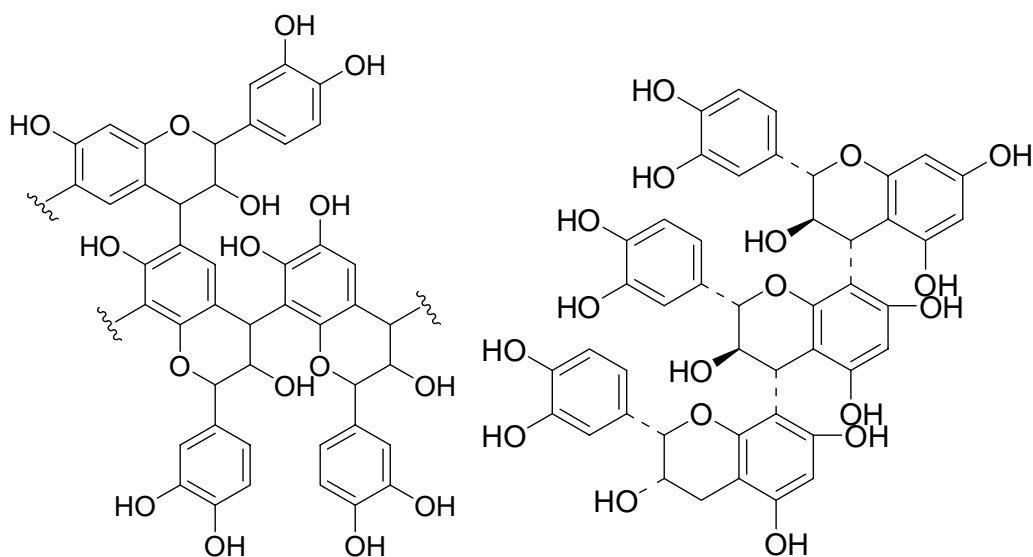


Figure 19 : Structure des tanins condensés



### 1.1.2.5. Substances minérales

Le bois contient en très faible quantité différents éléments minéraux tels que le calcium, le potassium, le magnésium, et du chlore et d'autres éléments se trouvent sous forme de traces tels que le manganèse, le sodium, le phosphore. Ces éléments constituent les cendres (résidus de combustion du bois). Leurs concentrations varient en fonction de type de bois étudié.

### 1.2. Durabilité naturelle

En tant que biomatériau, le bois est susceptible d'être altéré par des agents de dégradation abiotiques et biotiques tels que les bactéries, les champignons lignivores et les insectes. On définit la durabilité naturelle du bois comme sa capacité à résister à l'attaque des agents d'altérations sans aucun traitement de préservation (chimique ou thermique) (NF X 40 002, 1983).

Pour évaluer la durabilité naturelle, on peut faire des essais en champ (bois au contact du sol). Cette méthode présente l'avantage de restituer les conditions d'usage auxquelles peut être soumis le bois dans son environnement. L'inconvénient de cette méthode est que les essais durent très longtemps ; les résultats ne pouvant pas être obtenus en moins de cinq années. Pour pallier à ce problème, il existe des essais en laboratoires basés sur des pertes de masses face à l'attaque des différents agents d'altération du bois. Dans ce cas, les résultats sont obtenus assez rapidement (seize semaines pour les champignons lignivores et huit semaines pour les termites) (EN 350-1, 1994). Le tableau 2 présente les différentes classes de durabilité en fonction des pertes de masse.

Tableau 2 : Classes de durabilité naturelle du bois vis-à-vis des champignons lignivores d'après les pertes de masse relative et absolue (norme EN 350-1, 1994)

Classe de durabilité naturelle	Descriptif	Pertes de masse absolue $x$ (%)	Perte de masse relative ( $x_r$ )
1	Très durable	$x \leq 5$	$x_r \leq 0,15$
2	Durable	$5 < x \leq 10$	$0,15 < x_r \leq 0,30$
3	Moyennement durable	$10 < x \leq 15$	$0,30 < x_r \leq 0,60$
4	Peu durable	$15 < x \leq 30$	$0,60 < x_r \leq 0,90$
5	Non durable	$x > 30$	$x_r > 0,90$

avec la perte de masse  $x$  (%) donnée par  $x = \frac{m_0 - m_2}{m_0} \times 100$ , et  $x_r$  le rapport de la perte de

masse de l'échantillon d'essai / la perte de masse de l'échantillon témoin.

où  $m_0$  est la masse initiale de l'échantillon séché à 103°C, et  $m_2$  la masse de l'échantillon séché à 103°C après exposition aux champignons.

Les extractibles contribuent à la protection du bois contre des agents d'altérations. La relation entre la durabilité naturelle et les extractibles a été mise en évidence pour la première fois par Hawley *et al.* en 1924 (Nascimento *et al.*, 2013). Plusieurs auteurs ont montré que la durabilité naturelle d'un bois est liée aux types d'extractibles qu'il contient (Taylor *et al.*, 2006 ; Santana *et al.*, 2010). Des études *in vitro* ont montré en effet qu'après extraction des molécules de faible masse moléculaire, les bois durables étaient plus facilement dégradés par les agents d'altérations (Oliveira *et al.*, 2010 ; Kirker *et al.*, 2013). Le taux d'extractibles et la composition chimique varie selon l'espèce, dans un même arbre et même selon la partie considérée. Certaines essences possèdent des extractibles qui inhibent la croissance des agents d'altérations du bois (bactéries, termites et champignons) (Maranhão *et al.*, 2013). Le bois de cœur, plus riche en extractibles que l'aubier et est en général plus résistant aux agents d'altération du bois. Les composés montrant une activité antifongique et termicide sont le plus souvent des composés phénoliques tels que les flavonoïdes, stilbènes, quinones et tanins. Certains terpènes comme les acides résiniques ou les tropolones présentent des propriétés biocides (Haluk et Roussel, 2000). Plusieurs composés ont été identifiés dans le bois de cœur et ont montré des propriétés intéressantes contre les agents d'altérations du bois. La durabilité naturelle du bois de cœur d'*Acacia auriculiformis* a été attribuée à la présence de la dihydromorine, de l'oxyresveratrol et de l'aromadendrine contenus dans les extraits (Schultz *et al.*, 1995). Le bois de teck contient de grandes quantités de quinones à l'origine de la durabilité naturelle de ce bois. L'extrait de cette essence inhibe la croissance du *Trametes versicolor* (champignons de pourriture blanche) à la concentration de 58 mg/mL (Niamké *et al.*, 2012). Le 2, 4, 3', 5'-tetrahydroxystilbene et le 2, 4, 5, 3', 5'-pentahydroxystilbene sont les composés responsables de la durabilité naturelle du pin sylvestre (*Pinus sylvestris*) face à l'attaque des champignons de pourritures blanche et brune (Schultz *et al.*, 1995).

### **1.2.1. Agents biologiques d'altération du bois**

Le bois est un matériau susceptible d'être attaqué par des différents microorganismes car il est constitué de matières organiques telles que la cellulose, l'hémicellulose, la lignine, l'amidon et bien d'autres composés. Les sucres, acides aminés, protéines et amidon présents dans les cellules des végétaux les rendent facilement attaquables par un grand nombre de bactéries, champignons et insectes qui peuvent se nourrir de ces ressources sans pour autant être capable de dégrader le complexe ligno-cellulosique (Mounanga, 2008).

Certains agents pénètrent dans le bois en utilisant l'eau libre contenu dans le lumen du bois, c'est ainsi qu'ils parviennent à coloniser le bois et brisent ainsi les composants structuraux du

bois. Pour mieux altérer le bois, ces agents ont besoin des conditions appropriées telles que la température, l'humidité.

#### **1.2.1.1. Bactéries**

Les bactéries sont de la classe des actinomycètes et sont probablement les premiers colonisateurs du bois. Leur dégradation est très lente, moins destructrice que celle des champignons et se développent dans des conditions très particulières. Elles créent des conditions favorables à l'attaque fongiques en dégradant les polysaccharides (cellulose, hémicellulose, amidon) de la paroi cellulaire après un temps extrêmement long dans les conditions anaérobiques. Elles ont la capacité de dégrader les éléments de préservation du bois. La dégradation se manifeste lorsque le bois est immergé ou conservé en milieu très humide.

#### **1.2.1.2. Champignons**

On distingue ainsi les champignons lignicoles (bleuissement), lignivores (pourritures) et moisissures.

Les champignons lignivores sécrètent des enzymes qui catalysent des réactions dont le résultat est de transformer en composés assimilables par le champignon les principaux constituants du bois (Ericksson *et al.*, 1990). Lors de la dégradation du bois par les champignons lignivores, on peut avoir trois types de pourriture à savoir : pourriture blanche, pourriture brune et pourriture molle (Silva *et al.*, 2007). Les champignons de pourritures brunes attaquent préférentiellement les polysaccharides (cellulose et hémicellulose) en modifiant partiellement la lignine. Parmi tous les agents de dégradation du bois, les champignons de pourriture blanches sont les plus importants, car ils dégradent tous les composés de la paroi cellulaire et sont capables de décomposer totalement la matière ligno-cellulosique. Tous ces champignons ont la capacité de dégrader les extractibles et certains biocides utilisés pour protéger le bois (Schultz and Nicholas, 2000). Les champignons ne peuvent se développer que s'ils rencontrent des conditions qui leurs conviennent. L'humidité est le facteur primordial pour le développement des champignons ; l'humidité minimale à partir de laquelle les champignons sont capables de se développer est comprise entre 30 et 35% en zone tropicale et de 20 à 22% en zone tempérée, pour une température de 20 à 35°C. Ils ont également besoin d'éléments minéraux, d'oxygène, d'un pH compris entre 4,5 et 5,5.

➤ Les champignons lignicoles (champignons de discoloration ou de bleuissement)

Ces champignons appartiennent à la classe des Ascomycètes ou *Fungi imperfecti*. Ils se développent sur le bois fraîchement abattu (grumes et sciages) en colonisant principalement l'aubier. Ils sont capables de s'attaquer aux zones aubieuses du bois mis en œuvre ayant subi une ré-humidification. Le seul dégât causé par ce type de champignons est d'ordre esthétique, car ils assurent leur nutrition grâce aux substances de réserves comme l'amidon contenu dans l'aubier. Ils ne dégradent pas les constituants cellulaires et par conséquent le bois garde toutes ses propriétés mécaniques. La décoloration peut être profonde ou superficielle (Fouquet, 2003). La figure 20 présente un exemple de contamination par un champignon de bleuissement.



Figure 20 : Bleuissement sur bois fraîchement scié (Fouquet, 2003)

➤ Champignons lignivores

Ces champignons causent la dégradation irréversible de toutes les propriétés (physiques, mécaniques et chimiques) du bois. Ils sécrètent des enzymes qui dépolymérisent les composants du bois en composés simples faciles à assimiler. On distingue ainsi plusieurs types de pourritures : blanches ou fibreuses, brunes ou cubiques et molles.

➤ Pourritures blanches

La pourriture blanche est causée par les champignons de la classe des basidiomycètes et ascomycètes (Anke *et al.*, 2006). Ils produisent des enzymes tels que les laccases et peroxydases qui clivent la structure cyclique de la lignine et dégradent les extractibles. Ces champignons dégradent préférentiellement la lignine, la couleur blanchâtre et l'aspect fibreux du bois étant attribués à la cellulose restante. En effet la pourriture blanche ne touche pas seulement la couche S2 (comme dans le cas de l'attaque par la pourriture molle) mais altère aussi séquentiellement les couches S1 et S3. Ils se développent sur des feuillus et parfois sur

des résineux. Certains champignons de pourriture blanche font des associations mutualistes avec des bactéries pour dégrader les extractibles hydrophobes (Dorado *et al.*, 2001). Pour mieux dégrader le bois, ces champignons ont besoin d'une forte humidité et d'une chaleur importante. Les champignons de pourritures blanches dégradent toutes les macromolécules du bois (cellulose, hémicellulose et lignine) de manières sélectives selon le type de champignon. On distinguera ainsi deux types de pourritures blanches :

✓ Pourriture blanche simultanée

Cette pourriture est encore appelée pourriture blanche corrosive. Les champignons responsables de cette pourriture dégradent simultanément la cellulose, l'hémicellulose et la lignine dans les proportions similaires. Au début de l'attaque, le bois devient fragile, ensuite il devient fibreux et rigide (Mbang, 2004).

✓ Pourriture blanche préférentielle

Elle peut être aussi appelée pourriture blanche sélective. Les champignons responsables de cette pourriture dégradent la lignine et les hémicellulose avant d'attaquer la cellulose. Le bois devient mou et fibreux dans le sens de sa longueur (Mbang, 2004).

➤ Les pourritures brunes

La pourriture brune est causée par des champignons de la classe des basidiomycètes. Ces champignons attaquent particulièrement le bois des résineux. C'est la cellulose et les hémicelluloses qui sont attaquées alors que la lignine n'est que partiellement modifiée conduisant souvent à la considérer comme insensible. La dégradation aboutit à la perte des propriétés mécaniques du bois. Après attaque, le bois prend une couleur brune et un délitage cubique comme l'indique la figure 21.



Figure 21 : Pourriture cubique causée par *Anthrodia sp.* (Fouquet, 2003).

La couleur brune du bois est typique à la lignine non dégradée. Pour être attaqué par ce type de champignon, le bois doit avoir une humidité de 30 à 70%.

➤ Pourritures molles

La pourriture molle est causée par les champignons de la classe des deutéromycètes et ascomycètes. Ce type de champignon dégrade les bois qui sont soumis à une humidité élevée. Ils sont capables de dégrader le bois soumis aux conditions extrêmes telles qu'une forte saturation des fibres en eau et une faible teneur en oxygène. Les bois exposés en plein air sont susceptibles de subir une attaque de ces champignons et ceci est d'autant plus accentué pour les bois au contact direct avec le sol (poteaux en bois utilisés pour le transport d'électricité). Cette pourriture se rapproche beaucoup de la pourriture brune car les agents responsables de cette pourriture dégradent la cellulose mais dégradent moins la lignine (Mbang, 2004).

➤ Moisissures

Ce sont les champignons de la classe des ascomycètes, deutéromycètes ou zygomycètes qui colorent la surface du bois. Les moisissures colonisent le bois fraîchement abattu sans causer de dommage important aux cellules du bois. Ceux-ci ne dégradent pas les constituants principaux du bois mais plutôt des substances de réserve telles que l'amidon contenu dans l'aubier.

### **1.2.1.3. Insectes xylophages**

Ils se regroupent en deux grands groupes à savoir : les coléoptères et les isoptères qui sont des termites. Ils consomment la matière ligneuse pour assurer leur développement. On dénombre actuellement plus de 2,5 millions d'insectes décrits. On distingue les insectes de bois frais et de bois sec (Fouquet, 2003).

➤ **Insectes de bois frais**

Ces insectes ne peuvent vivre que dans le bois ayant une humidité supérieure à 35%, leur action s'arrêtant lorsque l'humidité du bois devient inférieure à 35%. Ils se retrouvent sur des arbres sur pied ou fraîchement abattus. Ils creusent de petites galeries pour y séjourner. Ils pondent des larves dans le bois et ces derniers se nourrissent de l'amidon du bois. On peut citer comme insecte de bois frais les lyctus, les platypes et les bostryches.

➤ **Insectes de bois sec**

Indépendamment de ceux décrit au paragraphe précédent, les insectes de bois sec peuvent se développer sur des bois ayant une humidité inférieure à 18%. Ils sont très dangereux pour les bois d'œuvre, car plusieurs générations d'insectes peuvent poursuivre le travail de destruction sur une même pièce de bois. Les insectes de bois sec sont principalement le capricorne de maison, le criocéphale, l'hespérophone, les lyctus, les vrillettes et les termites. Nous décrirons

uniquement les termites car celles-ci causent de nombreux dégâts sur les bois d'œuvre en Afrique et plus particulièrement au Cameroun (Fouquet, 2003).

### ➤ **Termites**

Les termites sont des insectes sociaux qui vivent en colonies dans des conditions bien définies. La taille de la colonie varie d'une centaine à quelques millions d'individus. Ils se développent dans les conditions climatiques telles qu'une forte pluviométrie, une humidité de l'air importante et une température élevée (22 à plus de 30°C). Ces conditions sont réunies en zone tropicale. En 1997, on a recensé environ cinq grandes familles, 285 genres et environ 2753 espèces de termites dans le monde. Ils appartiennent à la classe des isoptères et on peut les classer en trois catégories :

- ✓ Les termites souterrains regroupant les Rhinotermitidae, les Mastotermitidae, les Termitidae qui fondent leurs termitières dans le sol où ils trouvent l'humidité dont ils ont besoin pour vivre. Ils se nourrissent de bois ou des matériaux à base de la cellulose qu'ils trouvent dans des lieux éloignés de leurs termitières.

- ✓ Les termites de bois sec comprenant les Kalotermitidae qui réalisent leur termitière dans le bois sec et s'en nourrissent. Ils se contentent de l'humidité du bois et trouvent les aliments nécessaires pour leur développement dans le bois.

- ✓ Les termites humivores regroupant les Hodotermitidae et les Termopsidae qui se rencontrent dans les bois en décomposition.

Ces termites causent des dommages majeurs dans le bois en utilisant des enzymes pour hydrolyser les composantes celluloses du bois. Les enzymes sécrétées permettent de casser la structure de la cellulose en composés facilement consommables par les termites (Fouquet, 2003).

#### **1.2.1.4. Tarets**

Lorsque le bois est immergé dans l'eau salée, il peut être attaqué par des foreurs marins (tarets ou térébrants marins). Ce sont des petits mollusques bivalves vivants dans l'eau de mer. Le mollusque se présente à l'état larvaire qui nage librement dans l'eau. Il peut facilement se fixer sur des constructions portuaires ou des navires construits en bois lors de leur déplacement. Il est presque imperceptible à l'œil nu. Il perce un trou dans le bois à l'aide de sa coquille. La protection contre ces animaux est très difficile. Certaines essences comme l'azobé, le teck présentent une bonne durabilité face à l'attaque des tarets.

### **1.3. Description des essences étudiées**

#### **1.3.1. Ayous**

L'ayous de son nom scientifique *Triplochiton scleroxylon* appartient à la famille Sterculiaceae (Wageningen, 2008). L'ayous est un grand arbre caducifolié atteignant 50 mètres de hauteur. L'ayous est largement réparti dans la zone forestière d'Afrique Occidentale et centrale depuis la Guinée jusqu'à la République Centrafricaine, du Sud Gabon jusqu'à la République Démocratique du Congo. Le cœur et l'aubier ne sont pas distincts. L'aubier est blanchâtre avec une épaisseur d'environ 15 cm. Le bois frais a une odeur désagréable qui disparaît au séchage. Le bois d'ayous est léger, de masse volumique moyenne égale à 0,38 kg/m<sup>3</sup> à 12% d'humidité. Le bois sèche aisément et rapidement à l'air, avec un risque de déformation ; les propriétés mécaniques sont faibles. Il se travaille aisément. Le bois n'est pas durable, étant sujet aux attaques de champignons (par exemple le bleuissement) ainsi qu'à d'autres agents d'altérations de bois tels que les termites, les bostryches et les foreurs du bois sec. Il ne doit être utilisé en contact avec le sol, ni exposé aux intempéries. La sciure peut provoquer des allergies telles que dermatite de contact, la rhinite et l'asthme. Le bois est largement utilisé pour les menuiseries intérieures, le panneautage, les moulures, les meubles, les placages déroulés et tranchés pour couches intérieures et extérieures de contreplaqué. La pâte est utilisée pour la production de papier de qualité moyenne. L'écorce est utilisée pour couvrir les toits et les murs de cases et sert en médecine traditionnelle à traiter les œdèmes (Wageningen, 2008).

#### **1.3.2. Moabi**

Le moabi de son nom local et *Baillonella toxisperma* son nom scientifique, est une variété d'Obovata de la classe des Sapotacées. Le moabi pousse dans les forêts denses d'Afrique Equatoriale depuis le Nigeria jusqu'en Angola. Il est un géant de la forêt tropicale avec son fût droit et cylindrique qui peut atteindre les 25 à 30 mètres de hauteur et dont le tronc dépasse souvent 2 mètres de diamètre. Le bois parfait de couleur brun rose plus ou moins foncé est bien différencié de l'aubier de couleur gris-rosâtre et épais de 4 à 6 cm (C.T.F.T., 1976). L'aubier est très sensible à l'attaque des champignons et les insectes de piqûres noires (platypes et scolytes). Le bois de cœur quant à lui présente une bonne durabilité naturelle face aux attaques des champignons de pourriture ainsi qu'à celles des termites. En général, le bois parfait possède une bonne résistance aux térébrants marins dans les eaux froides tempérées et une faible résistance dans les eaux tropicales salées. Le bois est très homogène à grain fin et de fil droit. La composition chimique du bois a révélé des taux d'extractibles élevées de



7,35% avec un mélange éthanol/benzène et de 3,75% avec l'eau. Il contient des pentosanes de l'ordre de 14,85%, de la cellulose 43,45%, et de la lignine de 29,00%. Son bois étant lourd à mi-dur (masse volumique comprise entre 820 et 940 kg/m<sup>3</sup> à 12% d'humidité), il est utilisé en menuiseries extérieurs (portes, fenêtres,...), menuiseries intérieurs (escaliers, agencements divers,...), en ébénisterie pour la fabrication des meubles massifs, en ameublement et en décoration (placages tranchés), des panneaux décoratifs et des contreplaqués qualités (C.T.F.T., 1976 ; Ngueguim *et al.*, 2011 ). Pour toutes ces vertus, le moabi se situe au neuvième rang des exportations nationales (Nguéguim *et al.*, 2011). En dehors du bois, l'arbre entier est utilisé dans la médecine traditionnelle africaine en particulier dans la pharmacopée camerounaise. L'écorce de moabi est utilisée pour traiter le rhumatisme, les broncho-pulmonaires, les maladies gastro-intestinales et favorise la cicatrisation des plaies (Mbah *et al.*, 2011). Les graines sont consommées comme nourriture. Ils produisent une huile consommable et riche en acide palmitique, stéarique et oléique (Nguéguim *et al.*, 2009). La 3-hydroxyuridine un composé allélopathique extrait des feuilles, des racines et du tronc du moabi, a montré une inhibition sur la croissance des semis de certaines plantes tests (Ohigashi *et al.*, 1989 ; Louppe, 2005) . De l'écorce de moabi a été extrait de l'acide bétulinique, l'acide 3-O-bétulinique-p-coumarate et du stigmastérol. Ces composés présentent des effets antiplasmodiaux sur le *Plasmodium falciparum*. D'autres composés tels que les saponines, aflatoxine B1 et G1 ont été identifiés de l'écorce du moabi (Mbah *et al.*, 2011) .

### 1.3.3. Movingui

Le movingui ou African satinwood, yellow satinwood en anglais appartient à la famille des Leguminosae (fabaceae-caesalpinioideae) ; de nom scientifique *Distemonanthus benthamianus*. Le movingui se trouve dans toutes les forêts d'Afrique tropicale. Il existe depuis la Côte d'Ivoire, au Ghana, au Nigeria et jusqu'au Congo. On le rencontre plus fréquemment dans les forêts du Gabon ainsi que du Cameroun, pays où il semble le plus abondant. Ce n'est pas un arbre très gros ; son diamètre varie entre 0,60 et 0,90 m ; il atteint rarement 1 m et son fût a une forme régulière. Sa longueur utilisable est en moyenne 20 m. Le movingui est un bois de couleur jaune avec des traces brunes ou verdâtres. Le grain est assez fin. Le bois parfait, de couleur jaune citron qui devient brun-orangé après une exposition à la lumière, est bien distinct de l'aubier de couleur jaune pâle ou grisâtre et d'épaisseur variant de 2 à 4 cm. Le movingui a une masse volumique moyenne de 730 kg/m<sup>3</sup> à 12% d'humidité ce qui permet de le classer parmi les bois mi-lourd à mi-dur. Le bois de cœur possède une durabilité moyenne face à l'attaque des champignons et termites mais une bonne résistance

face aux térébrants marins. Par conséquent, il peut être utilisé pour la fabrication des placages tranchés, de contreplaqué, lambris, revêtements extérieurs, parquet, escaliers intérieurs, ébénisterie, lamellé-collé, articles cintrés, charpente légère, en menuiserie extérieure et intérieure. Le bois est également utilisé comme bois de chauffage et pour la production du charbon de bois. L'écorce est beaucoup utilisée en médecine traditionnelle africaine pour traiter les infections bactériennes, virales et les mycoses (Nguelefack *et al.*, 2005). Elle est broyée et utilisée pour traiter les maladies de la peau (abcès, furoncles), des palpitations et contre l'hépatite. L'écorce peut être utilisée traditionnellement pour des troubles sanguins (infections parasitaires cutanées), comme un laxatif et le colorant extrait est utilisé comme un analgésique ou pour décorer le corps. Une décoction chaude d'écorce est utilisée pour traiter la bronchite, le rhumatisme, la fièvre et le paludisme. L'arbre est utilisé pour de nombreuses cérémonies rituelles. Du point de vue composition chimique, il contient 37% de cellulose, 27% de lignine, 12,5% de pentosanes et 2,7% de cendres. Le taux d'extractibles est de 13,0% avec un mélange éthanol/benzène et de 1,3% à l'eau chaude. Les extractibles contiennent particulièrement des tannins, des saponines, des stéroïdes et alcaloïdes. L'étude des composés extraits de l'écorce a montré de nombreuses activités antibactérienne, antifongique, antioxydante, antitumorale et antidermatite de contact. Les composés ayant présentés ces activités sont des flavonoïdes tels que oxyayanine A et B, Ayanine et le destemonanthine (Adeniyi *et al.*, 2011).

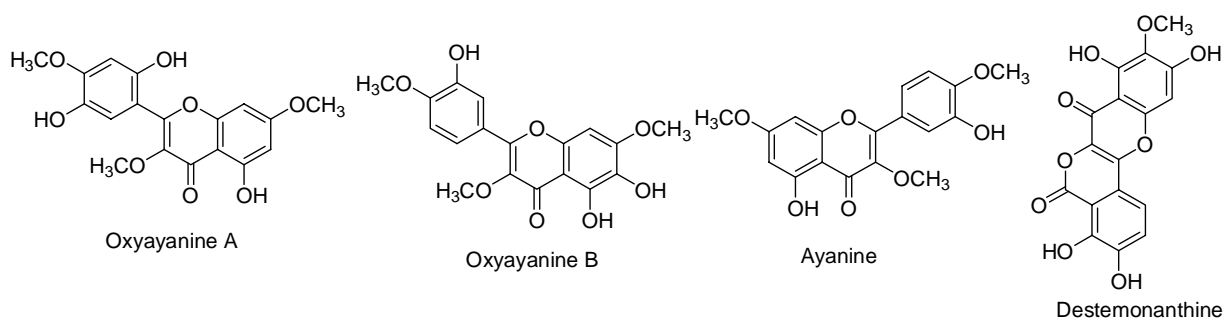


Figure 22 : Structure de l'Oxyayanine A et B, de l'Ayanine et de le Destemonanthin

Les composés d'oxyayanine A et B extraits du bois de cœur ont des propriétés dermatites. Plusieurs flavonols ont isolés du bois de cœur du movingui. Ces composés sont : le 5,6-hydroxy-3,7,2',4',5'-pentamethoxy flavone et ses dérivés ; le 5'-hydroxy-3,5,7,2',4'-pentamethoxyflavone ; le 5-hydroxy-3,7,2',3',4',6'-hexamethoxyflavone et le 2,3-trans-2-(4-hydroxy-2,3-dimethoxyphenyl)-9-(5-hydroxy-2-methoxyphenyl)-2-hydroxymethyl-2,3-dihydro-7H-1,4-dioxinol [2,3-h] chromen-7-one (Malan *et al.*, 1980 ; Malan *et al.*, 1990 ; Malan, 1993 ; Malan *et al.*, 1994). Le criblage phytochimique de l'écorce de movingui à révélé la présence de flavonoïdes, de composés phénoliques, stéroïls, triterpènes et alcaloïdes

dans les extraits à l'acétate d'éthyle (Nguelefack *et al.*, 2005 ; Kareem *et al.* 2012), des tannins, stéroïdes, saponines et alcaloïdes dans l'extrait à l'eau (Aiyegoro *et al.*, 2008). Les extraits aqueux de movingui ont été utilisés *in vitro* pour préserver les bois moins durables (Asamoah *et al.* 2011). Les extraits éthanoliques ont montré des propriétés antimicrobiennes *in vitro*.

#### **1.3.4. Padouk**

Le padouk de son nom local appartient à la famille Papilionaceae (Leguminosae, Papilionoideae, Fabaceae) et de nom scientifique *Pterocarpus soyauxii*. On le retrouve dans la forêt équatoriale du Nigeria jusqu'en République Centrafricaine, de la République Démocratique du Congo jusqu'en Angola. L'aire du *Pterocarpus soyauxii* s'étend du Cameroun en République Démocratique du Congo. C'est un géant de la forêt tropicale avec un fût droit et cylindrique pouvant atteindre les 15 à 20 mètres de hauteur et dépasse souvent 1,50 mètres de diamètre. L'aubier est de coloration blanchâtre de 10 cm d'épaisseur et est bien différencié du bois de cœur qui est de couleur rouge-sang. En présence de l'air, cette teinte devient brun violacé. Le bois parfait possède une bonne résistance à l'attaque des agents d'altérations ce qui permet de le classer parmi les bois durables. Comme tous les aubiers, l'aubier de padouk présente une plus faible résistance (ou une résistance moindre) face à l'attaque des agents d'altérations du bois en comparaison au bois de cœur. Le padouk est un bois mi-lourd avec une masse volumique moyenne de 770 kg/m<sup>3</sup>, il est très stable et a une hygroscopie élevée. Le padouk possède une faible résistance mécanique. La composition chimique évaluée par le Centre Technique Forestier Tropical (C.T.F.T.) a donné les résultats suivants : taux d'extractibles à l'alcool-benzène de (12,00%), à l'eau (1,37%), un taux de pentosanes de l'ordre de 10,95%, de cellulose 41,85%, et de lignine de 30,55%. Grâce à sa durabilité, il peut être utilisé en menuiserie intérieures comme escaliers, parquets et notamment des parquets pour les fonds de camion. Il peut également être utilisé pour la construction, les charpentes, la construction des pirogues, la menuiserie extérieure (fenêtres, portes, ...). La couleur de son bois est appréciée pour la sculpture, les meubles, l'ébénisterie, les manches de couteaux et d'outils, les peignes traditionnels, les cannes et les instruments de musique (C.T.F.T., 1978). La couleur rougeâtre du bois de cœur lui permet d'être une source de teinture pour l'industrie textile. Cette teinture est utilisée pour faire une coloration rouge sur des tissus, des fibres, des vêtements. Le bois est très riche en tanins ce qui contribue au mordantage lors de la teinture des fibres (Jansen, 2005). Une étude menée par le CTFT en 1980 sur l'extrait éthéré a permis d'isoler les composés suivants : homoptérocarpine,

ptérostilbène, prunétine (dihydroxy-4',5,méthoxy-7 isoflavone) et du santal (trihydroxy-4',5,5' méthoxy-7 isoflavone).

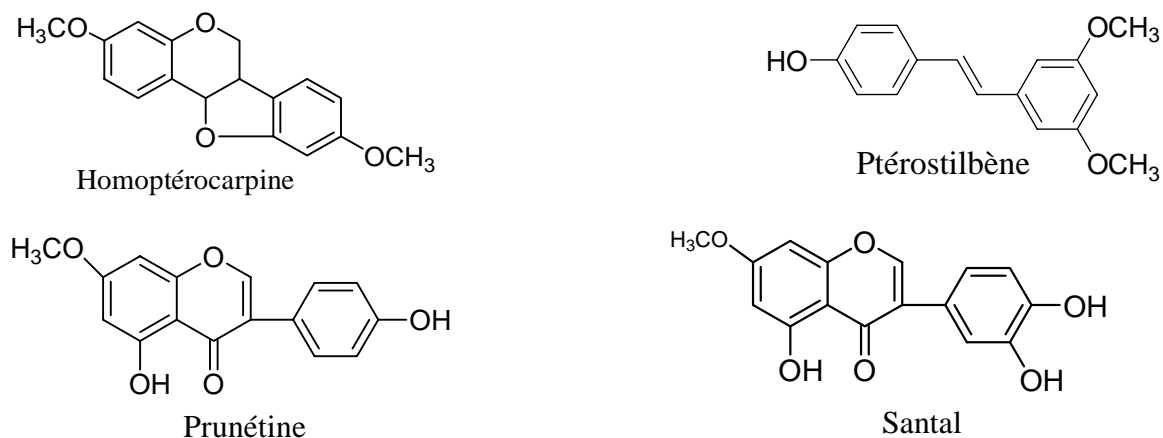


Figure 23 : Structure de la prunétine et du santal isolées du padouk

D'autres composés tels que les biflavonoïdes (santaline A, santarubines A et B), des isoflavonoïdes (pterocarpine, formononetine et prunetine), un isoflavone, un isoflavanequinone : la claussequinone, des isoflavanes (vestitol et mucronulatol), des tannins, de l'acide ascorbique, des glucosides, des tri-terpènes et des xanthones ont été identifiés de l'écorce de padouk (Tchamadeu *et al.*, 2011). Su *et al.* (2013 ; 2014) ont identifié cinq nouveaux isoflavonoïdes, la 3-arylcoumarine et les pterosonines A-F.

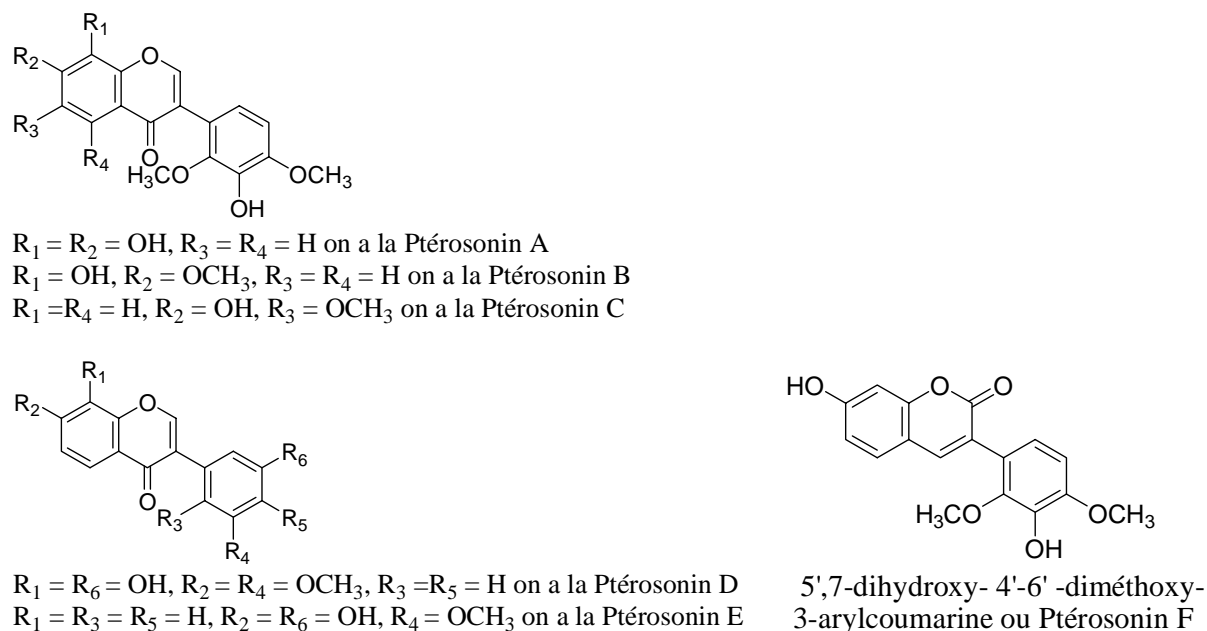
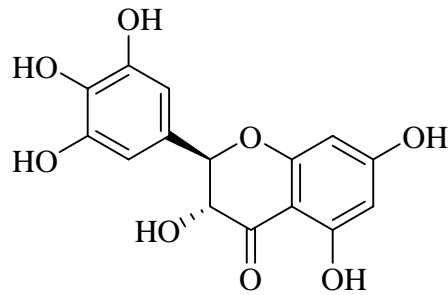


Figure 24: Structures des Ptérosine A-F isolées du bois de cœur de Padouk par Su *et al.*, en 2013.

### 1.3.5. Tali

Le tali de son nom local et *Erythrophleum suaveolens* ou *Erythrophleum ivorense* appartient à la famille des Leguminosae (Caesalpiniaceae). On le rencontre dans la forêt humide Guinée-Congolaise depuis la Sierra Leone, en Côte d'Ivoire, au Ghana, Nigeria, Congo, Cameroun et Gabon. C'est un géant de la forêt tropicale avec un fût droit et cylindrique pouvant atteindre 40 mètres de hauteur avec un diamètre moyen allant de 0,60 m à 1 m. L'aubier plus clair de couleur jaune crème est bien distinct du bois de cœur de couleur brun-jaune et à une épaisseur variant de 3 à 6 cm. Le tali est un bois lourd, non flottable et a une masse volumique moyenne de 910 kg/m<sup>3</sup> à 12% d'humidité. Le bois de cœur possède une bonne résistance à l'attaque des agents d'altérations ce qui permet de le classer parmi les très durables. Par contre il est fortement attaqué par les tarets et crustacés lignivores dans les eaux de mers ou lagune saumâtre. La composition chimique évaluée par le CTFT a donné les résultats suivants : taux d'extractibles avec un mélange à l'éthanol/benzène de 6,7 %, à l'eau de 2,4 %, un taux de pentosanes de l'ordre de 14,7%, de cellulose 40,8%, et de lignine de 32,00%. Notons que les échantillons de tali provenant du Cameroun ont un taux d'extractibles à l'éthanol/benzène élevées de l'ordre de 14% (C.T.F.T., 1977). Etant un bois assez lourd, dur et possédant une grande résistance mécanique et durabilité, il est utilisé pour fabriquer les traverses de chemins de fer en Afrique et en Europe. Son emploi est conseillé pour les utilisations extérieures telles que les charpentes, travaux hydrauliques, installation portuaires et bien d'autres. Il peut être utilisé pour la construction et les ponts, la fabrication des fonds de wagons et camions, la construction des pirogues, la menuiserie extérieure (fenêtres, portes, ...) (C.T.F.T., 1977). Les études ont montré que le tali possède de nombreuses vertus. On peut citer entre autres son écorce qui est utilisé pour des usages médicaux. L'extrait de l'écorce est utilisé comme laxatif, poison de pêche et s'emploie en externe pour soulager les douleurs en Sierra Leone. L'étude des extraits d'écorce a permis d'isoler de la cassaine, la cassaidine et l'érythrophléguine. La cassaine et la cassaidine ont de puissants effets anesthésiques et diurétiques, et en même temps augmentent les contractions de l'intestin et de l'utérus. Du bois de cœur de tali a été extraite du dihydromyricétine (flavanol). Les extraits du bois de cœur de tali ont été utilisés pour la préservation des aubiers facilement dégradables par les champignons de pourritures (Onuorah, 2000).



dihydromyricétine

Figure 25 : Dihydromyricétine extraite du bois de cœur de tali

#### 1.4. Valorisation des extractibles

##### 1.4.1. Activité antiradicalaire et antioxydante des extractibles

Les radicaux libres peuvent se définir comme des espèces chimiques présentant un ou plusieurs électrons libres non appariés. Ces radicaux sont à l'origine d'espèce radicalaire très réactives ( $\text{HO}^\cdot$ ,  $\text{O}_2^\cdot$ ,  $\text{NO}^\cdot$ ) appelées ROS (Reactive Oxygen species) formé en présence d'oxygène qui vont être à l'origine de différentes réactions d'oxydation aussi bien dans le domaine des matériaux que du vivant. Il est aussi à noter que la cigarette, les UV, la pollution et de nombreux agents chimiques peuvent être à l'origine de la production de radicaux libres. Pour lutter contre ces radicaux libres, l'organisme produit des enzymes cytosoliques tels que la superoxy dismutase, la glutathion peroxydase, la catalase et la glutathion transférase. Ces radicaux s'attaquent à l'ADN, l'ARN, aux lipides, aux sucres et aux protéines tout en causant des effets néfastes sur l'organisme. On peut ainsi citer comme effets indésirables, les peroxydations qui favoriseront l'athérosclérose et le vieillissement, des oxydations de l'ADN et de l'ARN aboutissant aux mutations et au développement du cancer, les maladies cardiovasculaires, le diabète et les maladies dégénératives. Pour palier à ce problème, l'on apporte en aide à l'organisme des antioxydants naturels ou synthétiques, d'où l'intérêt croissant sur la recherche des activités antioxydantes. Un antioxydant peut se définir selon Halliwell (1994) comme une entité qui présente en faible concentration est capable de réduire, retarder ou prévenir la destruction oxydante des biomolécules. Ces antioxydants peuvent être apportés par les aliments (fruits, légumes, thé, vin rouge, café et cacao). Les aliments lipidiques résistent moins à l'oxydation de l'oxygène lors de la conservation. Cette oxydation lipidique étant la cause majeure de détérioration des aliments contenant les matières grasses, l'on doit les conserver avec des antioxydants. L'hydroxyanisole butylé (BHA), l'hydroxytoluène butylé (BHT), hydroquinone de butyle tertiaire (TBHQ) et gallate de

propyle (PG) (figure 26) sont antioxydants synthétiques officiellement autorisés et utilisés par l'industrie agroalimentaire pour la conservation des aliments (Branen, 1975).

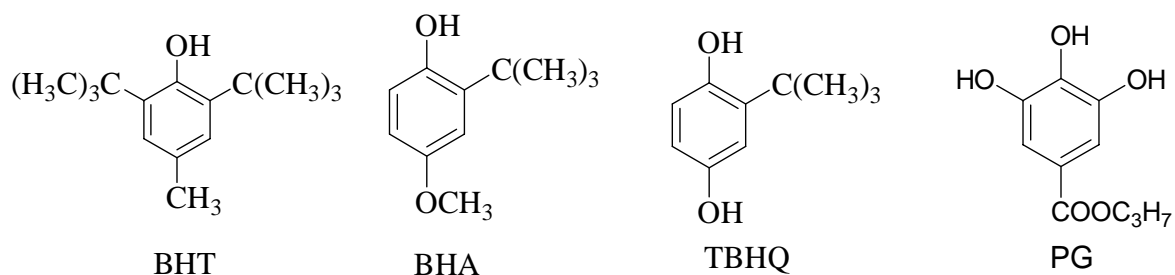


Figure 26 : Structures de quatre antioxydants synthétiques utilisés en industrie agroalimentaire

Des études de toxicité du BHT et BHA sur des souris et d'autres rongeurs ont montré que ces composés étaient cancérigènes et s'accumulaient dans l'organisme (Kalamouni 2010; Linderschmidt *et al.*, 1986). Face à ce problème de toxicité des antioxydants synthétiques, les chercheurs se tournent vers les sources d'antioxydants naturels moins toxiques. Parmi les antioxydants naturels on peut citer les composés phénoliques que l'on rencontre dans presque toutes les plantes et qui sont capables de stopper le développement exponentiel des radicaux lipidiques pour former des radicaux phénoliques stables tout en rompant les réactions d'oxydation en chaînes (Diouf, 2003). Les extraits de plantes peuvent également avoir plusieurs activités tels que : fongicide, fongistatique, insecticide, nématocide, herbicide, bactéricide, bactériostatique en plus de leur propriété antioxydante d'où l'intérêt croissant des chercheurs de les étudier. De nombreuses publications décrivent des antioxydants naturels (Pietta 2000 ; Moure *et al.*, 2001). La figure 27 reprend les structures de différents antioxydants naturels rapportés dans la littérature.

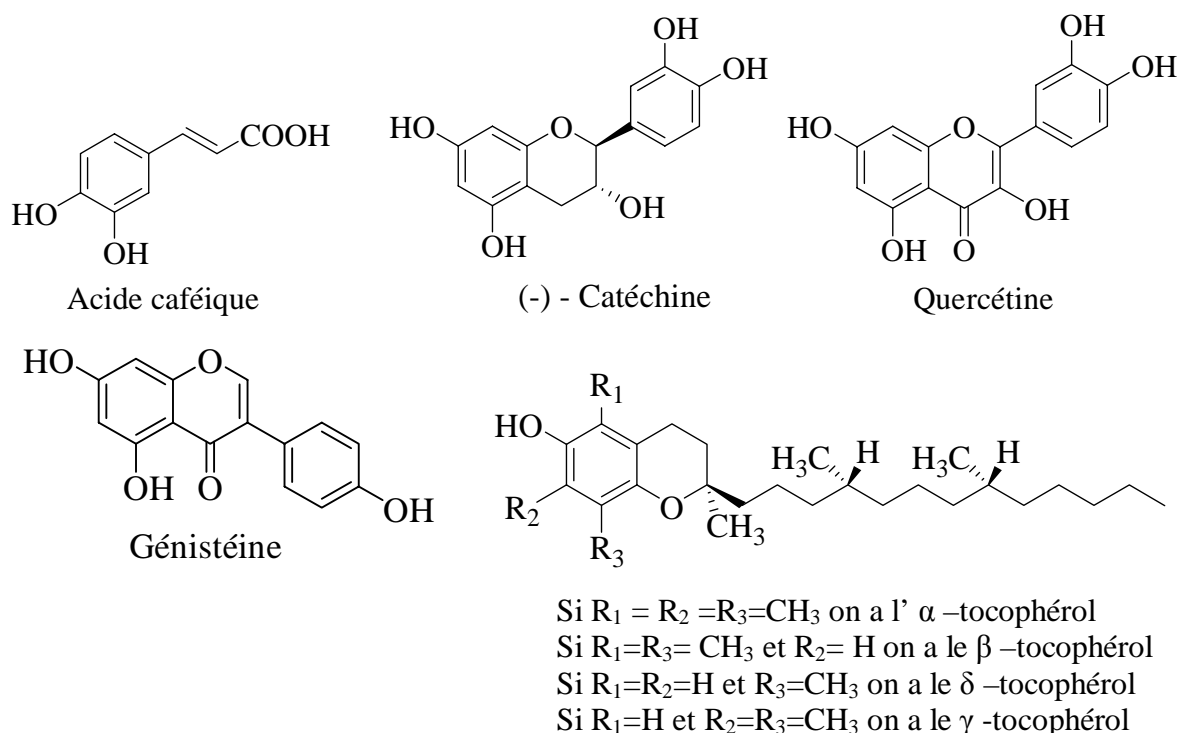


Figure 27 : Structures de quelques antioxydants naturels

Ces composés naturels trouvent déjà leurs applications dans l'industrie agroalimentaire. On peut citer par exemple le cas de l'acide ascorbique (vitamine C), du tocophérol (apparenté à la vitamine E), de l'huile de sésame, de l'huile d'olive (Kalamouni 2010; Taga *et al.*, 1984; Altarejos *et al.*, 2005; Pérez-Bonilla *et al.*, 2006).

#### 1.4.1.1. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante et anti radicalaire

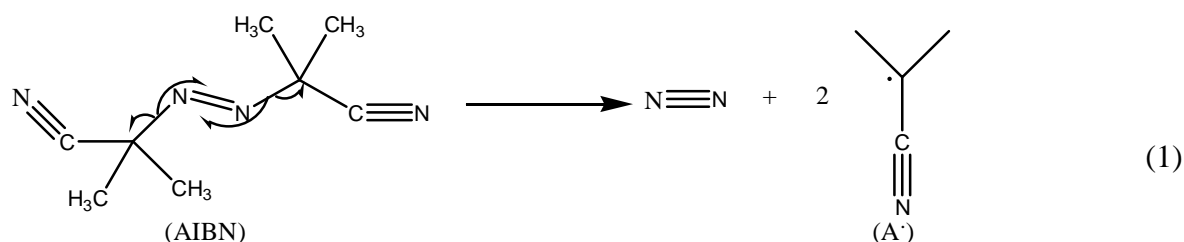
Plusieurs méthodes ont été décrites pour évaluer l'activité antioxydante d'un composé ou d'un extractible. La majeure partie de ces méthodes utilise la capacité d'un composé ou d'un extractible à piéger les radicaux libres (activité anti radicalaire). Il est donc nécessaire de préciser qu'il y a une grande différence entre l'activité anti radicalaire et antioxydante qui ne coïncide pas très souvent. L'activité anti radicalaire est la capacité d'un composé à réagir facilement avec les radicaux libres au cours d'une réaction et l'activité antioxydante est la capacité d'un composé à inhiber un processus d'oxydation. Ce processus, par exemple dans le cas de l'oxydation des lipides comportent un ensemble de différentes réactions. Par conséquent toutes les méthodes utilisant un radical stable (ABTS, DPPH...) donnent des informations sur la capacité d'un composé à piéger les radicaux libres ou activité anti radicalaire, bien que dans de nombreux cas cette activité ne correspond pas à l'activité antioxydante (Tirzitis and Bartosz, 2010).



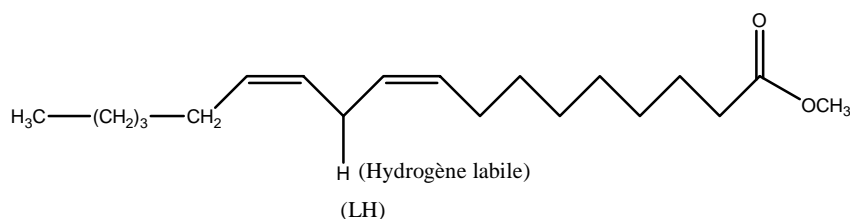
Parmi les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante (Ali et al., 2008), on peut citer la peroxydation lipidique. On utilise pour la peroxydation lipidique le plus souvent un substrat lipidique ou lipoprotéique (transfert d'atome d'hydrogène).

Le méthyle lin oléate (LH) a été utilisé comme inhibiteur au cours de la réaction parce qu'il possède un hydrogène labile en position  $\alpha$  de la double liaison. L'azobisisobutyronitrile (AIBN) est utilisé pour produire les radicaux libres (c'est l'amorceur de la réaction). La réaction se produit ainsi qu'il suit (équations 1 et 2).

Amorçage : production de radicaux libres ( $L^\cdot$ )



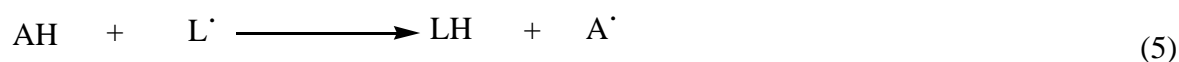
Cette réaction produit un radical libre stabilisé par le groupement nitrile. C'est pour cette raison que l'on utilise le LH qui produira des radicaux libres pouvant réagir facilement avec les extractibles.



Après l'amorçage, nous avons la propagation de la réaction. Cette dernière est très rapide car les radicaux libres sont très réactifs (équations 3 et 4).



En présence d'un composé ayant un hydrogène labile comme les phénols (noté AH), nous assistons à la terminaison de la réaction avec formation d'un radical libre plus stable ( $A'$ ) suivant la réaction (équation 5).



L'évaluation de l'activité anti radicalaire utilise l'aptitude d'un composé donné ou d'un extractible à piéger des radicaux libres (transfert d'électron) (Huang *et al.*, 2005). On peut, à partir des exemples cités, dire que l'évaluation de l'activité anti radicalaire dépendra du composé. On pourra donc avoir des méthodes chimiques et biochimiques. Les méthodes les plus utilisées sont celles faisant intervenir un composé ou un extractible capable de piéger les radicaux libres. On peut ainsi citer :

➤ La méthode ABTS ou TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) a été décrite pour la première fois par Miller *et al.*, 1993. Elle est basée sur l'inhibition un radical cationique le 2,2'-azinobis (3-ethyl-benzothiazoline 6-sulfonate) (ABTS) par un antioxydant et caractérisé par les longueurs d'ondes d'absorption aux maxima de 660, 734 and 820 nm. C'est une méthode spectrophotométrique très utilisée pour évaluer le pouvoir anti radicalaire d'une substance ou d'un extractible. Elle présente l'avantage de pouvoir être utilisé pour les composés hydrophiles et lipophiles. Le mécanisme de la réaction est donné à la figure 28.

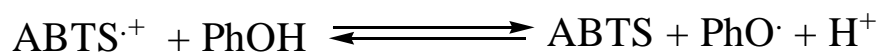
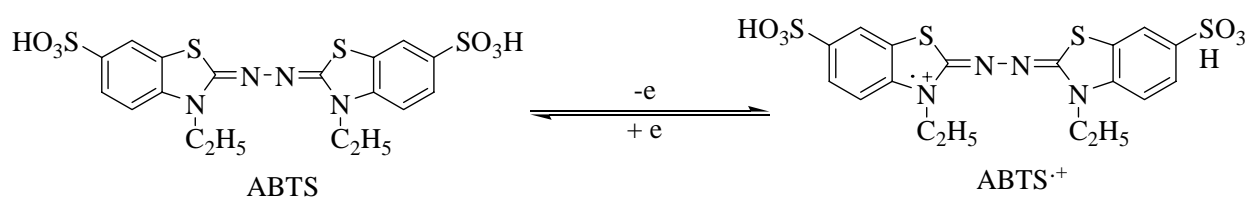
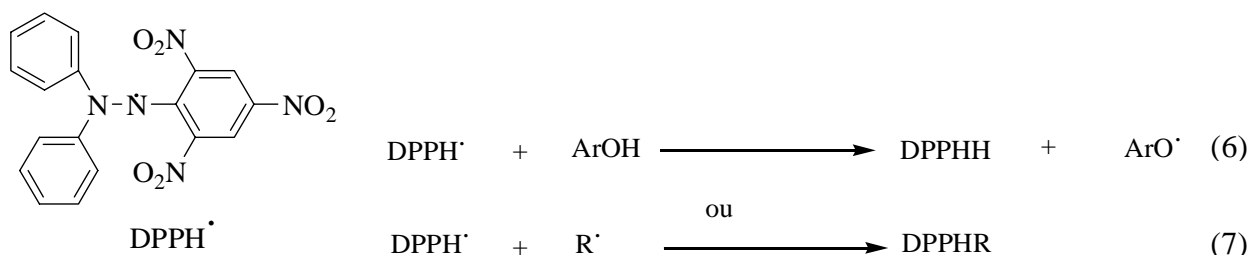


Figure 28 : Formation de l'ABTS radicalaire et réaction avec un composé phénolique (Zhuqi and Guochuan, 2015)

➤ La méthode au DPPH<sup>•</sup> (radical 1,1-diphényl-1-picrylhydrazyl) a été décrite par Brand-Williams *et al.* (1995). Cette méthode est largement utilisée à cause de sa simplicité, sa stabilité et la reproductibilité des essais. C'est une méthode spectrophotométrie basée sur la capacité des composés antioxydants à piéger les radicaux libres du 1,1-diphényl-1-picrylhydrazyl produisant ainsi une décroissance de l'absorbance à la longueur d'onde de 515 nm (longueur d'onde d'absorption du DPPH<sup>•</sup>). Lorsque le DPPH<sup>•</sup> est mis en contact d'une substance capable de donner un atome d'hydrogène (ArOH) ou un autre radical libre (R<sup>•</sup>), il est réduit sous une forme non radicalaire qui s'accompagne d'une perte de couleur selon les équations 6 et 7 ci-dessous.



➤ La méthode FRAP (Ferric reducing ability of plasma) a été décrite par Benzie et Strain en 1999. Au cours de la réaction le composé antioxydant réduit le complexe [Fe(III)/tripyridyltriazine] en excès en un complexe bleu de fer(II) avec une augmentation de l'absorption à 593 nm selon l'équation 8.



➤ La méthode d'ORAC (oxygen radical absorbance capacity) décrite par l'équipe de Glazer (Cao *et al.*, 1993). Elle est basée sur la fluorescence de la bêta-phycoerythrine (PE) qui, excitée a une fluorescence à 565 nm, décroît en émission en présence d'un substrat oxydant à 540 nm. La bêta-phycoerythrine est utilisée ici comme un indicateur de protéine, le 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) comme générateur de radical peroxy ou un mélange  $\text{Cu}^{2+} - \text{H}_2\text{O}_2$  comme générateur du radical hydroxyl.

- La méthode TRAP (total radical trapping parameter) décrite par Wayner *et al.* (1985).
- La méthode TOSC (total oxyradical scavenging capacity) décrite par Winston *et al.* (1998).
- La méthode voltamétrique cyclique décrite par Kohen *et al.* (1999).
- La méthode photochimiluminescence (PCL) décrite par Popov *et al.* (1987).

#### 1.4.2. Capacité des extractibles à teindre les fibres naturelles et artificielles

Depuis la préhistoire, les colorants naturels étaient utilisés pour la teinte des fibres naturelles telles que la laine, la soie ou le coton et de bien d'autres objets. Ces colorants étaient extraits des minéraux, des insectes ou des plantes. Ils donnent une magnifique teinte sur les fibres naturelles et peuvent donner également une bonne teinture sur les fibres synthétiques (polyamide tel que le nylon, polyacrylique tel que l'orlon, polyesters tel que le tergal...). L'utilisation de ces colorants naturels a pris fin après la découverte des colorants synthétiques par Perkin en 1856 (Mirjalili *et al.*, 2011). L'industrie utilise le plus souvent des colorants synthétiques à cause de leurs disponibilités. On peut citer le bleu et le vert égyptien qui sont des premiers colorants synthétiques. Les colorants synthétiques sont obtenus en majorité par

des dérivés de la pétrochimie et certains de ces colorants se sont avérés toxiques et cancérogènes pour l'homme et son environnement. On estime une utilisation d'environ 30 millions de tonnes de textiles par année et en moyenne 700000 tonnes de colorants. Il est à noter que les restes de solutions de colorants utilisées lors des processus de teinture, sont parfois déversés dans la nature (Samanta et Agarwal 2009). Les colorants synthétiques, plus résistants à la biodégradation, constituent des sources de pollution potentielle. L'industrie de la teinture est contrainte de plus en plus de réduire les effluents toxiques, d'arrêter la production de colorants ou de pigments potentiellement dangereux. Les colorants naturels dérivés de la flore et de la faune sont à faible impact environnemental. Ils ne causeraient pas de pollution et des problèmes de rejets dans la nature car ils seraient biodégradables. Au cours de cette dernière décennie, les chercheurs se focalisent donc sur l'utilisation des colorants naturels issus du règne végétal ou animal comme alternative à l'utilisation des colorants synthétiques. Outre leurs utilisations comme colorant dans l'industrie textile, ils sont aussi utilisés comme ingrédients alimentaires (Dweck, 2002) et en cosmétiques (Frick, 2003). Des chercheurs ont pu identifier un grand nombre de plantes, insectes et certains animaux qui peuvent être sources de colorants (Guinot *et al.*, 2006).

Ils comportent en majorité des doubles liaisons conjuguées leur permettant d'absorber de la lumière dans le domaine du visible ou de l'ultraviolet.

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des colorants. On peut citer les méthodes traditionnelles ou conventionnelles utilisant une base, un acide, un solvant organique ou de l'eau pour l'extraction (Ali *et al.*, 2009) ; des méthodes non conventionnelles telles que les ultrasons, l'extraction par un fluide supercritique, extraction avec des enzymes (exemple du mélange pectinase : cellulase 2:1) (Kamel *et al.*, 2005 ; Tiwari *et al.*, 2010) et d'autres méthodes permettant d'optimiser le rendement d'extraction (température et pression). Après extraction, plusieurs méthodes permettant de teindre ont été explorées en partant des méthodes traditionnelles à des méthodes plus sophistiquées.

#### ➤ Utilisation d'un mordant

La teinture avec des colorants naturels se heurtent souvent à des problèmes tels que la gamme étroite de couleur et faible solidité de la couleur sur le textile teint. Les tentatives visant à surmonter ces problèmes ont été principalement axées sur l'utilisation de mordants. Le mordantage est un prétraitement de la fibre avec un sel métallique qui permet une bonne fixation du colorant. En plus de créer une affinité entre le colorant et la fibre, l'utilisation de

mordants permet de varier la teinte de certains colorants. L'utilisation de différents mordants avec le même colorant peut permettre d'avoir des couleurs très variées sur la fibre à teindre (Manhita *et al.*, 2011). Les propriétés colorimétriques de la fibre teinte tels que la luminosité ( $L^*$ ), la couleur rouge ou verte ( $a^*$ ), jaune ou bleue ( $b^*$ ), la teinte (h), la saturation de la couleur ( $c^*$ ) dépendent de la nature du mordant et de la fibre (Tang *et al.*, 2010). Le mordantage permet en général d'améliorer les performances du colorant tout en obtenant une large gamme de couleur qui se fixe très bien sur la fibre. Il existe plusieurs types de mordant utilisé (tableau 3) selon la couleur recherchée. L'alun et le sulfate de fer(II) sont considérés comme les mordants les plus habituels parmi les sels métalliques, que l'étain peut être utilisé dans certaines applications alors que le chrome et le cuivre sont presque bannies compte tenu de leurs natures toxiques (Savvidis *et al.*, 2013). Après traitement, le reste de solution de traitement contenant les sels métalliques est reversé dans la nature et peut causer des problèmes d'effluents. Pour palier à ce problème, les chercheurs préconisent l'utilisation des mordants naturels à la place des sels métalliques. On peut utiliser comme mordants naturels les plantes riches en tannins (Prabhu and Teli, 2011) ou les plantes hyper accumulatrices de métaux (Cunningham *et al.*, 2011). Ces tannins se retrouvent dans les écorces du bois, les racines, les feuilles (Shahid *et al.*, 2013). Le tableau 3 nous donne la liste de différents mordants utilisés et de quelques sources de mordants naturels

Tableau 3 : Listes de quelques mordants métalliques et sources de biomordants

Mordants	Formule chimique	Références
Alun	$KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$	
Sulfate de fer	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	
Chlorure d'étain	$SnCl_2 \cdot 2H_2O$	Samanta and Agarwal, 2009 ;
Sulfate de cuivre	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	Zarkogianni <i>et al.</i> , 2011
Dichromate de potassium	$K_2Cr_2O_7$	
Sulfate d'aluminium	$Al_2(SO_4)_3$	Das <i>et al.</i> , 2008
Sulfate de magnésium	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	Moiz <i>et al.</i> , 2010 ; Das <i>et al.</i> , 2008
Sulfate de zinc	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	Ghouila <i>et al.</i> , 2012 ; Guesmi <i>et al.</i> , 2012a,b;
<i>Acacia catechu</i>	Source de tannins	Mansour and Heffernan, 2011
<i>Symplococcus sp.</i>	Hyper accumulateur d'Al capable de remplacer alun	Cunningham <i>et al.</i> , 2011
<i>Pyrus pashia</i>	Plante riche en cuivre susceptible de remplacer les métaux de cuivre	Vankar and Shanker, 2009

## 1.5. Valorisation industrielle des extractibles

Les extractibles trouvent plusieurs applications dans le domaine industriel. Ils sont par exemple utilisés en agroalimentaire (nutraceutique), cosmétique et pharmaceutique en tant que : compléments alimentaires, agents antioxydants, anti-inflammatoires, antimicrobiens. Au niveau international, ils trouvent des applications en Europe et au Canada (Stevanovic, 2011). Au niveau du continent africain et plus particulièrement au Cameroun, ces extractibles ne sont pas utilisés au niveau industriel. Notre travail est donc un travail pionnier dans ce domaine. De toutes les extractibles cités précédemment, les polyphénols sont ceux qui sont les plus étudiés et qui trouvent le plus souvent une application industrielle (Stevanovic, 2011). Différents extractibles peuvent servir de principes actifs en médecine. L'aspirine (dérivé de l'acide salicylique) extrait de l'écorce du *Salix sp.* Saule est utilisé comme antypyrétique, analgésique, anti-inflammatoire et anticoagulant (en pharmacie et nutraceutique). La rutine (dérivée de la quercétine) extraite de la plante d'eucalyptus est utilisée pour le traitement des troubles veineux et capillaires. La quinine extraite de l'écorce du quinquina est utilisé en pharmacie comme un antipalludique. Le taxol extrait des écorces ou de l'if du Pacifique est utilisé comme anticancéreux. La jubavione extrait du sapin baumier (*Abies balsamae*) est utilisé pour inhiber l'hormone juvénile chez les coléoptères. Des triterpènes tels que le lupéol, la bétuline, l'acide bétulinique extraits de l'écorce de bouleau jaune et blanc sont utilisés pour leurs activités anticancéreuses. L'extrait de Ginkgo (*Ginkgo biloba*) très riches en polyphénols (24% de l'extrait) est utilisé contre les troubles de mémoire, déficiences vasculaires périphériques, la rétinopathie diabétique, la dégénérescence maculaire, l'acouphène et le vertige (Qa'danet *al.*, 2010). L'hydroxymatairésinol extrait des nœuds de l'épicéa de Norvège est utilisé comme complément alimentaire, pour lutter contre le cancer du sein et pour traiter la prostate (Stevanovic, 2011). Les anthocyanes sont utilisés pour leurs propriétés colorantes et leur capacité à piéger les radicaux. Les tanins de chêne, la vanilline, et bien d'autres phénols sont utilisés comme des arômes de choix. Les tannins sont utilisés depuis fort longtemps pour la fabrication des teintures et le tannage du cuir. Les huiles essentielles (terpénoïdes) sont utilisées comme parfums. Nous pouvons ainsi citer l'exemple du linalool et du santalool extrait respectivement du bois de rose (*Aniba duckei* : *Lauraceae*) et du bois de santal (*Santalum album* : *Santalacae*). Les polyterpènes extrait de l'hévéa permettent d'obtenir le latex à l'origine du caoutchouc naturel (Stevanovic, 2011).

## CHAPITRE 2

### MATERIELS ET METHODES

#### 2.1. Matériels

##### 2.1.1. Produits chimiques

Dichlorométhane (Carlo Erba, 99.9%), acétone (Prolabo, 99.9%), éthanol (Sigma-Aldrich, 99.8%), toluène (Prolabo chemicals, 100%), eau distillée, méthanol (Carlo Erba, 99.9%), , 2,2'-Azobis-isobutyronitrile [AIBN] (Fluka, >98%), 1-Butanol (Sigma-Aldrich, 99.7%), Oxygène [O<sub>2</sub>] ( Air liquide, 99.995%), Acide gallique (Sigma-Aldrich, 97.5-102.5%), (+) – Catéchine hydratée ( Fluka, pureté >96%), 2,6-di-tert.butyl-4-methyl-phénol [BHT] (Fluka, 99%), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl [DPPH] (Sigma-Aldrich), réactif de Folin-Ciocalteu pour les phénols (Sigma-Aldrich), sodium carbonate purifié (Prolabo), cuivre sulfate heptahydraté, acide chlorhydrique (Sigma-Aldrich, >37%), acide sulfurique ( Sigma-Aldrich, > 95-97%), extrait de malt pour microbiologie (Fluka), agar (Fischer scientific bioreagents), et le N,O-bis(triméthylsilyl) trifluoroacetamide contenant 1% de triméthylchlorosilane [BSTFA/ 1% TMCS] (Acros) ont été utilisés sans aucune purification au préalable sauf le méthyle linoélate (offert par Novance, qui a été distillé dans une étuve en verre (Büchi)). Le méthyle linoléate utilisé au cours de cette manipulation est un produit moins pur et moins coûteux dénommé Estorob. Le coton, la viscose de bois et la viscose de bambou ont été fournis par le Centre Technique de Textile (CETELOR) d'Epinal.

##### 2.1.2. Matériel végétal

Dans le cadre de notre étude, les sciures et résidus de planches (bois de cœur) de tous les échantillons (ayous, moabi, movingui, padouk et tali) étudiés ont été obtenus à la Société Industrielle de Mbang (S.I.M), une société de transformation des grumes de bois située dans la périphérie de la ville de Yaoundé (Cameroun). La moyenne d'âge des arbres abattus est comprise entre 60-70 ans. Ces cinq essences ont été choisies pour notre étude à cause des différences de durabilité naturelle vis-à-vis des agents de dégradation : très grande durabilité (tali), durabilité (moabi, movingui, padouk) et faible durabilité (ayous). Les essences de padouk et movingui ont été aussi choisies pour leurs colorations rouge et jaune respectivement.

### **2.1.3. Champignons**

Différents types de champignons ont été utilisés : deux de pourritures blanches *Trametes versicolor* et *Pycnoporus sanguineus* et deux de pourritures brunes *Coniophora puteana* et *Poria placenta*. La souche *Trametes versicolor* (Tv 110.102 MA AD) a été fournie dans des boîtes de Pétri par le laboratoire Interactions Arbres-Micro-organismes (IAM) UMR-INRA 1136 de l'Université de Lorraine. La souche *Pycnoporus sanguineus* (Ps/1969/1) a été fournie dans des boîtes de Pétri par le Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD) de Montpellier. Les autres souches faisaient parti de la mycothèque du Laboratoire d'Etudes et de Recherche sur le Matériau Bois (LERMAB). Les souches ont été repiquées sur milieu malt-agar dans les boîtes de pétri et maintenues à 22°C et à 70% d'humidité.

### **2.1.4. Bactéries**

Deux types de bactéries ont été utilisés : un gram négatif (*Escherichia coli*) et deux grams positifs (*staphylocoque* et *Bacillus*). Ces souches faisaient parti de la mycothèque du Laboratoire de Microbiologie de l'Institut Universitaire et Technologie pôle Brabois de l'Université de Lorraine.

## **2.2. Méthodes**

### **2.2.1 Extraction des sciures**

Les planches ont servi à faire des éprouvettes pour évaluer la dégradation face à l'attaque des champignons. Lors de la préparation des éprouvettes, les copeaux et débris de bois libérés ont été récupérés, séchés à l'air libre du laboratoire et ensuite broyés par un broyeur à lame (type Retsch SM 100). Un tamisage fractionné des sciures obtenues a été effectué à l'aide de trois tamis de taille 0,8, 0,4 et 0,2 mm (tamis normalisé de type AFNOR PROLABO, Paris). Les sciures comprises entre 0,4 mm et 0,2 mm ont été récupérées, stockées dans des flacons fermés et ont servi ensuite pour faire les extractions.

Le système d'extraction accéléré ASE 200 de la société DIONEX a été utilisé. La technique ASE (Accelerated Solvant Extraction) permet des extractions rapides en utilisant les solvants habituels à des températures et pressions élevées (100°C et 100 bars). Les solvants retenus pour notre extraction étaient le dichlorométhane, l'acétone, le mélange toluène-éthanol (2 :1 v/v) et l'eau. Grâce à l'action combinée température-pression, l'extraction s'effectue en 15 minutes. L'extraction est fortement accélérée (gain de temps d'un facteur de 500 par rapport au Soxhlet) et nécessite peu de solvant. Au facteur rapidité s'ajoute l'automatisation totale du système d'extraction. La masse de sciure ( $m_s$ ) introduite dans la cellule varie de 4 à 7g ce qui



est un peu plus faible qu'avec une cartouche en cellulose de Soxhlet muni d'un réservoir de 60 mL.

Le fonctionnement de l'appareil ASE 200 se fait en plusieurs étapes :

- chargement de la cellule : la cellule contenant l'échantillon est mis dans le four et le mécanisme des aiguilles perce le flacon de récupération ;
- remplissage de la cellule : la cellule est remplie avec du solvant et lorsque celle-ci est pleine et le flacon de récupération contient environ 1 mL de solvant, la vanne statique se referme et le débit s'arrête ;
- chauffage statique : la cellule est chauffée sous pression pendant 5 minutes pour s'assurer que l'échantillon a atteint l'équilibre thermique. Durant le chauffage, la vanne statique s'ouvre périodiquement pour maintenir la pression dans la cellule ;
- rinçage : lorsque la vanne statique s'ouvre, le solvant est de nouveau pompé à travers la cellule (50 à 100% du volume de la cellule), entraînant l'extractible vers le flacon de récupération ;
- purge : le solvant restant est chassé avec le gaz de purge (azote). Le flacon de récupération contient maintenant tout le solvant et les extractibles de l'échantillon. La figure 29 représente le système d'extraction ASE DIONEX utilisé.

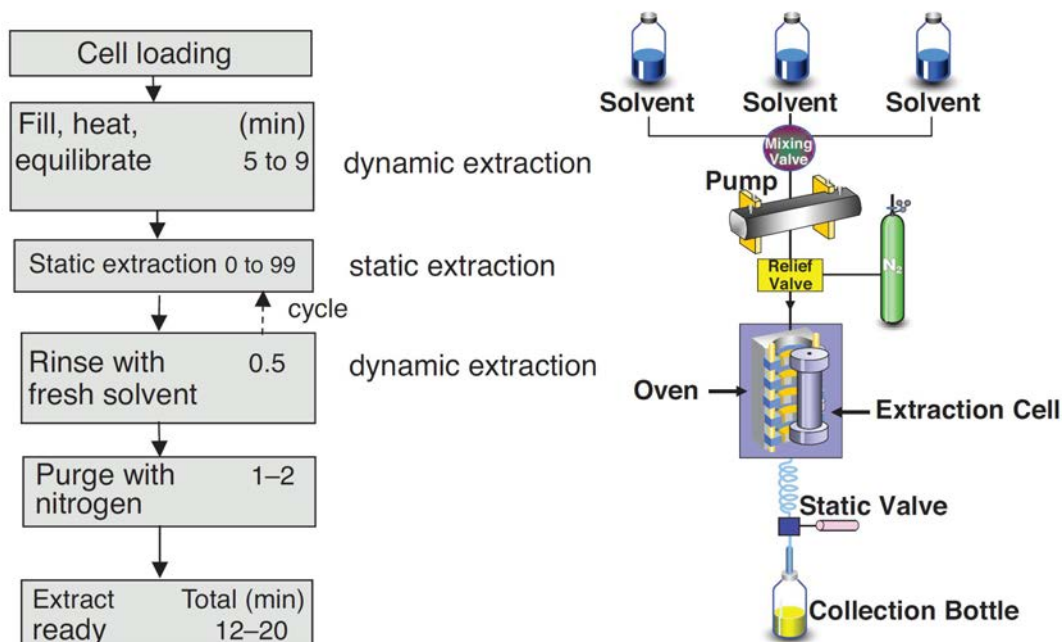


Figure 29 : Schéma du système d'extraction accélérée au Dionex (ASE)

Après extraction, le solvant est éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide, sauf dans le cas des extraits aqueux qui ont été lyophilisés. Les extractibles sont ensuite séchés au dessiccateur en présence du P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> jusqu'à masse constante du ballon (m<sub>b+e</sub>). Le taux d'extractibles est déterminé par la formule (9) suivante.

$$\text{taux d'extractibles (\%)} = \frac{m_{b+e} - m_b}{m_s} \times 100 \quad (9)$$

où m<sub>b+e</sub> est la masse du ballon contenant les extractibles, m<sub>b</sub> est la masse du ballon vide et m<sub>s</sub> la masse de sciure sèche extraite.

Les extractibles sont ensuite récupérés et conservés dans des piluliers à l'obscurité pour les analyses futures.

### 2.2.2. Analyse chimique

#### ➤ *Criblage phytochimique*

A fin de mieux comprendre les propriétés des extractibles, il a été effectué un criblage phytochimique pour identifier les grandes familles chimiques présentes dans les extractibles (Uddin et al., 2011).

#### ✓ *Test des polyphénols*

2 mL d'extractible (1 g/L) sont introduit avec une goutte de perchlorure de fer à 10% dans un tube à essai. L'apparition d'une coloration noirâtre intense, montre la présence des phénols dans l'extra.

#### ✓ *Test des saponines*

L'extractible (25 mg) est mélangé à 15 mL d'eau distillée dans un tube à essai et l'ensemble est porté au bain-marie (30°C) pendant 5 minutes. Après refroidissement, 10 mL de cette solution sont introduit dans un tube à essai et agitée vigoureusement pendant 10 secondes au vortex. La présence d'une mousse persistante d'un cm d'épaisseur après agitation indique la présence des saponines.

#### ✓ *Test des flavonoïdes*

Dans un tube a essai, 2 mg d'extractible sont dissous dans 2 mL d'éthanol à 95% avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique et 0,5 g de tournure de magnésium. La coloration rose prise par la solution indique la présence des flavonoïdes.

✓ **Test des stérols et terpènes**

20 mg d'extractible, 3 mL de chloroforme, 10 gouttes d'anhydride acétique et 2 gouttes d'acide sulfurique concentré sont introduit dans un tube essai. L'ensemble est bien agité avec précaution et le changement de la coloration bleue à la coloration verte indique la présence des stérols et terpènes (Akinjogunla *et al.*, 2010).

✓ **Test des alcaloïdes**

20 mg d'extractible et 10 mL d'une solution diluée d'acide sulfurique à 10% sont introduit dans un tube à essai. L'ensemble est bien agité pendant deux minutes et quelques gouttes de réactifs de Mayer ou de Bouchardart y sont ajoutées. L'apparition d'un précipité jaunâtre avec le réactif de Mayer et d'un précipité brun avec le réactif Bouchardart sont caractéristiques de la présence des alcaloïdes.

➤ **Détermination des phénols totaux et proanthocyanidines (tanins condensés) contenus dans les extractibles**

✓ **Dosages des phénols totaux**

Le dosage des phénols totaux a été réalisé par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu décrite par Scalbert *et al.* (1989) avec une légère modification. L'extractible est dilué dans du méthanol pour obtenir une absorbance finale comprise entre 0 et 0,5. Pour réaliser le dosage, 2,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau distillée) sont ajoutés à 0,5 mL d'extractible. On ajoute ensuite 2 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ( $75 \text{ g.L}^{-1}$ ). Il faut noter que le carbonate de sodium est ajouté 30 secondes à 8 minutes après ajout du réactif de Folin-Ciocalteu à l'extractible. Le blanc de la réaction ne contenant pas de polyphénol est réalisé. Les mélanges réactionnels, correspondant à chaque point de la gamme et échantillon, sont agités et incubés pendant 5 min à  $50^\circ\text{C}$  dans un bain d'eau. Après ce temps de réaction, les tubes à essais sont transférés dans un bain d'eau froide. Le mélange est centrifugé avec une centrifugeuse 5702 (Eppendorf) à 4,4 rpm pendant 10 minutes et l'absorbance est lue à 760 nm grâce à un spectrophotomètre UV-Visible (UV-2550, de la marque SHIMADZU). On réalise une gamme étalon (6 points de concentrations de 0 à  $25 \text{ mg L}^{-1}$ ) avec un polyphénol témoin, de l'acide gallique. Par le biais de la gamme étalon, on calcule la concentration moyenne des polyphénols présents dans les extractibles en mg équivalents d'acide gallique/g d'extractible que l'on a choisi comme témoin. La courbe d'étalonnage établie est donnée par la figure 30 ci-dessous.

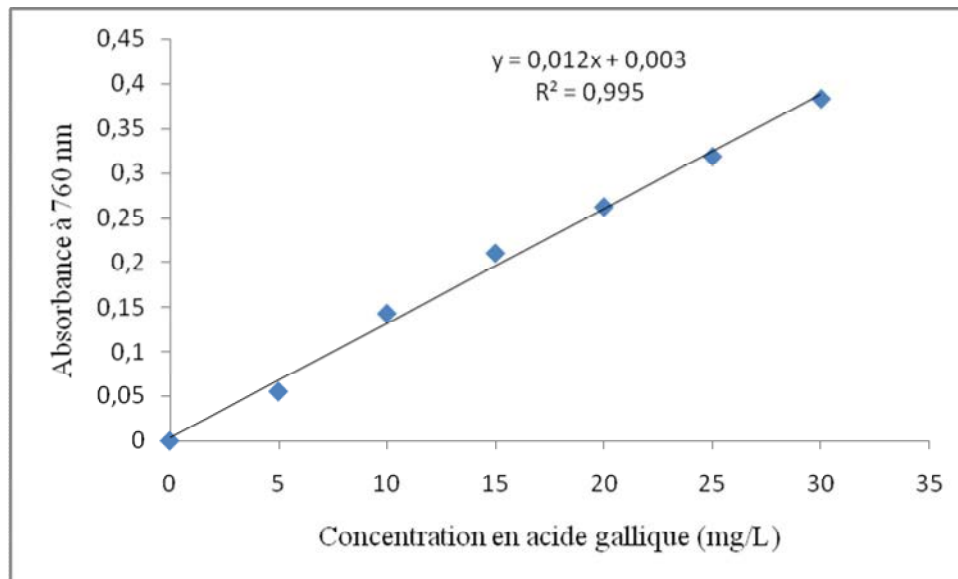


Figure 30 : Courbe d'étalonnage : absorbance à 760 nm de différentes concentrations en acide gallique

✓ **Détermination des proanthocyanidines ou contenu en tannins condensés (TC)**

La technique d'acide/butanol décrite par Chamorro S. *et al.* (2012) a été utilisée pour évaluer les proanthocyanidins contenus dans les extractibles. 0,7g de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ont été introduits dans une fiole d'un litre et dissout avec le mélange 1-butanol/HCl 950 / 50 (v/v). L'ensemble est placé dans un bain à ultrasons (DECON Ultrasonics, FS 100 frequency sweep) pour dissoudre totalement le solide. Dans un tube à essai, on introduit 7 mL de la solution préparée et 50 mg d'extractible. Les tubes à essais sont agités avec précaution pour dissoudre les extractibles, ensuite ils sont chauffés à 95°C pendant 50 minutes. Après ce temps de réaction, les tubes sont refroidis dans un bain de glace et l'absorbance des différentes solutions est lue à 550 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible (UV-2550, de la marque SHIMADZU). Le blanc de la réaction est effectué dans les mêmes conditions sans addition d'extractibles dans le tube à essai. Les tannins condensés (TC) sont exprimés en équivalents de cyanidin-3-O-glucoside après avoir fait une gamme étalon en utilisant les solutions de ce composé comprises entre 0 et 200 mg/L. La courbe d'étalonnage établie est donnée par la figure 31.

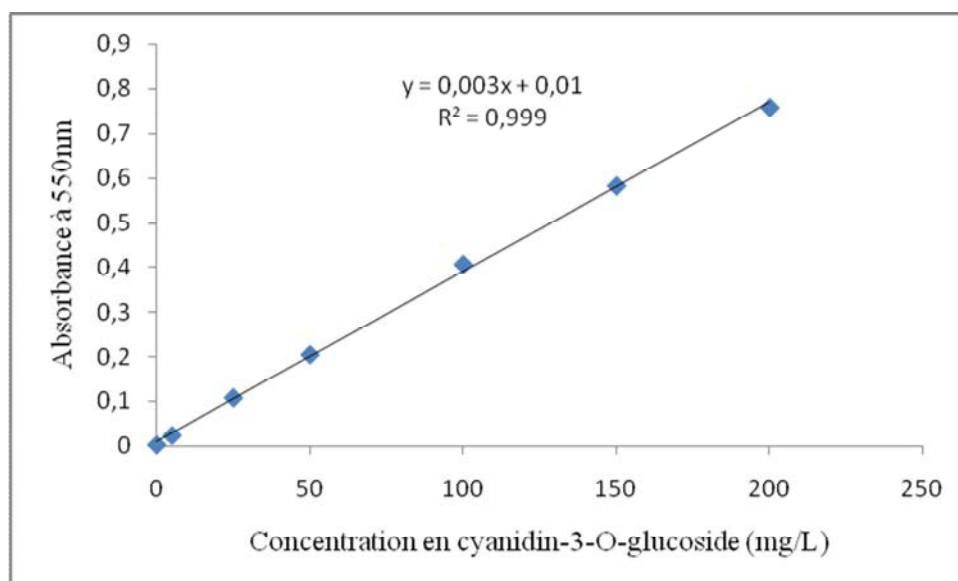


Figure 31 : Courbe d'étalonnage : Absorbance à 550 nm de différentes concentrations en cyanidin-3-O-glucoside

➤ ***Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS)***

L'analyse GC-MS est réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse de type PERKIN ELMER CLARUS 680, couplé à un spectromètre de masse de type PERKIN ELMER CLARUS SQ8, un ensemble piloté par le logiciel TurboMass v.6.1 et disposant d'une base de données NIST MS Search 2.0 de 2011.

Avant injection, les échantillons sont dérivés afin de faciliter la détection de tous les composés présents. Pour cela, 2 mg d'extractibles sont solubilisés avec 50 µL de BSTFA+TMSCl 1% (un agent de silylation) dans un pilulier de 2 mL. Cette préparation est placée pendant 120 min, pilulier fermé, dans une étuve à 70 °C, pour permettre la réaction de l'agent de dérivation sur les extractibles. Le pilulier est ensuite ouvert pour laisser s'évaporer le BSTFA. 1 mL d'acétate d'éthyle est enfin ajouté dans le pilulier pour solubiliser les extractibles silylés, puis 1µL de cette dernière solution est injecté en mode splitless dans la GC, via un injecteur chauffé à 250°C.

La séparation chromatographique est réalisée avec une phase stationnaire DB-5MS (diméthyl- / diphényl-polysiloxane 95%/5% ; longueur : 30m ; diamètre interne : 0.25mm ; épaisseur du film : 0.25µm) avec un programme de température de four de 40 min, comprenant un palier de 2 min à 80°C, une montée à 10°C.min<sup>-1</sup> jusqu'à 190°C, une montée à 15°C.min<sup>-1</sup> jusqu'à 280°C, température maintenue ensuite pendant 10 min et enfin un dernier palier à 300°C

atteint à  $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  et maintenu 14 min et une phase mobile constituée d'Hélium à 1 mL/min.

Après séparation, les composés sont envoyés dans le spectromètre de masse via une ligne de transfert thermostatée à  $250^{\circ}\text{C}$  puis ionisés à 70eV.

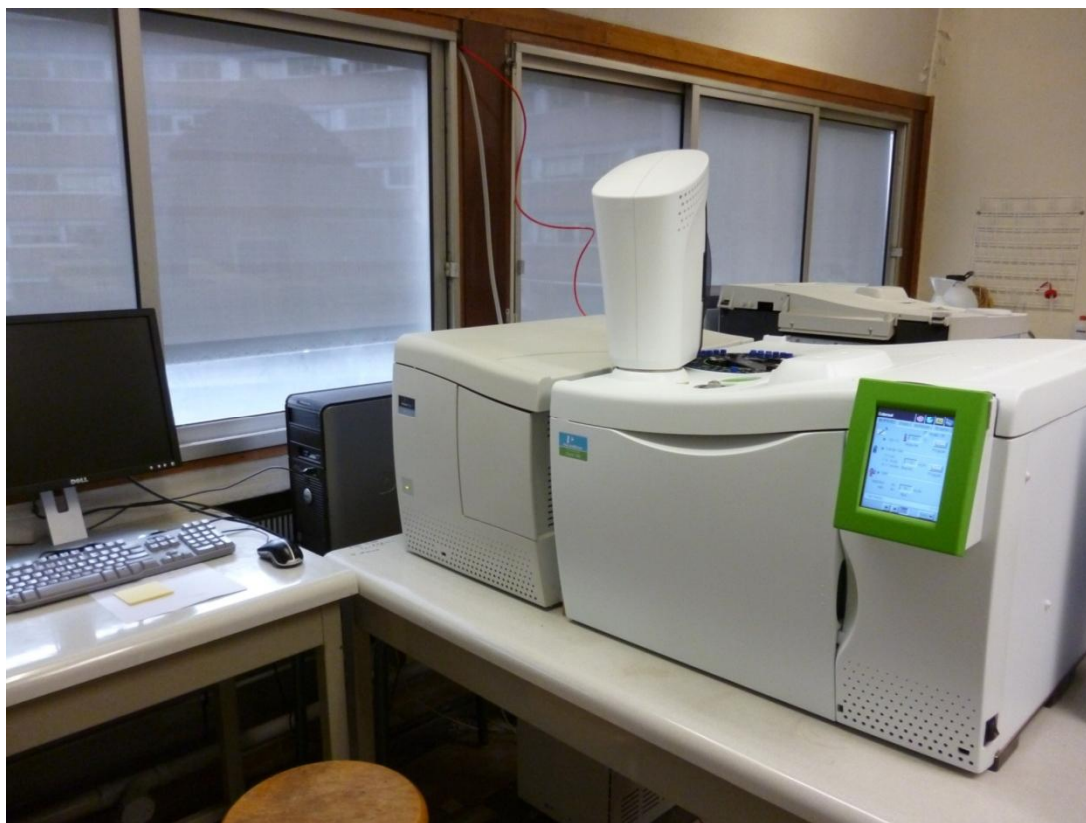


Figure 32 : Appareil de GC-MS

### 2.2.3. Evaluation de l'effet des extractibles sur la durabilité naturelle

#### 2.2.3.1. Test d'inhibition fongique

Les tests antifongiques ont été effectués selon la méthode de Chang *et al.*(1999), avec une légère modification. Les extractibles ont été dissous dans l'acétone.

Le milieu gélosé est préparé en additionnant 40 g de malt et 30 g d'agar dans un litre d'eau distillée. Le mélange est homogénéisé et le pH ajusté à la valeur de 4,8 à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique à 0,1 N. Puis la solution gélosée est stérilisée dans un autoclave à  $120^{\circ}\text{C}$  pendant 25 minutes. Dans des béchers de 300 mL, des solutions acétoniques d'extractibles à différentes concentrations y sont introduites. Après refroidissement (à environ  $40^{\circ}\text{C}$ ), le milieu gélosé est reparti dans les différents béchers. Chaque bécher est bien homogénéisé et reparti dans les boîtes de Pétri de 8,5 cm de diamètre avec 20 mL du milieu gélosé stérilisée sous une hotte à flux laminaire et à proximité d'une flamme. Les milieux sont

laissés au repos sous la hotte pour la solidification. Après solidification, les milieux de culture sont alors inoculés avec d'un disque de mycélium fongique d'une culture de champignon. Les boîtes sont incubées à 22°C et à 70% d'humidité relative (H<sub>r</sub>) dans une enceinte climatique de marque Binder KBF 115 ou à 30°C-35°C et 65-70% d'humidité relative dans une enceinte climatique de marque Stuart Scientific [Incubator S.I 60] (pour le *Pycnoporus sanguineus* uniquement) jusqu'à ce que le mycélium des boîtes sans extractibles (contrôle) ait recouvert la totalité de la surface du milieu de culture (1 à 14 jours). Chaque essai est refait trois fois.

L'indice antifongique (IA) est calculé par la formule 10 :

$$IA (\%) = \frac{DC - DT}{DC} \times 100 \quad (10)$$

où DT est le diamètre (cm) de la zone de croissance dans la boîte contenant les extractibles à différentes concentrations et DC le diamètre (cm) de la zone de croissance dans la boîte contrôle sans extractibles (figure 33). Notons que le milieu acétonique a été choisi pour dissoudre les extractibles à cause des études menées par Déon *et al.*, en 1980. Ces auteurs ont montré que pour des essais d'inhibition, lorsque la substance à tester n'était pas soluble dans l'eau, le meilleur solvant pour dissoudre la substance était l'acétone car ce dernier n'a aucun effet d'inhibition sur les champignons. Il faut toutefois introduire la solution acétonique dans le milieu gélosé à une dose de 10% au maximum (Déon *et al.*, 1980). Il faut toutefois noter que nous avons fait un blanc à l'acétone pour se rassurer que ce dernier n'inhibe pas la croissance du champignon.

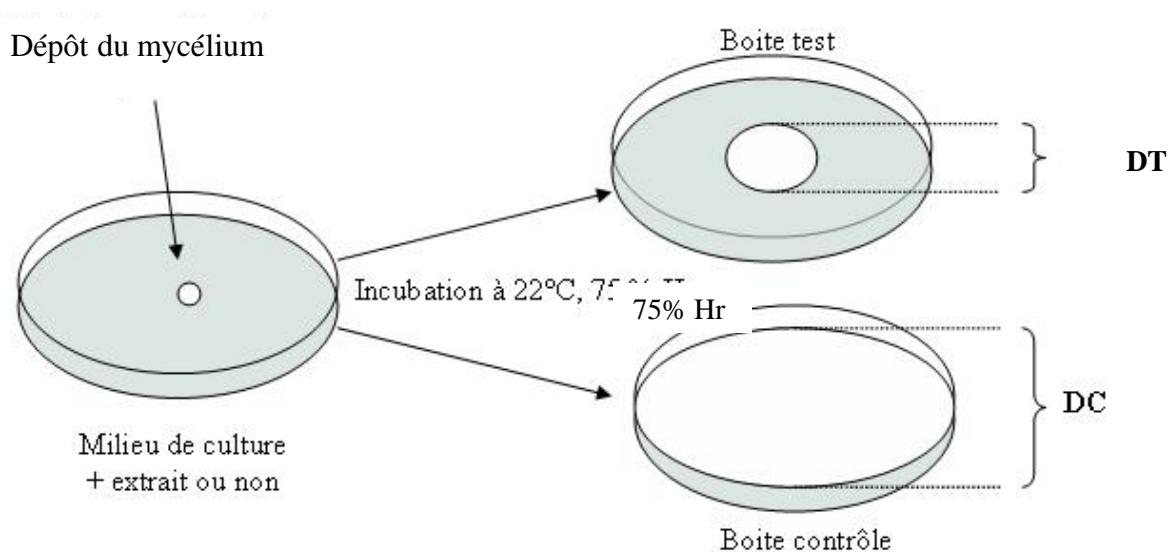


Figure 33 : Schéma de l'évaluation de l'activité antifongique par mesure du diamètre de croissance du mycélium



### 2.2.3.2. Préparation des éprouvettes de bois

Les éprouvettes d'ayous, moabi, movingui, padouk et tali ont été toutes préparées de la même manière. Les dimensions des éprouvettes sont de  $25 \times 15 \times 5 \text{ mm}^3$  selon les directions longitudinale, radiale et tangentielle respectivement, pour les essais en laboratoire. Les éprouvettes sont poncées, numérotées et mises à sécher à  $103^\circ\text{C}$  pendant 48 heures avant d'être pesées ( $m_0$ ). Une partie de ces éprouvettes a été extraite au Soxhlet pour évaluer l'influence des extractibles sur la durabilité naturelle de ces essences.

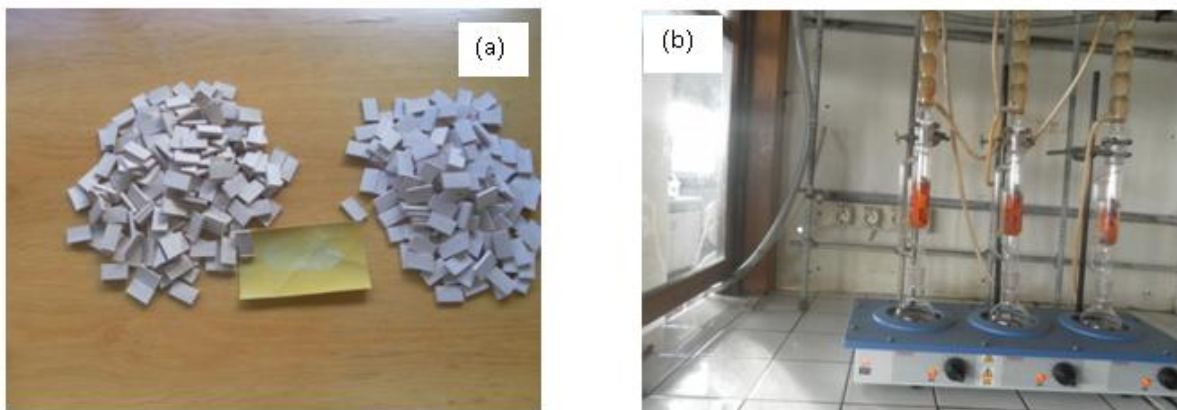


Figure 34 : (a) Eprouvettes poncées ; (b) extraction des éprouvettes au Soxhlet

### 2.2.3.3. Confrontation des éprouvettes aux agents de dégradation

Le milieu de culture est préparé selon le protocole indiqué en 2.2.3.1. Il est à noter que dans ce cas on introduit puis les extractibles.

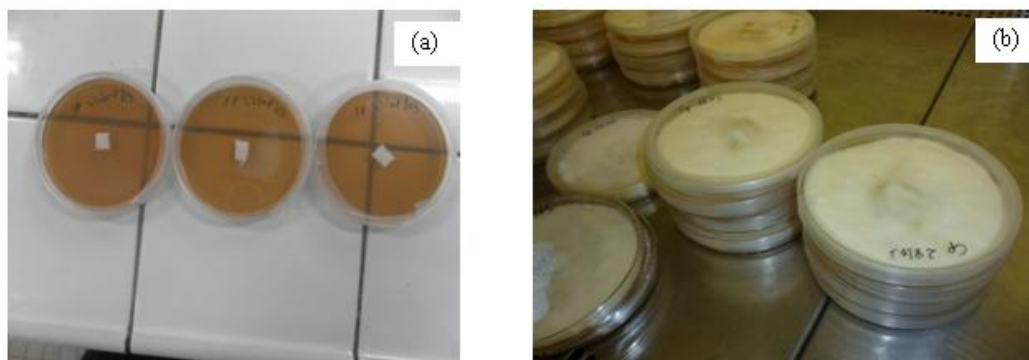


Figure 35 : (a) Inoculation du champignon ; (b) colonisation de la boîte par le mycélium

Après colonisation des boîtes de Pétri par le mycélium, les éprouvettes stérilisées (à  $103^\circ\text{C}$  pendant 48 heures), numérotées et pesées sont mises en contact du champignon sous conditions stériles. Elles sont posées sur du grillage de dimension  $30 \times 20 \times 10 \text{ mm}^3$



préalablement stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 25 minutes à 1 bar. Les boîtes de Pétri sont fermées avec du papier parafilm et laissées incuber dans les enceintes climatiques.

Chaque essai est réalisé en quadruplet à raison de trois (3) éprouvettes par boîte de pétri. Les éprouvettes sont ainsi incubées pendant 16 semaines selon la norme européenne EN 113. A la fin de la période d'incubation, les éprouvettes sont débarrassées du mycélium et pesées ( $m_1$ ). Les éprouvettes sont ensuite séchées à 103°C pendant 48 heures puis pesées ( $m_2$ ). Le taux d'humidité et les pertes de masse d'échantillons sont ensuite déterminés par les formules 11 et 12 :

$$\text{taux d'humidite (\%)} = \frac{m_1 - m_2}{m_2} \times 100 \quad (11)$$

$$\text{pertes de masse (\%)} = \frac{m_0 - m_2}{m_0} \times 100 \quad (12)$$

où  $m_0$  est la masse initiale de l'échantillon séché à 103°C,  $m_1$  est la masse de l'échantillon non séché mais débarrassé du mycélium et  $m_2$  la masse de l'échantillon séché à 103°C après exposition aux champignons.

## 2.2.4. Evaluation du pouvoir antioxydant des extractibles

### 2.2.4.1 Inhibition de l'oxydation induite du linoléate de méthyle induite par l'azobisisobutyronitrile

0,4 M de linoléate de méthyle (LH),  $9.10^{-3}$  M azobisisobutyronitrile (AIBN) et  $0,1 \text{ g.L}^{-1}$  extractibles sont introduits dans le réacteur et la pression d'oxygène est fixée à 145 Torr. Le solvant utilisé pour dissoudre le linoléate de méthyle, l'AIBN et les extractibles est le butan-1-ol. Pour les antioxydants présentant une mauvaise solubilité dans le butanol-1-ol à température ambiante, ils sont préalablement dissous, en quantité convenable, dans du méthanol, lequel est ensuite évaporé sous vide dans le réacteur avant l'ajout des autres réactifs. Le milieu réactionnel est porté à 60°C pendant 4 heures. L'évolution de la pression en oxygène au cours du temps, révélatrice de la quantité d'oxygène consommée durant cette oxydation, est enregistrée automatiquement par un système informatisé élaboré au sein du laboratoire. L'azote libérée par l'AIBN au cours de la réaction est de très faible quantité, par conséquent la pression mesurée est pratiquement celle d'oxygène. L'activité antioxydant (OUI) est calculée par la formule 13 :

$$\text{OUI (\%)} = \frac{\Delta P (O_2)_{3h} \text{ en absence d'extraits} - \Delta P (O_2)_{3h} \text{ en presence d'extraits}}{\Delta P (O_2)_{3h} \text{ en absence d'extraits}} \times 100 \quad (13)$$

L'activité antioxydante est comprise entre 0 et 100% respectivement pour les antioxydants faibles et forts et peut être négative pour les pro-oxydants. Toutes les manipulations ont été faites trois fois pour s'assurer de la reproductibilité des résultats. L'influence d'un extractible sur l'auto oxydation du LH induite par l'AIBN est illustrée à la figure 36.

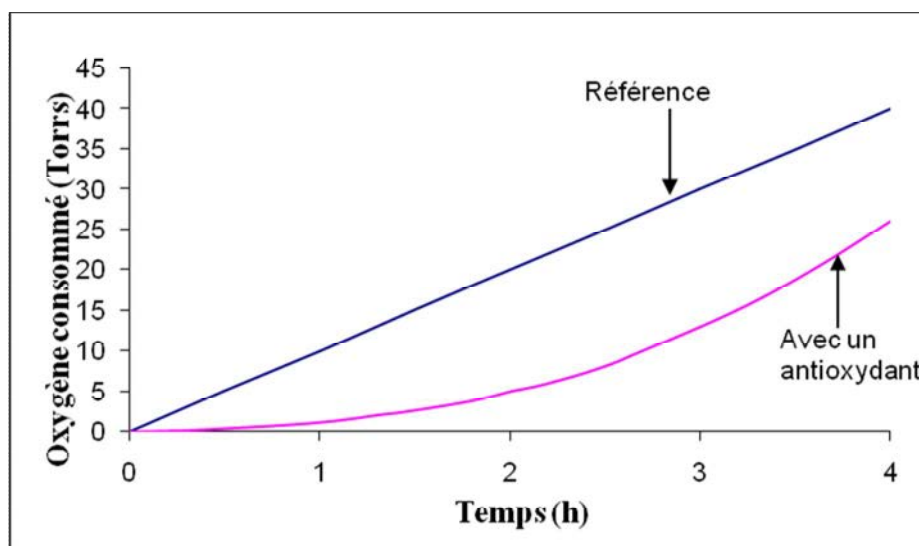


Figure 36 : Schéma de l'influence d'un extractible sur l'auto oxydation d'un substrat

#### 2.2.4.2 Méthode thermodynamique : détermination de la concentration efficace (CE50) en composés phénoliques telle 50% du DPPH ait réagi

Cet essai a été réalisé par la méthode décrite par Brand-Williams *et al.*, en 1995. On introduit, dans un tube à essai, 1 mL de DPPH et 1 mL d'extractible dissout dans du méthanol. L'ensemble est placé dans un bain d'eau à 30°C, agité doucement en l'absence de lumière pendant 30 minutes. Après ce temps d'incubation, l'absorbance est lu à 516 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (UV-2550 de la marque SHIMADZU). Les conditions initiales dans la cuve sont les suivantes : DPPH à  $10^{-4}$  M ; extractibles dans des concentrations variant entre 0,5 mg/L et 55 mg/L. La capacité des extractibles à piéger les radicaux libres (CEP) est calculée par la formule suivante :

$$CEP (\%) = \frac{A - B}{A} \times 100 \quad (14)$$

où A est l'absorbance du contrôle (DPPH sans extractible), B est l'absorbance de la solution de DPPH en présence des extractibles. Tous les essais ont été tripliqués. Par ailleurs la concentration efficace pour consommer 50% de DPPH (CE<sub>50</sub>) a été déterminée. Les faibles CE<sub>50</sub> correspondent aux activités antioxydantes élevées.

## **2.2.5. Evaluation de la capacité des extractibles à teindre une fibre naturelle, le coton et deux fibres artificielles, les viscoses de cellulose de bois et de cellulose de bambou.**

### **2.2.5.1. Extraction du colorant**

L'extraction a été faite avec un rapport fibre-liquide (F/L) de 1/10 (m/v). Le solvant utilisé pour l'extraction des colorants est de l'eau distillée d'une part et une solution aqueuse de soude (NaOH) aux différentes concentrations : 0,05 M ; 0,1 M ; 0,2 M ; 0,3 M ; 0,4 M et 0,5 M d'autre part. 15 g de sciure sont introduits dans un Erlenmeyer et recouverts de 150 mL de solvant, l'ensemble étant hermétiquement fermé ensuite avec une couche de parafilm et du papier aluminium sur le goulot. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure sous agitation (Shaukat *et al.*, 2009; Bechtold *et al.*, 2007; Harivaindaran *et al.*, 2008; Sivakumar *et al.*, 2011) . Sans étape de refroidissement, le mélange est filtré sous vide et le filtrat récupéré. Il servira comme matière colorante des fibres choisies avec ou sans mordant. Le taux d'extractibles est déterminé après séchage à l'étuve à 103°C pendant 24 h du résidu obtenu après extraction par la formule ci-dessous.

$$TE (\%) = \frac{(m_1 - m_2)}{m_1} \times 100 \quad (15)$$

où  $m_1$  est la masse de sciure sèche introduite dans le bécher après correction du taux d'humidité,  $m_2$  la masse de sciure après extraction et séchage à l'étuve pendant 24 h à 103°C.

### **2.2.5.2. Mesure de l'absorbance du filtrat**

Pour avoir des absorbances inférieures à 1 afin de respecter la loi de Beer-Lambert, les extractibles alcalins ont été dilués dix fois avec de l'eau distillée alors que les extractibles aqueux n'ont subi aucune dilution. L'absorbance est lue avec un spectrophotomètre de type SHIMADZU (UV-2550, UV-visible) en utilisant une cuve en quartz de 10.00 mm. L'adsorption maximale des différentes solutions est ensuite déterminée.

### **2.2.5.3. Méthode de coloration**

#### **➤ Sans mordant**

La solution colorante est préparée par dilution au cinquième de la solution mère (solution obtenue après extraction des sciures). 1g de fibre à colorer est introduit dans un bécher de 75 mL et recouvert de 25 mL de solution colorante. L'ensemble étant hermétiquement fermé et mis dans un bain thermostaté à 25°C sous agitation pendant 30 minutes pour permettre l'adsorption du colorant par la fibre. Après cette période d'adsorption, la température est

élevée à 60°C pendant 2 heures pour permettre la fixation du colorant sur la fibre. Après ce temps, la fibre colorée est enlevée et débarrassée du reste de solution, puis lavée avec 75 mL d'eau distillée à 60°C pendant 30 minutes pour débarrasser la fibre du reste de colorant non fixé. La figure 37 nous montre les étapes d'absorption et de fixation du colorant sur la fibre.

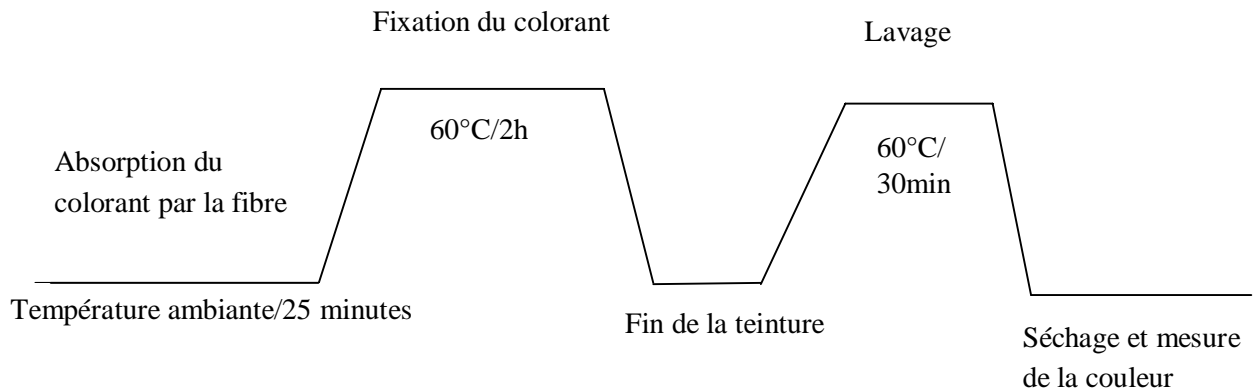


Figure 37 : Schéma des différentes étapes d'absorption et de fixation du colorant sur la fibre

#### ➤ Avec mordant

Avant d'introduire la solution colorante, les fibres sont initialement traitées avec le mordant. Ces fibres sont traitées préalablement avec 25 mL de mordant à base de fer ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ou d'aluminium ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ) pendant 30 minutes à température ambiante. Après ce temps de traitement, 10 mL de la solution colorante préparée telle que décrit en 2.2.4.1 y est ajoutée. Après ajout de la solution colorante, le protocole décrit en 2.2.4.1 est suivi. Les pourcentages des métaux fer et aluminium dans les solutions sont respectivement de 1% et de 3%.

#### ➤ Lessivage

Il est effectué selon la norme ISO 105-CO3. Nous avons préparé une solution de lavage à l'aide du détergent de la société Ecolab Ltd (Pantastic plus, 5mL pour 10L d'eau). Les échantillons colorés sont lavés dans cette solution de savon à 60°C pendant 30 minutes, avec un rapport matériel/liquide de 1 : 50 (m/v). Après lavage, le matériel est rincé à de l'eau distillée et séché à 70°C pendant 48 heures.

#### 2.2.5.4. Mesure de la couleur

Les mesures de variations de couleurs sont effectuées à l'aide d'un Daticolor D65°10 qui fournit les valeurs de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ .  $a^*$  et  $b^*$  représentant l'écart de teinte par rapport à une référence.

$\Delta L^*$  : écart de luminance.  $\Delta L^* > 0$  signifie que l'échantillon est plus clair que l'échantillon standard,  $\Delta L^* < 0$  signifie que l'échantillon plus sombre que l'échantillon standard.

$\Delta a^*$  : variation de chromaticité sur un axe vert-rouge.  $\Delta a^* > 0$  signifie que l'échantillon est plus rouge que le standard et  $\Delta a^* < 0$  signifie que l'échantillon plus vert que le standard.

$\Delta b^*$ : variation de chromaticité sur un axe jaune-bleu.  $\Delta b^* > 0$  signifie que l'échantillon plus jaune que le standard et  $\Delta b^* < 0$  signifie que l'échantillon plus bleu que le standard.

$\Delta E^*$  : écart globale de couleur avec

$$\Delta E^* = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2} \quad (16)$$

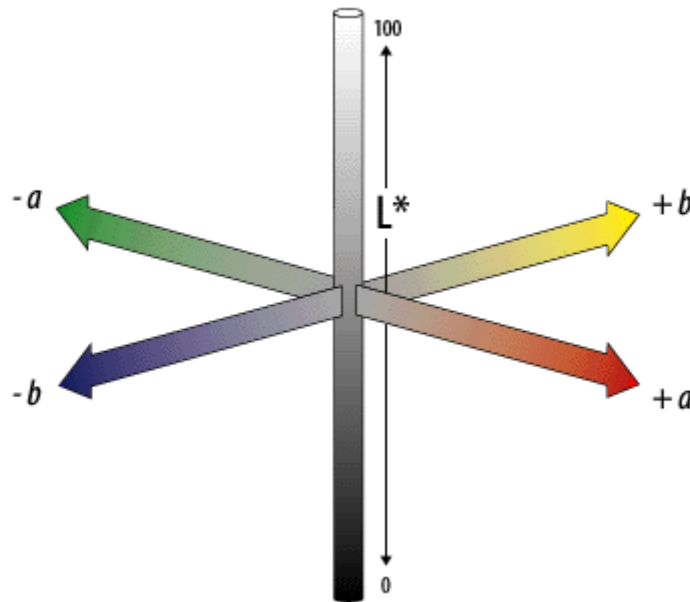


Figure 38 : Espace colorimétrique du système CIE-L\*a\*b\*

### 2.2.6. Evaluation de l'activité antibactérienne des extractibles.

Les tests antibactériens ont été effectués par la technique de fluorescence en microplaques. Cette technique à l'avantage qu'elle permet de faire quarante tests simultanés plus un témoin négatif et positif en duplicat.

Les solutions des extractibles ont été préparées à des concentrations de 100, 500 et 1000 ppm. Les essais ont été réalisés sur une microplaque de 96 puits. Les solutions préparées sont stérilisées à l'aide d'un micro-onde pendant deux minutes. 50  $\mu$ L d'extractibles à une concentration donnée, 60 $\mu$ L de réactif (rézasurine = sonde fluorescente), 120 $\mu$ L de bouillon

(milieu riche ou milieu pauvre constitué de glucose à 0,1g/L) et 20µL de la culture bactérienne sont introduits à l'aide d'une pipette eppendorf dans les puits de la microplaque de marque Greiner. Lors de chaque essai d'une microplaque, on réalise un témoin négatif (constitué de la bactérie et de l'eau) et un témoin positif (constitué du milieu de culture sans extractibles). Chaque essai est réalisé en duplicat. Après avoir rempli la microplaque, on la recouvre à l'aide d'un adhésif perméable au dioxygène. Ce dispositif permet de protéger le système des contaminations extérieures et surtout l'oxygénation pendant la période d'incubation. La microplaque est ensuite incubée à  $(30,0 \pm 0,5)$  °C pendant 72 heures au Fluorimètre Flx800 de marque Biotek. La lecture de la fluorescence (réduction de la résazurine en résorufine suite à l'oxydation du substrat) de chaque puits est faite toutes les 15 minutes et les données enregistrées durant toute la durée de l'incubation. Les données transférées et traitées dans Excel, nous ont permis de calculer l'indice antibactérien (IAB) par la formule 17 :

$$IAB (\%) = \frac{A - B}{A} \times 100 \quad (17)$$

où A est la fluorescence du témoin positif, B est la fluorescence du puit contenant l'extractible

## CHAPITRE 3

### EXTRACTION, QUANTIFICATION ET CARACTERISATION DES EXTRACTIBLES

Dans ce chapitre est présenté les résultats du taux d'extractibles, du criblage phytochimique des extractibles, du taux de phénols et de tanins condensés et enfin l'identification des composés présents dans les extractibles par GC-MS.

#### 3.1. Taux d'extractibles des différentes essences de bois

Deux types d'extraction ont été effectués : une extraction successive et une extraction en parallèle. Dans la littérature en générale, c'est l'extraction successive qui est effectuée. L'extraction en parallèle a été effectuée pour savoir quel type d'extraction pourrait donner de meilleurs résultats. Le dichlorométhane, l'acétone, le mélange toluène-éthanol (2 :1 ; v/v) et de l'eau ont été utilisés comme solvant d'extraction. Dans le cas de l'extraction successive, l'extraction est faite dans l'ordre croissant de polarité des solvants (en partant des solvants les moins polaires vers solvants les plus polaires). Les résultats de ces extractions sont consignés dans le tableau 4.

Tableau 4:

(a) Taux d'extractibles (moyenne de quatre essais, écart type) obtenus par une extraction en parallèle

Solvant	Essences de bois				
	Ayous	Moabi	Movingui	Padouk	Tali
Dichlorométhane	-	1,9 ± 0,2	9,0 ± 0,5	6,3 ± 0,2	2,7 ± 0,7
Acétone	-	13,1 ± 0,4	9,9 ± 0,5	9,1 ± 1	7,7 ± 0,5
Toluène/éthanol	-	7,8 ± 0,2	8,7 ± 0,1	7,8 ± 0,3	8,5 ± 0,4
Eau	-	8,4 ± 0,3	3,8 ± 0,1	4,0 ± 0,1	10,0 ± 0,2

(b) Taux d'extractibles (moyenne de quatre essais, écart type) obtenu par une extraction successive

Solvant	Essences de bois				
	Ayous	Moabi	Movingui	Padouk	Tali
Dichlorométhane	0,7 ± 0,1	1,5 ± 0,2	6,4 ± 0,3	7,3 ± 0,2	2,4 ± 0,2
Acétone	1,1 ± 0,2	7,7 ± 0,3	4,1 ± 0,3	4,2 ± 0,5	8,8 ± 0,3
Toluène/éthanol	0,8 ± 0,1	3,1 ± 0,1	2,8 ± 0,1	2,5 ± 0,1	3,2 ± 0,4
Eau	1,8 ± 0,1	4,3 ± 0,3	2,8 ± 0,2	2,6 ± 0,3	4,3 ± 0,4
Total	4,4 ± 0,5	16,6 ± 0,9	16,1 ± 0,9	16,7 ± 1	17,7 ± 1

- signifie que le taux d'extractibles n'a pas été déterminé

Il ressort que le taux d'extractibles varie d'un solvant à l'autre et d'une essence à l'autre. Les taux d'extraction au dichlorométhane donnent pratiquement le même résultat quel que soit le type d'extraction. Ceci peut s'expliquer par le fait que le dichlorométhane est le premier solvant utilisé lors de l'extraction successive et le solvant le moins polaire. Pour l'extraction en parallèle, on note que le taux d'extractible le plus élevé est obtenu avec le moabi (13,1% d'extractible avec de l'acétone) et le plus faible est obtenu avec la même essence et pour solvant d'extraction le dichlorométhane (1,9%). Dans le cas de l'extraction successive, le taux d'extractibles le plus élevé a été obtenu avec le tali (8,8% d'extractibles acétonique) et le taux le plus faible a été obtenu avec l'ayous (0,7% d'extractibles au dichlorométhane). Ces résultats sont en accord avec la littérature. Lors de l'étude des bois tropicaux par le centre technique forestier tropical, on a trouvé des taux d'extractibles variant de 1,3% (extractibles à l'eau du movingui) à 13% (extractibles à l'alcool-benzène du movingui). On peut noter qu'aucun des solvants utilisés ne peut extraire seul tous les extractibles du bois. Les solvants non-polaires extraient majoritairement les substances apolaires (huiles, graisse, terpènes) alors que les solvants polaires solubilisent les composés polaires tels que les polyphénols. L'extraction successive qui combine solvants apolaires et polaires permet de partitionner les extractibles des bois en différentes fractions et le total d'extractibles donne une idée de la teneur totale d'extractibles du bois. Le total d'extractibles des bois étudiés varie de 4,4% (ayous) à 17,7% (tali). La teneur relativement faible en extractibles de l'ayous comparée aux autres bois (total d'extractibles autour de 16-17%) viendrait du fait que cette essence ne possède pratiquement pas de bois de cœur. Le bois de cœur étant la partie non vivante de l'arbre, possède de grande quantité d'extractibles. Des études menées sur d'autres essences tropicales ont rapportés des taux d'extractibles très variables avec parfois de fortes teneurs de 20 à 22% pour certains bois (Huang *et al.*, 2009 ; Sirmah 2009 ; Mburu *et al.*, 2007 ; Neya *et al.*, 2004 ; Cheumani, 2009). Après obtention des extractibles, nous sommes passés ensuite au test qualitatif des différents groupes de molécules que l'on peut retrouver dans les extractibles.

### **3.2. Criblage phytochimique des extractibles**

Le criblage phytochimique permet l'identification qualitative des différentes familles de composés présentes dans les extractibles. Ceci permet d'avoir une idée sur la réactivité des extractibles lors des essais sur l'efficacité antifongique des extractibles par exemple. Les résultats sont présentés dans le tableau 5.



Tableau 5 : Criblage phytochimique des extractibles (extraction successive)

Composés recherchés	Procédure d'identification	Solvants	ayous	moabi	Movingui	Padouk	Tali
Polyphénols	fer(III) chlorure	Dichlorométhane	-	-	++	+++	+
		Acétone	+	+	+++	+++	+++
		Toluène/éthanol	+	++	+++	+++	+++
		Eau	-	+	++	+++	++
Saponines	Pouvoir aphrogène	Dichlorométhane	-	++	-	-	-
		Acétone	-	+++	-	-	+
		Toluène/éthanol	-	+++	-	-	+
		Eau	-	+++	-	-	-
Flavonoïdes	Test de Shinoda	Dichlorométhane	-	-	+	+	+
		Acétone	+	+	+++	+++	+++
		Toluène/éthanol	+	++	+++	+++	+++
		Eau	-	+	+	++	++
Stérols et terpènes	Liebermann-Buchard	Dichlorométhane	-	-	-	-	-
		Acétone	-	++	++	+	+
		Toluène/éthanol	-	+++	+++	++	++
		Eau	-	+	+	+	+
Alcaloïdes	Mayer, Bouchardat	Dichlorométhane	-	-	-	-	-
		Acétone	-	-	-	-	+
		Toluène/éthanol	-	-	-	-	+
		Eau	-	-	-	-	-

Coloration : +++ : très intense ; ++ : moyennement intense ; + : pas très intense ; - : absence

Il ressort de ce tableau que les fractions d'extractibles aux différents solvants contiennent des polyphénols sauf les extractibles de l'ayous et du moabi extraits au dichlorométhane et à l'eau. On constate l'absence des saponines dans les extractibles de movingui, padouk, d'ayous, des extractibles aqueux et au dichlorométhane du tali. Par contre, on retrouve assez de saponines dans les extractibles de moabi et de faibles quantités dans l'extractible acétonique et au toluène-éthanol du tali. Les flavonoïdes se retrouvent dans presque tous les extractibles sauf ceux obtenus au dichlorométhane d'ayous et de moabi. Les stérols et les terpènes ont été identifiés dans tous les extractibles sauf dans les extraits d'ayous et de dichlorométhane avec toutes les essences. Les alcaloïdes n'ont été trouvés que dans les extraits acétoniques et au toluène-éthanol du tali. La présence de toutes les classes de composés dans les bois tropicaux a été reportée dans la littérature. Kilic et Niemz (2012) lors de l'étude des extractibles de quelques essences tropicales, mirent en évidence la présence des composés lipophiles (principalement les acides gras) et des composés hydrophiles (acides phénoliques, flavonoïdes, stérols, stilbènes et lignanes). Ces auteurs ont étudié les bois généralement rencontrés au Cameroun tel que l'azobé, le wengué, le doussié, le bilinga et le bété. A partir de ceci, nous pouvons conclure sur la présence effective des différents composés obtenus dans les différents extractibles. Oliviera et *al.* (2010) lors de l'étude de la croissance des

champignons sur des sciures de tropicaux brésiliens trouvèrent dans certains extractibles la présence des alcaloïdes, saponines, tannins, flavonoïdes, stéroïdes et terpènes. On peut noter par ailleurs que les polyphénols et les flavonoïdes ont été reportés dans la littérature comme des composés possédant des propriétés antioxydantes, antibactériennes et antifongiques et confèrent la durabilité naturelle au bois (Amusant et *al.*, 2007). Selon la fiche technique du CIRAD sur l'ayous (TROPIX 7.4 PP), cette essence est considérée comme non durable donc ne renfermera pas assez de composés phénoliques. Le moabi, movingui et padouk étant classé comme des essences durables, le tali étant considéré comme une essence très durable.

### 3.3. Dosage des phénols totaux

Les teneurs en phénols totaux des bois étudiés ont été déterminées en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats sont donnés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Phénols totaux contenus en mg éq acide gallique/g d'extractible (écart type sur les valeurs est de  $\pm 0.003$ )

(a) Extraction successive

Solvant	Essences de bois				
	Ayous	Moabi	Movingui	Padouk	Tali
Dichlorométhane	16,5	18,24	65,3	71,67	20,25
Acétone	64	64,52	163	111,67	165,83
Toluène-éthanol	27,83	30,87	120	78,83	98,33
Eau	19,08	25,91	35,41	34,42	39,92

(b) Extraction en parallèle

Solvant	Essences de bois				
	Ayous	Moabi	Movingui	Padouk	Tali
Dichlorométhane	-	-	479	277	-
Acétone	-	54	490	273	581
Toluène-éthanol	-	68	602	430	992
Eau	-	80	150	108	646

Après évaluation des phénols totaux, nous avons évalué le contenu en tannins condensés dans les extractibles.

Les teneurs en phénols totaux des différentes fractions varient respectivement de 16,5 à 165,83 et 54 à 992 équivalents en acide gallique/g d'extractible. On constate que la teneur en phénols totaux varie d'un solvant à un autre, d'une essence à une autre et en fonction du type d'extraction. L'ayous et le moabi présentent globalement les plus faibles teneurs en phénols totaux comme le montre les résultats du Tableau 7 obtenus avec les fractions d'extractibles de l'extraction successive. Si on ramenait cependant les teneurs au bois tout entier, l'ayous, avec sa teneur total en extractibles relativement basse, présenterait des teneurs en phénols totaux considérablement plus faible que le moabi. Le taux de phénols le plus élevé est obtenu dans ce

cas avec les extractibles de tali avec comme solvant l'acétone et le plus faible avec le moabi et comme solvant le toluène-éthanol. On constate que si l'on compare la teneur en phénols totaux entre les deux types d'extractions, les extractions en parallèle possèdent des taux plus élevés que ceux obtenus avec les extractions successives. Ceci peut s'expliquer par le fait dans le cas de l'extraction en parallèle, les extractibles agissent en synergies d'où l'obtention des résultats très élevés par rapport à l'extraction successive. Ces résultats sont en accord avec le criblage phytochimique qui montre que les extractibles acétoniques et au toluène-éthanol sont riches en phénols. Les extractibles de padouk, movingui et tali possèdent assez de phénols par rapport aux extractibles d'ayous et de moabi. Les travaux menés par Huang et al. (2009) sur l'étude de vingt-deux essences tropicales montrent des résultats similaires. On peut conclure que ces résultats sont en accord avec ses travaux.

### 3.4. Dosage des proanthocyanidines ou tanins condensés

Pour évaluer les proanthocyanidines dans les extractibles, nous avons utilisé la méthode colorimétrique. Les résultats exprimés en g cyanidine équivalents/100 g de matière sèche sont consignés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Proanthocyanidines contenus en g cyanidine équivalents/100 g de matière sèche lors de l'extraction successive

Solvant	Essences de bois				
	Ayous	Moabi	Movingui	Padouk	Tali
Dichlorométhane	-	0,15 ± 0,003	3,84 ± 0,003	9,53 ± 0,003	0,30 ± 0,003
Acétone	-	2,03 ± 0,003	6,97 ± 0,003	14,59 ± 0,003	5,08 ± 0,003
Toluène-éthanol	-	3,68 ± 0,003	5,26 ± 0,003	23,61 ± 0,003	6,39 ± 0,003
Eau	0,55 ± 0,003	0,25 ± 0,003	2,54 ± 0,003	8,64 ± 0,003	2,72 ± 0,003

- signifie pas définie car quantité d'extractibles insuffisante pour réaliser l'expérience

La teneur en proanthocyanidines varie de 0,15 à 23,61 g cyanidine équivalents/100 g de matière sèche. Cette teneur varie d'une essence à l'autre et d'un solvant à l'autre. Ceci s'explique par le fait les extractibles sont assez différents d'une essence à l'autre et d'un solvant à l'autre comme nous l'avons constaté avec le criblage phytochimique. Nous constatons que le taux le plus faible est obtenu avec les extractibles au dichlorométhane du moabi et le taux le plus élevé avec les extraits au mélange toluène-éthanol du padouk. Chamorro *et al.* (2012) lors de l'étude des extractibles de marc et pépins de raisin ont obtenu des contenus en tanins condensés variant de 14,4 à 18,9 g cyanidin-3-0-glucoside équivalents/100 g d'extractible sec. De ce tableau, nous pouvons dire que l'essence la plus riche en contenus proanthocyanidines est le padouk et la moins riche est l'ayous.

### **3.5. Analyse GC-MS**

Dans ce paragraphe, les noms des composés identifiés ont été donnés sans faire mention des groupements triméthylsilyle ajoutés pour dériver les extractibles et se retrouvant donc dans les molécules proposées par la base de données.

#### **3.5.1. Extractibles d'ayous**

Sur la figure 39 sont présentés les chromatogrammes des extractibles aux différents solvants d'ayous.

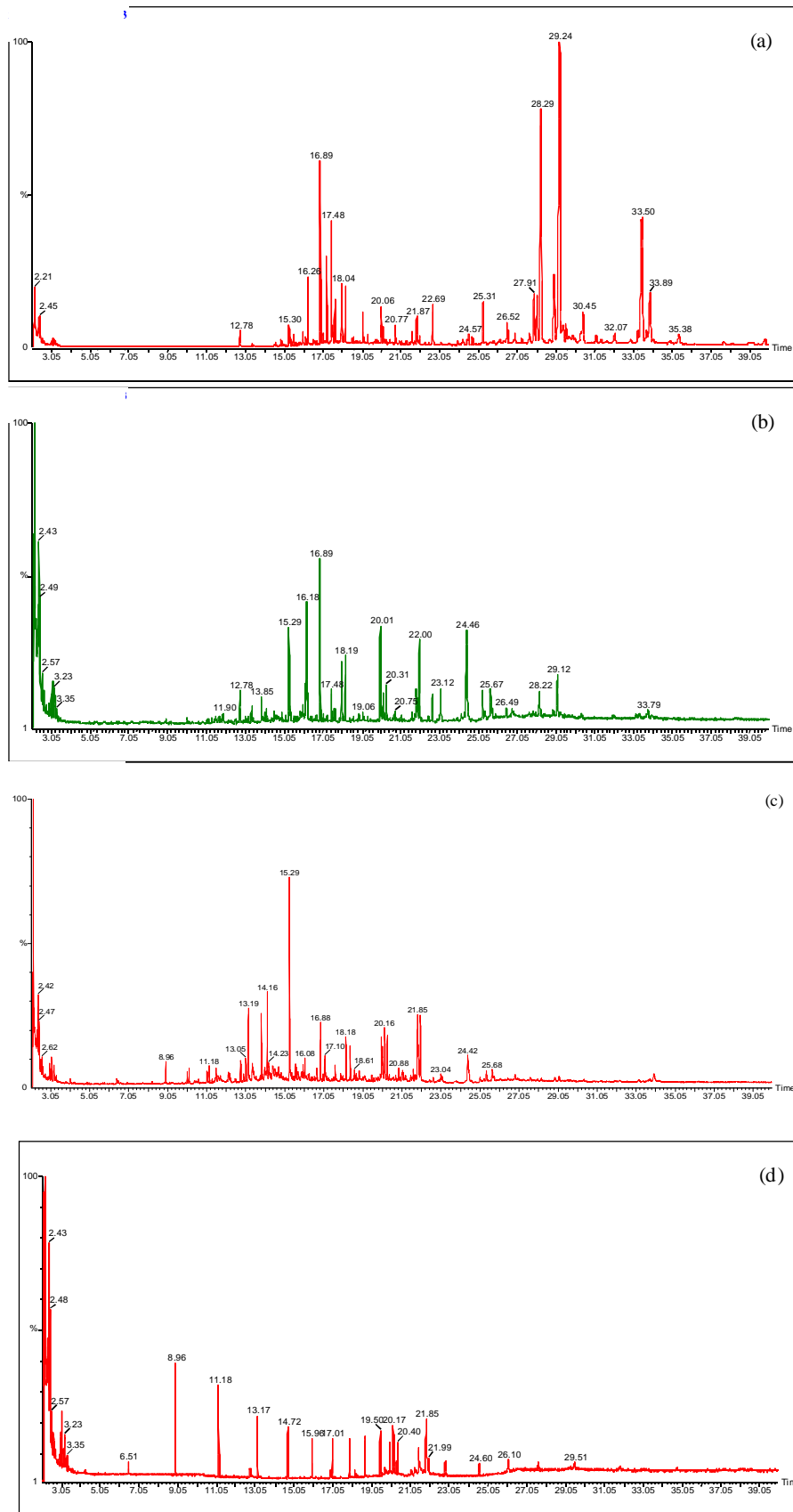


Figure 39 : Chromatogrammes des différents extractibles d'ayous : (a) extractible au dichlorométhane ; (b) extractible à l'acétone ; (c) extractible au toluène-éthanol ; (d) extractible à l'eau.

L'analyse de différents pics par la base NIST a permis de déceler la présence des composés suivants présentés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Composés identifiés dans les extractibles d'ayous

Solvants	Temps de rétention (min)	Composés identifiés	Composition relative (%)
Dichlorométhane	16,89	Acide hexadécanoïque	3
	17,06	1-cyclohexène-4-(1,5-diméthyl-3-oxo-hex-4,5-ène) méthanoate de méthyle	1
	29,24	Sitostérol	19
Acétone	16,18	Acide gallique	7
	16,89	Acide hexadécanoïque	5
	18,18	Acide octadécanoïque	2
Toluène-éthanol	16,88	Acide hexadécanoïque	2
Eau	-	Rien que la colonne	-

Ces résultats sont en accord avec le criblage phytochimique, les phénols totaux et le contenu en tanins condensés effectués. Au niveau du criblage phytochimique, il a été décelé la présence des polyphénols et des flavonoïdes dans les extractibles acétonique et au toluène-éthanol. Dans le cas de la GC-MS des extractibles acétoniques nous trouvons de l'acide gallique. Le reste des fragments n'étant pas identifiés.

### 3.5.2. Extractibles du moabi

Sur la figure 40 sont présentés les chromatogrammes des extractibles au dichlorométhane et toluène-éthanol du moabi. Notons que les chromatogrammes obtenus avec les extractibles acétoniques et aqueux ne présentent pratiquement aucun pic exploitable, ce n'étaient que des morceaux de colonnes. C'est pour cette raison qu'ils ne sont pas présentés ici.

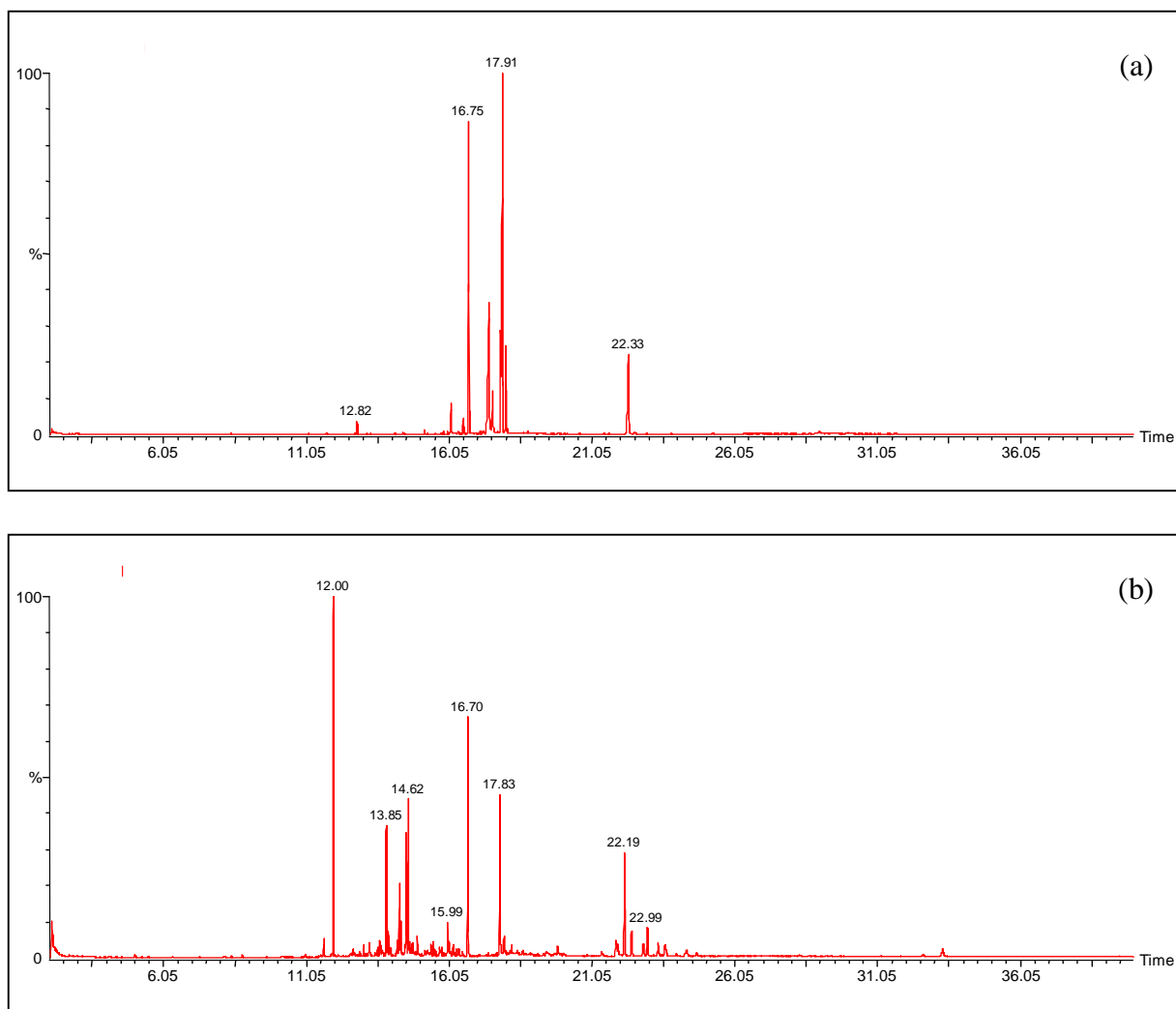


Figure 40 : Chromatogrammes des différents extractibles de moabi : (a) extractible au dichlorométhane ; (b) extractible au toluène-éthanol

Les chromatogrammes des extractibles au dichlorométhane et au mélange toluène-éthanol ont permis de déceler la présence des triterpènes non identifiés et des composés suivants présentés dans le tableau 9.

Tableau 9 : Composés identifiés dans les extractibles de moabi

Solvants	Temps de rétention (min)	Composés identifiés	Composition relative (%)
Dichlorométhane	15,20	Acide tétradécanoïque	//
	16,13 ; 16,75	Acide hexadécanoïque	2 ; 25
	17,45 ; 17,91	(E) Acide-9- octadécenoïque	19 ; 36
	17,85	(Z,Z) Acide-9,12- octadecadiénoïque	//
	18,04	Acide octadécanoïque	5
	22,3	Squalène	11
	Toluène-éthanol	15,99	Acide gallique
16,70		Acide hexadécanoïque	14
17,83		(E) Acide-9- octadécenoïque	11
22,19 ; 22,44		Catéchine	11

Ces résultats sont en accord avec le criblage phytochimique, les phénols totaux et le contenu en tanins condensés effectués. Le taux de phénols et de tanins condensés sont élevés dans les extractibles acétoniques et toluène-éthanol. Nous avons décelé la présence des phénols dans les extractibles au toluène-éthanol. Par contre aucune saponine n'a pu être décelée lors de l'analyse GC-MS. Ceci est simplement dû au fait que les saponines sont des composés pas assez volatils, donc par conséquent, ne peuvent pas être facilement obtenus en GC-MS.

### 3.5.3 Extractibles du movingui

Sur la figure 41 sont présentés les chromatogrammes des extractibles de movingui.



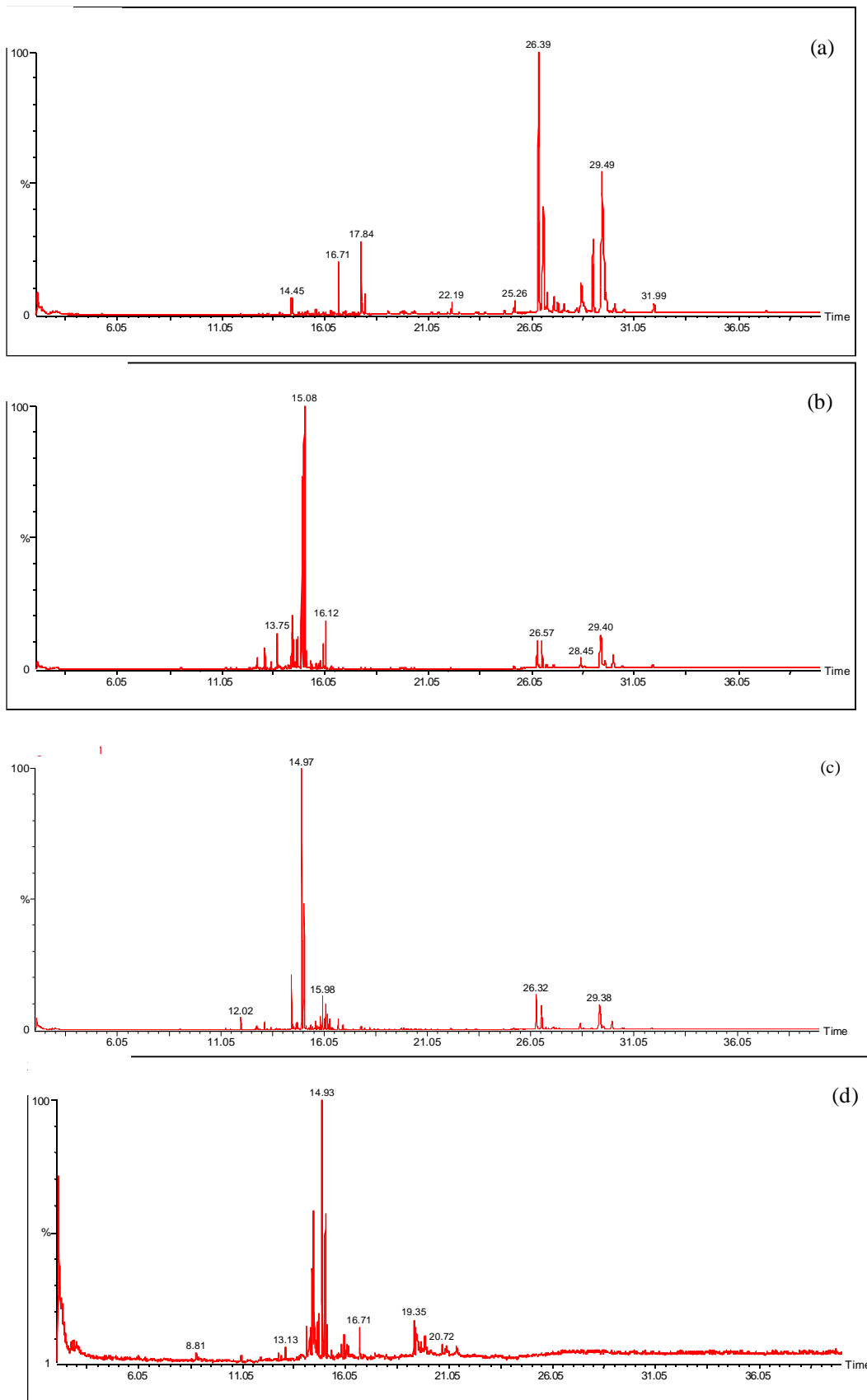


Figure 41 : Chromatogrammes des différents extractibles de movingui : (a) extractible au dichlorométhane ; (b) extractible à l'acétone ; (c) extractible au toluène-éthanol ; (d) extractible à l'eau.

D'après la base de données NIST, les extractibles aqueux et toluène-éthanol ne sont constitués que des fragments de colonnes. Dans les extractibles acétoniques et au dichlorométhane, des diterpènes non identifiés et des composés suivants présentés dans le tableau 10 ont été trouvés.

Tableau 10 : Composés identifiés dans les extractibles de movingui

Solvants	Temps de rétention (min)	Composés identifiés	Composition relative (%)
Dichlorométhane	14,45 ; 14,51	4-hydroxy-3-méthoxy acide benzoïque	//
	16,71	Acide hexadécanoïque	2
	17,81	(Z,Z) Acide-9,12-octadecadiénoïque	//
	17,84	Acide -9-octadécenoïque	2
	18,00	Acide octadécanoïque	//
Acétone	12,74	sucre	16
	14,96	sucre	41

Les chromatogrammes des extractibles de movingui étant difficilement exploitables, nous ne pouvons vraiment donner un rapport avec le criblage phytochimique, le dosage des phénols et le dosage des tanins condensés.

#### 3.5.4. Extractibles de padouk

Sur la figure 42 ci-dessous sont présentés les chromatogrammes des extractibles de padouk.

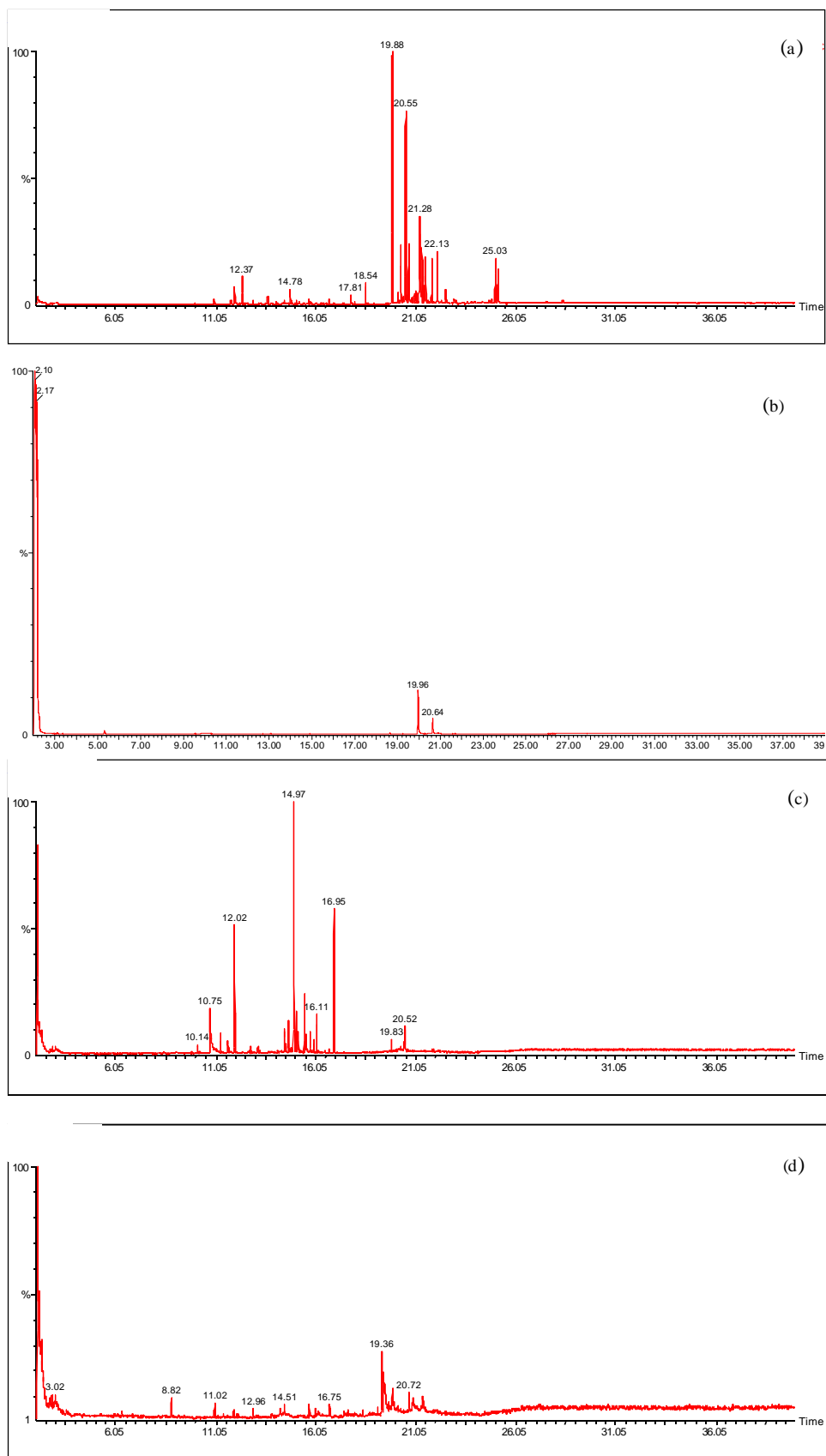


Figure 42 : Chromatogrammes des différents extractibles de padouk : (a) extractible au dichlorométhane ; (b) extractible à l'acétone ; (c) extractible au toluène-éthanol ; (d) extractible à l'eau.

L'analyse des chromatogrammes des extractibles aqueux et toluène-éthanol n'ont donné que des fragments de colonnes par comparaison des pics avec la base de données NIST. Le chromatogramme de l'extrait acétonique n'a donné que deux pics majoritaires. Ce qui permet de conclure que les composés identifiés ici peuvent être des composés purs. Ainsi les composés identifiés sont listés dans le tableau 11 ci-dessous.

Tableau 11 : Composés identifiés dans les extractibles de padouk

Solvants	Temps de rétention (min)	Composés identifiés	Composition relative (%)
Dichlorométhane	11,0	2,6-diméthoxyphénol	//
	16,72	Acide hexadécanoïque	//
		19,88	Homoptérocarpine
	21,55	Ptérocarpine	4
Acétone	19,96	Homoptérocarpine	47
	20,64	Ptérocarpine	17

Les chromatogrammes des extractibles de padouk étant difficilement exploitables, nous ne pouvons vraiment donner un rapport avec le criblage phytochimique, le dosage des phénols et le dosage des tanins condensés.

### 3.5.5. Extractibles de tali

Sur la figure 43 sont présentés les chromatogrammes des extractibles de tali.

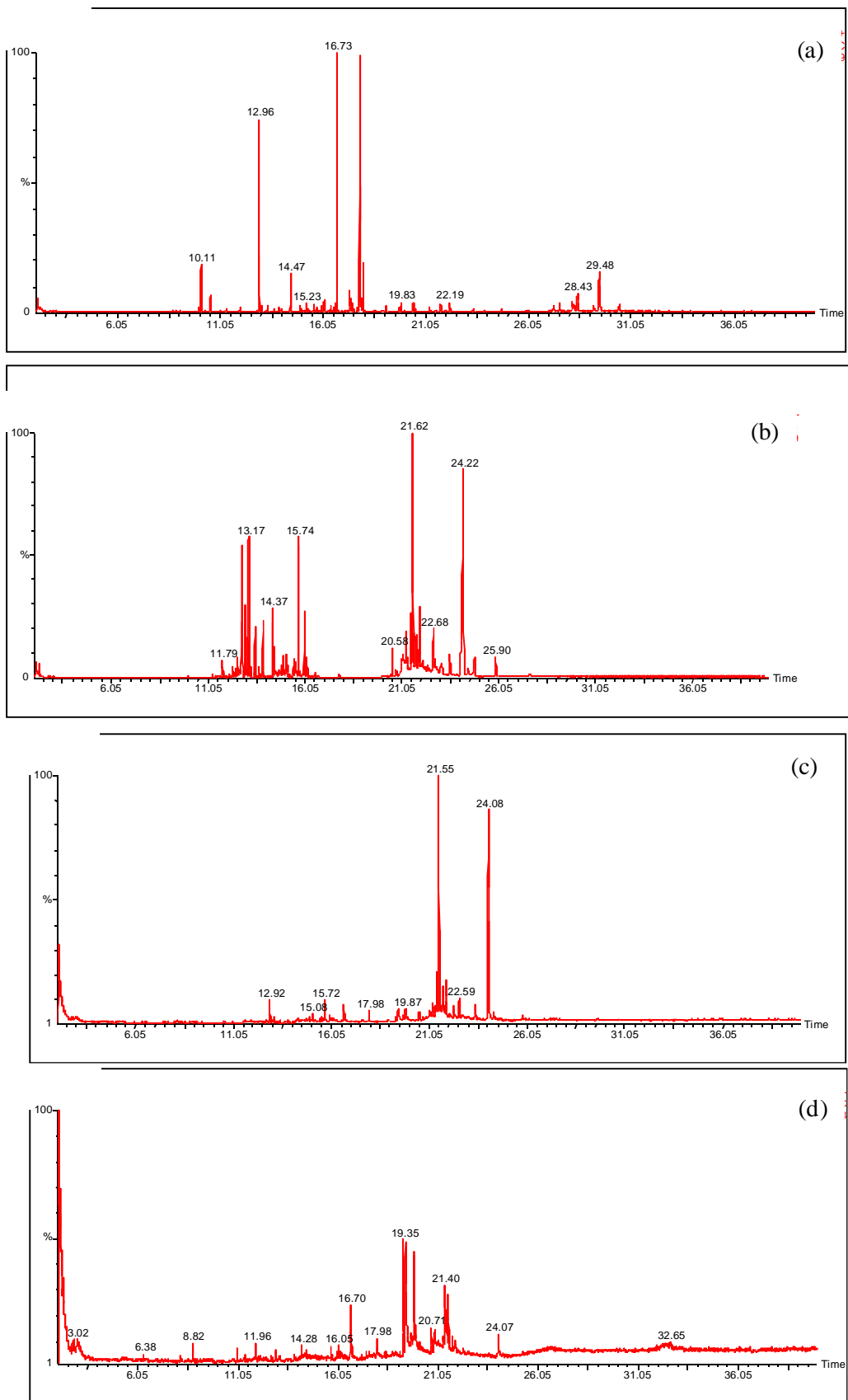


Figure 43 : Chromatogrammes des différents extractibles de tali : (a) extractible au dichlorométhane ; (b) extractible à l'acétone ; (c) extractible au toluène-éthanol ; (d) extractible à l'eau.

L'analyse des chromatogrammes des extractibles aqueux et toluène-éthanol n'ont donné que des fragments de colonnes par comparaison des pics avec la base de données NIST. Les extractibles acétoniques et au dichlorométhane quant à eux ont donnés par comparaison avec la base de donnée NIST les composés listés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Composés identifiés dans les extractibles de tali

Solvants	Temps de rétention (min)	Composés identifiés	Composition relative (%)
Dichlorométhane	9,13	1,2-benènediol	//
	10,11	4-méthylcatéchol	4
	11,86	Pyrogallol	//
	12,96	Acide-3-hydroxybenzoïque	20
	13,08	Acide-4-hydroxybenzoïque	//
	14,47	Acide vanilique	4
	14,95	Acide-3,4-dihydroxybenzoïque ou Acide protocatéchuïque	//
	16,73	Acide hexadécanoïque	23
	17,83	(Z,Z) Acide-9,12- octadecadiénoïque	30
	18,01	Acide octadécanoïque	4
Acétone	14,93	Acide-3,4-dihydroxybenzoïque ou Acide protocatéchuïque	1
	16,01	Acide gallique	2
	21,53 ; 23,52	Catéchine	3 ; 2
	24,08	Dihydroquercétine ou Taxifoline	24

Ces résultats sont en accord avec le criblage phytochimique, les phénols totaux et le contenu en tanins condensés effectués. Le taux de phénols et de tanins condensés sont élevés dans les extraits acétoniques et toluène-éthanol. Dans les extraits acétoniques en GC-MS, l'acide protocatéchuïque, acide gallique, la catéchine et le taxifoline ont été identifiés. Les alcaloïdes détectés en criblage phytochimique n'ont pu être identifiés par GC-MS. Par contre aucune saponine n'a pu être décelée lors de l'analyse GC-MS. Ceci est simplement dû au fait que les saponines sont des composés pas assez volatils, donc par conséquent, ne peuvent pas être facilement obtenus en GC-MS.

## CHAPITRE 4

### EFFET DES EXTRACTIBLES SUR LA DURABILITE NATURELLE DU BOIS

Dans ce chapitre est présenté les résultats de l'effet des extractibles sur la durabilité naturelle du bois massif et des extraits sur l'inhibition de croissance des champignons.

#### 4.1. Durabilité naturelle du bois massif face à l'attaque fongique

La durabilité naturelle des différentes essences sélectionnées a été évaluée en mettant le bois ayant ou non subi une extraction préalable en présence de champignons de pourriture blanche (*Trametes versicolor* et *Pycnoporus sanguineus*) et de pourriture brune (*Coniophora puteana* et *Poria placenta*) pendant 16 semaines. Le hêtre a été utilisé comme témoin de virulence. Le tableau 13 présente les résultats de perte de masse obtenue.

Tableau 13 : Perte de masse des échantillons après 16 semaines d'exposition aux champignons

Essences de bois		Pertes de masse absolue (%)				
		<i>P. sanguineus</i> (30°C)	<i>T. versicolor</i>	<i>P. placenta</i>	<i>P. sanguineus</i> (22°C)	<i>C. puteana</i>
Ayous		48 ± 11	31 ± 5	47 ± 4	31 ± 4	4,6 ± 0,1
Hêtre		53 ± 5	53 ± 4	59 ± 5	41 ± 8	19 ± 2
Moabi	Non extrait	1,7 ± 0,01	3,3 ± 0,03	2,1 ± 0,01	2,1 ± 0,02	-0,3 ± 0,01
	Extrait	5,8 ± 0,01	5,6 ± 0,1	3,5 ± 0,05	3,0 ± 0,1	0,4 ± 0,02
Movingui	Non extrait	1,1 ± 0,2	0,9 ± 0,01	0,1 ± 0,02	0,1 ± 0,01	-0,4 ± 0,01
	Extrait	21 ± 1	26 ± 3	8,0 ± 1	16 ± 3	20 ± 2
Padouk	Non extrait	0,3 ± 0,02	1,9 ± 0,01	0,2 ± 0,02	0,1 ± 0,01	0,4 ± 0,1
	Extrait	28 ± 2	40 ± 3	16 ± 0,5	18 ± 2	0,5 ± 0,1
Tali	Non extrait	0,6 ± 0,08	1,5 ± 0,4	0,8 ± 0,02	0,2 ± 0,03	0,4 ± 0,01
	Extrait	9,0 ± 0,1	15,9 ± 2	0,9 ± 0,01	17 ± 2	0,8 ± 0,03

Du tableau 13, il ressort qu'après 16 semaines d'exposition, les pertes de masse du bois témoin (hêtre) varient de 19 ± 2% pour le *Coniophora puteana* à 59 ± 5% pour le *Poria placenta*. Pour que l'essai soit valide la perte de masse de l'échantillon témoin doit être supérieure à 30% selon la norme européenne EN 113. Les essais peuvent être validés pour tous les champignons (champignons qui présentent une perte de masse des échantillons témoin comprise entre 31 et 59%) sauf avec *Coniophora puteana* (perte de masses des échantillons témoins de 19% pour le hêtre). Le moabi, le movingui, le padouk et le tali non extraits ont une perte de masse absolue inférieure à 5% quel que soit le type de champignon utilisé, ceci nous amène à conclure que ces essences présentent une très bonne durabilité

naturelle face à l'attaque des champignons de pourritures (brunes ou blanches) selon la norme EN 350-1,1994. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Nzokou et *al.* (2005) lors de l'étude de la durabilité naturelle de huit essences camerounaises. On constate aussi par ailleurs que les essences sont moins dégradées par les champignons de pourriture brune. Plusieurs facteurs peuvent être utilisés pour expliquer la durabilité naturelle des essences telles que la densité du bois, les composés inorganiques (le taux de silice par exemple), la nature des composés extractibles (flavonoïdes qui confèrent la durabilité au bois) et bien d'autres facteurs (l'âge, la zone géographique, la saison d'abattage de l'arbre). De tous ces facteurs, la littérature s'accorde sur le fait que les extractibles joueraient le rôle le plus important dans la durabilité naturelle d'une essence. Pour vérifier l'hypothèse stipulant que les extractibles peuvent conférer la durabilité naturelle d'un bois, nous avons effectué des extractions avec quatre solvants de polarité croissante (dichlorométhane, acétone, toluène-éthanol et eau). De manière générale nous notons que le bois extrait présente une perte de masse supérieure au bois non extrait. Ceci peut nous permettre de conclure, que l'extraction a un effet sur la durabilité naturelle d'un bois. Après extraction, on constate que certaines essences perdent leur durabilité naturelle. C'est le cas du padouk et du movingui qui deviennent vulnérables à l'attaque de tous les champignons utilisés. Le tali extrait devient vulnérable uniquement aux champignons de pourritures blanches. Ces résultats sont comparables aux résultats obtenus par Déon et *al.* (1980) avec le même champignon (le padouk devenait sensible à *Coriolus versicolor* après extraction avec une perte de masse de 33%). Des résultats similaires ont été obtenus par Mohareb et *al.* (2010) lors de l'étude de l'effet des extractibles sur la durabilité naturelle du bois de *Cupressus lusitanica*. Les auteurs ont constaté qu'après extraction des éprouvettes, les pertes de masse devenaient très importantes par rapport aux éprouvettes non extraites. Kirker et *al.* (2013) lors de l'étude du rôle des extractibles dans la durabilité des bois ont trouvé des résultats similaires aux précédents. Avec tous ces résultats obtenus, nous pouvons conclure que les extractibles jouent un rôle important dans la durabilité naturelle des bois. Par contre, il est à noter que le moabi et le tali après extraction ont des pertes de masse inférieure à 6% avec les champignons de pourritures brunes. Ce résultat permet de constater qu'après extraction, ces deux essences restent durables face à l'attaque de ces champignons. Vu ce dernier résultat, il a été question de s'assurer que l'extraction du bois massif avait été complète comme dans le cas de sciure. Le taux d'extractibles après extraction sur bois massif et le taux d'extractibles sur de la sciure est présenté au tableau 14.



Tableau 14 : comparaison des taux d'extractible issus de l'extraction bois massif et de la sciure

Bois	Moabi	Movingui	Padouk	Tali
Taux d'extractibles sur bois massif (%)	2,8 ± 0,4	4,1 ± 0,5	9,6 ± 0,9	3,0 ± 0,4
Taux d'extractibles de la sciure (%)	16,6 ± 0,9	16,1 ± 0,9	16,7 ± 1	17,7 ± 1

Il ressort clairement de ce tableau que le taux d'extractible sur bois massif est très inférieur aux taux obtenus sur la sciure. Le taux d'extractible sur bois massif du moabi, movingui et tali est inférieur à 5%. Le bois ayant subi une meilleure extraction étant le padouk. Si l'on compare le taux d'extractible sur bois massif et la perte de masse, il ressort que les bois ayant des taux d'extraction élevés perdent plus de masse face à l'attaque des champignons. La conclusion que nous formulons dans ce cas est que l'extraction du bois massif ne se ferait qu'en surface. Ceci explique la résistance de certains bois même après extraction.

Les valeurs de pertes masses obtenues ont été utilisées pour déterminer la durabilité naturelle (table 2 pour les calculs) vis-à-vis des champignons lignivores des essences étudiées selon la norme EN 350-1, 1994. Les résultats sont présentés dans le tableau 15.

Tableau 15 : Durabilité naturelle des essences étudiées selon la norme EN 350-1, 1994

Essences de bois		<i>P. sanguineus</i> (30°C)	<i>T. versicolor</i>	<i>P. sanguineus</i> (22°C)	<i>P. placenta</i>	<i>C. puteana</i>
Ayous		5	3	4	4	2
Moabi	Non extrait	1	1	1	1	1
	Extrait	1	1	1	1	1
Movingui	Non extrait	1	1	1	1	1
	Extrait	3	3	3	1	5
Padouk	Non extrait	1	1	1	1	1
	Extrait	3	4	3	3	1
Tali	Non extrait	1	1	1	1	1
	Extrait	2	3	3	1	1

1 = très durable ; 2 = durable ; 3 = moyennement durable ; 4 = peu durable ; 5 = non durable ou périssable.

Moabi, moabi extrait, movingui, padouk et tali non extraits sont très durables selon le classement cette norme. L'ayous est par contre considéré non durable lorsqu'il est exposé à *Pycnoporus sanguineus* à 30°C, peu durable avec le *Poria placenta* et le *Pycnoporus sanguineus* à 22°C, moyennement durable avec le *Trametes versicolor* et enfin durable avec le *Coniophora puteana*. Nous constatons qu'après extraction, seules les essences de moabi et

tali (avec les champignons de pourriture brune) ne perdent pas leur durabilité. Le movingui passe de très durable à moyennement durable sauf pour le *Poria placenta* où il reste très durable malgré l'extraction. Le padouk passe de très durable à peu durable pour *Trametes versicolor* et reste très durable pour *Coniophora puteana*. Le tali passe de très durable à moyennement durable pour les champignons de pourritures blanches. L'extraction a donc un effet sur la durabilité naturelle des essences. Lorsque les substances extractibles sont enlevées, le bois devient généralement plus vulnérable aux champignons lignivores. Les essences étudiées (excepté l'ayous), sont très durables avant extraction, et deviennent moyennement durables après extraction. On peut tout de même noter que les échantillons de bois de tali, de padouk et de movingui extraits ne se comportent pas de la même manière vis-à-vis des champignons, et leur durabilité reste globalement supérieure à celle de l'ayous non extrait (essence peu durable). Cette différence de comportement des bois peut être liée aux différences de structures des bois et à une extraction incomplète des substances extractibles comme nous l'avons observé plus haut avec le taux d'extraction du bois massif.

La figure 44 montre l'aspect du développement des champignons sur les bois extraits ou non. Sur cette figure, n'est présenté que le cas des champignons *Trametes versicolor* et *Poria placenta*. Les autres échantillons ressemblent parfaitement à ceux présentés sur cette figure.

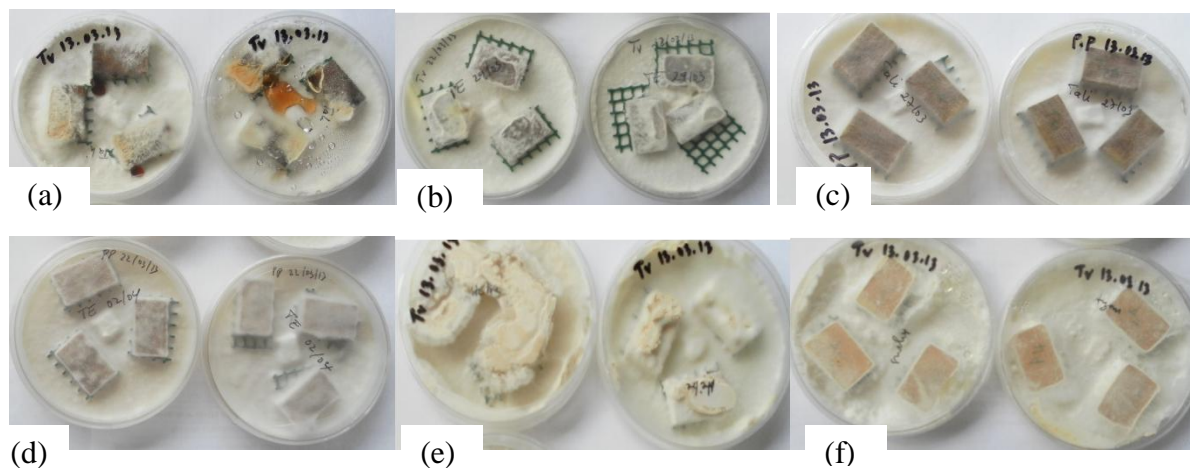


Figure 44 : (a) Tali non extrait exposé à *Trametes versicolor*, (b) Tali extrait exposé à *Trametes versicolor*, (c) Tali non extrait exposé à *Poria placenta*, (d) Tali extrait exposé à *Poria placenta*, Hêtre exposé à *Trametes versicolor*, Ayous exposé à *Trametes versicolor*,

On constate sur cette figure dans le cas du tali non extrait qu'un liquide coloré apparaît dans les boîtes de pétri alors que dans le cas du tali extrait, il ne se passe rien. Dans le cas des autres essences qu'elles soient extraites ou non il n'y a que la colonisation du bois par le champignon. Sirmah (2009) lors de l'étude de la valorisation du *Prosopis juliflora* observe le même phénomène que celui observé avec le tali. Il a expliqué ce phénomène par le fait de la

diffusion des extractibles dans le milieu malt/agar suivi d'une détoxification par les enzymes du champignon permettant le développement du champignon.

Pour voir si la colonisation des éprouvettes de bois par le mycélium avait une influence sur les pertes de masse, il a été nécessaire d'évaluer le taux d'humidité du bois après attaque des champignons. Les résultats du taux d'humidité sont consignés dans le tableau 16.

Tableau 16 : Taux d'humidité des éprouvettes après 16 semaines d'exposition aux champignons

Essences de bois		Taux d'humidité (%)				
		<i>P. sanguineus</i> (30°C)	<i>T. versicolor</i>	<i>P. placenta</i>	<i>P. sanguineus</i> (22°C)	<i>C. puteana</i>
Ayous		11 ± 1	44 ± 3	21 ± 3	57 ± 9	47 ± 8
Hêtre		12 ± 1	40 ± 8	30 ± 5	54 ± 8	46 ± 2
Moabi	Non extrait	39 ± 6	56 ± 4	36 ± 7	60 ± 4	51 ± 5
	Extrait	35 ± 7	42 ± 7	40 ± 8	44 ± 3	49 ± 4
Movingui	Non extrait	32 ± 5	58 ± 17	28 ± 8	38 ± 3	47 ± 11
	Extrait	28 ± 5	58 ± 10	28 ± 3	27 ± 3	43 ± 10
Padouk	Non extrait	13 ± 1	24 ± 4	17 ± 6	25 ± 3	30 ± 7
	Extrait	21 ± 3	57 ± 2	37 ± 10	26 ± 6	33 ± 5
Tali	Non extrait	12 ± 1	33 ± 4	19 ± 2	25 ± 2	34 ± 3
	Extrait	21 ± 4	45 ± 9	26 ± 2	34 ± 3	31 ± 4

Dans la littérature, pour qu'un champignon dégrade le bois, certaines conditions doivent être remplies. C'est le cas de l'humidité du bois. A titre de rappel, le taux d'humidité du bois doit être supérieur à 20% en zone tempérée et 30% en zone tropicale pour que le champignon dégrade parfaitement le bois. Dans ce cas si le taux d'humidité se trouve en dessous de la norme, et qu'on observe une faible perte de masse, ce résultat ne peut pas être exploité. Du tableau 14a, il ressort que le taux d'humidité du bois varie de 21 à 60% après 16 semaines d'exposition à une humidité de 70% et une température de 22°C. Par contre il varie de 11 à 39% pour le *Pycnoporus sanguineus* exposé dans les conditions tropicales (75% d'humidité et 30°C). Ces taux d'humidité obtenus dans le cas des champignons mis à 70% d'humidité relative et 22°C permettent une attaque parfaite du bois.

Après toutes ces interprétations, nous avons regardé s'il existe une corrélation entre les pertes de masses et le taux de phénols obtenus dans nos différents extractibles. Nous regardons uniquement cette corrélation parce que dans la littérature, il est dit que les composés phénoliques (flavonoïdes, stilbènes, tanins, ....) sont en partie responsables de la durabilité naturelle des bois. Cette corrélation est donnée par la figure 45. Sur cette figure nous n'avons présenté que le cas des extraits acétoniques et aqueux parce que lors de l'étude GC-MS dans

certaines extraits acétoniques, a été identifié des composés phénoliques. L'extrait aqueux en général contient des composés polaires tels que les tanins.

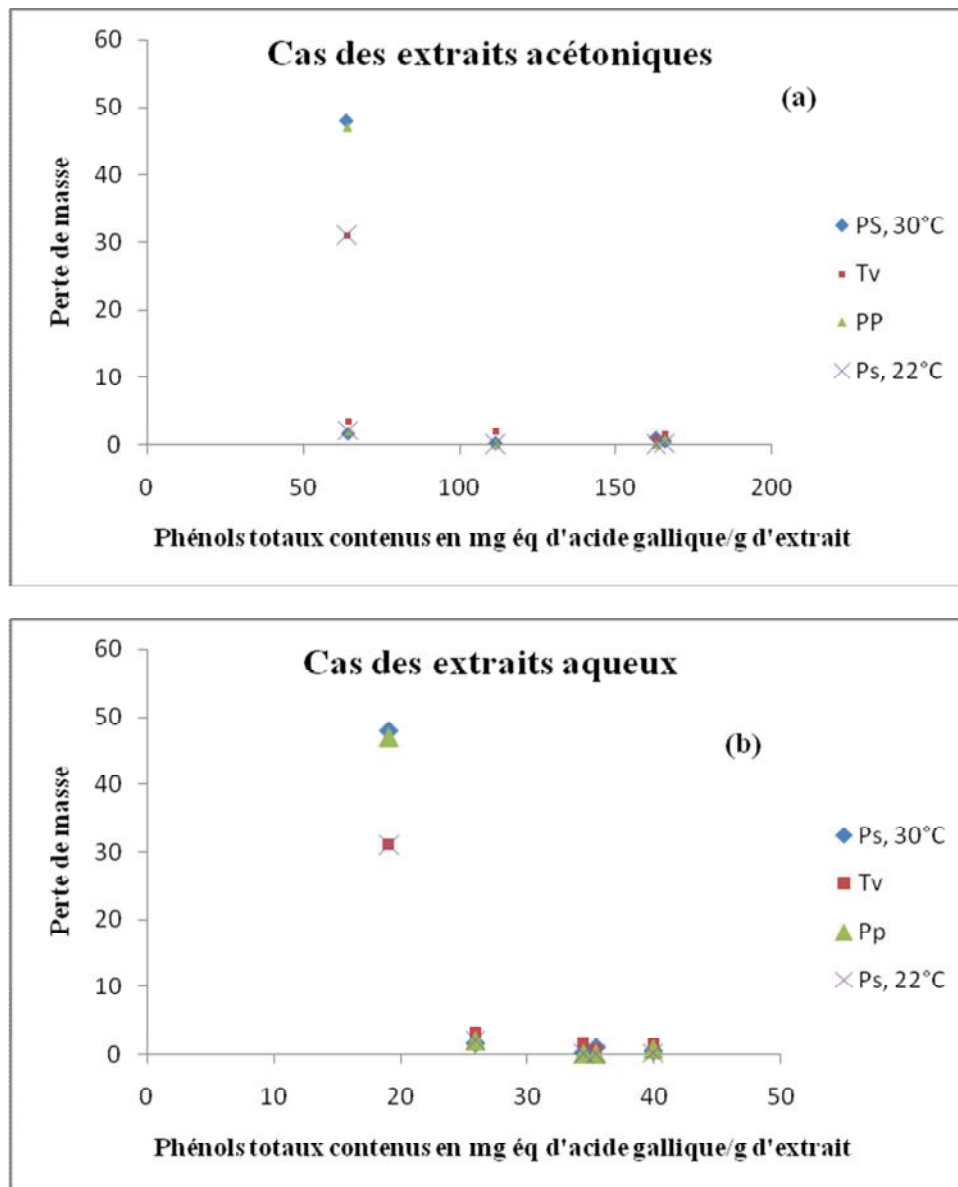


Figure 45 : Corrélation entre les phénols totaux et les pertes de masse des différentes éprouvettes en présence des différents champignons : (a) extraits acétoniques, (b) des extraits aqueux

La figure 45 montre une corrélation hyperbolique entre les phénols totaux et les pertes de masse pour les extraits acétoniques. Cette corrélation devient plus importante dans le cas des extraits aqueux. Sur cette figure, il ressort de manière générale que plus le taux de phénols est élevé, moins la perte de masse est importante. Dans le cas des extraits aux dichlorométhane et toluène-éthanol, non présentées la corrélation est faible entre les valeurs. Cette différence de corrélation peut s'expliquer par le fait que l'eau extrait des composés très polaires de la classe des tannins qui ne sont pas extraits par d'autres solvants. Ces tannins contribueraient à la

quantité de phénols contenus dans les extractibles. De nombreux auteurs ont montré que les phénols sont des puissants antioxydants (Sirmah et *al.*, 2009 ; Dykes and Rooney, 2006) et par conséquent contribueraient à la durabilité naturelle du bois (Amusant et *al.*, 2007). Pometti et *al.* (2010) ont trouvé que la corrélation entre le taux de phénols et la perte de masse est une corrélation de type hyperbolique. De nombreux auteurs ont montré qu'il existe une bonne corrélation entre les phénols totaux et la durabilité naturelle des essences (Aloui et *al.*, 2004; Guilley et *al.*, 2004; Antwi-Boasiako et *al.*, 2010).

#### 4.2. Inhibition des extractibles sur la croissance des champignons

Pour mieux comprendre l'effet des extractibles sur la durabilité naturelle, les tests d'inhibition de croissance des extractibles sur deux champignons de pourritures brunes et deux champignons de pourritures blanches ont été effectués. Les tests ont été effectués avec les extractibles aux différentes concentrations de 100, 250 et 500 ppm.

Les extractibles d'ayous n'ont pas été testés dans cette section car les quantités d'extractibles étaient insuffisantes pour mettre en place les essais. L'indice antifongique des extractibles acétoniques est consigné au tableau 17.

Tableau 17 : Indice antifongique des extractibles acétoniques

Essences	Indice antifongique (%)														
	Champignons utilisés et concentrations des extractibles acétoniques en ppm														
	Ps (30°C)			Tv			Pp			Ps (22°C)			Cp		
	100	250	500	100	250	500	100	250	500	100	250	500	100	250	500
Moabi	0	12	25	0	27	60	29	99	100	0	47	61	18	49	100
Movingui	60	73	80	15	62	100	100	100	100	33	69	100	65	100	100
Padouk	12	35	91	31	53	100	68	82	100	42	64	100	29	55	13
Tali	6	18	41	40	51	100	76	100	100	55	47	99	27	53	81
Propiconazole	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	82	100	100

Ps (30°C): *Pycnoporus sanguineus* exposé à 30°C; Tv: *Trametes versicolor*; Pp: *Poria placenta*; Ps: *Pycnoporus sanguineus* exposé à 22°C; Cp: *Coniophora puteana*.

Il ressort de ce tableau que l'extractible de moabi inhibe faiblement la croissance des champignons sauf dans le cas de *Poria placenta* à 250 et 500 ppm et du *Coniophora puteana* à 500 ppm. Dans le cas des extractibles de movingui, il inhibe aussi bien la croissance des champignons de pourriture blanche et de pourriture brune à des concentrations de 250 et 500

ppm. Les extractibles de padouk et de tali inhibent la croissance du champignon à des concentrations uniquement de 500 ppm. Il est à noter que le propiconazole (fongicide utilisé en industrie) inhibe très bien la croissance des champignons que les extraits des bois utilisés. Même à faible concentration de 100 ppm, le propiconazole est très efficace pour inhiber la croissance des champignons. Les extraits des essences utilisés ont montré le plus souvent des effets fongistatiques à des concentrations de 100 et 250 ppm et un effet fongicide à la concentration de 500 ppm.

Après avoir étudié l'effet d'inhibition des extractibles acétoniques sur la croissance des champignons, nous nous sommes intéressés aux extractibles de toluène-éthanol présenté au tableau 18.

Tableau 18 : Indice antifongique des extractibles au toluène-éthanol.

Essences	Indice antifongique (%)														
	Champignons utilisés et concentrations des extractibles au toluène-éthanol en ppm														
	Ps (30°C)			Tv			Pp			Ps (22°C)			Cp		
	100	250	500	100	250	500	100	250	500	100	250	500	100	250	500
Moabi	0	13	41	0	33	100	6	20	100	0	88	88	8	60	86
Movingui	65	71	74	12	62	100	100	100	100	49	82	87	60	100	100
Padouk	0	28	44	6	71	100	25	100	100	15	81	100	5	78	100
Tali	6	20	65	36	67	100	100	100	100	47	71	100	46	35	100

Il ressort de ce tableau que les extractibles de moabi à la concentration de 100 ppm inhibent faiblement la croissance des champignons. A des concentrations de 250 et 500 ppm, ces extractibles de moabi sont fongistatiques. Dans le cas des extraits de movingui, ils sont fongistatiques à des concentrations de 100, 250 et 500 ppm pour les champignons de pourriture blanche. Ils sont par contre fongicides dans le cas des champignons de pourriture brune. L'extrait de padouk inhibe très faiblement la croissance du champignon à la concentration de 100 ppm. Cet extrait est fongistatique à la concentration de 250 ppm et fongicide à la concentration de 500 ppm. L'extrait de tali est fongistatique à des concentrations de 100 et 250 ppm et fongicide à la concentration de 500 ppm.

Après ces extraits nous avons par ailleurs étudiés les extractibles aqueux. L'indice antifongique de ces extractibles est consigné au tableau 19.

Tableau 19 : Indice antifongique des différents extractibles aqueux

Essences	Indice antifongique (%)														
	Champignons utilisés et concentrations des extractibles aqueux en ppm														
	Ps (30°C)			Tv			Pp			Ps (22°C)			Cp		
	100	250	500	100	250	500	100	250	500	100	250	500	100	250	500
Moabi	0	11	24	12	22	100	47	100	100	0	76	100	67	100	100
Movingui	0	53	84	0	100	100	99	100	100	6	24	19	58	97	100
Padouk	0	33	20	32	54	100	65	65	100	18	47	100	13	49	100
Tali	18	35	76	53	85	100	80	100	100	65	82	100	48	59	100

Il est à noter que les extractibles aqueux de toutes les essences inhibent faiblement la croissance du *Pycnoporus sanguineus* exposé à 30°C sauf les extraits de tali. Tous ces extraits ont un effet fongistatique pour des concentrations de 100 et 250 ppm sur le *Trametes versicolor*, *Poria placenta*, *Pycnoporus sanguineus* exposé à 22°C et le *Coniophora puteana*. Ces extractibles inhibent la croissance de *Trametes versicolor*, *Poria placenta*, *Pycnoporus sanguineus* exposé à 22°C et le *Coniophora puteana* à 500 ppm sauf l'extrait de movingui à cette même concentration.

De manière générale, il ressort que les concentrations de 500 ppm présentent un effet inhibiteur important de la croissance des champignons sauf dans le cas de *Pycnoporus sanguineus* exposés à 30°C. Le propiconazole inhibe la croissance du champignon à de très faible concentration (100 ppm). Dans le cas des extractibles, l'augmentation de la concentration entraîne l'augmentation de l'effet inhibitrice des extractibles. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Mori *et al.* (1997) ; Novriyanti *et al.* (2010) ; Martínez-Sotres *et al.* (2012) lors de l'étude de l'activité antifongique des extraits d'*Aquilaria crassna* Pierre Lecomte.

L'effet fongicide ou fongistatique des extractibles peut être expliqué par les molécules extraites par nos différents solvants. Des auteurs ont étudié le potentiel de certains composés à inhiber la croissance des champignons (Seppänen *et al.*, 2004, Eslyn *et al.*, 1981, Diouf *et al.*, 2002, Carrillo-Parra *et al.*, 2012, Belt *et al.*, 2013). Les composés de la classe des tropolones inhibent très bien la croissance des champignons. Les stilbènes présentent une bonne activité, les tanins une activité modérée, les lignanes et les flavonoïdes une faible ou pas d'activité sur la croissance des champignons.

Le criblage phytochimique, nous a révélé la présence des flavonoïdes, des composés phénoliques, des stérols et terpènes dans les extractibles. En conclusion nous dirons que c'est la présence de ces composés dans les extractibles qui leur confèrent leurs propriétés fongicides ou fongistatiques à des faibles concentrations. Par ailleurs Onuorah (2000) a montré que les extractibles de tali à des doses de 48,056 et 96,11 kg/m<sup>3</sup> permettaient de protéger les bois faiblement durable face à l'attaque des champignons.

#### **4.3. Inhibition des sciures sur la croissance des champignons**

Après les résultats obtenus sur bois massif extrait ou non, il a été effectué des tests sur des sciures extraites pour voir effectivement si le mycélium coloniserait bien la sciure qui a été extraite. Comme dans le cas d'extrait sur bois massif où il a été conclut que l'extraction s'est faite en surface, il a été faite des tests sur sciures pour lever l'ambiguïté observée sur bois massif. Ces résultats ont fait l'objet d'une publication aux *Annals of forest science* intitulé : « **Total phenolic and lignin contents, phytochemical screening, antioxidant and fungal inhibition properties of the heartwood extractives of ten Congo basin wood species** » dont les résultats sont présentés. Les tests ont été effectués sur des essences camerounaises et gabonaises avec la collaboration du Docteur Steeve MOUNGUENGUI.



# Total phenolic and lignin contents, phytochemical screening, antioxidant and fungal inhibition properties of the heartwood extractives of ten Congo Basin tree species

Steeve MOUNGUENGUI<sup>1</sup> · Jean-Bosco SAHA TCHINDA<sup>2,3</sup> · Maurice KOR NDIKONTAR<sup>2</sup> · Stéphane DUMARÇAY<sup>3</sup> · Christiane ATTÉKÉ<sup>6</sup> · Dominique PERRIN<sup>3</sup> · Eric GELHAYE<sup>4,5</sup> · Philippe GÉRARDIN<sup>3</sup>

Received: 18 February 2015 / Accepted: 7 August 2015  
© INRA and Springer-Verlag France 2015

## Abstract

• **Key message** Content and type of extractives vary considerably among woody species in the Congo Basin tropical forest. They influence the natural durability of wood with respect to fungal and insect degradation. Species containing higher amounts of extractives and Klason lignin

were generally less susceptible to fungal colonization. Phenolic extractives with large anti-fungal and high antioxidant activities were the main chemical family of compounds extracted from the tested species, which suggests a potential chemical valorization of these extractives.

• **Context** Several woody species from the Congo Basin are known for their natural durability, but the causes of this natural durability are not always fully elucidated. This is particularly the case for the resistance to white rotting fungi decay.

• **Aims** The chemical composition as well as the antioxidant activity of the heartwood extractives of several species were quantified and correlated to the ability of different fungi to colonize wood sawdusts in order to better understand their decay resistance.

• **Methods** The chemical screening of extracts was conducted using colorimetric methods. The quantity of lignin, extracts and total phenolic compounds, as well as antioxidant activities were determined. Extracted and unextracted heartwood sawdusts were exposed to two white rot fungi to assess the effect of extractives on their colonization.

• **Results** Extractives and lignin contents ranged from 2.7 to 16.0 % and from 26.5 to 35.9 %, respectively. Antioxidant activity was directly connected to total phenolic contents. The phytochemical screening revealed the presence of different chemical groups in all extracts. Resistance to fungi was correlated to the amount of extractives and in most cases to the lignin content.

• **Conclusion** Phenolic compounds associated with antioxidant activities influenced the natural resistance of heartwood.

**Handling Editor:** Jean-Michel Leban

**Contribution of the co-authors** Steeve MOUNGUENGUI, Jean-Bosco SAHA TCHINDA, and Christiane ATTÉKÉ: carrying out the experiments, interpreting the results, and writing the first draft of the paper  
Stéphane DUMARÇAY, Dominique PERRIN, and Eric GELHAYE: supervising experimental work and interpreting the results  
Philippe GÉRARDIN, Maurice KOR NDIKONTAR: co-designing and coordination of the PhD thesis of JB SAHA TCHINDA, supervision of work, interpreting the results, and final correction of the paper.

✉ Philippe Gérardin  
philippe.gerardin@univ-lorraine.fr

- <sup>1</sup> Institut de Recherche en Ecologie Tropicale (IRET), BP 13354, Libreville, Gabon
- <sup>2</sup> Laboratory of Macromolecular Chemistry, University of Yaounde 1, BP 812, Yaounde, Cameroon
- <sup>3</sup> Laboratoire d'Etudes et de Recherche sur le Matériau Bois (LERMAB), Faculté des Sciences et Technologies, Université de Lorraine, EA 4370 USC INRA, BP 70239, F-54506 Vandoeuvre lès Nancy, France
- <sup>4</sup> Faculté des Sciences et Technologies, Université de Lorraine, UMR 1136, Interaction Arbres Microorganismes (IAM), BP 70239, 54506 Vandoeuvre lès Nancy, France
- <sup>5</sup> INRA Centre de Nancy Lorraine, INRA, UMR 1136, Interaction Arbres Microorganismes (IAM), Route d'Amance, 54280 Champenoux, France
- <sup>6</sup> Unité de Recherche en Agronomie et Biologie, Université des Sciences et Techniques de Masuku, BP 901, Franceville, Gabon

**Keywords** Antioxidant · Wood extractives · Phytochemical screening · Growth inhibition · White rots · Wood

## 1 Introduction

The Congo Basin, with 227 million ha of forest area, contains the world's second largest tropical forest, after the Amazon basin. Forest sector activities currently contribute 3 to 9 % of the gross domestic product in Central African nations (Cameroon, Equatorial Guinea, Gabon, the Central African Republic, the Republic of Congo, and the Democratic Republic of Congo) and more than 19 % of employments. The Congo Basin is very rich in biodiversity with over 10,000 plant species, including over 20 common tree species commercially exploited (Comifac 2010). Trees of the Congo Basin are mainly constituted by angiosperms that can be differentiated by their structural elements. Various studies have shown that the chemical composition of hardwoods of temperate zones is different from those of tropical regions (Pettersen 1984; Kilic and Niemz 2012). Studies on hardwoods which are naturally durable from temperate zone are well documented (Aloui et al. 2004; Guilley et al. 2004; Kirker et al. 2013), but very little information exists on the natural durability of tree species from the equatorial tropical forest of Africa (CIRAD 2012; Nzokou et al. 2005; Antwi-Boasiako and Pitman 2009; Antwi-Boasiako et al. 2010) despite the tremendous foreign exchange earnings and the increasing potential for wealth creation obtainable from this sector.

The natural resistance of wood to fungal and/or insect decay is defined as the ability of wood to resist biological degradation and contribute to the natural durability of wood. In fact, only the heartwood of some species is durable; the sapwood of all tree species is relatively non-durable. Much controversy exists on the effect of density, lignin content, and hydrophobic properties on the natural durability of wood (Tuomela et al. 2000; Neya et al. 2004; Antwi-Boasiako and Pitman 2009; Oliveira et al. 2010; Skyba et al. 2013). Nevertheless, authors are unanimous on the role of extractives on the natural durability of wood. The amount of extractives varies greatly in woods (Antwi-Boasiako et al. 2010; Kilic and Niemz 2012; Ndukwe et al. 2012). Generally, heartwood extractives have some limited fungicidal properties. Moreover, in hardwood, these toxic compounds are usually phenolics such as tannins, flavonoids, and stilbenes (Schultz and Nicholas 2002; Oliveira et al. 2010; Nascimento et al. 2013). Some species have also non-phenolic extractives such as quinones and terpenoids. For example, the molecules responsible for the natural durability of *Tectona grandis* consist of toxic quinones, which have been shown to possess fungicidal properties (Niamké et al. 2011, 2012). It has also been noted that polyphenols can be used as antioxidant for food preservation to replace butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) (Saha et al. 2013). The toxicity of extractives has also been reported to be correlated to their antioxidant activity (Schultz and Nicholas 2002; Amusant et al. 2007).

Among the different organisms involved in tropical hardwood biodegradation, the most important and potent agents are fungi and termites (Onuorah 2000; Kokutse et al. 2006; Mburu et al. 2007; Antwi-Boasiako et al. 2010).

The objective of the present study was to understand the role of extractives on wood colonization by white rot fungi of the Congo Basin species. The identification of chemical families contained in extractives gives an idea about the molecules that may be involved in wood resistance to fungal colonization. The natural resistance of ten African heartwood species were determined according to the method described by Oliveira et al. (2010) using sawdust of Amazonian woods. The role of extractives on natural durability was evaluated by removing extractives in test sawdusts and visual evaluation of fungal growth of *Pycnoporus sanguineus* and *Phanerochaete chrysosporium*, and the results were compared to unextracted test sawdusts and the sawdust of poplar (positive control). Moreover, phytochemical screening and antioxidant properties of extractives were investigated in order to correlate the chemical properties of the latter and natural resistance of wood to fungal colonization.

## 2 Materials and methods

### 2.1 Raw materials

Samples of Bahia (*Hallea ciliate* (Aubrév. & Pellegr.) J.-F. Leroy), Bilinga (*Nauclea diderrichii* (De wild.) Merr), doussie (*Azelia bipidensis* Harms), okan (*Cylicodiscus gabunensis* Harms), Okoume (*Aucoumea klaineana* Pierre), and Ozigo (*Dacryodes buttneiri* (Engl.) H.J.Lam) were collected from the Société Bordamur (Libreville, Gabon), and those of moabi (*Baillonella toxisperma* Pierre), movingui (*Distemonanthus benthamianus* Baill), padouk (*Pterocarpus soyauxii* Taub), and tali (*Erythrophleum suaveolens* (Guill. & Perr.) Brenan) were from the Société Industrielle de Mbang (Yaoundé, Cameroon). Information on the occurrence, habitat and properties of the different tree species as well as their commercial and scientific names are provided in Table 1. These species may have different names depending on the African countries. Heartwood samples of dimensions 30×5×5 cm were made in the longitudinal, radial, and tangential directions, respectively. All trees were between 60 and 70 years old and were collected from different piles of the two forest companies. All the samples were converted into wood meal using a cutter mill, air dried in the laboratory, and sieved. The fraction of the particle sizes between 0.2 and 0.4 mm was retained for extraction, while the fraction of particle sizes greater than 0.4 mm was used for fungi-growing inhibition tests.



**Table 1** Characteristic of the different wood species studied

Wood species	Characteristics and uses	References
<i>Hallea ciliate</i> (Aubrév. & Pellegr.) J.-F. Leroy Occurs: Congo Basin, Nigeria Family: Rubiaceae Commercial name: Bahia, Abura	Wood has very low durability to fungal attack according to standard NF EN 350-2. Wood is used to make class furniture and interior joinery	CIRAD 2012
<i>Nauclea diderrichii</i> (De wild.) Merr Occurs: Congo Basin, Nigeria Family: Rubiaceae Commercial name: Bilinga	Wood is very durable against fungi and termites according to standard NF EN 350-2. Wood is used in heavy frames, hydraulic works, and interior joinery. The total phenolic compounds content in the methanol extracts as well as fungal inhibition were very low	CIRAD 2012 Antwi-Boasiako et al. 2010 Huang et al. 2009
<i>Azelia bipidensis</i> Harms Occurs: Congo Basin, East of Africa Family: Caesalpiniaceae Commercial name: doussie	Wood is considered very durable against wood-destroying fungi and termites according to standard NF EN 350-2. Wood is used in heavy frames, hydraulic works, interior joinery, bridge. The extractive wood contains high quantity of dihydrokaempferol, naringenin, and kaempferol.	CIRAD 2012 Kilic and Niemz 2012
<i>Baillonella toxisperma</i> Pierre Occurs: between Nigeria and Congo Basin Family: Sapotaceae Commercial name: moabi	Wood is very durable to fungi decay and termite attack according to standard NF EN 350-2 but is susceptible to lyctus attack. Trunk is used in building lumber. Wood contains relatively high amounts of extracts with acetone (13.1 %) but low total phenol contents and low antioxidant activity	Saha et al. 2013 CIRAD 2012 C.T.F.T (1976)
<i>Distemonanthus benthamianus</i> Baill Occurs: Congo Basin, Nigeria Family: Caesalpiniaceae Commercial name: movingui	Wood has an average natural durability to fungi decay, termites attack according to standard NF EN 350-2. Wood is used in exterior and interior joinery. Extractive of wood has higher antioxidant	Saha et al. 2013 CIRAD 2012
<i>Cylicodiscus gabunensis</i> Harms Occurs: Congo Basin, Nigeria Family: Mimosaceae Commercial name: okan	Wood is very durable against fungi and termites according to standard NF EN 350-2. Wood is used in heavy frames, hydraulic works, interior joinery, and bridge. The extract from wood showed the highest antioxidant activity compared at the (+)-catechin, which is known as a potent antioxidant	CIRAD 2012 Huang et al. 2009
<i>Aucoumea klaineana</i> Pierre Occurs: Congo Basin Family: Burséraceae Commercial name: Okoume	Wood is considered low durability against wood-destroying fungi and very sensible to termites according to standard NF EN 350-2. Wood is used to make paneling, shuttering, and interior plywood. The extractive of wood contains many acidic compounds, (+)-catechin and the sterols	Kilic and Niemz 2012 CIRAD 2012
<i>Dacryodes butneiri</i> (Engl.) H.J.Lam Occurs: Congo Basin, Uganda Family: Burseraceae Commercial name: Ozigo	Wood is considered low durability against wood-destroying fungi and very sensible to termites according to standard NF EN 350-2. Wood is used to make paneling, shuttering, and current furniture	CIRAD 2012
<i>Pterocarpus soyauxii</i> Taub Occurs: Congo Basin Family: Fabaceae Commercial name: African padouk	Has a natural resistance to fungi decay and termite attack according to standard NF EN 350-2. Its wood is used in exterior and interior joinery, framework, and for the manufacture of canoes. The extract from wood showed the highest antioxidant activity	Saha et al. 2013 CIRAD 2012
<i>Erythrophleum suaveolens</i> (Guill. & Perr.) Brenan Occurs: Congo Basin, Nigeria Family: Caesalpiniaceae Commercial name: tali	Has a natural resistance to fungi decay and termite attack according to standard NF EN 350-2. Wood is used for framework and making railway sleepers in Africa and Europe.	Saha et al. 2013 CIRAD 2012

**Table 1** (continued)

Wood species	Characteristics and uses	References
	The extract from wood showed the highest antioxidant activity compared at the (+)-catechin compound	

## 2.2 Extraction

Prior to extraction, sawdust was oven dried at 70 °C until constant mass. Approximately, 10–15 g of sawdust was then successively extracted with 150 mL of toluene-ethanol (2/1 v/v) followed by 150 mL of ethanol in a Soxhlet extractor. The temperature used to dry sawdust did not degrade extractives molecules and did not influence the yield of extractives (Sirmah et al. 2008). The temperature was regulated so as to have approximately 12 siphons per hour. Extraction was carried out for at least 14 h to ensure that all extractives soluble in these solvents were effectively removed (until a colorless siphon was obtained). After the extraction, the solvent was evaporated under reduced pressure and the crude extract was dried under vacuum in a desiccator over P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> and then weighed (Neya et al. 2004; Mburu et al. 2007). The amount of extractives was calculated as a percentage of the oven-dried mass of sawdust. All tests were carried four times.

## 2.3 Phytochemical screening

### 2.3.1 Chemicals

Technical-grade ethanol (purity >95 %), methanol (purity >95 %), citrate buffer, and toluene (purity >95 %) were obtained from Carlo Erba; sulfuric acid (purity >95 %); Folin-Ciocalteu reagent, gallic acid, sodium carbonate, hydrogen peroxide, peroxidase, agar powder, and malt extract were obtained from Acros Organics (Fisher Scientific SAS, Strasbourg, France); and ABTS (i.e., 2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid), ferric chloride, ascorbic acid were purchased from Sigma-Aldrich SARL (Saint Quentin Fallavier, France); water and acetone were distilled before use. Mayer's reagent (potassium mercuric iodide solution), Bouchardat reagent (2 % iodine in a 4 % solution of potassium iodide) and Shinoda reagent (magnesium hydrochloride reduction) were prepared in laboratory from reagent-grade chemicals.

### 2.3.2 Identification of chemical families

Different phytochemical screening reagents were prepared and used according the conventional procedures described in literature (Vigor et al. 2009; Akinjogunla et al. 2010). Ferric chloride (10 %) was used for the detection of tannins; Mayer's

and Bouchardat reagents for the detection of alkaloids; Shinoda reagent for the detection of flavonoids and Liebermann-Buchard reagent for the detection of sterols and terpenes. Frothing test was used for the detection of saponins (Uddin et al. 2011). These are usual tests in phytochemistry and pharmacology.

## 2.4 Determination of lignin content

Extracted sawdust was oven dried at 103 °C for 24 h before acid hydrolysis. Three-hundred fifty milligrams of sawdust was placed in a flask and 3 mL of 72 % sulfuric acid added. The mixture was gently stirred using a magnetic bar at room temperature for 1 h. After this pre-hydrolysis stage, the medium was diluted by adding 84 mL of distilled water. An oil bath was then used to heat the reaction mixture to boiling, and the reaction was maintained under reflux for 4 h. At the end of the hydrolysis, the flask was cooled to room temperature and the content of the flask filtered with Whatman paper no. 1 on a Büchner. Lignin retained on the paper was rinsed with 100 mL of distilled water and then dried in an oven at 103 °C for 48 h and weighed ( $m_1$ ). All tests were done four times. The percentage of Klason lignin is given by Formula (1).

$$\text{Klason lignin (\%)} = \frac{m_1}{350} \times 100 \quad (1)$$

where  $m_1$  is the oven-dried mass of lignin (mg).

## 2.5 Determination of total phenolic content in the extracts

Total phenolic content (TPC) of the different extracts were quantified using the Folin-Ciocalteu method with a slight modification (Diouf et al. 2006; Huang et al. 2009). Each extract was diluted in methanol to obtain a final absorbance comprised between 0 and 0.5. A 2.5 mL portion of Folin-Ciocalteu reagent (diluted ten times in methanol) and 2 mL of an aqueous sodium carbonate solution (75 g/L) were added to 0.5 mL of the methanolic solution of the extract. Sodium carbonate is added 30 s to 8 min after the Folin-Ciocalteu reagent. The mixture was kept for 5 min in a water bath at 50 °C and then transferred to a cold water bath. The mixture was centrifuged and then the absorbance of the supernatant liquid was determined at 760 nm using a Lambda 16 Perkin-Elmer UV spectrophotometer. The total phenolic content was calculated as gallic acid equivalent from the calibration curve



of a gallic acid standard solution (0–25 mg/L) and expressed as milligrams of gallic acid equivalent/g of extract. All tests were carried out four times.

## 2.6 Determination of antioxidant activity

The antioxidant activity of each extract was quantified using the ABTS+ scavenging activity method with a slight modification (Piccolella et al. 2008). ABTS+ was generated by placing 100  $\mu$ L of ABTS in contact with 20  $\mu$ L of peroxidase (950–2000 units/mg solid ABTS) and 100  $\mu$ L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in 5 mL of citrate buffer (100 mM, pH=5). The mixture was introduced into a 15-mL Erlenmeyer flask and allowed to stand for 1 h. It was then heated at 95 °C for 30 min and kept between 0 and 5 °C in a refrigerator overnight before use. To measure antioxidant capacity, 970  $\mu$ L of buffer were mixed with 30  $\mu$ L of prepared solution (containing ABTS, peroxidase, buffer solution, and hydrogen peroxide) and 1  $\mu$ L of a 10 mg/L extract solution in methanol. After 20 min of incubation, absorbance was measured at 735 nm using a VARIAN CARY 50 UV-Visible spectrophotometer. The antioxidant capacity was calculated as ascorbic acid equivalent from the calibration curve of an ascorbic acid standard solution (0–0.7  $\mu$ g/mL) and expressed as micromoles of ascorbic acid per micrograms of dry extract. All tests were carried out four times.

## 2.7 Micro-organisms

The fungal strains of *P. sanguineus* MUCL 51321 and *P. chrysosporium* MARD78 used in this work were obtained, respectively, from the Mycothèque of Catholic University of Louvain in Belgium and the Interactions Arbres Micro-organismes laboratory of the University of Lorraine in France. Cultures were maintained on malt-agar media whose pH was adjusted to 4.8 and comprising 40 g/L of malt and 30 g/L of agar. The cultures were grown at 22 °C and 70 % relative humidity during 1 week.

## 2.8 Decay tests on sawdust in laboratory

The test to evaluate the resistance of wood to fungal colonization was carried out on sawdust according to the method described by Oliveira et al. (2010) with a slight modification using two white rot fungi, a tropical fungus *P. sanguineus* and a temperate fungus *P. chrysosporium*. In this visual monitoring, the extent (or size) of the mycelium on sawdust was evaluated. About 2.50 g of extracted or unextracted sawdust (particle size >0.4 mm) were weighed in a 200-mL Erlenmeyer flask. The flask was closed with cotton wool and then autoclaved at 120 °C for 20 min. The flask was allowed to cool under sterile conditions in a flow hood and then humidified with 1 mL of distilled water. Two 5-mm diameter disks

from a solid culture medium inoculated with the fungus were added in each flask. The flasks were then closed and maintained at 22 °C and 70 % of relative humidity; fungal growth was evaluated after 4 weeks. Non-inoculated sterilized sawdusts of the different tree species were used as control. Poplar heartwood sawdust was used as the positive control. All tests were carried out in triplicates.

## 3 Results

After quantification of extractive contents and phytochemical screening of the main compounds present in these latter ones, effect of extractives was investigated on fungal colonization and antioxidant properties.

### 3.1 Decay resistance

Table 2 presents the effect of extractives on wood sawdust fungal colonization. Compared to the positive control (poplar), none of the two tested fungi grows on Bilinga sawdust which was either extracted or not, corroborating its high decay resistance (Antwi-Boasiako et al. 2010). On the other hand, *P. sanguineus* was able to rapidly colonize the sawdust of Bahia and Ozigo, indicating lower resistance of these two tree species to this fungus. The resistance of tali, okan, and doussie is relatively good against *P. sanguineus* even after solvent extraction, while moabi, movingui, and padouk seem moderately resistant or more easily colonized after removal of extractives by *P. sanguineus*, indicating the implication of these latter ones in natural durability. In addition, the growth of *P. chrysosporium* on extracted sawdust of moabi, movingui, and padouk or on poplar sawdust (extracted or not) remains very low compared to that of *P. sanguineus*, showing the lower colonization rate of this fungus strain.

### 3.2 Extractives content

The extractive contents of heartwood using toluene/ethanol mixture in a first extraction followed by ethanol in a second extraction are presented in Table 3. The extractive content depends on the nature of the tree species. The overall extractive contents varied considerably depending on the trees species. Lower contents were observed with Bahia containing only 2.7 % of extractives, while higher contents were obtained for okan with 16 % of extractives. Other tree species presented intermediate contents between the two previous species.

In all cases, tree species which contained low amounts of extractives (Bahia, Okoume, and Ozigo) seemed to be more

**Table 2** Effect of extractives on wood sawdust fungal colonization

	Wood sawdust	Bahia	Bilinga	Doussie	Moabi	Movingui	Okan	Okoume	Ozigo	Padouk	Tali	Poplar
<i>Pycnoporus sanguineus</i>	Unextracted	+++	-	+	+	+	+	nd	++	+	-	+++
	Extracted	+++	-	+	++	+++	+	nd	++	+++	+	+++
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Unextracted	nd	-	-	+	-	-	+	+	+	nd	++
	Extracted	nd	-	+	+	+	-	++	++	+	nd	++

The parameter that is evaluated visually is the colonized surface. All tests are conducted thrice  
 nd test not done (lack of sufficient quantities of sawdust), +++ Important growth of fungus, ++ moderate growth of fungus, + poor growth of fungus, - no growth

susceptible to fungal colonization than tree species containing higher amounts of extractives. Sawdust of tree species, such as movingui, moabi, padouk, presented a greater susceptibility to colonization by *P. sanguineus* after extraction, clearly indicating that the amount and the nature of extractives affect the natural resistance of these species. However, since the most durable tree species of this study is Bilinga which is far from being the extractives' richest sample, it was difficult to conclude definitively about a positive correlation between decay resistance and such a basic value as the overall extractives content.

### 3.3 Klason lignin content

Heartwood Klason lignin contents are shown in Table 3. The average lignin contents vary from 26.5 to 35.9 %. Two wood samples, Bahia and movingui, had relatively low lignin contents of 26.5 and 25.7 %. Lignin contents in the range of 28.4–29.30 % were observed for Okoume, Ozigo, padouk, and moabi. The remaining wood samples, Bilinga, doussie, okan,

and tali, were observed to have relatively high lignin contents of 31.2–35.9 %.

### 3.4 TPC

The total phenolic contents of extractives in the two solvents measured by the Folin-Ciocalteu method are shown in Table 4. They varied between 51 and 935 eq. gallic acid/g of extract. The highest value obtained was 935 mg eq. gallic acid/g of extract for the toluene-ethanol extract of doussie while the lowest was 51 mg eq. gallic acid/g of ethanol extract of moabi.

### 3.5 Antioxidant properties of extractives

The antioxidant activities given in Table 3 vary from 18 to 175  $\mu\text{mol AAE}/\mu\text{g}$  of extract. The highest antioxidant activity was that of doussie (175  $\mu\text{mol AAE}/\mu\text{g}$  of extract) with toluene-ethanol as solvent and the lowest was that of Bahia (18  $\mu\text{mol AAE}/\mu\text{g}$  of extract) with ethanol as solvent. Among

**Table 3** Lignin content, extractives contents, and their corresponding total phenolic content (TPC) and antioxidant activity (AA) of the different studied wood species

	Bahia	Bilinga	Doussie	Moabi	Movingui	Okan	Okoume	Ozigo	Padouk	Tali
<sup>a</sup> Toluene/ethanol extract (%)	2.2±0.5	5.8±1.0	10.8±1.0	7.8±0.2	8.7±0.1	11.4±2.0	2.8±0.5	2.1±0.3	7.8±0.3	8.5±0.4
<sup>b</sup> TPC	119	164	935	54	490	829	122	146	273	581
<sup>c</sup> AA	20	22	175	48	54	133	23	23	32	118
<sup>a</sup> Ethanol extract (%)	0.4±0.1	1.6±0.1	2.0±0.5	2.2±0.2	3.0±0.3	4.1±1.2	0.5±0.2	1.1±0.4	2.0±0.1	3.8±2.0
<sup>b</sup> TPC	268	239	582	51	359	559	105	298	172	450
<sup>c</sup> AA	18	20	140	32	36	114	26	27	31	96
<sup>a</sup> Total extractive content (%)	2.7±0.6	7.7±1.2	13.5±1.3	10.0±0.4	11.7±0.5	16.0±2.0	3.5±0.7	3.3±0.7	9.8±0.4	12.3±2.0
<sup>d</sup> Lignin content (%)	26.5±1.5	31.2±1.0	32.2±1.6	29.3±1.2	25.7±1.6	34.4±1.3	28.4±1.0	28.3±1.3	28.9±1.2	35.9±0.9

Average values and SD were obtained on four replicates

<sup>a</sup> The amount of extractives was calculated as a percentage of the initial anhydrous mass of sawdust

<sup>b</sup> TPC values are in mg eq. gallic acid/g of extract; SD are inferior to 0.01 for all values

<sup>c</sup> AA values are in micromoles AAE/ $\mu\text{g}$  of extract; SD are inferior to 0.001 for all values

<sup>d</sup> Percent of lignin content for each sawdust wood species using standard method



the ten samples analyzed, three showed important antioxidant activity superior to 96  $\mu\text{mol AAE}/\mu\text{g}$  of extract (doussie, okan, tali); three showed moderate antioxidant activity (moabi, miovingui, padouk with values comprised between 54 and 31  $\mu\text{mol AAE}/\mu\text{g}$  of extract); and four showed low antioxidant activity (values below 28  $\mu\text{mol AAE}/\mu\text{g}$  of extract for Bahia, Bilinga, Okoume, Ozigo). Relative standard deviation was estimated to less than 5 %.

### 3.6 Chemical screening of extractives

The results of preliminary screening of extracts for chemical type using phytochemical methods are presented in Table 4. The extracts of all tree species gave positive results with the Shinoda test, ferric chloride tests, and Liebermann-Buchard tests indicating the presence of tannins, flavonoids, steroids, and terpenes. Tannins and flavonoids are present in high amounts in seven tree species, respectively, but in low quantities in the three others (Bahia, Okoume, Ozigo). The Mayer-Bouchardard test was positive only for tali indicating the possible presence of alkaloids. Saponins were detected in variable proportions in tali, moabi, Bilinga, okan, and Bahia extractives but were completely absent in all the other wood extracts.

## 4 Discussion

### 4.1 Decay resistance

At first observation, wood colonization by *P. chrysosporium* appears slower than that observed with *P. sanguineus*. However, it has to be noted that, despite this low rate of colonization, *P. chrysosporium* had moderate growth on the extracted sawdust of Ozigo, Okoume, and all poplar sawdusts (positive control). For all the other unextracted sawdusts, this fungus showed poor or no growth.

In the case of *P. sanguineus*, all unextracted sawdusts of tropical woods investigated in our study slowed down the growth of fungus, except for Bahia and Ozigo which have

been reported to possess very low natural decay resistance against fungal attack (CIRAD 2012). It is therefore clear that extractives contribute to natural durability of these African tropical woods, confirming earlier studies on the natural durability of African tropical woods (Gérardin et al. 2004; Neya et al. 2004; Mburu et al. 2007; Antwi-Boasiako and Pitman 2009; Antwi-Boasiako et al. 2010).

### 4.2 Extractive contents

The overall extractive contents vary considerably with the tree species, as expected. Results obtained by Huang et al. (2009), Kilic and Niemz (2012), Ndukwe et al. (2012), and Saha et al. (2013) show that there is a great variability in the quantity of extractives in African tropical tree species. The extractive contents of Okoume, Ozigo, and Bahia were approximately 83 % smaller than those of okan. Prior studies on Okoume showed extractive content of 2.3 % (Fengel and Wegener 1989) and 3.15 % (Kilic and Niemz 2012) which are comparable to the 3.5 % obtained in our study. Extractives content of okan are also similar to those obtained by Huang et al. (2009). In all cases, tree species containing low amounts of extractives (Bahia, Okoume, and Ozigo) seem to be more susceptible to fungal colonization than tree species containing higher amounts of extractives. Bilinga and okan, which are both only slightly colonized or not at all, had different amounts of extractives (7.7 % for Bilinga compared to 16 % for okan). The differences in nature and quantity of extractives probably explain the different behaviors of these tree species (Neya et al. 2004; Nascimento et al. 2013). In addition, other authors have shown that extractives may have different levels of antifungal or antioxidant properties, possibly explaining the differences in fungal resistance observed above (Amusant et al. 2007; Mburu et al. 2007; Huang et al. 2009; Saha et al. 2013).

### 4.3 Lignin content

The results obtained in this study are similar with those described in the literature with lignin contents of 30.55 % for padouk, 32 % for tali, 30.55 % for moabi, 29.07 % for Bilinga,

**Table 4** Preliminary phytochemical analysis of the main groups in extractives woods

Active compounds	Test procedure	Bahia	Bilinga	Doussie	Moabi	Movingui	Okan	Okoume	Ozigo	Padouk	Tali
Sterols and terpenes	Liebermann-Buchard	+	++	+	+++	+++	+	+++	++	++	++
Alkaloids	Mayer, Bouchardat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Saponins	Flotting	+	+	-	+++	-	++	-	-	-	+
Tannins	Ferric chloride	+	+++	+++	++	+++	+++	+	+	+++	+++
Flavonoids	Shinoda test	+	++	+++	++	+++	+++	++	+	+++	+++

The popular colorimetric methods for identify chemicals groups on plant parts. All tests are replicated four times

+++ Present in high concentration, ++ present in moderate concentration, + present in low concentration, - not detected



and 31.4 % for 31.4 % for Okoume (CTFT 1976; Fengel and Wegener 1989; Ndukwe et al. 2012). Some authors have claimed that lignin quantity and type may contribute to the susceptibility of the heartwood to attack and deterioration by different fungi (Tuomela et al. 2000; Oliveira et al. 2010; Skyba et al. 2013), but these claims remain controversial. In our study on unextracted and extracted sawdust of Bilinga, no fungi growth was observed. Tree species like tali, Bilinga, okan, and doussie have both high lignin contents and higher resistance to fungal colonization and probably to subsequent degradation. These results suggest that lignin could have an effect on the natural resistance of wood in some species.

#### 4.4 TPC

Moabi had the lowest phenolic content and doussie the highest. In a similar study on 22 varieties of tropical tree species, Huang et al. (2009) obtained similar results with a high variability of phenolic contents within species. Others studies (Aloui et al. 2004; Niamké et al. 2011) have shown that the presence of phenolic compounds is positively correlated with natural durability.

#### 4.5 Antioxidant properties of extractives

Antioxidant activities of ethanolic extracts were generally lower than those of toluene-ethanol, probably due to the removal of most polar phenolic antioxidant compounds during the first extraction. Antioxidant activity can be directly linked to the amount of phenolic compounds as demonstrated by higher antioxidant properties measured for okan, doussie, and tali. Nevertheless, moabi, which had a lower phenolic content, presented an antioxidant activity approximately two times higher than Bilinga and Bahia which had much higher phenolic contents. These differences can probably be explained by the nature of phenolic compounds (Saha et al. 2013). The results obtained are consistent with the data reported by Huang et al. (2009), even if different antioxidant test systems were used.

#### 4.6 Chemical screening of extractives

Some phytochemical screening results obtained in our study are consistent with those obtained in literature for Bilinga, Okoume, tali, and padouk using GC-MS analysis (Kilic and Niemz 2012; Saha et al. 2013). Most of the tree species studied present significant amounts of phenolic extractives such as tannins and flavonoids as demonstrated by the positive response to ferric chloride and Shinoda tests. Phenolic compounds have been reported in the literature to possess antioxidant, antibacterial, and antifungal activity which may be responsible of the natural durability of the corresponding tree species (Amusant et al. 2007). The presence of sterols and/or

terpenes was systematic on all woods in our study. In addition, these compounds have been observed on different tropical woods (Mburu et al. 2007; Kilic and Niemz 2012). Alkaloids were very rarely present on wood; tali being the sole tree species responding positively to the Mayer Bouchardat test. Alkaloids have also been reported to present antifungal, antibacterial, and antimicrobial activities on woods (Onuorah 2000; Wu and Lin 2001; Oliveira et al. 2010). According to literature, most groups of compounds identified could contribute to the natural resistance of corresponding tree species (Amusant et al. 2007; Mburu et al. 2007). The influence of extractives is particularly obvious for the padouk and movingui samples containing high amounts of phenolic extractives constituted of tannins and flavonoids. Indeed, *P. sanguineus* developed easily on the extracted sawdust of these two species, while no mycelium growth was observed on unextracted sawdust.

#### 4.7 Relations between extractives content, antioxidant activity, and fungal durability

Antioxidant activity generally increased with the total phenolic content in the extracts. It was found that tali, okan, doussie, and movingui had high phenolic contents (tannins and flavonoids) contributing to the antioxidant activity of these species. Diouf et al. (2006) and Huang et al. (2009) had shown that the total phenolic content was related to the antioxidant activity. In fact, a correlation coefficient of 0.92 between antioxidant activity and total phenolic content was obtained by Diouf et al. (2006).

It seems that there is only a moderate correlation between antioxidant activity and extractive content, probably because of the presence of other families of extractives with no antioxidant activity. Moabi, for example, had high extractives contents of about 10 % but a low antioxidant capacity (32  $\mu\text{mol AAE}/\mu\text{g}$  of extract in ethanol solvent); this could be explained by its low phenolic content compared to other tree species. Huang et al. (2009) obtained similar results with *Lophira alata* which had 1.69 % of extractives with higher antioxidant capacity than *Terminalia ivorensis* which had 18.21 % of extractives. However, for the tree species studied, the general trend is that extractives contents evolved in the same direction as antioxidant activity.

According to literature, good correlations exist between wood extractives content and natural durability versus rotting fungi (Aloui et al. 2004; Guilley et al. 2004; Antwi-Boasiako et al. 2010). Independent of the phytochemical nature of extractives, the amount of extractives in the tree species directly influences the colonization of wood by the different fungal species and consequently its potential natural durability.

However, if high values of extractives content, antioxidant activity, and TPC allow to expect a good decay resistance, the opposite is not true. Bilinga is a very typical example of this



reality since it is the most durable tree species of this study but comprising a moderate overall extractives content, one of the weakest antioxidant activity and relatively low TPCs particularly for toluene/ethanol extracts. These characteristics are even not counterbalanced by its average lignin content. This case suggests that a more careful and precise identification of the chemicals is necessary for completely understanding the origin of the natural durability against fungi and expect to use it to develop modern preservation cocktails.

## 5 Conclusion

The development of mycelium was generally strongly dependent on the presence of extractives: tree species with high extractive contents were poorly colonized by the two fungal strains used in this study. Conversely, tree species with low extractive content such as Bahia, Okoume, and Ozigo were easily colonized by fungi. It seems that a threshold value for the Klason lignin content was a promising clue for the decay resistance. Antioxidant properties were directly related to phenolic content even if the nature of phenolic compounds may led to more or less antioxidant activity and, by this way, an evidence for decay resistance. Phytochemical screening highlighted the presence of different chemical groups in the extractives of tropical tree species studied. The presence of tannins and flavonoids was detected in variable quantities in different tree species. Saponins were detected only in some species like tali, okan, Bilinga, and moabi, while alkaloids were present only in tali. In front of this variety of chemicals types, further studies are however necessary to identify the exact nature of chemical compounds present in these extracts and understand their precise role in the fungal resistance of tree species. Nevertheless, it is clear that tree species with high amounts of extractives and mainly tannins and flavonoids were more resistant than other woods.

**Acknowledgments** This article is dedicated to the memory of Professor Joseph Noah Ngamveng who died in August 2012. The authors gratefully acknowledge the financial support of the International Tropical Timber Organization (ITTO) Fellowship Program for the award granted to Dr Mounguengui to conduct analyses at LERMAB (France) and of CPER 2007–2013 “Structuration du Pôle de CompétitivitéFibresGrand’Est” (Competitiveness Fibers Cluster). LERMAB is supported by the French National Research Agency through the Laboratory of Excellence ARBRE (ANR-12-LABXARBRE-01).

## References

- Akinjogunla OJ, Yah CS, Eghafona NO, Ogbemudia FO (2010) Antibacterial activity of leave extracts of *Nymphaea lotus* (Nymphaeaceae) on methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) isolated from clinical samples. *Ann Biol Res* 1:174–184
- Aloui F, Ayadi N, Charrier F, Charrier B (2004) Durability of European oak (*Quercus petraea* and *Quercus robur*) against white rot fungi (*Coriolus versicolor*): relations with phenol extractives. *Holz Roh Werkst* 62:286–290
- Amusant N, Moretti C, Richard B, Prost E, Nuzillard M, Thevenon MF (2007) Chemical compounds from *Eperua falcata* and *Eperua grandiflora* heartwood and their biological activities against wood destroying fungus (*Coriolus versicolor*). *Holz Roh Werkst* 65:23–28
- Antwi-Boasiako C, Pitman AJ (2009) Influence of density on the durabilities of three Ghanaian timbers. *J Sci Technol* 29:34–45
- Antwi-Boasiako C, Barnett JR, Pitman AJ (2010) Relationship between total extractive content and durability of three tropical hardwoods exposed to *Coriolus versicolor* (Linnaeus) Quelet. *J Indian Acad Wood Sci* 7:9–13
- Centre Technique Forestier Tropical (C.T.F.T) (1976) Moabi. BFT169: 37–49
- COMIFAC Les forêts du bassin du Congo - Etat des Forêts (2010) de Wasseige C, de Marcken P, Bayol N, HiolHiol F, Mayaux Ph, Desclée B, Nasi R, Billand A, Defourmy P and Eba'a R 2012 (Eds) Office des publications de l'Union Européenne. Luxembourg. doi:10.2788/48830 276 p. ISBN : 978-92-79-22717-2
- Diouf P, Merlin A, Perrin D (2006) Antioxidant properties of wood extracts and color stability of woods. *Ann For Sci* 63:525–534
- Fengel D, Wegener G (1989) Wood chemistry, ultrastructure, reactions. Walter de Gruyter (ed) Berlin, Germany, 600p
- Gérardin P, Neyra B, Dumarcay S, Petrisans M, Serraj M, Huber F (2004) Contribution of gums to natural durability of *Prosopis africana* heartwood. *Holzforschung* 58:39–44
- Guilley E, Charpentier JP, Ayadi N, Snakkers G, Nepveu G, Charrier B (2004) Decay resistance against *Coriolus versicolor* in Sessile oak (*Quercuspetraea* Liebl.): analysis of the between-tree variability and correlations with extractives, tree growth and other basic wood properties. *Wood Sci Technol* 38:539–554
- Huang Z, Hashadi K, Makino R, Kawamura F, Kuniyoshi S, Ryuichiro K, Ohara S (2009) Evaluation of biological activities of extracts from 22 African tropical wood species. *J Wood Sci* 55:225–229
- Kilic A, Niemi P (2012) Extractives in some tropical woods. *Eur J Wood Prod* 70:79–83
- Kirker GT, Blodgett AB, Arango RA, Lebow PK, Clausen CA (2013) The role of extractives in naturally durable wood species. *Int Biodeterior Biodegrad* 82:53–58
- Kokutse AD, Stokes A, Bailleres H, Kokou K, Baudasse C (2006) Decay resistance of Togolese teak (*Tectona grandis* L.f) heartwood and relationship with colour. *Trees* 20:219–223
- Mburu F, Dumarcay S, Gérardin P (2007) Evidence of fungicidal and termicidal properties of *Pronus africana* heartwood extractives. *Holzforschung* 61:323–325
- Nascimento MS, Santana ALBD, Maranhão CA, Oliveira LS, Bieber L (2013) Chapter 13 phenolic extractives and natural resistance of wood. In: Chamy R and Rosenkranz F (eds) Biodegradation—life of science. InTech, p 349–370. doi:10.5772/56358
- Ndukwe NA, Okiei WO, Alo BI (2012) Correlates of the yield of chemical pulp, lignin and the extractive materials of tropical hardwoods. *Afr J Agric Res* 7:5518–5524
- Neyra B, Hakkou M, Petrisans M, Gérardin P (2004) On the durability of *Burkea africana* heartwood: evidence of biocidal and hydrophobic agents responsible for durability. *Ann For Sci* 61:277–282
- Niamké BF, Amusant N, Charpentier J-P, Chaix G, Baissac Y, Boutahar N, Adima AA, Kati-Coulibaly S, Jay-Allemand C (2011) Relationships between biochemical attributes (non-structural carbohydrates and phenolics) and natural durability against fungi in dry teak wood (*Tectona grandis* L. f.). *Ann For Sci* 68:201–211
- Niamké BF, Amusant N, Stien D, Chaix G, Lozano Y, Kadio AA, Lemenager N, Goh D, Adima AA, Kati-coulibaly S, Jay-allemand C (2012) Dihydroxy-epiisocatalponol, a new naphthoquinone from

- Tectona grandis* L.f. heartwood and fungicidal activity. Int Biodeterior Biodegrad 74:93–98
- Nzokou P, Wehner K, Kamdem DP (2005) Natural durability of eight tropical hardwoods from Cameroon. J Trop For Sci 17:416–427
- Oliveira LS, Santana LBDA, Maranhão AC, de CR M d M, de GVLA L, da IS S, Nascimento SM, Bieber L (2010) Natural resistance of five woods to *Phanerochaete chrysosporium* degradation. Int Biodeterior Biodegrad 64:711–715
- Onuorah EO (2000) The wood preservative potentials of heartwood extracts of *Milicia excelsa* and *Erythrophleum suaveolens*. Bioresour Technol 75:171–173
- Pettersen RC (1984). The chemical composition of wood. In: Rowell, RM (ed) The chemistry of solid wood. Advances in chemistry series 207, vol. 207. American Chemical Society; chapter 2, The chemistry of solid wood. Washington, DC, pp 57–126
- Piccolella S, Fiorentino A, Pacifico S, D'Ambrosia B, Uzzo P, Monaco P (2008) Antioxidant properties of sour cherries (*Prunus cerasus*L.): role of colorless phytochemicals from the methanolic extract of ripe fruits. J Agric Food Chem 56:1928–1935
- Saha TJB, Abia D, Dumarçay S, Ndikontar KM, Gérardin P, Noah NJ, Perrin D (2013) Antioxidant activities, total phenolic contents and chemical compositions of extracts from four Cameroonian woods: padouk (*Pterocarpus soyauxii* Taubb), tali (*Erythrophleum suaveolens*), moabi (*Baillonella toxisperma*), and movingui (*Distemonanthus benthamianus*). Ind Crop Prod 41:71–77
- Schultz TP, Nicholas DD (2002) Naturally durable heartwood: evidence for a proposed dual defensive function of the extractives. Phytochemistry 54:47–52
- Sirmah P, Muisu F, Mburu F, Dumarçay S, Gérardin P (2008) Evaluation of *Prosopis juliflora* properties as an alternative to wood shortage in Kenya. Bois et forêts des tropiques 298:25–35
- Skyba O, Douglas CJ, Mansfield SD (2013) Syringyl-rich lignin renders poplars more resistant to degradation by wood decay fungi. Appl Environ Microbiol 79:2560–2571
- Tropix 7, CIRAD 2012 (<http://tropix.cirad.fr>) consulted 24/04/2015
- Tuomela M, Vikman, Hatakka A, Itavaara M (2000) Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. Bioresour Technol 72: 169–183
- Uddin G, Rauf A, Siddiqui SB, Shah QS (2011) Preliminary comparative phytochemical screening of *Diospyros lotus* Stewart. Middle-East J Sci Res 10:78–81
- Vigor C, Vercauteren J, Montels J (2009) Les substances naturelles dans « la chaîne du médicament », première partie initiation à la pharmacognosie. Université de Montpellier I, 49 p
- Wu TS, Lin FW (2001) Alkaloids of the wood of *Cryptocarya chinensis*. J Nat Prod 64:1404–1407

## CHAPITRE 5

### VALORISATION DES EXTRACTIBLES

Dans ce chapitre est présenté les résultats de la valorisation des extractibles comme antioxydant et colorant pour teindre une fibre naturelle et deux fibres artificielles.

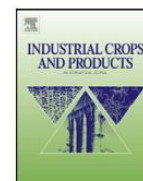
La substitution de produits ou molécules d'origine fossile par des produits d'origine renouvelable constitue un enjeu important dans le contexte actuel de développement durable. En effet, outre les aspects liés à l'origine de ces molécules renouvelables ne faisant pas appel à la mise en œuvre de produits fossiles issus de la pétrochimie, les molécules naturelles renouvelables présentent souvent une moindre toxicité pour l'environnement. Ces dernières étant souvent plus facilement biodégradable n'engendrent pas de problème d'accumulation dans les écosystèmes et les chaînes alimentaires.

Les résultats portant sur la valorisation des extractibles sont présentés sous forme de publications deux étant d'ores et déjà acceptées et publiées portant sur la valorisation des extractibles en tant qu'antioxydant et colorant naturel.

#### **5.1. Valorisation des extractibles en tant qu'antioxydant**

La valorisation des extractibles en tant qu'antioxydant a été évaluée par deux méthodes. Les résultats essentiels obtenus au cours de cette étude ont fait l'objet d'une première publication intitulé « **Antioxidant activities, total phenolic contents and chemical compositions of extracts from four Cameroonian woods: Padouk (*Pterocarpus soyauxii* Taubb), tali (*Erythrophleum suaveolens*), moabi (*Baillonella toxisperma*), and movingui (*Distemonanthus benthamianus*)** » dans le journal *Industrial Crops and Products*.





## Antioxidant activities, total phenolic contents and chemical compositions of extracts from four Cameroonian woods: Padouk (*Pterocarpus soyauxii* Taubb), tali (*Erythrophleum suaveolens*), moabi (*Baillonella toxisperma*), and movingui (*Distemonanthus benthamianus*)

Jean-Bosco Tchinda Saha<sup>a</sup>, Daouda Abia<sup>b</sup>, Stéphane Dumarçay<sup>c,\*</sup>, Maurice Kor Ndikontar<sup>a</sup>, Philippe Gérardin<sup>c</sup>, Joseph Ngamveng Noah<sup>a</sup>, Dominique Perrin<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Laboratory of Physico-Chemistry of Wood, University of Yaounde 1, Cameroon

<sup>b</sup> Material Chemistry Laboratory, University of Yaounde 1, Cameroon

<sup>c</sup> Laboratoire d'Etudes et de Recherche sur le Matériau Bois, Université de Lorraine, France

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 6 January 2012

Received in revised form 31 March 2012

Accepted 5 April 2012

#### Keywords:

Antioxidant activity  
Total phenolic content  
*Pterocarpus soyauxii* Taubb  
*Erythrophleum suaveolens*  
*Baillonella toxisperma*  
*Distemonanthus benthamianus*

### ABSTRACT

The antioxidant activities, total phenolic contents and chemical compositions of extracts from four Cameroonian woods were investigated. The antioxidant activities were evaluated using the scavenging of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH·) and the oxygen uptake method. The total phenolic content (TPC) was evaluated according to the Folin–Ciocalteu assay in which gallic acid was used as standard. Condensed tannins were evaluated by using the Stiasny method. Chemical compositions of the extracts were evaluated by GC–MS. The results show that toluene/ethanol extracts from tali (*Erythrophleum suaveolens*) exhibit the highest antioxidant activity with CE<sub>50</sub> value of 3.1 mg/L followed by movingui (*Distemonanthus benthamianus*) extracts (CE<sub>50</sub> value 3.9 mg/L), padouk (*Pterocarpus soyauxii* Taubb) and moabi (*Baillonella toxisperma*) (CE<sub>50</sub> value of 5.5 mg/L and 44 mg/L respectively). The TPC and condensed tannins of extracts were in the range of 54–992 mg eq. gallic acid/g of extract and 8–60%, respectively. Homopterocarpin and pterocarpin were the major compounds found in the extracts of padouk. Catechin, gallic acid, and pyrogallol were the major compounds identified in tali extracts. Movingui extracts principally contain diterpenes. Gallic acid, squalene and triperpenes were the major compounds of moabi extracts.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

Wood has always been an important material for humans. Its usefulness has not diminished because of the multiplicity of its uses. Cameroon has significant forest resources, the forest is 39 million hectares, or about 42% of the national area and comprises nearly 300 species of wood, of which 40–80 are commercially exploited. In Cameroon, the timber industry generates large amounts of waste that are usually used as fuel or abandoned; they could lead to different valuations. When a tree is cut down, only 40% of the tree is used as a timber, the rest (sawdust, bark, etc.) is most often not valued, discarded or used as firewood (Ndikontar, 2005). Waste recovery is a challenge increasingly important for industrial processes economically sustainable and environmentally.

Heartwood of some tropical wood species have high extractive content. They are usually rich in polyphenols, which have many favorable effects on human health such as inhibiting the oxidation of low-density lipoproteins (Frankel et al., 1993), thereby decreasing the risk of heart diseases. They have anti-inflammatory and anti-carcinogenic properties. Thus, measurements of polyphenols and antioxidant activity of wood extracts have become important tools to understand the values of wood species from a health point of view. Antioxidants are generally constituted by phenolic acids, flavanoids, and tannins (Dykes and Rooney, 2006).

In addition to their contribution to wood color and odor, extractives have also been found to have specific biological activities, such as antioxidant activity (Diouf et al., 2006), plant growth regulatory effects, and antimicrobial activity. Tropical African tree species are very promising plant materials in the search for natural products with various biological activities because the plants grow under very severe conditions such as strong ultraviolet rays and high temperatures. Therefore, African plants, especially medicinal plants, have attracted considerable research interest (Atawodi, 2004). It may be noted that numerous extracts from various tropical trees

\* Corresponding author at: Faculté des Science et Technologies BP 70239, F-54506 Vandoeuvre-lès-Nancy, France. Tel.: +33 383684834; fax: +33 383684498.  
E-mail address: [stephane.dumarçay@lrmab.uhp-nancy.fr](mailto:stephane.dumarçay@lrmab.uhp-nancy.fr) (S. Dumarçay).



have many traditional uses without the active substances being actually known.

The medicinal uses of the wood that we work on are many. Moabi (*Baillonella toxisperma*) belongs to the class of Sapotaceae. The heartwood and sapwood are well differentiated. The heartwood is pinkish brown more or less dark. Moabi contains relatively high amounts of alcohol–benzene (7.35%) and water (3.75%) extracts (C.T.F.T., 1976). The entire tree is used in African traditional medicine, especially in the *Cameroonian pharmacopeia*. Bark and latex of moabi heal rheumatism, bronchopulmonary and gastrointestinal diseases, back pain and promotes wound healing. Bark decoction is used in treating vaginal infections and women use it as postpartum care. The bark is also used by pygmies and Bantu poachers as a means to become invisible during hunting. Moabi fruits have seeds consumed as food or used as lotion. Their oil is rich in palmitic, stearic and oleic acid. Moabi leaves are highly valued by caterpillars and consumed by men. The trunk is used in building lumber (Ngueguim et al., 2009).

Padouk (*Pterocarpus soyauxii* Taubb) belongs to the family of Fabaceae. Its sapwood is clearly differentiated from the heartwood and is whitish. Its heartwood is particularly suitable for outdoor use. The wood, red at first, becomes brown-colored on exposure to light. Padouk contains relatively high amounts of alcohol–benzene (12.0%) and water (1.37%) extracts. It is used for medicinal purposes. It can be used to treat various diseases like hypertension, diabetes, intestinal parasites, renal and skin diseases. Bark extracts are used in herbal medicine to treat fungal infections. The bark is used as a diuretic in Gabon and fresh leaves are also used as food in Nigeria. Studies have shown that *P. soyauxii* bark contains various compounds such as biflavonoids (santalins A, santarubins A and B), isoflavonoids (pterocarpin, formononetin and prunetin), an isoflavone quinone (claussequinone), isoflavanes (vestitol and mucronulatol), tannins, ascorbic acid, glucosides, triterpenes, and xanthones (Betti, 2004; Tchamadeu et al., 2011).

Tali (*Erythrophleum suaveolens*) belongs to the family of Leguminosae (Caesalpinaceae). The heartwood is yellow-brown rather clear with red highlights and dark veins; it darkens on exposure to light. The sapwood is lighter, dull yellow and thin. Alcohol–benzene extract content is quite high and ranges from 12 to 14%; water extract is 2.4%. The wood is widely used in heavy structures as in railway construction. Talis are abundant locally and have been shown to be efficient against termites. Studies done on different *Erythrophleum* shows that they have anti-bacterial, anti-termites and anti-fungal properties (Antwi-Boasiako and Damoah, 2010). The bark of *E. suaveolens* is used to treat convulsions, pain and heart problems. Decoctions and infusions made from the bark are also used for medicinal purposes (emetic, laxative, antirheumatism etc.) (Aiyegoro et al., 2007).

Movingui (*Distemonanthus benthamianus*) belongs to the family of Caesalpinaceae. The sapwood yellowish color is lighter than the heartwood and it is quite distinct. The movingui tree is used in pharmacopeia to treat different diseases as bacterial, fungal and viral infections. Its bark is used to treat rheumatism (Akendengué and Louis, 1994). Some studies show that *D. benthamianus* contains flavonoid compounds such as oxyyanin A, oxyyanin B, ayanin and distemonanthin and these compounds have been used for their antitumor, antibacterial activity and in fighting dermatitis (Aiyegoro et al., 2008).

However, the antioxidant properties of these wood extracts have not been reported before. For this reason, two bioassays were selected to evaluate the antioxidant activity of the extracts from these different woods. The results will provide useful information for screening species whose extracts possess antioxidant activities. This will allow further exploitation of new natural resources for various applications in improving human health. Furthermore, the results could enable the valorization of wood species without

commercial value. In examining possible applications of wood extracts, one must keep in mind that they are strongly linked to their activity. Specifically, natural compounds with antioxidant activity could be used as food preservatives. In this work, extracts were obtained from the sawdust of different wood species using different solvents (dichloromethane, toluene/ethanol, acetone, and water). The aim was to select the solvent that could lead to the extracts with the highest antioxidant capacity with a view to use them in food industry. Two different methods were used to evaluate the antioxidant activity (DPPH radical scavenging and oxygen uptake). Total phenol content was determined by the Folin–Ciocalteu method. The relationship between total phenolic content and antioxidant capacity was examined. The condensed tannin content was evaluated by the Stiasny method. The possible structures of some compounds in different extracts were determined using GC–MS.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Chemicals

Methyl linoleate [LH], a gift of Novance, was distilled in a glass oven (Büchi). 2,2'-Azobis-isobutyronitrile [AIBN] (FLUKA, >98%), butanol-1 (Sigma, 99.8%), oxygen [O<sub>2</sub>] (Air Liquide, 99.995%), (+)-catechin hydrate (Fluka purity >96%), 2,6-di-tert-butyl-4-méthyl-phénol [BHT] (Fluka, >99%), methanol (Merck 99.8%), Folin–Ciocalteu reagent (Sigma–Aldrich), ethanol (95%), purified sodium carbonate and formaldehyde (Pro-labo), hydrochloric acid (Riedel-de Haen AG), distilled water and N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide containing 1% trimethylchlorosilane [BSTFA 1% TMCS] (ACROS) were used without further purification.

### 2.2. Raw materials

The sawdust of heartwood from moabi, movingui, padouk and tali were collected from the Société Industrielle de Mbang (S.I.M) in Cameroon on the outskirts of Yaounde town. The average age of trees was 70–80 years. The samples were air-dried in the laboratory, ground with a cutting mill (Retsch SM 100), sieved and the fraction of the particle sizes between 0.2 and 0.4 mm was retained. Moisture content of the sawdusts (an average of 3 trials; the quoted uncertainty is standard deviation) was 17.1 ± 0.1% for moabi, 22.8 ± 0.2% for movingui, 8.5 ± 0.2% for padouk, and 10.6 ± 0.1% for tali.

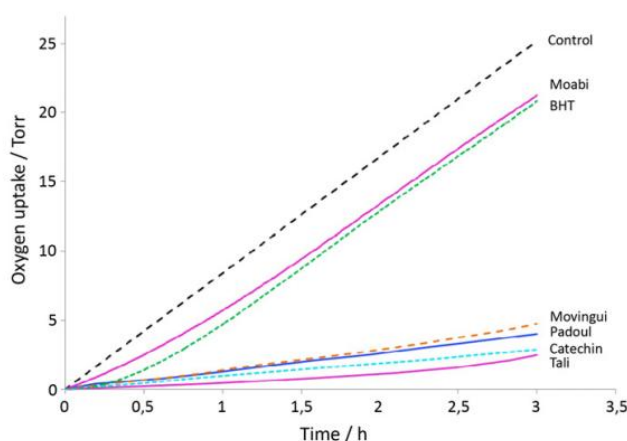
### 2.3. Extractions

Extraction of different wood sawdust with solvents (dichloromethane, acetone, toluene-ethanol (2:1, v/v), distilled water) was carried out in the “Accelerated Solvent Extraction” system ASE 200 (Dionex), a system which allows the use of high pressure and temperature above the boiling point of solvent. The cell volume was 22 cm<sup>3</sup>. The mass of sawdust was 4–6 g; the volume of solvent was 11–13 cm<sup>3</sup>. Temperature and pressure were 100 °C and 103.5 bar. After the extraction, the solvent was evaporated under reduced pressure and the crude extract dried under vacuum in a desiccator over P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> and then weighed (Neya et al., 2004; Mburu et al., 2007).

### 2.4. Total phenolic content [TPC] of the extracts

Determination of total phenolics in different solvent extracts was carried out based on the Folin–Ciocalteu method with a slight modification (Scalbert et al., 1989; Huang et al., 2009). The extracts were diluted in methanol to obtain a final absorbance between 0





**Fig. 1.** Oxygen uptake during the autoxidation of methyl linoleate induced by AIBN in the presence of different toluene/ethanol extracts and reference substances (BHT and catechin).

and 0.5. A 2.5 mL portion of Folin–Ciocalteu reagent (diluted 10 times in methanol) and 2 mL of 75 g/L aqueous solution of sodium carbonate were added to 0.5 mL of the methanolic solution of the extract. The mixture was kept for 5 min in a water bath at 50 °C and then transferred to a cold water bath. The mixture was centrifuged before absorbance was read at 760 nm with a Lambda 16 Perkin-Elmer UV spectrophotometer. The total phenolic content was calculated as gallic acid equivalent from the calibration curve of gallic acid standard solutions (0–25 mg/L) and expressed as mg gallic acid equivalent/g of extract.

## 2.5. Measurement of the antioxidant activity

### 2.5.1. Oxygen uptake method

The antioxidant capacity of extractives was determined by evaluating oxygen uptake inhibition during oxidation of methyl linoleate in a gas-tight borosilicate glass apparatus (Diouf et al., 2006). The solvent was butan-1-ol. Reaction temperature was 60 °C and initial conditions were as follows:  $9 \times 10^{-3}$  M 2,2'-azodiisobutyronitrile (AIBN); 0.4 M methyl linoleate; 0.1 g/L extract; oxygen pressure 145 Torr. Oxygen uptake was monitored continuously by a pressure transducer. Without any additive, oxygen uptake is roughly linear (control in Fig. 1). In the presence of an antioxidant extract, oxygen consumption is lower, and the antioxidant capacity of the extract is measured by the ratio of oxygen uptake at a chosen time (3 h) in the presence and in the absence of the extract:

$$\text{OUI (\%)} = \frac{\Delta P(\text{O}_2)_{3\text{h}} \text{ in absence of extract} - \Delta P(\text{O}_2)_{3\text{h}} \text{ in presence of extract}}{\Delta P(\text{O}_2)_{3\text{h}} \text{ in absence of extract}} \times 100$$

This antioxidant activity (OUI for “oxygen uptake inhibition”) should spread from 0 to 100%, for poor and strong antioxidants respectively, and could be negative for prooxidants (Poaty et al., 2010). Relative Standard Deviation of OUI is estimated to be 5% (El Hage et al., submitted for publication).

### 2.5.2. Scavenging effect on DPPH radical

The antioxidant activities were also determined using the DPPH free radical. DPPH assay is widely used to determine the antioxidant capacity in plant extracts due to its simplicity, stability, and reproducibility. It is based on the ability of antioxidant to scavenge the DPPH free radical. This method determines the hydrogen donating capacity of a substance and does not produce oxidative chain reactions or reaction with free radical intermediates (Sreeramulu et al., 2010). For each extract, different concentrations

were tested (Brand-Williams et al., 1995). Methanolic solutions of DPPH ( $1.0 \times 10^{-4}$  M) and various concentrations of each extracts (0.5–55 mg/L) were rapidly mixed, and absorbance was directly measured at 516 nm (wavelength at which only DPPH absorbs) and then after 2 h with a Lambda 16 Perkin-Elmer UV spectrophotometer. The antioxidative activity was calculated by the efficient concentration  $\text{CE}_{50}$ , which is the antioxidant concentration which scavenges 50% of DPPH after 2 h (Razali et al., 2008). The efficient concentration was obtained by interpolation.

## 2.6. Stiasny number

The Stiasny number was used to determine the reactivity of tannins toward formaldehyde. According to the Scalbert variation of the method (Scalbert et al., 1989), about 100 mg (oven-dry mass) of tannin sample (extract), 10 mL of water, 2 mL of 37% aqueous formaldehyde and 1 mL of 10 M hydrochloric acid solution (HCl) were mixed and heated under reflux for 30 min. At the end of this reaction, the mixture was filtered on a sintered glass filter (filter no.3) while it was still hot. The precipitate was dried to constant weight in an oven at 105 °C. The Stiasny number was determined as the ratio of the weight of the precipitate to the weight of the starting sample (Ping et al., 2011).

## 2.7. GC–MS analysis

Samples were analyzed as trimethylsilyl derivatives using the following procedure. In a screw-capped vial, a sample of about 1 mg of dry extract was dissolved in 100  $\mu\text{L}$  of N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide containing 1% trimethylchlorosilane (BSTFA/1% TMCS). The solution was vortex-stirred for about 1 min and heated at 70 °C for 20 min. After evaporation of the solvent, the residue was diluted in 1000  $\mu\text{L}$  of ethyl acetate. The GC–MS analysis was performed on a Clarus 500 GC gas chromatograph (Perkin-Elmer). Gas chromatography was carried out on a 5% diphenyl/95% dimethyl polysiloxane fused-silica capillary column (J&W Scientific DB-5, 30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ ). The gas chromatograph was equipped with electronically controlled split/splitless injection port. The injection (1  $\mu\text{L}$ ) was performed at 250 °C in the split mode. Helium was used as carrier gas, at constant flow. Ionization was achieved by electron impact (70 eV ionization energy). The components were identified by comparing the mass spectra with the NIST Library. The identification of chemical compounds was assigned on the basis of comparison of their retention indices and mass spectra with those given in the literature.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Extraction yields

The amounts of extractives contained in the four woods based on the weight of dry wood are shown in Table 1. The extraction yield depends on the nature of the solvents. It was observed that for all the solvents used, dichloromethane gave the lowest yields

**Table 1**  
Yields of extractives (%; an average of 3 trials). Quoted uncertainties are standard deviations.

Solvent	Moabi	Movingui	Padouk	Tali
Dichloromethane	1.9 $\pm$ 0.2	9.0 $\pm$ 0.5	6.3 $\pm$ 0.2	2.7 $\pm$ 0.7
Toluene/Ethanol	7.8 $\pm$ 0.2	8.7 $\pm$ 0.1	7.8 $\pm$ 0.3	8.5 $\pm$ 0.4
Acetone	13.1 $\pm$ 0.4	9.9 $\pm$ 0.5	9.1 $\pm$ 1.0	7.7 $\pm$ 0.5
Water	8.4 $\pm$ 0.3	3.8 $\pm$ 0.1	4.0 $\pm$ 0.1	10.0 $\pm$ 0.2

**Table 2**

Values of the antioxidant activity OUI (%) of the various extracts studied.

Solvent	Moabi	Movingui	Padouk	Tali	BHT	Catechin
Dichloromethane	–	80	78	–		
Toluene/ethanol	15	85	88	90		
Acetone	8	82	78	88	15	88
Water	40	80	78	85		

and acetone gave the highest amounts of extractives. It was also observed that the highest amount of extract is obtained for moabi (13.1%) in acetone and the lowest amount was obtained with the same species (1.9%) in dichloromethane. These values agree rather well with other published data. In a study carried out with 22 African tropical timber woods, Huang et al. (2009) found extractive contents between 18.2% and 1.8%, but only six of the 22 species showed extractive contents higher than 10%. The same result was obtained by Mburu et al. (2007) and Neya et al. (2004).

### 3.2. Antioxidant properties of extracts

#### 3.2.1. Oxygen uptake

The oxygen uptake during autoxidation of methyl linoleate is shown in Fig. 1 for the toluene/ethanol extracts. It can be noted that the curves of the extracts with other solvents have the same shape as in Fig. 1; only the OUI varied, as it can be seen in Table 2.

Let us recall that the higher OUI, the most efficient the antioxidant. As can be seen in Table 2, all extracts under study inhibit the oxidation of LH induced by AIBN. It was also found that their antioxidant capacities vary widely. The most efficient extracts are those of tali. Concerning the reference phenolic compounds (catechin and BHT) known for their good antioxidant properties, it is clear that our extracts are more efficient than BHT, but only slightly less effective than catechin. Let us notice that gallic acid has been compared to catechin (Diouf et al., 2006); its OUI is 95% of that of catechin. It can thus be concluded that our extracts are all efficient antioxidants. Moabi extracts are the less efficient, while extracts of the three other species are very efficient. OUI vary from 15% for moabi extract to 90% for tali extract, which is as efficient as catechin.

#### 3.2.2. DPPH free radical scavenging activity

Antioxidant activity was also measured by determining the concentration  $CE_{50}$  required to remove 50% of the free radical 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) after 2 h of reaction. Table 3 shows the results obtained by this method.

Note that when  $CE_{50}$  is high, the extract has low antioxidant capacity. The  $CE_{50}$  values of the extracts indicate that the antioxidant activity of the four extracts differed significantly. The extracts from 3 species had considerably high antioxidant activity, with  $CE_{50}$  values below 10 mg/L. The extracts from tali showed the highest antioxidant activity. The  $CE_{50}$  values of tali and movingui were near 3 mg/L and near 4 mg/L, respectively. The  $CE_{50}$  value of catechin and BHT, used as positive control in this study, were 2 mg/L and 4 mg/L respectively. This result indicates that the crude extracts from tali exhibit stronger antioxidant activity than BHT, and the extracts from movingui have an antioxidant potential similar to that of BHT. Catechin has a higher antioxidant potential than all the extracts under study, except acetone extracts of tali.

**Table 3**Concentrations  $CE_{50}$  (mg/L) required to remove 50% of DPPH at equilibrium in methanol for  $[DPPH]_0 = 1.0 \times 10^{-4}$  M.

Solvent	Moabi	Movingui	Padouk	Tali	BHT	Catechin
Dichloromethane	–	4.1	6.0	–		
Toluene/ethanol	44.0	3.9	5.5	3.1		
Acetone	50.5	3.0	7.5	2.1	4.0	2.0
Water	20.5	4.3	4.0	3.5		

**Table 4**

Total phenolic content (TPC, mg eq. gallic acid/g of extract).

Solvent	Moabi	Movingui	Padouk	Tali
Dichloromethane	–	479	277	–
Toluene/Ethanol	54	490	273	581
Acetone	68	602	430	992
Water	80	150	108	646

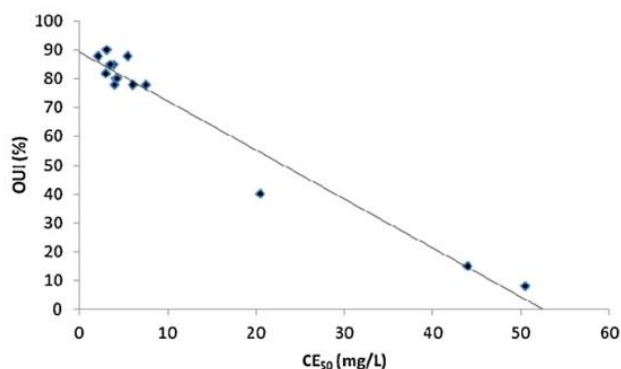


Fig. 2. Correlation between the antioxidant activity OUI and  $CE_{50}$  of extracts from the four African tropical woods.

### 3.3. Total phenolic content

The total phenol contents of the different species of wood measured according the Folin–Ciocalteu method are shown in Table 4.

The total phenol contents measured by the Folin–Ciocalteu method vary between 54 and 992 eq. gallic acid/g of extract. The contents of polyphenolics varied among different extracting solvents and different species used. The highest amount (992 mg eq. gallic acid/g of extract) was found in acetone extract of tali while the lowest was in toluene/ethanol extract of moabi (54 mg eq. gallic acid/g of extract). Some 22 varieties of tropical woods studied by Huang et al. (2009) have total phenol content similar to those obtained in our study.

### 3.4. Correlations between the various measurements

In this study, the DPPH and OUI assays provided two series of results for the antioxidant capacity. To correlate the antioxidant activity obtained with the two methods, regression analysis was performed and a linear correlation is shown by Fig. 2. As expected, these two methods are correlated ( $R = -0.9804$ ): high OUI values correspond to low  $CE_{50}$  and vice versa.



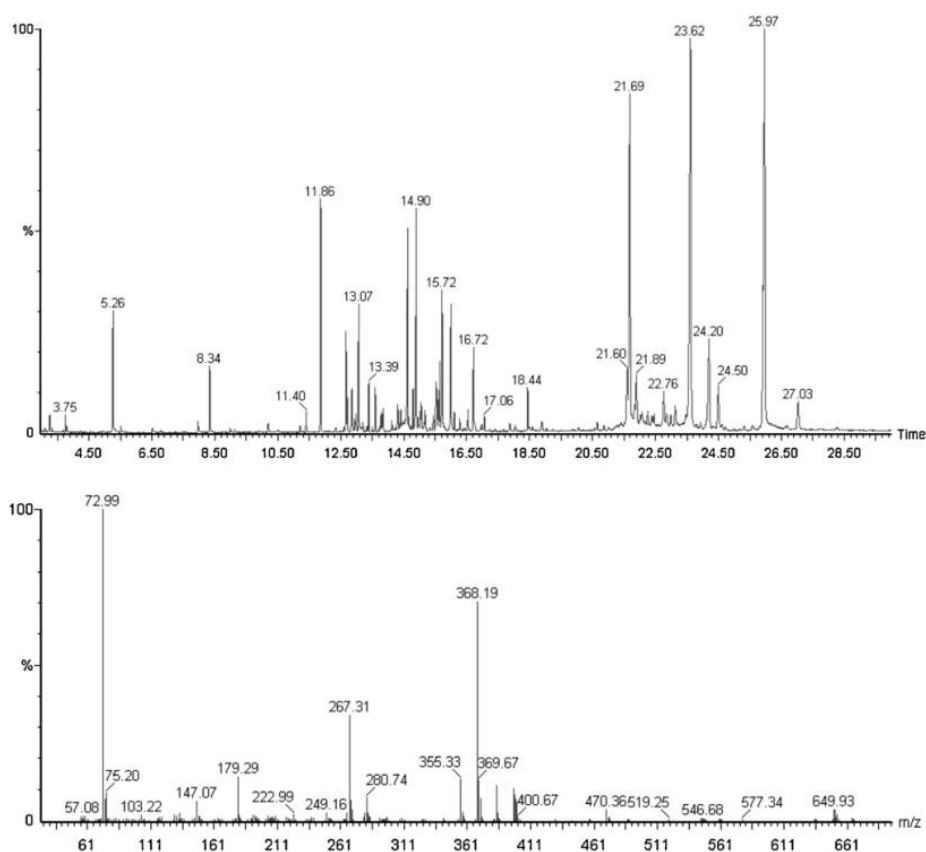


Fig. 3. Chromatogram of the derivatized tali aqueous extracts and mass spectrum of the catechin detected at  $RT=21.60$  min.

The correlation between the antioxidant activity and the total content of phenol compounds has been also examined. For OUI and TPC,  $R=0.64$ ; for  $CE_{50}$  and TPC,  $R=-0.59$ . We can note that the correlation coefficient is positive or negative depending on whether the slope is positive or negative. The results show that, generally, the antioxidant activity increases with the content of total phenol compounds in the extracts. Therefore, it can be concluded that the phenol compounds in the extracts were the major components contributing to the antioxidant property of the heartwood extracts. This has also been observed by Heng et al. (2007) and Diouf et al. (2006).

### 3.5. Stiasny number

This method was used to evaluate the percentage of the condensed tannins in our different extracts. The results are shown in Table 5.

It can be observed that for all the wood species studied, moabi had the lowest Stiasny number (8% in water) and the highest was that of padouk (68% in acetone). It is noted therefore that the better

solvent for the extraction of condensed tannin is acetone. The same result was obtained by Downey and Hanlin (2010). These results strongly suggest that extracts of padouk and movingui principally contain condensed tannins, while probably moabi mainly contains hydrolysable tannins. Results are less clear-cut for tali.

### 3.6. GC–MS analysis

$C_5$  and  $C_6$  carbohydrates were found in the four woods, especially in acetone extracts; moreover one obtained more carbohydrates in extracts of dried woods than in the extracts of untreated woods, which suggests that glucosides are destroyed in the wood when it is dried at  $105^\circ\text{C}$ .

The four woods contain  $C_{14}$ – $C_{18}$  fatty acids, principally hexadecanoic acid; a pentadecenoic acid is present, as a trace in movingui extracts only. Glycerol was also found, which was predictable, as fatty acids are usually present in plants as triglycerides.

Gallic acid was found in tali and moabi extracts, so confirming that moabi and tali contain hydrolysable tannins.

Tali also contains pyrogallol, catechin (Fig. 3), dihydroquercetin, and protocatechuic acid. Movingui contains a number of unidentified diterpenes and moabi contains squalene and unidentified tripterpenes. The main extractive of padouk is homopterocarpin, directly recovered with a good purity with acetone extraction (Fig. 4); it also contains pterocarpin and anethol. Some of these compounds as gallic acid or catechin, certainly participate to the antioxidative power of the extracts, but the main participation comes from high weight compounds not detected in GC analyses.

**Table 5**  
Stiasny number (%) based on weight of dry extract.

Solvent	Moabi	Movingui	Padouk	Tali
Dichloromethane	–	55	62	–
Toluene/Ethanol	12	64	64	43
Acetone	23	64	68	54
Water	8	40	29	29



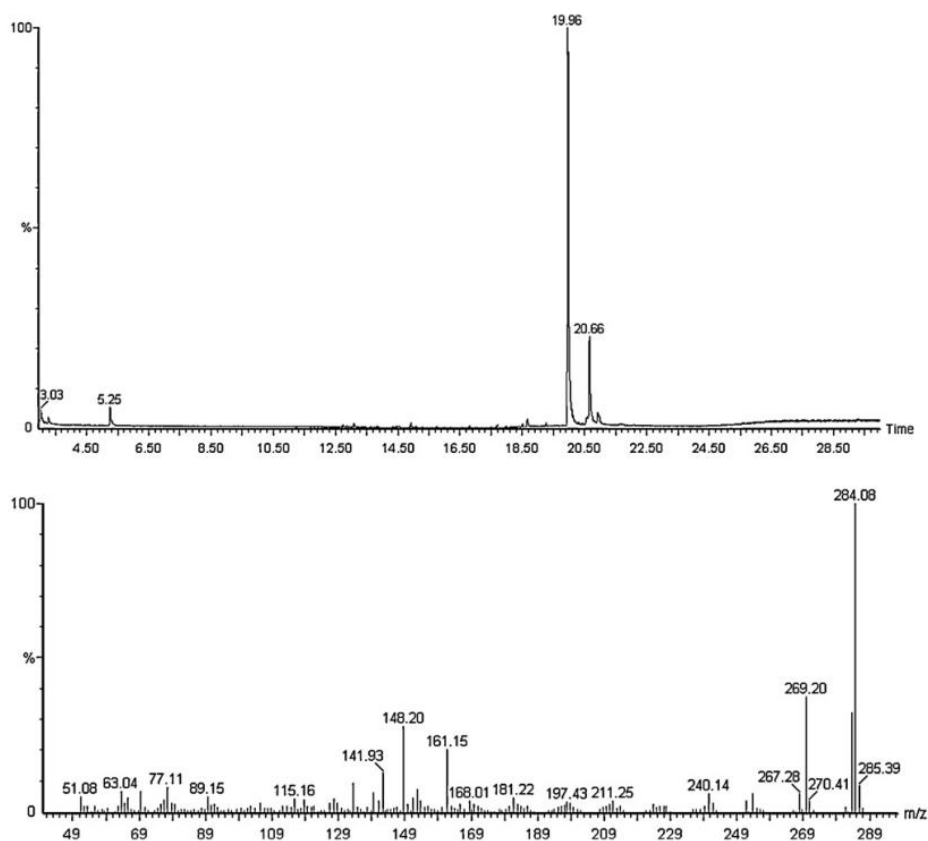


Fig. 4. Chromatogram of the derivatized padouk acetic extracts and mass spectrum of the homopterocarpin detected at  $RT = 19.96$  min.

#### 4. Conclusion

The results of this study demonstrate that there are differences in the contents and activities of phenolic compounds in the extracts of *P. soyauxii* Taubb, *E. suaveolens*, *B. toxisperma*, and *D. benthamianus*. The total phenol contents were related to the antioxidant activities of all extracts. It was found that *E. suaveolens* has the highest total phenolic content and antioxidant.

*E. suaveolens* extracts contain catechin, gallic acid, and pyrogallol as the main phenolic compounds. Thus, these extracts can be used as a source of antioxidants, with a potential to preserve food.

#### References

- Aiyegoro, O.A., Akinpelu, D.A., Afolayan, A.J., Okoh, A.I., 2008. Antibacterial activities of crude stem bark extracts of *Distemonanthus benthamianus* Baill. *Journal of Biological Sciences* 8, 356–361.
- Aiyegoro, O.A., Akinpelu, D.A., Okoh, A.I., 2007. *In vitro* antibacterial potentials of the stem bark of red water tree (*E. suaveolens*). *Journal of Biological Sciences* 7, 1233–1238.
- Akendengué, B., Louis, A.M., 1994. Medicinal plants used by the masango people in gabon. *Journal of Ethnopharmacology* 41, 193–200.
- Antwi-Boasiako, C., Damoah, A., 2010. Investigation of synergistic effects of extracts from *E. suaveolens*, *Azadirachta indica* and *Chromolaena odorata* on the durability of *Antiaris toxicaria*. *International Biodeterioration and Biodegradation* 64, 97–103.
- Atawodi, S.E., 2004. Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology* 4, 128–133.
- Betti, J.L., 2004. An ethnobotanical study of medicinal plants among the Baka pygmies in the Dja biosphere reserve, Cameroon. *African Study Monographs* 25 (1), 1–27.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 28, 25–30.
- Centre Technique Forestier Tropical, 1976. Moabi. Bois et Forêts des Tropiques 169, 37–49.
- Diouf, P., Merlin, A., Perrin, D., 2006. Antioxidant properties of wood extracts and color stability of woods. *Annals of Forest Science* 63, 525–534.
- Downey, M.O., Hanlin, R.L., 2010. Comparison of ethanol and acetone mixtures for extraction of condensed tannin from grape skin. *South African Journal for Enology and Viticulture* 31 (2), 154–159.
- Dykes, L., Rooney, L.W., 2006. Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of Cereal Science* 44, 236–251.
- El Hage, R., Perrin, D., Brosse, N. Effect of the pretreatment severity on the antioxidant properties of ethanol organosolv *Miscanthus × giganteus* lignin, *Bioresources*, submitted for publication.
- Frankel, E.N., Kanner, J., German, J.B., Parks, E., Kinsella, J.E., 1993. Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet* 341, 454–457.
- Heng, G., Shupe, T.F., Eberhardt, T.L., Chung, Y.H., 2007. Antioxidant activity of extracts from the wood and bark of Port Orford cedar. *Journal of Wood Science* 53, 147–152.
- Huang, Z., Hashadi, K., Makino, R., Kawamura, F., Kuniyoshi, S., Ryuichiro, K., Ohara, S., 2009. Evaluation of biological activities of extracts from 22 African Tropical wood species. *Journal of Wood Science* 55, 225–229.
- Mburu, F., Dumarçay, S., Gérardin, P., 2007. Evidence of fungicidal and termiticidal properties of *Pronus africana* heartwood extractives. *Holzforchung* 61, 323–325.
- Ndikontar, M. K., 2005. Compatibility of some Cameroonian commercial tropical wood species with cement, Thesis. University of Yaoundé I, Cameroon, 1–5.
- Neya, B., Hakkou, M., Petrisans, M., Gérardin, P., 2004. On the durability of *Burkea africana* heartwood: evidence of biocidal and hydrophobic responsible for durability. *Annals of Forest Science* 61, 277–282.
- Ngueguim, J.R., Zapfack, L., Makombu, J.G., Foahom, B., 2009. Le Moabi (*B. toxisperma*) un arbre multi-ressources des forêts denses humide du Cameroun. *Le Flamboyant* 65, 2–5.
- Ping, L., Brosse, N., Chrusciel, L., Navarrete, P., Pizzi, A., 2011. Extraction of condensed tannins from grape pomace for use as wood adhesives. *Industrial Crops and Products* 33, 253–257.
- Poaty, B., Dumarçay, S., Gérardin, P., Perrin, D., 2010. Modification of grape seed and wood tannins to lipophilic antioxidant derivatives. *Industrial Crops and Products* 31, 509–515.
- Razali, N., Rasyidah, R., Sarni, M.J., Azlina, A.A., 2008. Radical scavenging and reducing properties of extracts of cashew shoots (*Anacardium occidentale*). *Food Chemistry* 111, 38–44.

Scalbert, A., Monties, B., Janin, G., 1989. Tannins in wood: comparison of different estimation methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 35, 1324–1329.

Sreeramulu, D., Vijaya, K.R.C., Raghunath, M., 2010. Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India. *Food Research International* 43, 285–288.

Tchamadeu, M.C., Dzeufiet, P.D.D., Nana, P., Kouambou, N.C.C., Nguemim, T.F., Allard, B.J., Siagat, N., Zapfack, R.L., Girolami, J.P., Tack, I., Kamtchouing, P., Dimo, T., 2011. Acute and sub-chronic oral toxicity studies of an aqueous stem bark extract of *P. soyauxii* Taub (Papilionaceae) in rodents. *Journal of Ethnopharmacology* 133, 329–335.

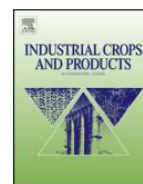
Dans la continuité de la valorisation des extractibles, il a été question de regarder s'il était possible que ces extractibles soient utilisés pour teindre les fibres.

## 5.2. Valorisation en tant que colorant

Pour valoriser les extractibles en tant que colorant, il a été effectué des extractions aqueuses et alcalines sur les sciures. Les extractibles obtenus après filtration ont servi à faire des teintures sur une fibre naturelle (coton) et deux fibres artificielles (viscose de bois et viscose de bambou) avec ou sans mordant.

### 5.2.1. Teinte des fibres sans l'utilisation d'un mordant.

Dans ce paragraphe nous présentons les résultats obtenus lors de la teinte des fibres sans l'utilisation d'un mordant. Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une deuxième publication intitulée « **Study of the feasibility of a natural dye on cellulosic textile supports by red padouk (*Pterocarpus soyauxii*) and yellow movingui (*Distemonanthus benthamianus*) extracts** » dans le journal *Industrial Crops and Products*. Dans cette publication, n'est présenté que l'essentiel des résultats obtenus.



## Study of the feasibility of a natural dye on cellulosic textile supports by red padouk (*Pterocarpus soyauxii*) and yellow movingui (*Distemonanthus benthamianus*) extracts



Jean-Bosco Saha Tchinda<sup>a,b</sup>, Anélie Pétrissans<sup>a,\*</sup>, Stéphane Molina<sup>a</sup>, Maurice Kor Ndikontar<sup>b</sup>, Steeve MOUNGUENGUI<sup>c,a</sup>, Stéphane Dumarçay<sup>a</sup>, Philippe Gérardin<sup>a,\*\*</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire d'Etudes et de Recherche sur le Matériau Bois, EA 4370, Université de Lorraine, Faculté des Sciences et Technologies, BP 70 239, F-54506 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

<sup>b</sup> Macromolecular Chemistry Laboratory, University of Yaoundé 1, Faculty of Science, P.O. Box 812, Yaoundé, Cameroon

<sup>c</sup> Institut de Recherches en Ecologie Tropicale, BP 13354 Libreville, Gabon

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 1 April 2014

Received in revised form 17 June 2014

Accepted 18 June 2014

#### Keywords:

Heartwood

Movingui

Padouk

Extractive

Dyeing

Cellulosic support

### ABSTRACT

Alkaline and aqueous extractions of padouk and movingui sawdust were performed in this study with the aim of using to dye cotton fabric, wood viscose and bamboo viscose textiles. Coloration was carried out without a mordant. Colored materials were washed with soap and the extent of staining was measured fifteen days later using a Datacolor D65°10 apparatus. The parameters  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  were measured to determine the depth of the color penetration after dyeing. A comparison of the different cellulosic supports showed that cotton presents generally a better ability to dyeing than bamboo and wood viscose.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

Textile industries produce a lot of waste water which contains a number of pollutants, including caustic or acidic components, toxic contaminants and different dyes. Most of dyes used in textile finishing are synthetic and derived from petrochemicals. These organic compounds are hazardous, can cause skin allergies and cancer diseases and can release toxic and harmful by-products during their synthesis (Mohammad et al., 2011; Moiz et al., 2010). As a consequence, during the last decade, there has been a revival of interest in the use of natural colorants in textile dyeing. Moreover, as a response to current allergic and toxic reactions related to synthetic dyes, many countries have imposed stringent environmental standards. Thus, there is an increasing interest for the production of natural dyes from plant renewable resources. By-products from agriculture and forestry appear therefore as valuable starting

material to convert unwanted wastes into value-added useful dyes. Colorants extracted from these materials, of which billions of kilograms are produced annually, are explored as new sources in coloring wine, food and animal, plant or synthetic fibers.

Situated in Central Africa, Cameroon has an extensive equatorial forest which represents almost 22 million hectares (about 42% of the national country area), with almost 300 wood species. The timber industry in Cameroon generates large amounts of waste, some of it is used as fuel, and the other abandoned. The valorization of waste is a challenge for sustainable development of the local economy and industrial processes. Some tropical wood species have high extractives contents in the heartwood (Saha Tchinda et al., 2013). These extractives influence the color, odor, durability and technological properties of the different wood species (Shiraishi, 1991). In Africa in general and Cameroon in particular, some wood species have strongly colored extracts which can be used as natural dye in the textile industry. Eco-mark natural dyes are non-toxic, non-allergic, and completely safe for the skin and environmentally friendly colorants currently sold on the market. Their stability can be achieved by using an appropriate mordant. Extracts of *Pterocarpus osun* were used in Nigeria as a natural dye to color collagen fibers (Awaworo et al., 2005; Akinloye et al., 2010). Many colored

\* Corresponding author. Tel.: +33 03 83 68 49 81.

\*\* Corresponding author. Tel.: +33 03 83 68 48 40.

E-mail addresses: [anelie.petrisans@univ-lorraine.fr](mailto:anelie.petrisans@univ-lorraine.fr) (A. Pétrissans), [philippe.gerardin@univ-lorraine.fr](mailto:philippe.gerardin@univ-lorraine.fr) (P. Gérardin).



wood species in Cameroon can offer different colorants: red from padouk (*Pterocarpus soyauxii*) and yellow from movingui (*Distemonanthus benthamianus*) could be cited as examples. This study is devoted to the use of colorants extracted from these species as natural dyes to color classical textile materials.

Extracts of padouk mixed with a tin mordant were used in England in the 19th century to obtain an intense red color on clothes. The heartwood is a source of dye. In Africa, especially in Cameroon, the dye is used locally to dye fibers and cloths red. More recently, studies have shown that padouk contains various compounds such as biflavonoids (santalins A and B), isoflavonoids (pterocarpin, formononetin and prunetin), isoflavone, quinone (claussequinone), isoflavanes (vestitol and mucronulatol), tannins, ascorbic acid, glucosides, triterpenes, xanthenes, flavanoid (homopterocarpin), phenylpropen (anethol), pteronins A–F (Betti, 2004; Surowiec et al., 2004; Tchamadeu et al., 2011; Saha Tchinda et al., 2013, Su et al., 2013). Moreover, high amounts of tannins contained in padouk could also contribute as mordant during the coloring process.

Movingui is a yellowish wood with traces of brown or green. The stem bark can be used in pharmacopeia to treat different bacterial, fungal and viral infections (Ngulefack et al., 2005). The bark of movingui tree is also used to treat rheumatism (Akendengué and Louis, 1994). Previous studies show that movingui contains flavonoids such as oxyyanin A, oxyyanin B, ayanin and distemonanthin used for their anti-tumor, antibacterial activity and in fighting dermatitis (Aiyegoro et al., 2008; Adeniyi et al., 2011).

The purpose of this work was to evaluate *in vitro* the dye characteristics of yellow movingui extracts and red padouk extracts with a view to assessing the coloration value of the extractives. Moreover this work aims to determine if movingui and padouk extracts can be used as colorants in order to valorize such wood industrial wastes.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Chemicals and reagents

Distilled water and sodium hydroxide (with 99% purity purchased from Riedel de Haën Sigma Aldrich) were used for extraction.

### 2.2. Raw materials

Industrial boards of movingui and padouk were collected from the Société Industrielle de Mbang (S.I.M, Cameroon, Yaounde town). It should be noted that wood for industrial applications is harvested at different seasons and the moisture contents of considered species change. This was taken into account in the exploitation of results. Samples were air-dried in the laboratory to stable mass. The wood was ground using a Retsch SM 100 cutting mill and then sieved. Particle fractions of size between 0.2 and 0.4 mm were used to extract respective dyes.

### 2.3. Extraction of dye

Definite amount of sawdust were extracted with distilled water and aqueous solutions of sodium hydroxide of concentrations ranging from 0.05 M to 0.5 M at a solid to liquor ratio (M:L) of 1:10. The extractions were carried out for 1 h at 90 °C under atmospheric pressure in a stirred glass beaker sealed with parafilm wax. Solid particles were removed by filtration and the liquor was used to dye different materials. Extraction parameters (90 °C for 1 h) were chosen with reference to literature (Shaukat et al., 2009; Bechtold et al., 2007; Harivaindaran and Rebecca, 2008; Sivakumar et al., 2011).

**Table 1**  
extractive amounts (%).

	Wood species	
	Movingui	Padouk
Amount of extractives with water	3.8 ± 0.1	4.0 ± 0.1
Amount of extractives with NaOH (0.05 M)	3.6 ± 0.2	4.3 ± 0.1
Amount of extractives with NaOH (0.1 M)	4.0 ± 0.1	4.5 ± 0.3
Amount of extractives with NaOH (0.2 M)	4.4 ± 0.1	4.7 ± 0.2
Amount of extractives with NaOH (0.3 M)	4.3 ± 0.2	4.6 ± 0.4
Amount of extractives with NaOH (0.4 M)	4.7 ± 0.1	5.0 ± 0.1
Amount of extractives with NaOH (0.5 M)	4.7 ± 0.1	5.1 ± 0.2

### 2.4. Determination of the amount of the extractives by indirect method

As was mentioned in the raw materials presentation, the moisture contents of padouk and movingui wood species were not the same. The moisture contents (an average of three trials; the quoted uncertainty is the standard deviation) were (22.9 ± 0.1)% in movingui sawdust and (8.5 ± 0.1)% for padouk sawdust. Raw sawdust was weighed ( $m_{wet}$ ) and after drying in an oven at 103 °C for 24 h, sawdust was weighed again ( $m_{dry}$ ). The moisture content was obtained using the formula:

$$\text{moisture content (\%)} = \frac{m_{wet} - m_{dry}}{m_{dry}} \times 100 \quad (1)$$

The mass of dry wood introduced in glass beaker then calculated:

$$m_1 = m_{introduced} \times (1 - \text{moisture content (\%)}) \quad (2)$$

where  $m_{introduced}$  is the mass air dried wood introduced into glass beaker and  $m_1$  is the oven-dry mass of wood introduced into the glass beaker.

After extraction with sodium hydroxide or water, extracted dyes were separated from the sawdust by filtration; sawdust was dried in oven at 103 °C for 24 h and then weighed ( $m_2$ ). The amount of extractives (AE) was estimated using the equation:

$$AE = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad (3)$$

Samples were weighed using a Mettler PC440 balance (10<sup>-2</sup> g precision). Experiments were carried out in triplicate in order to ensure the reproducibility of results. The average values and standard deviations are reported in Table 1.

### 2.5. Absorbance measurements

The extracts were diluted ten times with distilled water and the absorbances were read using a SHIMADZU (UV-2550, UV-visible) spectrophotometer in a 10.00-mm quartz cell. The maximum adsorption wavelength of different extracts was determined.

### 2.6. Dyeing procedure

Cotton fabric, wood viscose and bamboo viscose were furnished by Textile Technical Center (CETELOR) in Epinal, France. Dyeing experiments were performed at 90 °C in sealed beakers and laboratory dyeing apparatus using typically 1 gram of textile material for 25 mL of liquor (ratio of 1:25). Textiles were immersed in the extract at 25 °C in the dyeing apparatus and maintained at this temperature for 30 min. The temperature was then raised to 90 °C for 1 h, time for the pigment to penetrate the material. At the end of the dyeing process, the bath was cooled down to 60 °C. The dye bath was then removed; the textile rinsed three times with warm water at 60 °C to remove unfixed dye and then dried.



## 2.7. Color measurement

The color of dyed textile was measured using Datacolor D65°10.  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  values were calculated for a D65 light source.  $a^*$  and  $b^*$  represent the tone of the color yield. Positive values of  $\Delta a^*$  and  $\Delta b^*$  indicate that the sample is redder or yellower than the standard while negative values show that the sample is greener or bluer than the standard. Positive value of  $\Delta L^*$  indicate that the sample is lighter than the standard. Negative value of  $\Delta L^*$  shows that sample is darker than the standard. Ten repetitive measurements were made to verify staining homogeneity; mean values are given in this paper. Color differences  $\Delta E$  were calculated according to Eq. (4).

$$\Delta E = \sqrt{\Delta a^{*2} + \Delta b^{*2} + \Delta L^{*2}} \quad (4)$$

where  $\Delta a^* = a^*_{\text{sample}} - a^*_{\text{standard}}$ ;  $\Delta b^* = b^*_{\text{sample}} - b^*_{\text{standard}}$ ;  $\Delta L^* = L^*_{\text{sample}} - L^*_{\text{standard}}$ .

## 2.8. Wash fastness of the colored material

Washing fastness of the dyed material was tested fifteen days after dyeing according to the ISO 105-C03 method. The samples were washed in standard soap solution at 60 °C for 30 min, keeping material to liquor ratio at 1:50. After washing, the material was dried and the color measured using Datacolor to control color stability.

## 2.9. Statistical analysis.

A statistical analysis of data, based on the single-step multiple comparison Tukey–Kramer’s method was performed using the JMP program (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

## 3. Results and discussion

### 3.1. Moisture content and extractive amounts

Wood moisture content and values of wood extractives are given in Table 1.

It can be observed that the NaOH solution improves extraction. In the case of movingui, amounts of extractives increase from 3.8% for water extract to 4.7% for 0.5 M NaOH solution extract. Similar results were obtained for padouk extracts for which the extractive content rose from 4.0% to 5.1%. For both species, it was observed that the wood extractive contents did not exceed 5%. These results are in good agreement with observations reported in the literature (Bechtold et al., 2007; Grover and Patni, 2011).

### 3.2. Color behavior

In order to determine color behavior and the presence of absorption peaks, absorption spectra for movingui and padouk extracts obtained with 0.05 M NaOH solutions were taken (Fig. 1). Only one spectrum for the 0.05 M NaOH extract is shown in order to simplify presentation and visualization. The choice of the extractive concentration 0.05 M NaOH will be discussed later. It should be noted that dyeing with movingui and padouk extracts obtained with 0.05 M NaOH gave most satisfying results. The absorption spectrum shows the existence of absorption peaks at different wavelengths for both padouk and movingui extracts. To stay within the measuring range of the spectrophotometer, padouk and movingui extracts were diluted to the fiftieth (1:50).

For movingui extract, a peak was noted at a single wavelength: 350 nm. It is worthy to note that water extraction (not presented here because of the weak absorbance values) showed a similar shape. This absorption zone is in good agreement with the results

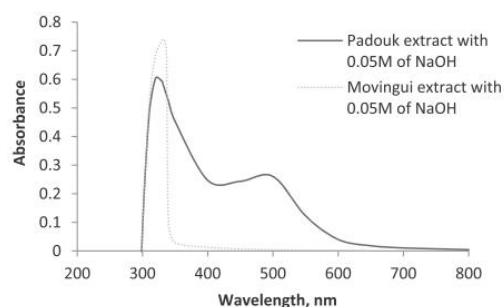


Fig. 1. Absorbance versus wavelength for solutions obtained from 0.05 M NaOH extraction of padouk and movingui.

published by Gulmini et al., 2013 showing that the yellow absorption zone is situated in the range 320 nm to 385 nm. Absorbance at 350 nm was plotted against NaOH concentration. Dilutions (to the hundredth 1/100, v/v) were performed in order to impede device saturation. The absorbance of water extract was measured without dilution; a value of 0.0011 was calculated for a dilution to the hundredth (1/100, v/v). Results are shown in Fig. 2.

For extracts of padouk, peaks are found at two different wavelengths: 340 and 500 nm with maximum adsorption at 340 nm. In the water extract (not presented here), a single wavelength at 340 nm was observed. Similar results have been reported for the red santal wood (Samanta and Agarwa, 2009) for which absorption peaks were observed at 288 nm, 474 nm and 504 nm with maximum absorbance at 474 nm and 504 nm. Absorption bands of reddish compounds were found between 415 and 535 nm (Gulmini et al., 2013). Su et al., 2013 extracts from the heartwood of padouk a light yellow gum called pteronin A of which adsorption bands were 222, 255 and 304 nm. One of the peaks for the padouk extracts appears in this absorbance zone, thus reddish compounds were considered in this work. It can be therefore conclude that padouk extract contained reddish and yellow compounds. For both wavelengths (340 and 500 nm), absorbance was plotted against the concentration of NaOH. As already mentioned, dilutions were adapted to the apparatus sensitivity (1/50, v/v). As in the previous case, the absorbance of water extracts was measured without dilution. Absorbances of 0.056 and 0.0017 at 340 nm and 500 nm respectively were measured using standard dilution (1/50, v/v). Results are shown in Fig. 3.

Both Figs. 2 and 3 show that as the concentration of sodium hydroxide increased, the absorbance increased for both species studied at all wavelengths. As it can be observed in Fig. 2, absorbance of movingui extracts attained a maximum for the 0.3 M NaOH extraction. Beyond this concentration, the absorbance decreased. This can be explained by an onset of degradation of the dye compound when the sodium hydroxide solution becomes more concentrated.

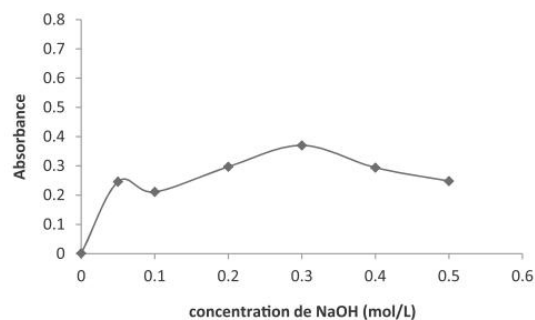


Fig. 2. Absorbance at 350 nm for movingui extracts versus NaOH concentration.



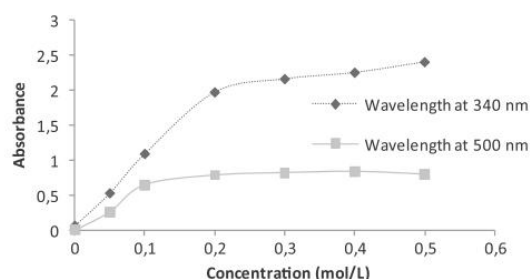


Fig. 3. Absorbance at 340 and 500 nm for padouk extracts versus NaOH concentration.

The pH of the final extracts was measured systematically. It can be noted that the pH value is constant and close to 6.7 for all initial NaOH concentrations.

In both species, the absorbance of aqueous extracts was systematically lower than those of alkaline solutions. The alkaline extracts were more colorful. This can be explained by the fact that the compounds that confer color are predominantly phenols which are easily deprotonated by NaOH, increasing their solubility compared to the aqueous solution. The same result has been reported in the literature (El-Nagar et al., 2005).

A simultaneous study of the extractive contents (Table 1) and absorbance behavior (Fig. 3) of padouk extractives clearly shows that the effect of the increasing the NaOH concentration was more pronounced on the color effect than on the global extractive amounts. The solubilization of colored extracts increased five times when the solution pH varied by one unit (NaOH concentration rises from 0.05 to 0.5 M).

On the contrary, a similar comparative study in the case of movingui points to the fact that increasing the pH of the extracting solution seems to degrade the colored extracts. This can be explained by the high reactivity of coloring compound in concentrated alkali medium (Shaukat et al., 2009). It might be possible that when the NaOH concentration is enhanced, the  $pK_a$  of acid groups in the colorant is exceeded. This favors the solubilization of acid groups present in the ionized form.

### 3.3. Determination of dyeing conditions

Preliminary tests were performed on cotton fabric using movingui extracts for NaOH concentrations varying from 0 M to 0.4 M. Cotton support was chosen because it is a natural fiber. The choice of movingui extracts was made on the grounds that the absorption spectrum showed a unique peak at  $\lambda = 340$  nm. Furthermore, as Fig. 2 shows, absorption was maximum for the 0.3 M alkaline extract. It would be interesting to know if this trend can be reproduced in the textile dyeing. Dyeing experiments were carried out in triplicate. Values of  $\Delta E$ ,  $\Delta a^*$  and  $\Delta b^*$  for different alkaline concentrations measured on cotton fabric support are shown in Fig. 4.

It can be observed in Fig. 4 that  $\Delta b^*$  variation is more important,  $\Delta a^*$  variation being very weak. Consequently, the  $\Delta b^*$  variation imposes the  $\Delta E$  variation. This deduction is confirmed by the slope of  $\Delta b^*$  variation which tags along the slope of the  $\Delta E$  curve (Fig. 4). The yellow coloration obtained for textile sample was coherent with the yellow absorption band of the extract and visible to the naked eye. Note should be taken of the essential result that coloration was possible even with water extract, in spite of its weak UV absorption (Fig. 2). The slope of  $\Delta L^*$  variation is opposite the slope of  $\Delta E$  confirming a darker character of the textile coloration after dyeing. The maximum value of the  $\Delta E$  variation is obtained with the 0.05 M NaOH extract. This extract was retained for further experiments on textile dyeing. The maximum absorption of the

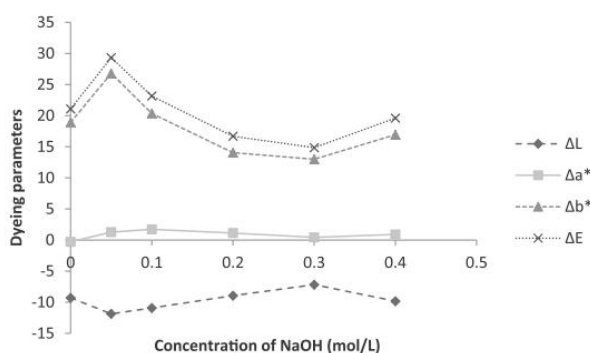


Fig. 4.  $\Delta E$ ,  $\Delta L$ ,  $\Delta a^*$  and  $\Delta b^*$  variations versus NaOH concentration measured for dyeing of cotton fabric with movingui extract.

extract at 0.3 M alkaline solution was not reproduced on the textile dyeing indicating no significant differences between extractions performed with 0.2, 0.3 or 0.4 M NaOH. Poor coloration obtained at high concentrations can be explained by repulsive effects between the textile to be dyed and the alkaline solution containing the dye. Indeed, at low NaOH concentration, deprotonation of hydroxyl group of phenolic extractives may in a first time improve the ability of extract for dyeing, while utilization of higher NaOH concentrations may result in lower ability to dyeing due to electronic repulsions between the negative charges of polyphenolic compounds already adsorbed at the surface of the fiber and those present in solution. For all the experiments, the pH was controlled ( $pH \approx 6.7$ ).

### 3.4. Dyeing cellulosic textile supports

Dyeing experiments were next performed on three cellulosic supports commonly used in the textile industry: cotton fabric, wood viscose and bamboo viscose. Water extracts and 0.05 M alkaline extracts of padouk and movingui were applied according to the procedure described in the previous paragraph. Values of  $\Delta L$ ,  $\Delta E$ ,  $\Delta a^*$  and  $\Delta b^*$  obtained are shown in Figs. 5–6.

The water extracts behaved in a similar way on all three fibers.  $\Delta E$  and  $\Delta b^*$  values measured with movingui extracts are all positive and higher than those of  $\Delta a^*$ . Colorants present in 0.05 M alkaline extracts gave better results compared to those of water extracts, except for wood viscose. It is obvious that for the wood viscose support, the alkaline extract does not improve dyeing. It is therefore not necessary to use sodium hydroxide for extraction in this case. Positive values of  $\Delta a^*$  or  $\Delta b^*$  mean that the colors obtained on the fiber are respectively red or yellow with regard to the standard values, whereas negative values of  $\Delta a^*$  or  $\Delta b^*$  would mean green or blue tints. In can be observed in Fig. 5a and b that all the values of  $\Delta b^*$  are positive and quite significant compared with the values of  $\Delta a^*$ . As in the preliminary study (Fig. 4), we can deduce that the color is imposed by the  $\Delta b^*$  value. Alkaline extraction provokes the appearance of some weak red nuances ( $\Delta a^*$  values increase). Only wood viscose fibers had a different behavior; fibers are tinged in yellow compared to the standard. Movingui extracts possess a yellow tint compound. We observe that all the value of  $\Delta L$  are negative confirming that all the cellulosic supports became darker than the standard after dyeing.

Fig. 6 presents the result of water (Fig. 6b) and alkaline (Fig. 6a) extracts of padouk on dyeing.

As was noticed with movingui extracts, all the padouk extracts behave in a similar way. For all textile supports used in this case, alkaline extraction had a more important effect:  $\Delta E$  values almost tripled. Sodium hydroxide improves the extraction of coloration molecules and allows for good fixation of the colorants. The wood



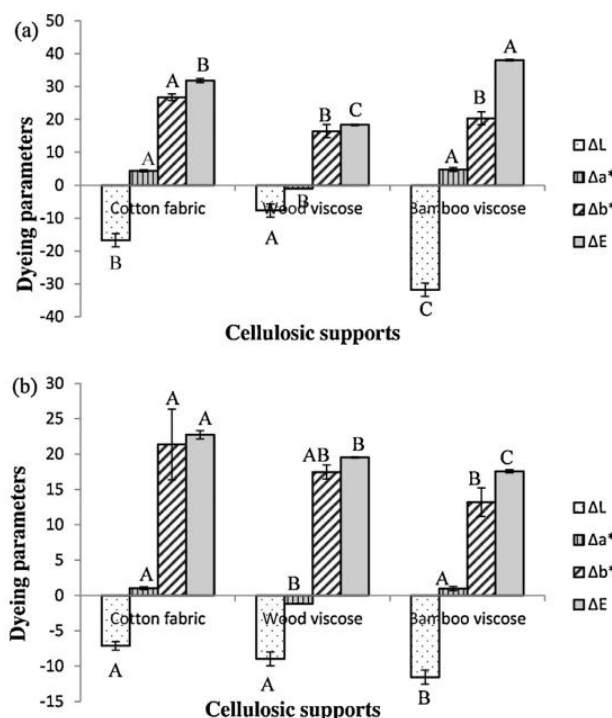


Fig. 5.  $\Delta E$ ,  $\Delta L$ ,  $\Delta a^*$  and  $\Delta b^*$  obtained for dyeing of cotton fabric, wood viscose and bamboo viscose with movingui extracts: (a) alkaline extracts and (b) water extracts.

species is rich in tannins, which contribute to the mordanting process during dyeing (Jansen, 2005).  $\Delta E$  gives a good idea on the dyeing feasibility, however it would be interesting to deepen the analyses by studying the evolutions  $\Delta a^*$  and  $\Delta b^*$ . The values of  $\Delta a^*$  and  $\Delta b^*$  were all positive (Fig. 6). The  $\Delta a^*$  values were slightly higher than those of  $\Delta b^*$ . This confirms the padouk absorption profile (Fig. 1) in which two absorption peaks were found at two different wavelengths. In this case, the presences of compounds with ascendancy of red tint were observed. The use of sodium hydroxide accentuates the contribution of both colors, except on bamboo viscose fiber on which the yellow nuance does not change. In all cases,  $\Delta L$  values are negative; after dyeing the cellulosic supports were dark than the standard.

Each cellulosic textile support showed a different behavior. Fabric cotton and wood viscose absorbed more red than yellow color. For both textile supports, the use of alkaline extraction favored the absorption of more of the red than the yellow color ( $\Delta a^*$  significantly increases more than  $\Delta b^*$ ). Bamboo viscose preferably absorbed the red color, the yellow variations ( $\Delta b^*$ ) remained weak. The use of sodium hydroxide accentuates the contribution of the red. In all cases, the color difference ( $\Delta E$ ) is more important when using cotton fibers instead of man-made fibers. Cotton is almost pure cellulose: chemical composition consists of 88–96% cellulose content, 0.7–1.2 pectins, 0.4–1.0% waxes, and of 1.1–1.9% proteins, organic and inorganic compounds. Globally, the chemical composition of cotton, when picked, is about 94 percent cellulose while in finished fabrics are near 99 percents. Viscose is a man-made fiber composed by regenerated cellulose commonly obtained after treatment of wood pulp (Roggenstein, 2011). Viscose has many characteristics, the properties varying according to the method of processing but the final product is always near pure cellulose. Thus, the chemical composition cannot explain our results. The main differences between both fibers (natural and regenerated cellulose) are degree of polymerization and cristallinity. The degree of polymerization (DP) is higher in raw cotton (9000–15000) than in viscose

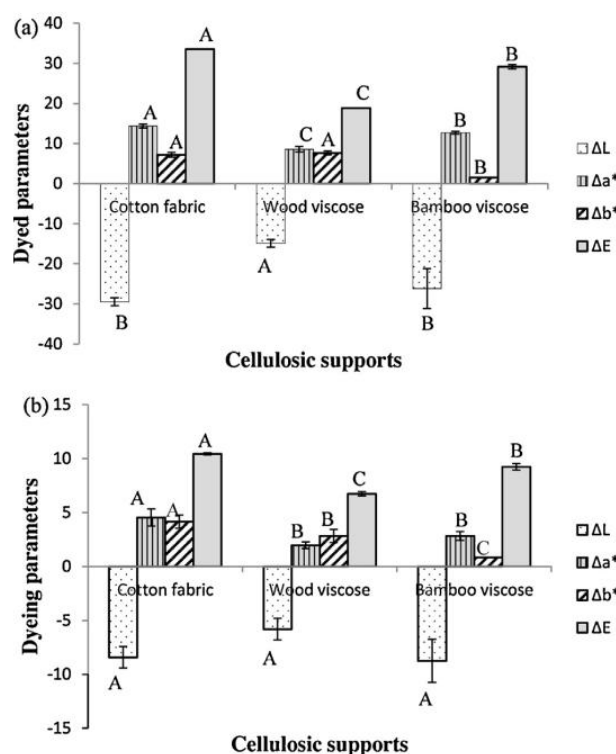


Fig. 6.  $\Delta E$ ,  $\Delta L$ ,  $\Delta a^*$  and  $\Delta b^*$  obtained for dyeing of cotton fabric, wood viscose and bamboo viscose with padouk extracts: (a) alkaline extracts and (b) water extracts.

(200–700). However, regarding finished fabrics, the DP of cotton usually falls down to 2000–3000 or lesser, while that of viscose remains constant. The less the DP, the more available sites for dyeing. Once more, this cannot be the right explanation. Regarding the cristallinity of cotton, the values reported on literature range from 50% (Röder et al., 2006a) to 70% (Needles, 1986). Concerning viscose, cristallinity is known to be near 35% (Röder et al., 2006b) but in the case of high tenacity viscoses, the cristallinity can reach 55% (Needles, 1986). Thus, bearing in mind that our experiments were performed on fabrics and not raw cotton, it can be assumed that our cotton samples are made of fibers that present a lower cristallinity than viscose samples ones. As the adsorption of dyes occurs preferentially on amorphous zones of fibers, it could be concluded that cotton samples used here have a greater potential to be colored.

Analysis of the results obtained shows that aqueous movingui extracts gave best hue with cotton fiber followed respectively by wood viscose and bamboo viscose. Alkine extracts from movingui gave best hue with bamboo viscose followed respectively by cotton fiber and wood viscose. Generally, the absorption of the yellow dye (given by of  $\Delta b^*$  value) is more pronounced on cotton, followed by bamboo and wood viscose. As we mentioned before, these results can be explain by the likely higher cristallinity of the viscose used in our study. Such phenomenon has been observed using Raman spectroscopy for differentiation among cotton and viscose dyed (Was-Gubala and Machnowski, 2014). The results obtained with padouk extracts (water or alkaline) show the same trend: cotton fibers are better dyed. In the case of red dye adsorption, we observe the same behavior as yellow dye. Analyses of Figs. 5 and 6 indicate that it is possible to dye cellulosic textile supports using only movingui and padouk water extracts, even if the addition of sodium hydroxide for the extraction of dye significantly improves dyeing results.

In order to better quantify these observations, a statistical analysis was performed. The variation of the parameters ( $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ ,



**Table 2**

Color coordinate variations of dyed cotton fabric, wood viscose and bamboo viscose dyed with movingui and padouk water extracts after washing.

Material	Water extracts	Color coordinates											
		$\Delta E$	$\Delta E_w$	$\Delta E_f$	$\Delta L$	$\Delta L_w$	$\Delta L_f$	$\Delta a^*$	$\Delta a_w^*$	$\Delta a_f^*$	$\Delta b^*$	$\Delta b_w^*$	$\Delta b_f^*$
Cotton fabric	Movingui	22.74	18.06	4.68	-7.11	-6.72	-0.39	1.04	0.28	0.76	21.37	16.76	4.61
	Padouk	10.44	8.67	1.77	-8.43	-7.58	-0.85	4.53	3.16	1.37	4.16	2.77	1.39
Wood viscose	Movingui	19.53	11.62	7.91	-8.97	-4.62	-4.35	-1.16	-1.14	-0.02	17.46	10.60	6.86
	Padouk	6.74	5.51	1.23	-5.8	-4.68	-1.12	1.96	1.28	0.68	2.83	2.61	0.22
Bamboo viscose	Movingui	17.58	13.65	3.93	-11.57	-8.96	-2.61	0.97	1.49	-0.52	13.2	10.19	3.01
	Padouk	9.24	6.16	3.08	-8.76	-5.53	-3.23	2.82	2.72	0.1	0.84	0.16	0.68

**Table 3**

Color coordinate variations of dyed cotton fabric, wood viscose and bamboo viscose dyed with movingui and padouk NaOH extracts after washing.

Material	Alkaline extracts	Color coordinates											
		$\Delta E$	$\Delta E_w$	$\Delta E_f$	$\Delta L$	$\Delta L_w$	$\Delta L_f$	$\Delta a^*$	$\Delta a_w^*$	$\Delta a_f^*$	$\Delta b^*$	$\Delta b_w^*$	$\Delta b_f^*$
Cotton fabric	Movingui	31.82	27.68	4.14	-16.71	-14.14	-2.57	4.4	2.61	1.79	26.72	23.77	2.95
	Padouk	33.56	28.01	5.55	-29.48	-24.08	-5.4	14.33	14.41	-0.08	7.18	13.44	-6.26
Wood viscose	Movingui	18.35	13.64	4.71	-7.66	-5.01	-2.65	-1.05	-1.17	0.12	16.44	12.44	4.00
	Padouk	18.8	16.61	2.19	-14.9	-13.05	-1.85	8.55	6.97	1.58	7.64	9.14	-1.5
Bamboo viscose	Movingui	38.03	20.29	17.74	-31.78	-9.31	-22.47	4.79	2.93	1.86	20.33	18.00	2.33
	Padouk	29.15	28.19	0.96	-26.21	-11.64	-14.57	12.67	11.64	1.03	1.05	6.15	-5.1

$\Delta E$  is the difference of color after dyeing;  $\Delta E_w$  is the difference of color after dyeing and washing the cellulosic support;  $\Delta E_f$  is the difference between  $\Delta E$  and  $\Delta E_w$ .

$\Delta E^*$ ) were compared for each cellulosic support, respectively using aqueous and NaOH extractive solutions. Padouk and Movingui were studied individually. The Tukey–Kramer's method allowed the classification of the results in categories from A to C, where the capital letters (A–C) designs the statistical category. Systems not connected with the same letter are largely different, at the 5% level. In all cases, there is a significant difference of  $\Delta E$  value according to the nature of cellulosic supports or to the dyeing solution (alkaline or aqueous). Effect of the cellulosic support and of the dyeing solution is less obvious for  $\Delta b^*$  and  $\Delta a^*$  values. Nature of cellulosic support (cotton versus viscoses) seems to affect more significantly  $\Delta a^*$  values in the case of padouk extracts and  $\Delta b^*$  values in the case of movingui extracts. No clear significant differences were observed for  $\Delta L$  values.

### 3.5. Washing fastness properties

Tables 2 and 3 show the variation of the color coordinates on the materials ( $\Delta L$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ ,  $\Delta E$ ,  $\Delta L_f$ ,  $\Delta a_f^*$ ,  $\Delta b_f^*$ ,  $\Delta E_f$ ) after dyeing and washing according to the ISO 105-C03 method.

The use of the sodium hydroxide did not influence washing fastness. Whatever the nature of the extract (water or alkaline solution), colors remained bound to the textile support. Furthermore, the chemical nature of the support did not significantly influence the washing fastness. The textile support-color bond is therefore strong enough. In general, the variations of  $\Delta a^*$  and  $\Delta b^*$  are very weak.

## 4. Conclusion

Aqueous and alkaline extractions of padouk and movingui natural dyes were used for dyeing cotton fabric, wood viscose and bamboo viscose. A yellow color was obtained with movingui extracts and a red color with padouk extracts. Dyeing with alkaline extracts offered better results than the aqueous extracts. Washing fastness tests showed good color stability. In this study, cotton fabric appeared to give better color difference than bamboo and wood viscose ones. As the chemical composition is more or less similar for the whole samples and the DP lower for man-made fibers, these observed differences could result from a lower cristallinty of

cotton fabrics may be due to the former textile process. From this study, it is obvious that padouk and movingui extracts can be used to dye cellulosic textile materials. This is an attractive alternative for synthetic dyes regularly used in the industry.

## Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the financial support of the CPER 2007–2013 "Structuration du Pôle de Compétitivité Fibers Grand'Est" (Competitiveness Fibers Cluster). LERMAB is supported by a grant overseen by the French National Research Agency (ANR) as part of the "Investissements d'Avenir" program (ANR-11-LABX-0002-01, Lab of Excellence ARBRE).

## References

- Adeniyi, B.A., Obasi, O.J., Lawal, T.O., 2011. In-vitro antifungal activity of *Distemonanthus Benthamianus* stem. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 3 (4), 52–56.
- Aiyegoro, O.A., Akinpelu, D.A., Afolayan, A.J., Okoh, A.I., 2008. Antibacterial activities of crude stem bark extracts of *Distemonanthus benthamianus* Baill. *J. Biol. Sci.* 8, 356–361.
- Akendengué, B., Louis, A.M., 1994. Medicinal plants used by the Masango people in Gabon. *J. Ethnopharmacol.* 41, 193–200.
- Akinloye, A.J., Illoh, H.C., Olagoke, A.O., 2010. Screening of some indigenous herbal dyes for use in plant histological staining. *J. Agric. Food Chem.* 9 (4), 772–779.
- Avwioro, O.G., Aloamaka, P.C., Ojiana, N.U., Oduola, T., Ekpo, E.O., 2005. Extracts of *Pterocarpus osun* as a histological stain for collagen fibres. *Afr. J. Biotechnol.* 4 (5), 460–462.
- Bechtold, T., Mahmud-Ali, A., Mussak, A.M.R., 2007. Reuse of ash-tree (*Fraxinus excelsior* L.) bark as natural dyes for textile dyeing: process conditions and process stability. *J. Compil. Color Technol.* 123, 271–279.
- Betti, J.L., 2004. An ethnobotanical study of medicinal plants among the Baka pygmies in the Dja biosphere reserve, Cameroon. *Afr. Study Monogr.* 25 (1), 1–27.
- El-Nagar, K., Sanad, S.H., Mohamed, A.S., Ramadan, A., 2005. Mechanical properties and stability to light exposure for dyed Egyptian cotton fabrics with natural and synthetic dyes. *Polym. Plast. Technol. Eng.* 44 (7), 1269–1279.
- Grover, N., Patni, V., 2011. Extraction and application of natural dye preparations from the floral parts of *Woodfordia fruticosa* (Linn.) Kurz. *Indian J. Nat. Prod. Resour.* 2, 403–408.
- Gulmini, M., Idone, A., Diana, E., Gastaldi, D., Vaudan, D., Aceto, M., 2013. Identification of dyestuffs in historical textiles: Strong and weak points of a non-invasive approach. *Dyes Pigments* 88, 136–145.
- Harivaindaran, K.V., Rebecca, O.P.S., Chandra, S., 2008. Study of optimal temperature pH and stability of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel for use as potential natural colorant. *Pak. J. Biol. Sci.* 11 (18), 2259–2263.



- Needles, H.L., 1986. Textile Fibers, Dyes, Finishes, and Processes. Noyes Publications, Mill Road, Park Ridge, NJ 07656, United States of America, pp. 35.
- Jansen, P.C.M., 2005. In: Louppe, D., Oteng-Amoako, A.A., Brink, M. (Eds.), *Pterocarpus soyauxii* Taub. Prot. 7(1): Timbers/Bois d'œuvre. 1. PROTA, Wageningen, Pays Bas.
- Mohammad, M., Khosro, N., Loghman, K., 2011. Eco-friendly dyeing of wool using natural dye from weld as co-partner with synthetic dye. *J. Clean. Prod.* 19, 1045–1051.
- Moiz, A., Ahmed, A.M., Kausar, N., Ahmed, K., Sohail, M., 2010. Study the effect of metal ion on wool fabric dyeing with tea as natural dye. *J. Saudi Chem. Soc.* 14, 69–76.
- Ngulefack, E.M.P., Ngu, K.P., Atchade, A., Dimo, T., Tchang, N., Mbafor, J.T., 2005. Phytochemical composition and *in-vitro* effects of the ethyl acetate bark extract of *Distemonanthus benthamianus* Bailon (Caesalpinaceae) on *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. *Cameroon J. Exp. Biol.* 1 (1), 50–53.
- Röder, T., Moosbauer, J., Fasching, M., Bohn, A., Fink, H.-P., Baldinger, T., Sixta, H., 2006a. Crystallinity determination of native cellulose-comparison of analytical methods. *Lenzinger Berichte* 86, 85–89.
- Röder, T., Moosbauer, J., Fasching, M., Bohn, A., Fink, H.P., Baldinger, T., Sixta, H., 2006b. Crystallinity determination of man-made cellulose fibers-comparison of analytical methods. *Lenzinger Berichte* 86, 132–136.
- Roggenstein, W., 2011. Viscose fibres with new functional qualities. *Lenzinger Berichte* 89, 72–77.
- Saha, T.J.-B., Abia, D., Durmaçay, S., Ndikontar, K.M., Gerardin, P., Noah, N.J., Perrin, D., 2013. Antioxidant activities, total phenolic contents and chemical compositions of extracts from four Cameroonian woods: Padouk (*Pterocarpus soyauxii* Taub), tali (*Erythrophleum suaveolens*), moabi (*Baillonella toxisperma*), and movingui (*Distemonanthus benthamianus*). *Ind. Crops Prod.* 41, 71–77.
- Samanta, A.K., Agarwa, P., 2009. Application of natural dyes on textiles. *Indian J. Fiber Text Res.* 34, 384–399.
- Shaukat, A., Tanveer, H., Rakhshanda, N., 2009. Optimization of alkaline extraction of natural dye from Henna leaves and its dyeing on cotton by exhaust method. *J. Clean. Prod.* 17, 61–66.
- Shiraishi, D.N., 1991. Wood and Cellulosic Chemistry. United State of America Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 59–67.
- Sivakumar, V., Vijaeeswarri, J., Lakshmi, A.J., 2011. Effective natural dye extraction from different plant materials using ultrasound. *Ind. Crops Prod.* 33, 116–122.
- Su, Z., Wang, P., Yuan, W., Li, S., 2013. Flavonoids and 3-arylcoumarin from *Pterocarpus soyauxii*. *Planta Med.* 79, 487–491.
- Surowiec, I., Nowik, W., Trojanowicz, M., 2004. Identification of “insoluble” red dye-woods by high performance liquid chromatography–photodiode array detection (HPLC-PDA) fingerprinting. *J. Sep. Sci.* 27, 209–216.
- Tchamadeu, M.C., Dzeufiet, P.D.D., Nana, P., Kouambou, N.C.C., Nguiguim, T.F., Allard, B.J., Siagat, N., Zapfack, R.L., Girolami, J.P., Tack, I., Kamtchouing, P., Dimo, T., 2011. Acute and sub-chronic oral toxicity studies of an aqueous stem bark extract of *Pterocarpus soyauxii* Taub (Papilionaceae) in rodents. *J. Ethnopharmacol.* 133, 329–335.
- Was-Gubala, J., Machnowski, W., 2014. Application of Raman spectroscopy for differentiation among cotton and viscose fibers dyed with several dye classes. *Spectrosc. Lett.* 47, 527–535.

La publication ne pouvant tout contenir, sont présentées sur les figures suivantes la couleur des solutions obtenue après extraction et celle des fibres obtenue après teinte.

La figure 46 montre l'aspect des solutions après extraction à l'eau et une solution aqueuse de soude à la concentration de 0,05M.



Figure 46 : Extraits obtenus après extraction à l'eau et à la soude. (a) avec le movingui, (b) avec le padouk

La figure 47 montre l'aspect des fibres après coloration avec les solutions aqueuses obtenues.



Figure 47 : Teinte obtenue après coloration avec les extraits aqueux et alcalins de movingui. De gauche à droite on a le coton, la viscose de bois et la viscose de bambou



Figure 48 : Teinte obtenue après coloration avec les extraits aqueux et alcalins de padouk. De gauche à droite on a le coton, la viscose de bois et la viscose de bambou

Ayant obtenu de meilleurs résultats avec les extractibles sans mordant, nous avons pensé à faire de la coloration en utilisant des mordants en fer et en aluminium pour mieux fixer le colorant sur la fibre ou alors pour faire des nuances des couleurs.

Le troisième article sur l'effet du mordant sur la coloration est en cours de rédaction.

### 5.2.2. Influence des mordants à base de fer et d'aluminium

La teinture des fibres avec des colorants naturels conduit souvent à des problèmes tels que la gamme étroite de couleur et une faible solidité de la couleur des fibres teintes. Pour pallier à ce problème, on utilise généralement un mordant au cours de la teinture. En plus de créer une affinité entre le colorant et la fibre, l'utilisation du mordant permet de changer la teinte (couleur) de certains colorants. La fixation du colorant se fait par l'intermédiaire du mordant ainsi qu'il suit : fibre — mordant — colorant. C'est par chélation que le mordant est relié à la fois au colorant et à la fibre comme le montre la figure 49.

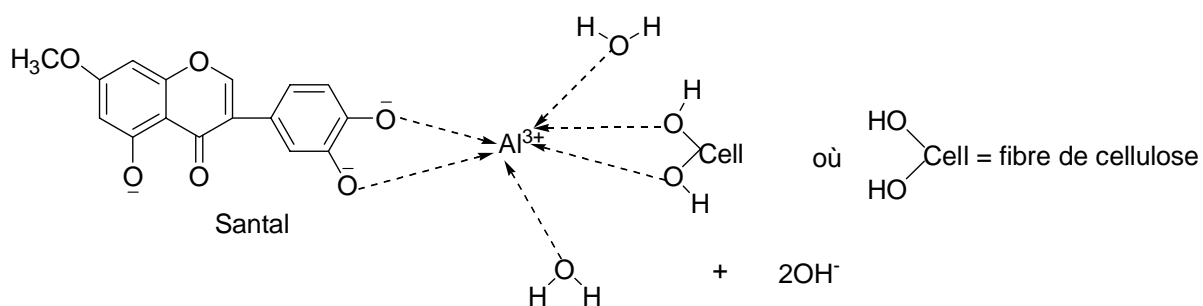


Figure 49: Mécanisme d'action entre une fibre cellulosique, un colorant (santal) et le mordant  $Al^{3+}$  (Alun) en milieu alcalin.

Pour un même colorant utilisé avec plusieurs types de mordants, on peut éclaircir, foncer ou modifier radicalement la couleur finale de la fibre teinte (Manhita et *al.*, 2011; Yi and Cho, 2008). Les mordants les plus utilisés lors d'une teinture naturelle sont : l'alun (sulfate de potassium et d'aluminium), le dichromate de potassium, le chlorure d'étain, le sulfate de fer ou le sulfate de cuivre (Samanta and Agarwal, 2009 ; Shahid et *al.*, 2013). L'utilisation des métaux comme mordant cause des problèmes environnementaux à l'industrie du textile (teneur importante en ions métalliques et les effluents déchargés dans la nature). Parmi tous les mordants métalliques, l'alun et le sulfate de fer sont conseillés tandis que l'utilisation du cuivre et du chrome est banni compte tenu de leur nature toxique à l'environnement (Savvidis et *al.*, 2013; Zarkogianni et *al.*, 2011). Toutes ces raisons nous ont conduit aux choix du sulfate d'aluminium et du sulfate de fer comme mordant et à des concentrations de 1 et 3%.

La variation des paramètres de teinture avec l'utilisation des mordants est présentée sur les figures 50 et 51 ci-dessous.

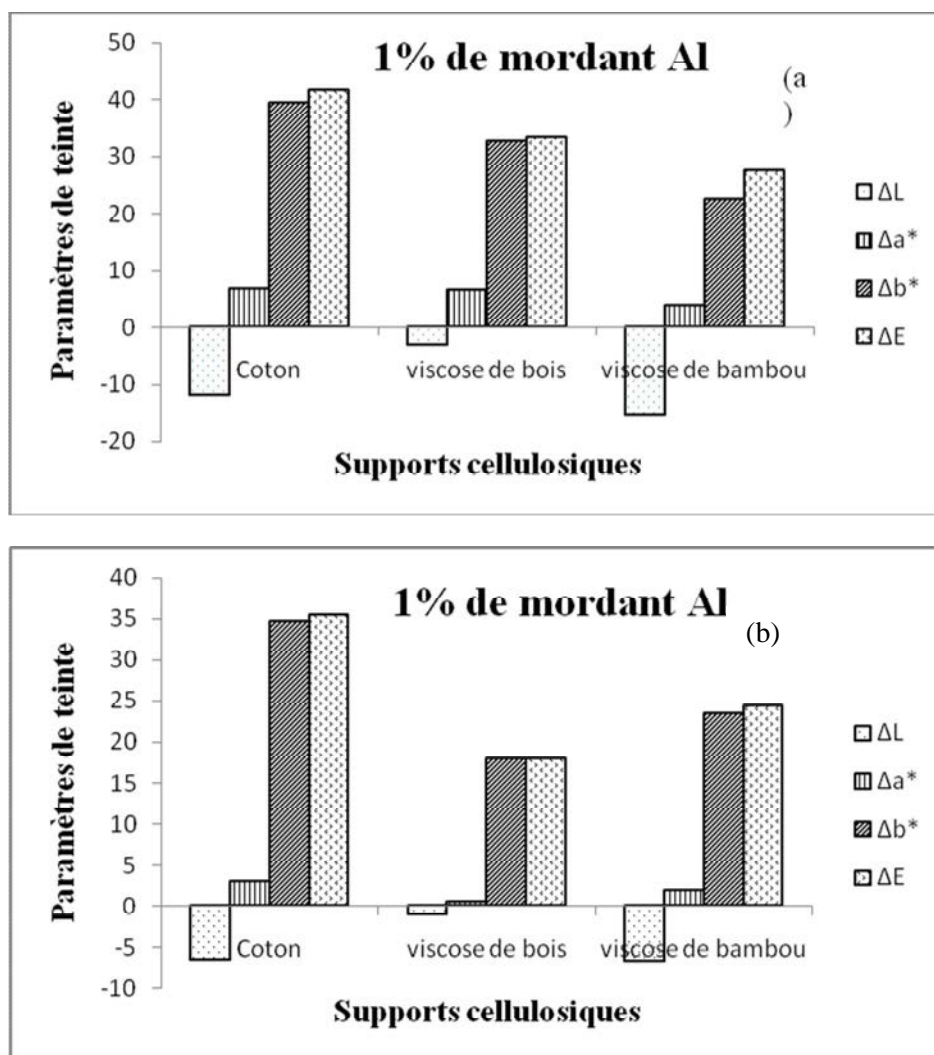


Figure 50 : Variations de paramètres de teintes ( $\Delta E$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ , et  $\Delta L$ ) obtenues après utilisation d'un mordant à base d'aluminium à 1% pour la teinture du coton, viscose de bois et viscose de bambou avec les extraits de movingui : (a) extrait alcalin et (b) extrait aqueux

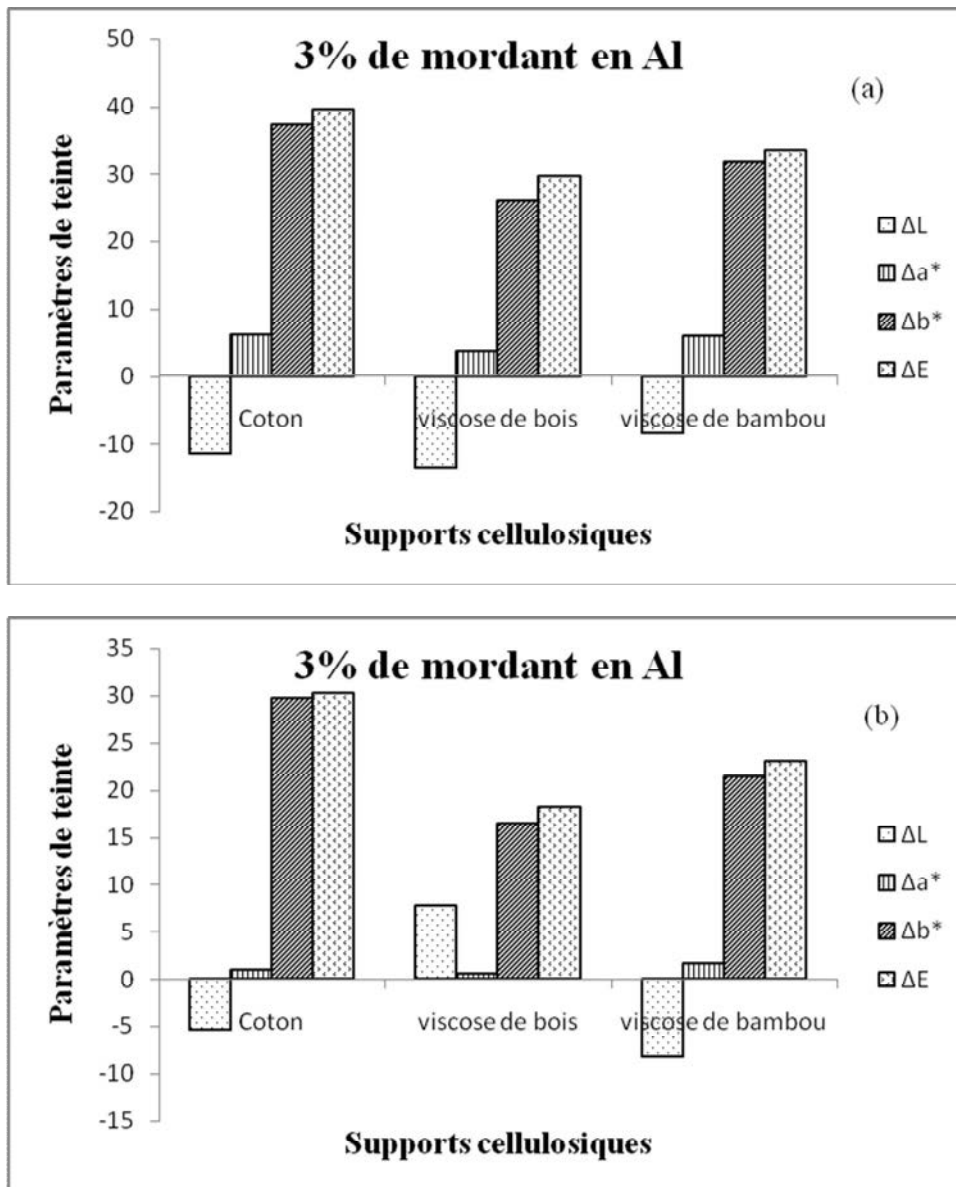


Figure 51 : Variations de paramètres de teintes ( $\Delta E$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ , et  $\Delta L$ ) obtenues après utilisation d'un mordant en aluminium à 3% pour teinte du coton, viscose de bois et viscose de bambou avec les extraits de movingui : (a) extrait alcalin et (b) extrait aqueux

On constate sur ces figures que  $\Delta L$  reste négatif pour toutes les fibres, ceci signifie que la fibre est devenue plus sombre que le standard. Les valeurs de  $\Delta a^*$  et  $\Delta b^*$  sont toutes positives et les valeurs de  $\Delta b^*$  sont nettement supérieures à celles de  $\Delta a^*$ . La teinte est restée de couleur jaune. Le mordant n'a pas eu un grand effet pour la nuance de couleur. Les concentrations de 1% et 3% semblent être insuffisantes pour apporter des nuances de colorations dans ce cas.

Les résultats obtenus avec les extraits de padouk et le mordant à base d'aluminium sont présentés sur les figures 52 et 53 ci-dessous.

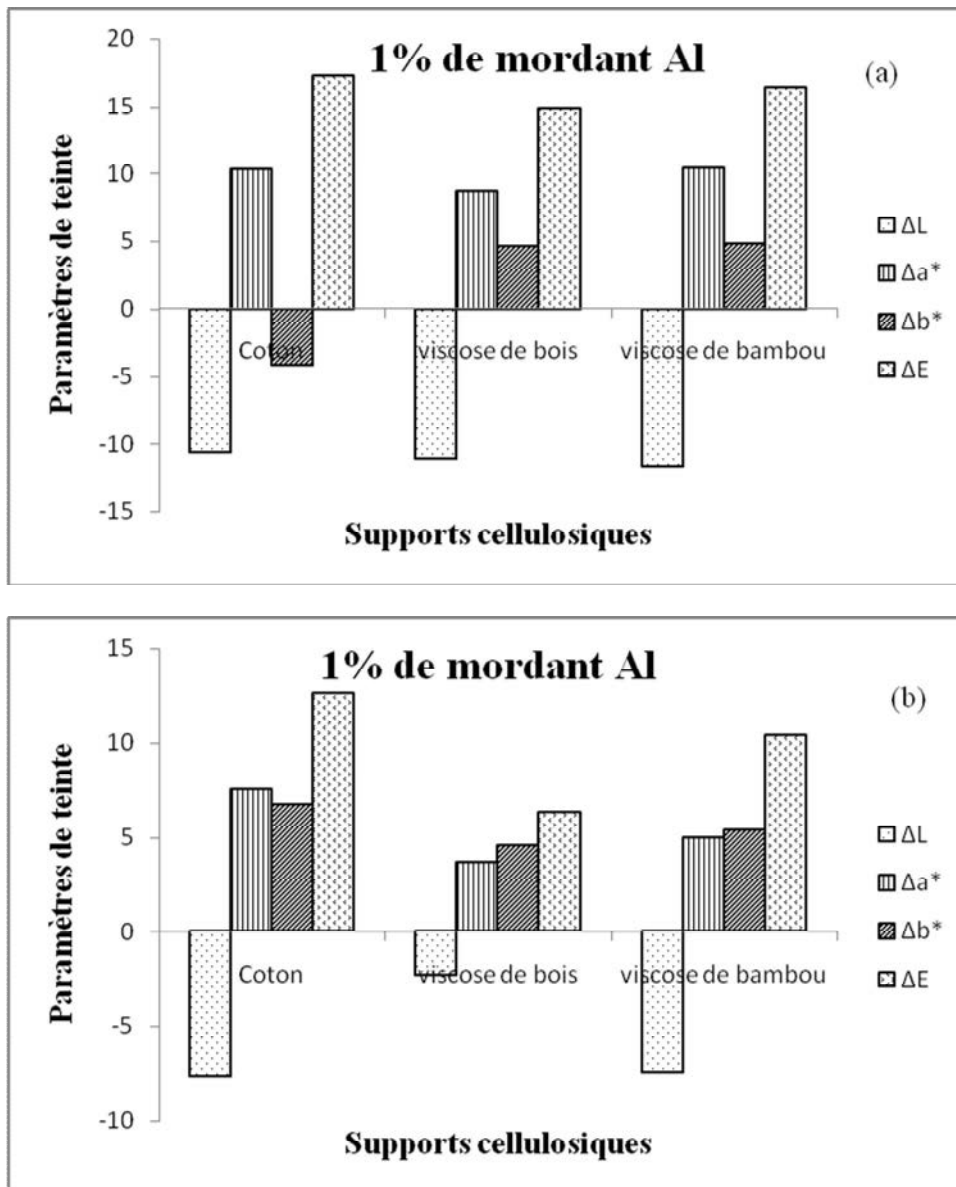


Figure 52 : Variations de paramètres de teintes ( $\Delta E$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ , et  $\Delta L$ ) obtenues après utilisation d'un mordant en aluminium à 1% pour la teinture du coton, viscose de bois et viscose de bambou avec les extraits de padouk : (a) extrait alcalin et (b) extrait aqueux

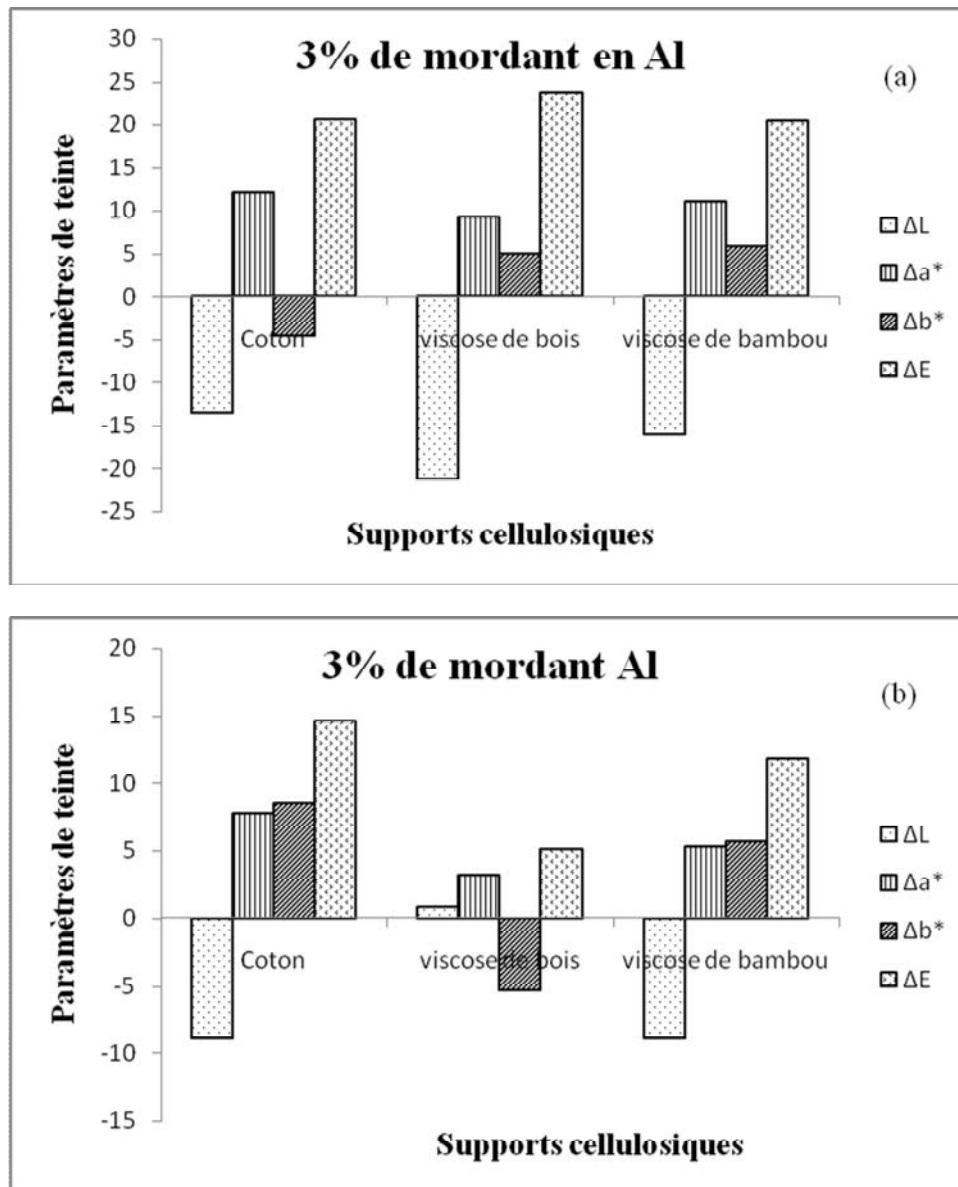


Figure 53 : Variations de paramètres de teintes ( $\Delta E$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ , et  $\Delta L$ ) obtenues après utilisation d'un mordant en aluminium à 3% pour teinture du coton, viscose de bois et viscose de bambou avec les extraits de padouk : (a) extrait alcalin et (b) extrait aqueux

De ces figures, il ressort que les valeurs de  $\Delta L$  sont presque toutes négatives, ce qui nous amène à conclure que les fibres sont devenues plus sombres que les fibres standards après la teinture. Par ailleurs, on constate que toutes les valeurs de  $\Delta a^*$  sont restées positives, ce qui signifie que les échantillons ont pris une teinte rouge par rapport aux échantillons standards. Par contre, on constate pour ce mordantage que les valeurs de  $\Delta b^*$  pour la fibre de coton et les extraits alcalins sont devenues négatives, ce qui signifie que nous avons une nuance de la couleur bleue qui apparaît. Pour le cas des autres fibres, les valeurs de  $\Delta b^*$  sont restées toutes positives, ce qui nous indique la présence d'une teinte jaune de nos fibres après la teinture. On

note que l'utilisation du mordant en aluminium a eu un effet sur la fibre de coton avec les extraits alcalins de padouk que l'on soit à 1 ou 3% de mordant dans le bac de teinture. On note que les valeurs de  $\Delta E$  restent plus élevées avec l'utilisation des extraits alcalins, ce qui nous permet d'affirmer que malgré l'utilisation du mordant, les extraits alcalins colorent mieux que les extraits aqueux.

Un mordant à base de fer ( $\text{FeSO}_4$ ) a été utilisé après le mordant à base aluminium pour augmenter l'affinité, la solidité et enfin les nuances des colorants avec les fibres.

Les résultats obtenus avec les extraits de movingui en utilisant le mordant en fer sont présentés sur les figures 54 et 55 ci-dessous.

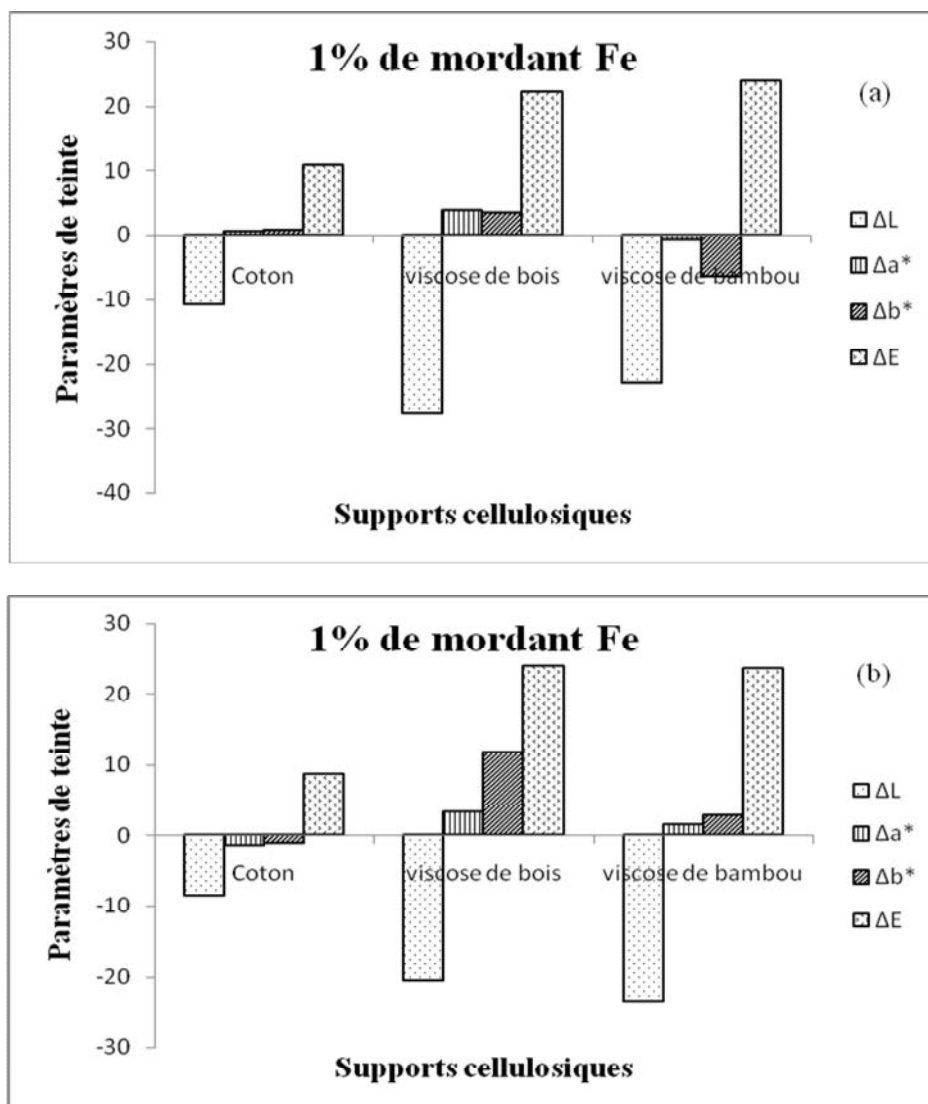


Figure 54 : Variations de paramètres de teintes ( $\Delta E$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ , et  $\Delta L$ ) obtenues après utilisation d'un mordant à base de fer à 1% pour teinture du coton, viscose de bois et viscose de bambou avec les extractibles de movingui : (a) extrait alcalin et (b) extrait aqueux



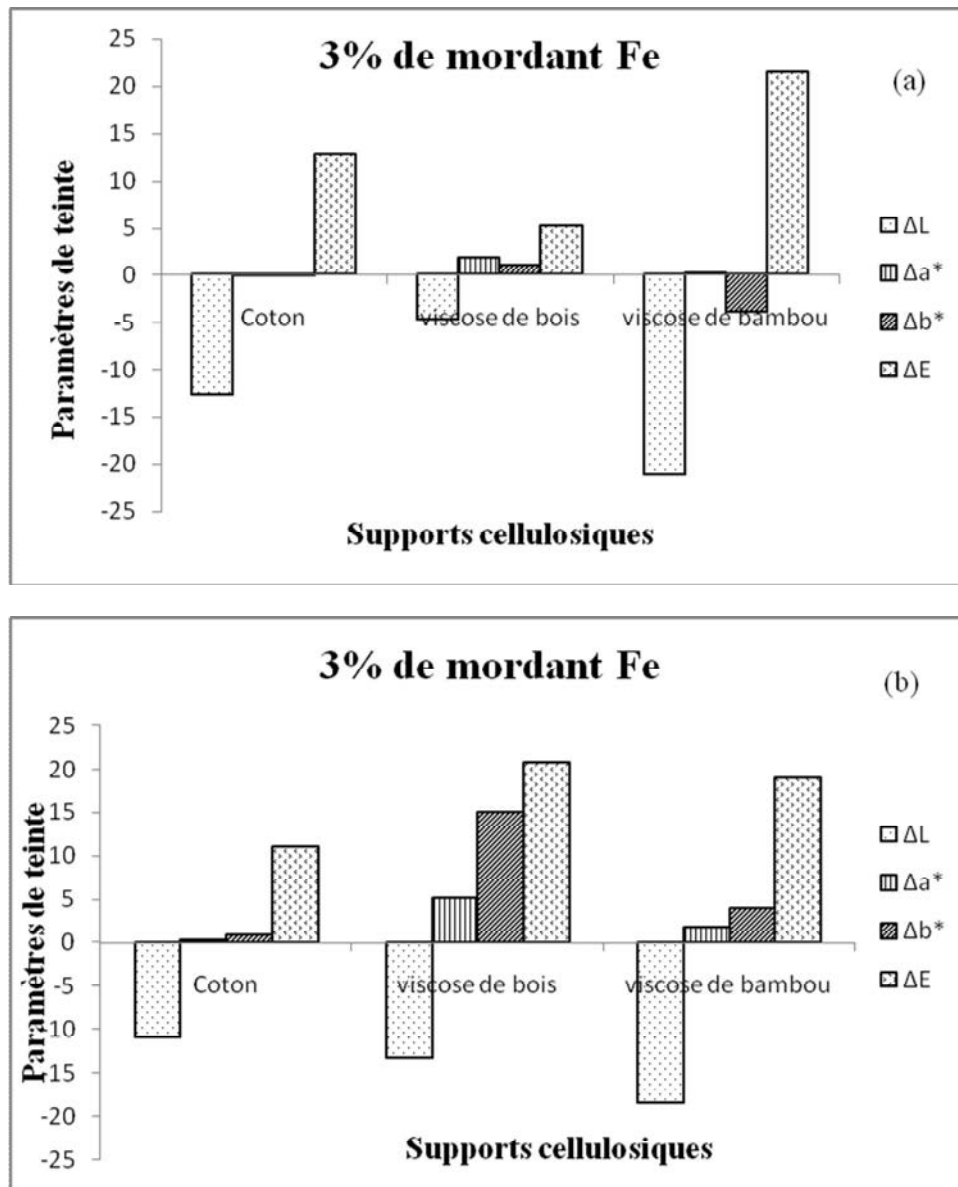


Figure 55 : Variations de paramètres de teintes ( $\Delta E$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ , et  $\Delta L$ ) obtenues après utilisation d'un mordant en fer à 3% pour la teinture du coton, viscose de bois et viscose de bambou avec les extraits de movingui : (a) extrait alcalin et (b) extrait aqueux

Des valeurs de  $\Delta L$  négatives et plus importantes ont été observées. Les fibres semblent prendre globalement une coloration sombre plus marquée en comparaison aux autres traitements réalisés. Lorsqu'on utilise le mordant à la concentration de 1% sur le tissu de coton et la viscose de bambou, les valeurs de  $\Delta a^*$  et  $\Delta b^*$  sont faibles pour les extraits alcalins et négatifs pour des extraits aqueux. Ce résultats nous montrent une nuance de couleur bleu-verte avec le coton teint à partir du mordant et des extraits aqueux de movingui. Dans le cas de la viscose de bois, les valeurs de  $\Delta a^*$  et  $\Delta b^*$  restent positives.  $\Delta a^*$  et  $\Delta b^*$  sont sensiblement égales pour des extraits alcalins montrant une prédominance des deux couleurs

(jaune et rouge). Une prédominance de la couleur jaune est observée avec les extraits aqueux. Les résultats obtenus avec le mordant à 1% sont semblables à ceux obtenus avec 3%.

Sur les figures 56 et 57 ci-dessous nous présentons les résultats obtenus avec les extraits de padouk et le mordant en fer.

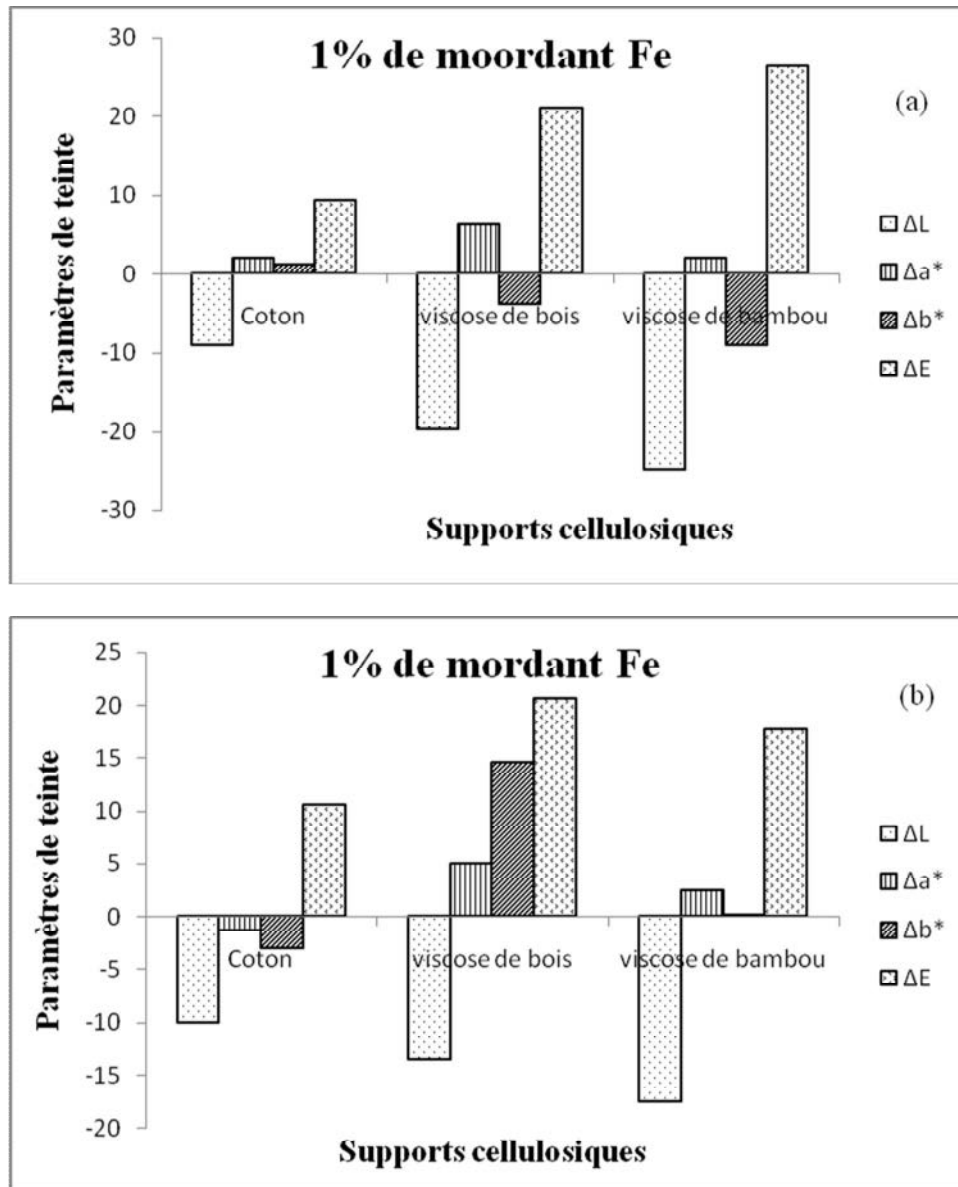


Figure 56 : Variations de paramètres de teintes ( $\Delta E$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ , et  $\Delta L$ ) obtenues après utilisation d'un mordant en fer à 1% pour teinte du coton, viscose de bois et viscose de bambou avec les extraits de padouk : (a) extrait alcalin et (b) extrait aqueux

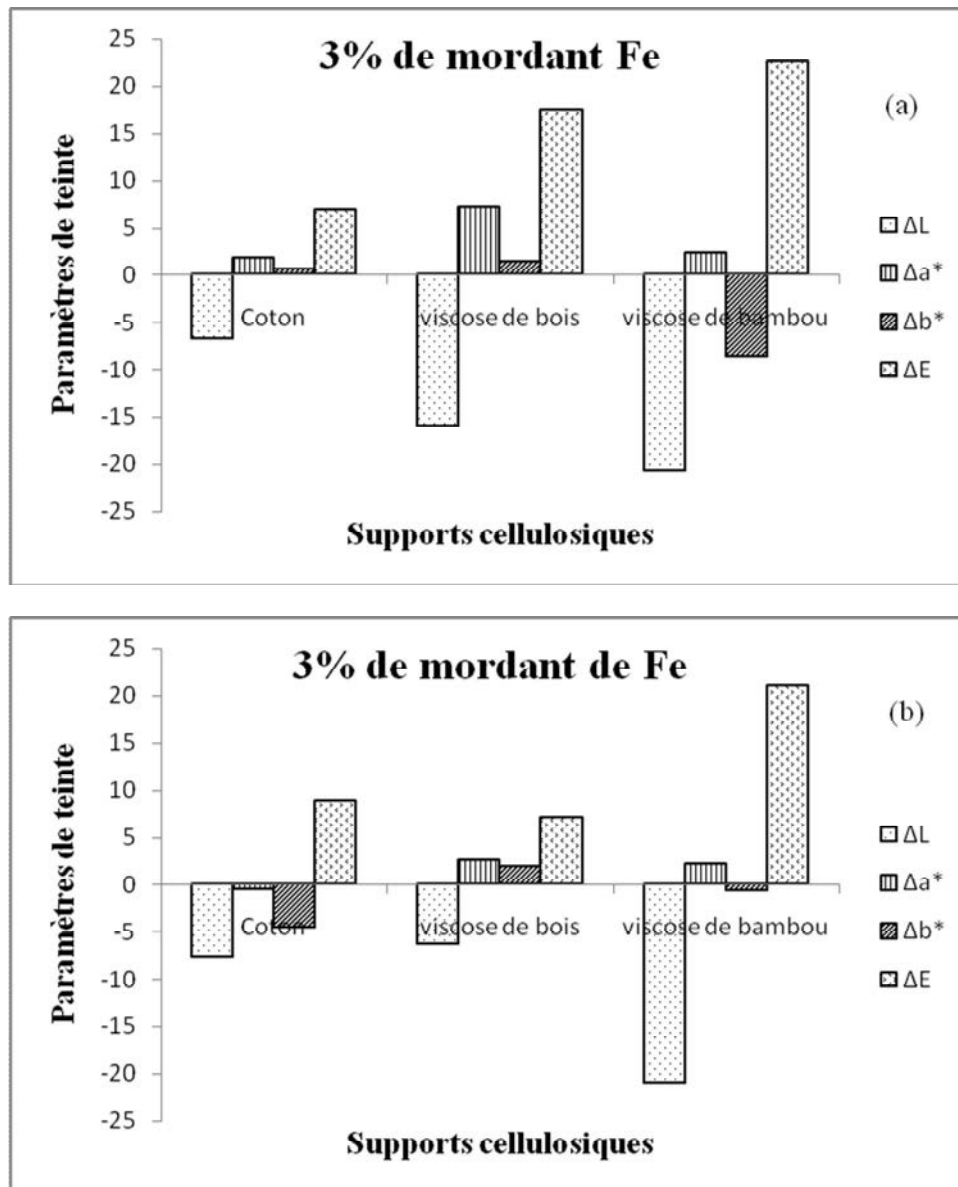


Figure 57 : Variations de paramètres de teintes ( $\Delta E$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ , et  $\Delta L$ ) obtenues après utilisation d'un mordant en fer à 3% pour teinte du coton, viscose de bois et viscose de bambou avec les extraits de padouk : (a) extrait alcalin et (b) extrait aqueux

Sur ces figures, on constate que les valeurs de  $\Delta L$  restent négatives quelle que soit la quantité de mordant utilisé et très importantes dans certains cas comme observé avec les extraits de movingui et ce mordant. En utilisant le mordant à la concentration de 1%, les valeurs de  $\Delta a^*$  et  $\Delta b^*$  sont toutes négatives avec l'utilisation des extraits aqueux alors qu'elles restent positives dans le cas des extraits alcalins lorsque nous faisons de la teinture sur la fibre de coton. Dans le cas des viscoses, les valeurs de  $\Delta a^*$  et  $\Delta b^*$  restent positives avec l'utilisation des extraits aqueux alors que dans le cas des extraits alcalins, les valeurs de  $\Delta a^*$  sont positives et celles de  $\Delta b^*$  négatives. Dans le cas de l'utilisation de 3% de mordant, les résultats sont

semblables avec ceux obtenus à 1%. Quel que soit le pourcentage de mordant utilisé, les valeurs de  $\Delta E$  des extraits alcalins restent supérieures à celles obtenues avec les extraits aqueux. Ceci confirme une fois de plus que les extraits alcalins teint mieux les fibres que les extraits aqueux.

#### **5.2.5. Solidité de la coloration avec mordantage sur la fibre**

Après cette étape de mordantage, les fibres colorées ont été lessivées avec de l'eau savonneuse. Les tableaux 20-27 ci-dessous présentent les variations de paramètres de teinture ( $\Delta E$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ , et  $\Delta L$ ,  $\Delta E_f$ ,  $\Delta a_f^*$ ,  $\Delta b_f^*$ , et  $\Delta L_f$ ) après teinture et lavage selon la norme ISO 105-C03.

Tableau 20: Paramètres de couleurs des fibres de coton, viscose de bois et viscose de bambou obtenus après mordantage à 1% de mordant à base d'aluminium, ensuite teint avec les extraits aqueux de bois et lessivage

Supports	Extrait aqueux	Paramètres de couleur											
		$\Delta E$	$\Delta E_w$	$\Delta E_f$	$\Delta L$	$\Delta L_w$	$\Delta L_f$	$\Delta a^*$	$\Delta a_w^*$	$\Delta a_f^*$	$\Delta b^*$	$\Delta b_w^*$	$\Delta b_f^*$
Fibre de coton	movingui	35,43	34,93	<b>0,5</b>	-6,44	-8,24	<b>1,8</b>	2,99	3,4	<b>-0,41</b>	34,71	33,78	<b>0,93</b>
	padouk	12,66	11,71	<b>0,95</b>	-7,62	-7,41	<b>-0,21</b>	7,57	6,94	<b>0,63</b>	6,7	5,84	<b>0,86</b>
Viscose de bois	movingui	18,02	17,31	<b>0,71</b>	-1,01	-0,82	<b>-0,19</b>	0,55	1,19	<b>-0,64</b>	17,98	17,25	<b>0,73</b>
	padouk	6,3	6,84	<b>-0,54</b>	-2,31	3,69	<b>-6</b>	3,69	3,6	<b>0,09</b>	4,56	4,5	<b>0,06</b>
Viscose de bambou	movingui	24,47	23,69	<b>0,78</b>	-6,69	-8,45	<b>1,76</b>	1,86	2,56	<b>-0,7</b>	23,44	21,87	<b>1,57</b>
	padouk	10,42	8,96	<b>1,46</b>	-7,43	-6,32	<b>-1,11</b>	4,97	4,61	<b>0,36</b>	5,35	4,37	<b>0,98</b>

$\Delta E$  est la différence de couleur après mordantage et teinte;  $\Delta E_w$  c'est la différence de couleur après mordantage, teinte et lavage support cellulosique;  $\Delta E_f$  est la différence de couleur entre  $\Delta E$  et  $\Delta E_w$

Tableau 21: Paramètres de couleurs des fibres de coton, viscose de bois et viscose de bambou obtenus après mordantage à 1% de mordant à base d'aluminium, ensuite teint avec les extraits alcalins de bois et lessivage

Supports	Extraits alcalins	Paramètres de couleur											
		$\Delta E$	$\Delta E_w$	$\Delta E_f$	$\Delta L$	$\Delta L_w$	$\Delta L_f$	$\Delta a^*$	$\Delta a_w^*$	$\Delta a_f^*$	$\Delta b^*$	$\Delta b_w^*$	$\Delta b_f^*$
Fibre de coton	movingui	41,67	40,78	<b>0,89</b>	-11,98	-11,91	<b>-0,07</b>	6,79	7,29	<b>-0,5</b>	39,33	38,34	<b>0,99</b>
	padouk	17,75	17,11	<b>0,64</b>	-10,64	-10,63	<b>-0,01</b>	10,28	9,72	<b>0,56</b>	-4,22	9,23	<b>-13,45</b>
Viscose de bois	movingui	33,44	28,4	<b>5,04</b>	-3	-9,89	<b>6,89</b>	6,51	4,84	<b>1,67</b>	32,66	26,18	<b>6,48</b>
	padouk	14,86	15,47	<b>-0,61</b>	-11,16	-11,49	<b>0,33</b>	8,67	8,17	<b>0,5</b>	4,61	6,39	<b>-1,78</b>
Viscose de bambou	movingui	27,52	32,93	<b>-5,41</b>	-15,26	-11,91	<b>-3,35</b>	3,82	7,52	<b>-3,7</b>	22,58	29,73	<b>-7,15</b>
	padouk	16,4	15,27	<b>1,13</b>	-11,68	-10,75	<b>-0,93</b>	10,44	9,8	<b>0,64</b>	4,84	4,65	<b>0,19</b>

$\Delta E$  est la différence de couleur après mordantage et teinte;  $\Delta E_w$  c'est la différence de couleur après mordantage, teinte et lavage support cellulosique;  $\Delta E_f$  est la différence de couleur entre  $\Delta E$  et  $\Delta E_w$

Tableau 22: Paramètres de couleurs des fibres de coton, viscose de bois et viscose de bambou obtenus après mordantage à 3% de mordant à base d'aluminium, ensuite teint avec les extraits aqueux de bois et lessivage

Supports	Extrait aqueux	Paramètres de couleur											
		$\Delta E$	$\Delta E_w$	$\Delta E_f$	$\Delta L$	$\Delta L_w$	$\Delta L_f$	$\Delta a^*$	$\Delta a_w^*$	$\Delta a_f^*$	$\Delta b^*$	$\Delta b_w^*$	$\Delta b_f^*$
Fibre de coton	movingui	30,28	27,42	<b>2,86</b>	-5,38	-5,04	<b>-0,34</b>	1,03	0,98	<b>0,05</b>	29,78	27,42	<b>2,36</b>
	padouk	14,56	12,88	<b>1,68</b>	-8,91	-7,48	<b>-1,43</b>	7,72	7,2	<b>0,52</b>	8,54	7,63	<b>0,91</b>
Viscose de bois	movingui	18,18	18,99	<b>-0,81</b>	7,82	-8,11	<b>-15,93</b>	0,61	0,93	<b>-0,32</b>	16,40	17,15	<b>-0,75</b>
	padouk	5,11	5,08	<b>0,03</b>	0,82	0,08	<b>-0,74</b>	3,21	2,87	<b>0,34</b>	-5,29	4,19	<b>-9,48</b>
Viscose de bambou	movingui	23,07	18,84	<b>4,23</b>	-8,29	-4,33	<b>-3,96</b>	1,64	1,56	<b>0,08</b>	21,47	19,30	<b>2,17</b>
	padouk	11,81	8,6	<b>3,21</b>	-8,9	-5,18	<b>-3,72</b>	5,25	4,49	<b>0,76</b>	5,71	5,99	<b>-0,28</b>

$\Delta E$  est la différence de couleur après mordantage et teinte;  $\Delta E_w$  c'est la différence de couleur après mordantage, teinte et lavage support cellulosique;  $\Delta E_f$  est la différence de couleur entre  $\Delta E$  et  $\Delta E_w$

Tableau 23: Paramètres de couleurs des fibres de coton, viscose de bois et viscose de bambou obtenus après mordantage à 3% de mordant à base d'aluminium, ensuite teint avec les extraits alcalins de bois et lessivage

Supports	Extraits alcalins	Paramètres de couleur											
		$\Delta E$	$\Delta E_w$	$\Delta E_f$	$\Delta L$	$\Delta L_w$	$\Delta L_f$	$\Delta a^*$	$\Delta a_w^*$	$\Delta a_f^*$	$\Delta b^*$	$\Delta b_w^*$	$\Delta b_f^*$
Fibre de coton	movingui	39,54	39,73	<b>-0,19</b>	-11,52	-11,79	<b>0,27</b>	6,25	7,26	<b>1,01</b>	37,3	37,24	<b>0,06</b>
	padouk	20,62	18,37	<b>2,25</b>	-13,52	-11,57	<b>-1,95</b>	12,12	11,33	<b>0,79</b>	-4,55	8,67	<b>-13,22</b>
Viscose de bois	movingui	29,64	22,88	<b>6,76</b>	-13,62	-3,12	<b>-10,5</b>	3,74	3,93	<b>-0,19</b>	26,06	22,32	<b>3,74</b>
	padouk	23,71	9,29	<b>14,42</b>	-21,26	0,44	<b>-21,7</b>	9,23	8,45	<b>0,78</b>	5,00	3,77	<b>1,23</b>
Viscose de bambou	movingui	33,44	34,53	<b>-1,09</b>	-8,43	-17,2	<b>8,77</b>	5,94	6,9	<b>0,96</b>	31,84	29,14	<b>2,7</b>
	padouk	20,40	18,05	<b>2,35</b>	-16,11	-13,96	<b>-2,15</b>	11,08	-0,19	<b>11,27</b>	5,82	5,83	<b>-0,01</b>

$\Delta E$  est la différence de couleur après mordantage et teinte;  $\Delta E_w$  c'est la différence de couleur après mordantage, teinte et lavage support cellulosique;  $\Delta E_f$  est la différence de couleur entre  $\Delta E$  et  $\Delta E_w$

Tableau 24 : Paramètres de couleurs des fibres de coton, viscose de bois et viscose de bambou obtenus après mordantage à 1% de mordant à base de Fer, ensuite teint avec les extraits aqueux de bois et lessivage

Supports	Extraits aqueux	Paramètres de couleur											
		$\Delta E$	$\Delta E_w$	$\Delta E_f$	$\Delta L$	$\Delta L_w$	$\Delta L_f$	$\Delta a^*$	$\Delta a_w^*$	$\Delta a_f^*$	$\Delta b^*$	$\Delta b_w^*$	$\Delta b_f^*$
Fibre de coton	movingui	8,65	6,37	<b>2,28</b>	-8,47	-6,12	<b>-2,35</b>	-1,41	-1,78	<b>0,37</b>	-1,08	-0,41	<b>-0,67</b>
	padouk	10,52	8,98	<b>1,54</b>	-10,01	-5,27	<b>-4,74</b>	-1,32	-3,31	<b>1,99</b>	-2,96	-6,48	<b>3,52</b>
Viscose de bois	movingui	23,96	14,57	<b>9,39</b>	-20,63	-9,97	<b>-10,66</b>	3,26	2,35	<b>0,91</b>	11,75	-5,59	<b>17,34</b>
	padouk	20,58	7,2	<b>13,38</b>	-13,59	-5,31	<b>-8,28</b>	5,04	1,93	<b>3,11</b>	14,61	4,47	<b>10,14</b>
Viscose de bambou	movingui	23,67	8,65	<b>14,99</b>	-23,45	-8,38	<b>-15,07</b>	1,58	1,07	<b>0,51</b>	2,77	1,85	<b>0,92</b>
	padouk	17,72	12,9	<b>4,82</b>	-17,54	-12,68	<b>-4,86</b>	2,52	2,24	<b>0,28</b>	0,19	-0,75	<b>0,94</b>

$\Delta E$  est la différence de couleur après mordantage et teinte ;  $\Delta E_w$  c'est la différence de couleur après mordantage, teinte et lavage support cellulosique ;  $\Delta E_f$  est la différence de couleur entre  $\Delta E$  et  $\Delta E_w$

Tableau 25 : Paramètres de couleurs des fibres de coton, viscose de bois et viscose de bambou obtenus après mordantage à 1% de mordant à base de Fer, ensuite teint avec les extraits alcalins de bois et lessivage

Supports	Extrait alcalins	Paramètres de couleur											
		$\Delta E$	$\Delta E_w$	$\Delta E_f$	$\Delta L$	$\Delta L_w$	$\Delta L_f$	$\Delta a^*$	$\Delta a_w^*$	$\Delta a_f^*$	$\Delta b^*$	$\Delta b_w^*$	$\Delta b_f^*$
Fibre de coton	movingui	10,87	7,92	<b>2,95</b>	-10,82	-7,80	<b>-3,02</b>	0,62	0,62	<b>0</b>	0,83	1,23	<b>-0,4</b>
	padouk	9,37	8,14	<b>1,23</b>	-9,07	-6,75	<b>-2,32</b>	2,04	2,52	<b>-0,48</b>	1,14	3,77	<b>-2,63</b>
Viscose de bois	movingui	22,22	17,51	<b>4,71</b>	-27,75	-16,56	<b>-11,19</b>	3,88	3,75	<b>0,13</b>	3,35	4,28	<b>-0,93</b>
	padouk	21,03	16,22	<b>4,81</b>	-19,73	-14,02	<b>-5,71</b>	6,2	6,89	<b>-0,69</b>	-3,84	4,38	<b>-8,22</b>
Viscose de bambou	movingui	23,90	20,37	<b>3,53</b>	-23,01	-19,86	<b>-3,15</b>	-0,68	-0,28	<b>-0,4</b>	-6,42	-4,52	<b>-1,9</b>
	padouk	26,4	16,66	<b>9,74</b>	-24,73	-14,18	<b>-10,55</b>	1,97	2,21	<b>-0,24</b>	-9,03	-8,46	<b>-0,57</b>

$\Delta E$  est la différence de couleur après mordantage et teinte ;  $\Delta E_w$  c'est la différence de couleur après mordantage, teinte et lavage support cellulosique ;  $\Delta E_f$  est la différence de couleur entre  $\Delta E$  et  $\Delta E_w$



Tableau 26 : Paramètres de couleurs des fibres de coton, viscose de bois et viscose de bambou obtenus après mordantage à 3% de mordant à base de Fer, ensuite teint avec les extraits aqueux de bois et lessivage

Supports	Extrait aqueux	Paramètres de couleur											
		$\Delta E$	$\Delta E_w$	$\Delta E_f$	$\Delta L$	$\Delta L_w$	$\Delta L_f$	$\Delta a^*$	$\Delta a_w^*$	$\Delta a_f^*$	$\Delta b^*$	$\Delta b_w^*$	$\Delta b_f^*$
Fibre de coton	movingui	10,97	7,96	<b>3,01</b>	-10,93	-7,94	<b>-2,99</b>	0,31	-0,52	<b>0,83</b>	0,89	-0,2	<b>1,09</b>
	padouk	8,9	8,54	<b>0,36</b>	-7,6	-8,34	<b>0,74</b>	-0,47	0,41	<b>-0,88</b>	-4,61	-0,09	<b>-4,52</b>
Viscose de bois	movingui	20,7	4,62	<b>16,08</b>	-13,33	-4,26	<b>-9,07</b>	5,16	1,3	<b>3,86</b>	14,97	1,23	<b>13,74</b>
	padouk	7,14	14,16	<b>-7,02</b>	-6,3	-10,27	<b>3,97</b>	2,7	5,23	<b>-2,53</b>	1,99	-13,81	<b>15,8</b>
Viscose de bambou	movingui	18,94	21,06	<b>-2,12</b>	-18,45	-20,66	<b>2,21</b>	1,73	-1,01	<b>2,74</b>	3,92	-3,95	<b>7,87</b>
	padouk	21,13	14	<b>7,13</b>	-21	-12,39	<b>-8,61</b>	2,2	-0,05	<b>2,25</b>	-0,68	-21,18	<b>20,5</b>

$\Delta E$  est la différence de couleur après mordantage et teinte ;  $\Delta E_w$  c'est la différence de couleur après mordantage, teinte et lavage support cellulosique ;  $\Delta E_f$  est la différence de couleur entre  $\Delta E$  et  $\Delta E_w$

Tableau 27 : Paramètres de couleurs des fibres de coton, viscose de bois et viscose de bambou obtenus après mordantage à 3% de mordant à base de Fer, ensuite teint avec les extraits alcalins de bois et lessivage

Supports	Extraits alcalins	Paramètres de couleur											
		$\Delta E$	$\Delta E_w$	$\Delta E_f$	$\Delta L$	$\Delta L_w$	$\Delta L_f$	$\Delta a^*$	$\Delta a_w^*$	$\Delta a_f^*$	$\Delta b^*$	$\Delta b_w^*$	$\Delta b_f^*$
Fibre de coton	movingui	12,77	10,38	<b>2,39</b>	-12,74	-10,37	<b>-2,37</b>	-0,06	-0,29	<b>0,23</b>	-0,87	0,41	<b>-1,28</b>
	padouk	6,93	6,47	<b>0,46</b>	-6,68	-6,43	<b>-0,25</b>	1,77	0,74	<b>1,03</b>	0,57	-0,09	<b>0,66</b>
Viscose de bois	movingui	5,16	20,69	<b>-15,53</b>	-4,69	-12,61	<b>7,92</b>	1,86	5,2	<b>-3,34</b>	1,07	15,56	<b>-14,49</b>
	padouk	17,57	21,87	<b>-4,3</b>	-15,92	-20,66	<b>4,74</b>	7,29	6,53	<b>0,76</b>	1,43	2,97	<b>-1,54</b>
Viscose de bambou	movingui	21,43	20,35	<b>1,08</b>	-21,07	-19,88	<b>-1,19</b>	0,16	2,22	<b>-2,06</b>	-3,89	3,72	<b>-7,61</b>
	padouk	22,53	19,87	<b>2,66</b>	-20,68	-19,28	<b>-1,4</b>	2,4	4,5	<b>-2,1</b>	-8,61	-1,72	<b>-6,89</b>

$\Delta E$  est la différence de couleur après mordantage et teinte ;  $\Delta E_w$  c'est la différence de couleur après mordantage, teinte et lavage support cellulosique ;  $\Delta E_f$  est la différence de couleur entre  $\Delta E$  et  $\Delta E_w$

L'utilisation du mordant entraîne une meilleure résistance des colorants au lessivage. Les valeurs de  $\Delta E_f$  sont un peu plus faible que dans les cas de teinture sans mordant quel que soit l'extrait utilisé (aqueux ou alcalin de padouk ou de movingui). Quelle que soit la nature chimique de la fibre (naturelle ou artificielle) le lessivage influence peu la rigidité de la tenue du colorant par la fibre. Si l'on compare les différences de valeurs obtenues après lavage entre la teinture sans mordant et avec mordant, on constate que l'effet du mordantage permet une plus grande rigidité du colorant. Après mordantage, on constate que l'utilisation du mordant à base aluminium renforce la teinte sans donner d'autres nuances de coloration alors que le mordant à base de fer nous donne des nuances de coloration.

### 5.3. Propriétés antibactériennes des extractibles

Pour choisir le milieu de culture avec lequel nous devons travailler, nous avons effectué des essais avec du glucose 0,1g/L (milieu minéral plus du glucose) et un milieu constitué de bouillon nutritif (BN). Les résultats obtenus pour la fluorescence du témoin positif montrent une intensité de 17618 pour le bouillon nutritif et de 11624 pour le milieu glucosé après 72 heures d'incubation. Quant aux témoins négatifs, nous obtenons le même résultat qui est de 3770. Ce résultat nous a conduits à choisir comme milieu de culture le bouillon nutritif car la bactérie s'y développe très bien. Les résultats présentés sur la toxicité ou non des extractibles ont été effectués dans le milieu riche (BN). Nous avons ensuite évalué la capacité des extractibles à inhiber ou non la croissance de trois bactéries (*Escherichia coli*, *staphylocoque*, *Bacillus*). Le tableau 28 présente les résultats du pourcentage d'inhibition obtenu dans le cas de la bactérie *Escherichia coli*.

Tableau 28 : Indice antibactérien (%) dans le cas d'*Escherichia coli*

Solvants	Dichlorométhane			Acétone			Toluène-éthanol			Eau		
	100	500	1000	100	500	1000	100	500	1000	100	500	1000
Concentration en ppm												
Moabi	0	2	3	4	15	7	2	20	25	3	24	36
Movingui	9	40	69	9	51	71	8	49	67	0	8	21
Padouk	15	58	82	24	29	49	16	27	35	4	31	43
Tali	0	0	4	3	39	42	7	19	53	11	22	41

De ce tableau, il ressort que le pourcentage d'inhibition varie de 0 à 82% et qu'en général le pourcentage d'inhibition est proportionnel à la concentration de l'extrait. Les extraits au dichlorométhane de tali à la concentration de 100 et 500 ppm, de moabi à la concentration de

100 ppm et les extraits aqueux de movingui à la concentration de 100 ppm, n'inhibent pas la croissance de la bactérie. Les extraits de moabi en général inhibent très peu la croissance de la bactérie. Les extraits acétoniques dans le cas de toutes les essences, inhibent la croissance de la bactérie. Si l'on compare les extraits d'essences entre elles, nous notons que les extraits de padouk inhibent la croissance de la bactérie suivis des extraits de movingui, de tali et enfin du moabi. Aux concentrations considérées, il n'y a pas une grande inhibition de la bactérie par les extraits. Après avoir étudié cette bactérie Gram négative, nous nous sommes intéressés par la suite à l'inhibition de deux bactéries Gram positive. Le tableau 29 présente les résultats obtenus dans le cas de l'inhibition des extraits sur le *staphylocoque*.

Tableau 29 : Indice antibactérien (%) dans le cas du *staphylocoque*

Solvants	Dichlorométhane			Acétone			Toluène-éthanol			Eau		
	100	500	1000	100	500	1000	100	500	1000	100	500	1000
Concentration en ppm												
Moabi	-	3	3	7	9	11	10	30	45	5	24	37
Movingui	17	60	78	13	67	78	11	67	73	14	16	26
Padouk	17	41	75	15	43	77	21	61	61	14	40	57
Tali	-	-	-	15	45	65	14	36	52	10	40	46

- Signifie n'a pas été testé.

De ce tableau, il ressort que l'indice antibactérien varie de 3 à 78%. Les extraits de moabi inhibent très peu la croissance bactérienne. Les extraits de movingui et de padouk inhibent la bactérie testée. Les extraits de tali inhibant moyennement la croissance bactérienne. Il ressort dans ce cas que les extraits aqueux inhibent très peu la croissance bactérienne alors que les extraits aux dichlorométhane inhibent la croissance bactérienne. On note par ailleurs que lorsque la concentration de l'extrait augmente, la bactérie est inhibée. Après avoir obtenu ces résultats nous avons uniquement testé les concentrations de 1000 ppm sur la bactérie *Bacillus*. Les résultats obtenus après incubation sont présentés dans le tableau 30.

Tableau 30 : Indice antibactérien (%) dans le cas du *Bacillus*

Solvants	dichlorométhane	Acétone	Toluène-éthanol	Eau
Concentration	1000	1000	1000	1000
en ppm				
Moabi	0	0	14	38
Movingui	40	83	50	14
Padouk	51	60	48	58
Tali	-	50	54	40

De ce tableau, il ressort que l'indice antibactérien varie de 0 à 83%. Les extraits acétoniques et aux dichlorométhane de moabi n'inhibent pas la croissance de cette bactérie. Les extraits de moabi inhibent très peu la croissance bactérienne. On note que les extraits qui inhibent la croissance de cette bactérie sont les extraits de padouk et de movingui. Si l'on compare les solvants d'extraction, on note que les extraits acétoniques inhibent très bien la croissance de la bactérie suivis du toluène-éthanol, de l'eau et enfin du dichlorométhane.

En conclusion nous dirons qu'en général, les faibles concentrations inhibent très peu la croissance bactérienne. Plus la concentration de l'extractible augmente, plus la bactérie est inhibée. On note que les extraits de padouk et de movingui inhibent très bien la croissance bactérienne, que les extraits de tali inhibent moyennement et que les extraits de moabi inhibent très peu. De tous les solvants utilisés pour extraire les composés, les extraits acétoniques en général inhibe la croissance bactérienne, suivi des extraits au toluène-éthanol, aqueux et enfin les extraits aux dichlorométhane. Les gram positifs sont plus inhibés que les gram négatifs.

## CONCLUSION

Dans ce travail, les substances extractibles de cinq bois tropicaux récoltés au Cameroun ont été analysées mais aussi, la possibilité de valorisation dans les domaines des antioxydants, des antifongiques, antibactériens ou des colorants pour des textiles explorée. Les résultats ont montré que des taux d'extractibles variaient d'une essence à une autre et selon le type de solvant utilisé. Le taux d'extractible total des bois étudiés décroît dans l'ordre : tali (17,7%), padouk (16,7%), moabi (16,6%), movingui (16,1%) et ayous (4,4%).

Le criblage photochimique a révélé la présence de différents groupes de molécules telles que des polyphénols (sauf dans les extractibles aqueux d'ayous et au dichlorométhane d'ayous et de moabi), des flavonoïdes (sauf dans les extractibles aqueux d'ayous et au dichlorométhane d'ayous et de moabi), des saponines (présents uniquement dans les extractibles de moabi et les extractibles acétonique et toluène-éthanol de tali), des alcaloïdes (présents uniquement dans les extractibles acétonique et toluène-éthanol de tali), des stérols et des terpènes (sauf dans les extractibles d'ayous et les extractibles au dichlorométhane de toutes les essences étudiées) présents en quantités plus ou moins importantes dans les différents extractibles. Le dosage de la quantité en composés phénoliques a révélé des teneurs plus ou moins importantes de ces classes de molécules. De ces résultats, il ressort que l'extrait acétonique de tali renferme le plus de phénols alors que les extractibles d'ayous sont les moins riches en phénols. L'évaluation des tanins condensés a montré que l'extrait le plus riche en tanins condensés est l'extrait au toluène-éthanol de padouk. Dans les extractibles d'ayous, il a été décelé la présence d'acide hexadécanoïque, d'acide octadécanoïque, d'acide gallique et de sitostérol. Les extractibles de moabi, contiennent de l'acide tétradécanoïque, de l'acide hexadécanoïde, de l'acide 9-octadécénoïque ainsi que plusieurs autres acides et de catéchine. Les extractibles de movingui ont été difficilement identifiables par la chromatographie GC-MS utilisée. Dans les extractibles de padouk, il a pu être identifié de l'homoptérocarpine, la ptérocarpine et de l'acide hexadécanoïque. Les extractibles de tali contiennent de la dihydroquercétine, de la catéchine, de l'acide gallique, de l'acide protocatéchique, du pyrogallol, acide vanilique et du 4-méthylcatéchol.

De tous les bois étudiés, seul l'ayous a montré une faible résistance face à l'attaque des champignons. Les pertes de masses des essences extraites sont supérieures à celles non extraites. D'une manière générale une bonne corrélation est observée entre fort taux de substances extractibles et la durabilité. Malgré l'extraction des éprouvettes, certains bois restent très durables face à l'attaque des champignons ceci pouvant être dû à une extraction

incomplète des substances responsables de la durabilité. Il a été constaté par ailleurs un effet inhibiteur des extractibles sur la croissance de différents champignons. Certains extractibles notamment les extractibles de tali ont montré un effet fongicide, alors que ceux de padouk, de movingui et de moabi ont montré des effets fongistatiques. De ces résultats, il est ressorti que les extractibles de tali peuvent être utilisés comme source pour le développement de nouveaux composés antifongiques (car les extractibles sont riches en composés phénoliques qui présentent une bonne activité antifongique).

L'évaluation de l'activité antioxydante des extractibles par la méthode de l'inhibition de l'oxydation du méthyle linoléate a permis de montrer que les extractibles inhibaient cette oxydation. Tous les extractibles ont montré une activité antioxydante plus élevée que le BHT utilisé comme antioxydant dans l'industrie agroalimentaire pour conserver les aliments. Par contre, la catéchine a présenté une activité antioxydante plus importante que les extractibles étudiés. Cette activité est due en partie à la présence des composés phénoliques contenus dans les extractibles. L'évaluation de l'activité anti radicalaire des extractibles par le DPPH, a montré que les extractibles pouvaient piéger les radicaux libres. Au niveau de l'activité anti radicalaire, seuls les extractibles de tali et de movingui ont eu une bonne capacité à piéger les radicaux libres que le BHT. De manière générale, les extractibles lipophiles présentent des propriétés antioxydante et anti radicalaire moins prononcées que les extractibles hydrophiles. Les extractibles de movingui, padouk et tali peuvent être utilisés comme source d'antioxydants et d'agents anti radicalaires.

L'utilisation des extractibles aqueux et alcalins de movingui et de padouk comme source de colorant naturel pour teindre des fibres naturelles et artificielles a été envisagée. La coloration jaune a été obtenue avec les extraits de movingui et rouge avec les extraits de padouk. Ceci est due à la présence des flavonoïdes dans les extractibles (détectés par criblage phytochimique). L'expérience a montré que la teinte avec les extraits alcalins (0,05 M de soude) est meilleure que celle obtenue avec les extraits aqueux. L'utilisation de mordants a permis de mieux fixer le colorant sur la fibre et de faire une nuance de couleur. Le test de rigidité du colorant sur la fibre par lessivage a été effectué et il ressort que ce dernier tient correctement sur la fibre. La meilleure teinte a été obtenue avec la fibre coton. Pour les deux fibres artificielles utilisées, la viscose de bambou a donné une meilleure teinte que la viscose de bois. De cette étude, il apparaît que les extractibles de padouk et de movingui peuvent être utilisés pour teindre les fibres cellulosiques. Ces essences représentent une alternative pour remplacer les colorants synthétiques généralement utilisés en industrie du textile.

L'évaluation des propriétés antibactériennes a montré que les extractibles étaient bactériostatiques et que l'augmentation de la concentration de l'extractible augmentait l'inhibition de la bactérie. Les extractibles de padouk et de movingui étant de très bons inhibiteurs de la croissance bactérienne. Le meilleur solvant d'extraction des composés inhibant la croissance bactérienne étant l'acétone. Ces extractibles présentent un réel potentiel pour leurs utilisations en tant qu'agent inhibiteur de la croissance bactérienne.

La valorisation des différents extractibles de tali, movingui, padouk et moabi comme source d'antifongiques, antibactériens, antioxydants et de colorants naturels dans les industries cosmétiques, agroalimentaires et textiles donneraient une grande valeur ajoutée à l'exploitation de ces bois.

### **PERSPECTIVES**

Il serait intéressant pour la suite de ces travaux :

- d'évaluer les propriétés termiticides des extractibles,
- d'isoler les composés responsables de l'activité des extractibles et de tester leurs propriétés antifongiques, antioxydants et de colorants naturels,
- de valoriser les extractibles jugés actifs (antioxydant, colorant naturel) par des collaborations avec les industries,
- d'évaluer les propriétés des extractibles pour des applications dans le domaine médicale et,
- d'étendre les études sur d'autres bois camerounais peu commercialisés.



## REFERENCES

- Abuiboto N.M.C., Avom J., Mpon R., Mbadcam K.J., Belibi B.D.P., 2013. Valorization of a Cameroonian species: moabi (*Baillonella toxisperma* Pierre) into activated carbons, *International Journal of Current Research and Review*, 5(8): 01-10.
- Adeniyi Bola A., Obasi Oleh John, Lawal Temitope O., 2011. In-vitro antifungal activity of distemonanthus benthamianus stem. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(4): 52-56.
- Aiyegoro O.A., Akinpelu D.A., Afolayan A.J., Okoh A.I., 2008. Antibacterial activities of crude stem bark extracts of *Distemonanthus benthamianus* Baill. *Journal of Biological Sciences*, 8(2): 356-361.
- Akinjogunla O.J., Yah C.S., Eghafona N.O., Ogbemudia F.O., 2010. Antibacterial activity of leave extracts of *Nymphaea lotus* (*Nymphaeaceae*) on *Methicillin* resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and *Vancomycin* resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) isolated from clinical samples. *Annals of Biological Research*, 1(2): 174-184
- Ali S. S., Kasoju N., Luthra A., Singh A., Sharanabasava H., Sahu A., Bora U., 2008. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Research International*, 41: 1-15.
- Ali S., Hussain T., Nawaz R., 2009. Optimization of alkaline extraction of natural dye from Henna leaves and its dyeing on cotton by exhaust method. *Journal of Cleaner Production*, 17: 61-66.
- Aloui F., Ayadi N., Charrier F., Charrier B., 2004. Durability of European oak (*Quercus petraea* and *Quercus robur*) against white rot fungi (*Coriolus versicolor*): relations with phenol extractives. *Holz Roh Werkst*, 62(4): 286-290.
- Altarejos J., Salido S., Perez-Bonilla M., Linares-Palomino P.J., Van Beek T.A., Nogueras M., Sanchez A., 2005. Preliminary assay on the radical scavenging activity of the olive wood extracts. *Fitoterapia*, 76: 348-351.
- Amarowicz R., Dykes G.A., Pegg R.B., 2008. Antibacterial activity of tannin constituents from *Phaseolus vulgaris*, *Fagopyrum esculentum*, *Corylus avellana* and *Juglans nigra*. *Fitoterapia*. 79(3): 217-219.

Amusant N., Moretti C., Richard B., Prost E., Nuzillard M., Thevenon F. M., 2007. Chemical compounds from *Eperua falcata* and *Eperua grandiflora* heartwood and their biological activities against wood destroying fungus (*Coriolus versicolor*). Holz Roh Werkst. 65: 23-28.

Anke H., Roland W., Weber S., 2006. White-rots, chlorine and the environment - a tale of many twists. Mycologist, 20 (3): 83-89.

Antwi-Boasiako C., Barnett J. R., Pitman A. J., 2010. Relationship between total extractive content and durability of three tropical hardwoods exposed to *Coriolus versicolor* (Linnaeus) Quelet. Journal of the Indian Academy Wood Science. 7(1-2): 9-13.

Asamoah A., Frimpong-Mensah K., Antwi-Boasiako C., 2011. Efficacy of *Tectona grandis* (Teak) and *Distemonanthus benthamianus* (Bonsamdua) Water Extractives on the Durability of Five Selected Ghanaian Less Used Timber. Pakistan Journal of Chemistry, 1(1): 28-31.

Bechtold T., Mahmud-Ali A., Mussak A.M.R., 2007. Reuse of ash-tree (*Fraxinus excelsior* L.) bark as natural dyes for textile dyeing: process conditions and process stability. Coloration Technology, 123: 271-279.

Belt T., (2013). Wood preservative potential of Scots pine bark and knot extractives. Master's thesis for the degree of Master of Science in Technology. Aalto University School of Chemical Technology. 56 p.

Benzie I.F.F., Strain J.J., 1999. Ferric reducing antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods in Enzymology, 299: 15-27.

Bindurani R., Kumar K., 2013. Evaluation of Antioxidant Activity of Hydro Distilled Extracts of Leaf, Heart Wood and Flower of *Azadirachta indica*. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 20(2), May-June, n° 41: 222-224.

Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C., 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 28: 25-30.

Branen, A.L., 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. Journal of the American Oil Chemists Society, 52: 59-63.

Cao G.H., Alessio H.M., Cutler R.G., 1993. Oxygen-Radical Absorbance Capacity Assay for antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 14: 303-311.

Cardon D., Jansen P.C.M., 2005. *Baphia nitida* Lodd. In: Jansen, P.C.M. & Cardon, D. (Editeurs). PROTA 3: Dyes and tannins/Colorants et tanins. [CD-Rom]. PROTA, Wageningen, Pays Bas. [http://database.prota.org/protahtml/baphia%20nitida\\_fr.htm](http://database.prota.org/protahtml/baphia%20nitida_fr.htm) consulté le 30/12/2014.

Carrillo-Parra A., Rosales M., Wehenkel C., Foroughbakhch R., González H., Garza F., 2012. Phenols and flavonoids concentration and fungistatic activity of wood and bark of five common tropical species. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15: 621-628.

Castillo L., Rossini C., (2010). Bignoniaceae Metabolites as Semiochemicals. *Molecules*, 15: 7090-7105.

Celimene C.C., Micales J.A., Ferge L., Young R.A., 1999. Efficacy of Pinosylvins against White-Rot and Brown-Rot Fungi. *Holzforschung*, 53: 491-497.

Centre Technique Forestier Tropical, 1976. Moabi. *Revue Bois et Forêts des Tropiques*, 169: 37-49.

Centre Technique Forestier Tropical, 1977. Tali. *Revue Bois et Forêts des Tropiques*, 176:17-31.

Centre Technique Forestier Tropical, 1980. Padouk d'Afrique. *Revue Bois et Forêts des Tropiques*, 180: 39-51.

Cerruti O. P., Ingram V., Sonwa D., 2008. Les forêts du Cameroun en 2008. 15 p. [http://www.google.fr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CCEQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.observatoire-comifac.net%2Fdocs%2Fedf2008%2FFR%2FEtat-des-forets\\_200802.pdf&ei=f4DMVLftG4PvUNfrgpAP&usg=AFQjCNFZX2uCplDC2C2nM33T8gf5drk\\_1w&bvm=bv.85076809,d.d24](http://www.google.fr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CCEQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.observatoire-comifac.net%2Fdocs%2Fedf2008%2FFR%2FEtat-des-forets_200802.pdf&ei=f4DMVLftG4PvUNfrgpAP&usg=AFQjCNFZX2uCplDC2C2nM33T8gf5drk_1w&bvm=bv.85076809,d.d24). Consulté le 31/01/2015.

Cheumani Y. A. M., 2009. Étude de la microstructure des composites bois/ciment par relaxométrie RMN du proton. Thèse de l'Université de Bordeaux 1 (France). 171 pp.

Coelho D., Marques G., Gutierrez A., Silvestre A. J. D., del Rio J. C., 2007. Chemical characterization of the lipophilic fraction of giant reed (*Arundo donax*) fibres used for pulp and paper manufacturing. *Industrial Crops and Products* 26, 229-236.

Cunningham A.B., Maduarta I.M., Howe J., Ingram W., Jansen S., 2011. Hanging by a Thread: Natural Metallic Mordant Processes in Traditional Indonesian Textiles. *Economic Botany*, 65(3): 241-259.

Das D., Maulik S.R., Bhattacharya S.C., 2008. Colouration of wool and silk with *Rheum emodi*. *Indian Journal. Fibre and Textile Research*, 33: 163-170.

Das M., Das K.D., 2010. Resveratrol and cardiovascular health. *Molecular Aspects of Medicine*, 31: 503-512.

Déon G., Chadenson M., Hauteville M., 1980. Influence des extraits naturels du bois sur sa résistance à la pourriture. *Revue Bois et Forêts des Tropiques*, 191: 75-90.

Diouf P. N., Delbarre N., Perrin D., Gérardin P., Rapin C., Jacquot J. P., Gelhaye E., 2002. Influence of tropolone on *Poria placenta* wood degradation. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(9 ): 4377-4382.

Diouf P.N., 2003. Étude comparative de méthodes de mesure de l'activité antioxydante. Applications aux extractibles de bois. Liens avec la stabilité de la couleur du bois. Thèse Doctorat, Université Henri Poincaré (France). 144 p.

Dorado J., Beek T.A., Claassen F.W., Sierra-Alvarez R., 2001. Degradation of lipophilic wood extractive constituents in *Pinus Sylvestris* by the white-rot fungi *Bjerkandea sp.* and *Trametes versicolor*. *Wood Science and Technology*, 35: 117-125.

Dweck A.C., 2002. Natural ingredients for colouring and styling. *International Journal of Cosmetic Science*, 24: 287-302.

Dykes L., Rooney L.W., 2006. Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of Cereal Science*, 44: 236-251.

Equipe du GTZ. Note technique sur le bois-énergie à au Cameroun. Note préparée par l'Equipe Technique du GTZ/ProPSFE/Antenne de la Province de l'Est-Cameroun. Tél: (+237) 22.24.12.86/22.24.11.37. B.P.: 7814 Yaoundé. 14 p

Ericksson K.E.L., Blanchette R.A., Ander P., 1990. Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components. Springer-Verlag, Berlin, Germany. 407 p.

Eslyn W. E., Bultman J. D., Jurd L., 1981. Wood decay Inhibition by tropical hardwood extractives and related compounds. *Phytopathology*, 71: 521-524.

Fengel D., Wegener G., 1984. Wood chemistry, ultrastructure, reactions;. p. 27-65.

Fouquet D., 2003. Agents de détérioration et de préservation du bois en milieu en tropical humide. *Revue Bois et Forêts des Tropiques*, 277(3):19-34.

Frick D., 2003. The coloration of food. Review of Progress in coloration and related topics, 33(1): 15-32.

Ghouila H., Meksi N., Haddar W., Mhenni M.F., Jann H.B., 2012. Extraction, identification and dyeing studies of Isosalipurposide, a natural chalcone dye from *Acacia cyanophylla* flowers on wool. *Industrial Crops and Products*, 35: 31-36.

Gierlinger N., Jacques D., Grabner M., Wimmer R., Schwanninger M., Rozenberg P., Pâques L.E., 2004. Colour of larch heartwood and relationships to extractives and brown-rot decay resistance. *Trees*, 18: 102-108.

Guesmi A., Ben Hamadi N., Ladhari N., Sakli F., 2012a. Isolation, identification and dyeing studies of betanin on modified acrylic fabrics. *Industrial Crops and Products*, 37: 342-346

Guesmi A., Hamadi N.B., Ladhari N., Sakli F., 2012b. Dyeing properties and colour fastness of wool dyed with indicaxanthin natural dye. *Industrial Crops and Products*, 37: 493-499.

Guilley E., Charpentier J. P., Ayadi N., Snakkers G., Nepveu G., Charrier B., 2004. Decay resistance against *Coriolus versicolor* in Sessile oak (*Quercus petraea* Liebl.): analysis of the between-tree variability and correlations with extractives, tree growth and other basic wood properties. *Wood Science and Technology*. 38(7): 539-554.

Guinot P., Rog, A., Gargadennec A., Garcia M., Dupont D., Lecoeur E., Candelier L., Andary C., 2006. Dyeing plants screening: an approach to combine past heritage and present development. *Coloration Technology*, 122: 93-101.

- Gulmini M., Idone A., Diana E., Gastaldi D., Vaudan D., Aceto M., 2013. Identification of dyestuffs in historical textiles: Strong and weak points of a non-invasive approach. *Dyes and Pigments*, 88: 136-145.
- Halliwell B., 1994. Free radicals, antioxidant and human disease: curiosity, cause or consequence. *The Lancet*, 344 (8924): 721-724.
- Harborne B.J., Williams A.C., 2000. Review in *Advances in flavonoids research since 1992. Phytochemistry*, 55: 481-504.
- Harivaindaran K.V., Rebecca O.P.S., Chandra S., 2008. Study of optimal temperature pH and stability of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel for use as potential natural colorant. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(18): 2259-2263.
- Holmbom B., Eckerman C., Eklund P., Hemming J., Nisula L., Reunanen M., Sjöholm R., Sundberg A., Sundberg K., Willför S., (2003). Knots in trees - A new rich source of lignans. *Phytochemistry Reviews* 2: 331-340.
- Huang D., Ou B., Prior R.I., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 53: 1841-1856.
- Huang Z., Hashadi K., Makino R., Kawamura F., Kuniyoshi S., Ryuichiro K., Ohara S., 2009. Evaluation of biological activities of extracts from 22 African tropical wood species. *Journal of Wood Science*, 55: 225-229.
- Jansen, P.C.M., 2005. *Pterocarpus soyauxii* Taub. In: Louppe, D., Oteng-Amoako, A.A. & Brink, M. (Editeurs). *Prota 7(1): Timbers/Bois d'œuvre 1*. PROTA, Wageningen, Pays Bas. [http://database.prota.org/PROTAhtml/Pterocarpus%20soyauxii\\_Fr.htm](http://database.prota.org/PROTAhtml/Pterocarpus%20soyauxii_Fr.htm) consulté le 31/12/2014.
- Kalamouni E.C., 2010. Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de Doctorat soutenue à l'Université de Toulouse (France), pp 54-55
- Kamel M.M., El-Shishtawy R.M., Yussef B.M., Mashaly H., 2005. Ultrasonic assisted dyeing III. Dyeing of wool with lac as a natural dye. *Dyes Pigments*, 65: 103-110.

- Kareem K.T., Oluwatoyin A.S., Olabisi A.A., Rashidat E.A., Oluwatoyin A.T., 2012. Antibacterial effect of *Distemonanthus benthamianus* extract against some oral pathogens. *International Journal of Applied Science And Technology*, 2(2): 114-119.
- Kebbi-Benkeder Z., Colin F., Dumarçay S., Gérardin P., 2015. Quantification and characterization of knotwood extractives of 12 European softwood and hardwood species. *Annals of Forest Science*, 72: 277-284.
- Kilic A., Niemz P., 2012. Extractives in some tropical woods. *European Journal Wood and Wood Products*, 70(1-3): 79-83.
- Kinjo J., Uemura H., Nohara T., 1995. Novel Yellow Pigment from *Pterocarpus santalinus* : Biogenetic Hypothesis for Santalin Analogs. *Tetrahedron Letters*, 36 (31), 5599-5602.
- Kirker G.T., Blodgett A.B., Arango R.A., Lebow P.K., Clausen C.A., 2013. The role of extractives in naturally durable wood species. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 82: 53-58.
- Kohen R., Beit-Yannai E., Berry E.M., Tirosh O., 1999. Overall low molecular weight antioxidant activity of biological fluids and tissue by cyclic voltammetry. *Methods in Enzymology*, 300: 285-296.
- Kokutse A.D., Stokes A., Bailleres H., Kokou K., Baudasse C., 2006. Decay resistance of Togolese teak (*Tectona grandis* L.) heartwood and relationship with colour. *Trees*, 20: 219-223.
- Krutul D., 1992. The effect of extractives substances soluble in the alcohol-benzene mixture and in alkalies on some hygroscopic properties of birch wood. *Forestry and Wood Technology*, 43: 93-99.
- Lee S.K., Lee H.J., Min H.Y., Park E.J., Lee K.M., Ahn Y.H., Cho Y.J., Pyee J.H., 2005. Antibacterial and antifungal activity of pinosylvin, a constituent of pine. *Fitoterapia*, 76(2): 258-260.
- Linderschmidt R., Trylka A., Goad M., Witschi H., 1986. The effects of dietary butylated hydroxytoluene on liver and colon tumor development in mice. *Toxicology*, 38: 151-160.
- Loupe D., 2005. *Baillonella toxisperma* Pierre. In: Loupe, D., Oteng-Amoako, A.A., and Brink M., (Editeurs). *Prota 7(1): Timbers/Bois d'œuvre 1*. PROTA, Wageningen, Pays Bas.

[http://database.prota.org/PROTAhtml/Baillonella%20toxisperma\\_Fr.htm](http://database.prota.org/PROTAhtml/Baillonella%20toxisperma_Fr.htm) consulté le 31/12/2014.

Malan E., Naidoo S., 1980. Two flavonols from *Distemonanthus benthamianus*. *Phytochemistry*, 19: 2731-2733.

Malan E., Naidoo S., 1990. A hexa-substituted flavonol from *Distemonanthus benthamianus*. *Phytochemistry*, 29(7): 2366.

Malan E., Swinny E., Ferreira D., 1994. A 3-oxygenated flavonolignoid from *Distemonanthus benthamianus*. *Phytochemistry*, 37(6): 1771-1772.

Malan E., 1993. A flavonol with a tetrasubstituted B-ring from *Distemonanthus benthamianus*. *Phytochemistry*, 32(6): 1631-1632.

Manhita A., Ferreira V., Vargas H., Ribeiro I., Candeias A., Teixeira D., Ferreira, T., Dias C.B., 2011. Enlightening the influence of mordant, dyeing technique and photodegradation on the colour hue of textiles dyed with madder - A chromatographic and spectrometric approach. *Microchemical Journal*, 98: 82-90.

Mansour H.F., Heffernan S., 2011. Environmental aspects on dyeing silk fabric with sticta coronate lichen using ultrasonic energy and mild mordants. *Clean Technologies Environmental Policy*, 13: 207-213.

Maranhão C.A., Pinheiro I.O., Santana L.B.D.A., Oliveira L.S., Nascimento M.S., Bieber L.W., 2013. Antitermitic and antioxidant activities of heartwood extracts and main flavonoids of *Hymenaea stigonocarpa* Mart. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 79: 9-13.

Martínez-Sotres C., López-Albarrán P., Cruz-de-León J., García-Moreno T., Rutiaga-Quiñones G. J., Vázquez-Marrufo G., Tamariz-Mascarúa J., Herrera-Bucio R., (2012). Medicarpin, an antifungal compound identified in hexane extract of *Dalbergia congestiflora* Pittier heartwood. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 69: 38-40.

Mbah J.A., Ndikum G., Zofou D., Ngemenya M.N., Efang S.M.N., 2011. Antiplasmodial triterpenes from the stem bark of *Baillonella toxisperma*. *ISESCO Journal of Science and Technology*, 7(12): 84-87.



- Mbang T., (2004). Rôle des extractibles dans la durabilité naturelle de quatre essences camerounaises et potentialités d'utilisation en tant que matières actives de protection du bois. Rapport de stage au Cirad-Forêt de Montpellier (France), 30 pp.
- Martone T.P., Estevez, M.J., Lu F., Ruel K., Denny W. M., Somerville C., Ralph J., 2009. Discovery of Lignin in Seaweed Reveals Convergent Evolution of Cell-Wall Architecture. *Current Biology*, 19: 169-175.
- Mellouk A., 2007. Extraction des composés volatils à partir du bois par détente instantanée contrôlée (DIC) : valorisation industrielle des extraits et des résidus solides. Thèse de l'Université de la Rochelle, spécialité : Génie des Procédés, 152 pp.
- Miller N.J., Rice-Evans C., Davies M.J., Gopinathan V., Milner A., 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, 84: 407-412.
- Mirjalili M., Nazarpour K., Karimi L., 2011. Eco-friendly dyeing of wool using natural dye from weld as co-partner with synthetic dye. *Journal of Cleaner Production*, 19: 1045-1051.
- Mohareb A., Sirmah P., Desharnais L., Dumarçay S., Pétrissans M., Gérardin P., 2010. Effect of extractives on conferred and natural durability of *Cupressus lusitanica* heartwood. *Annals of Forest. Science*. 67: 504, 7 pp.
- Moiz A., Ahmed M.A., Kausar N., Ahmed K., Sohail, M., 2010. Study the effect of metal ion on wool fabric dyeing with tea as natural dye. *Journal of Saudi Chemical Society*, 14: 69-76.
- Mori M., Aoyama M., Doi S., Kanetoshi A., Hayashi T., 1997. Antifungal activity of bark extract of deciduous trees. *Holz als Roh und Werkstoff*. 55: 130-132.
- 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. Thèse de l'Université Henri Poincaré, Nancy-I (France). 229 pp.
- Mounanga Koumbi T., 2008. Tensioactifs antioxydants originaux pour la formulation de produits de préservation du bois. Thèse de l'Université Henri Poincaré, Nancy-I, 223 pp.
- Moure A., Cruz J.M., Franco D., Dominguez J.M., and Sineiro J., 2001. Natural antioxydants from residual sources. *Food Chemistry*, 72: 145-171.

Nascimento M.S., Santana A.L.B.D., Maranhão C.A., Oliveira L.S., Bieber L., 2013. Phenolic Extractives and Natural Resistance of Wood. *Biodegradation - Life of Science*.349-370. <http://dx.doi.org/10.5772/56358>. Consulté le 31/12/2014.

Newman D.J., Cragg G. M., 2007. Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. *Journal of Natural Products*. 70: 461-477.

Neya B., Hakkou M., Pétrissans M., Gérardin P., 2004. On the durability of *Burkea africana* heartwood: evidence of biocidal and hydrophobic properties responsible for durability. *Annals of Forest Science*, 61: 277-282.

Ngueguim J.R., Dondjang J.P., Onana J., Tata Ijang P., Zapfack L., Noiha Noumi V., Kengne O.C., Momo Solefack C., 2011. Moabi (*Baillonella toxisperma* Pierre) : arbre à usage multiple de forêt dense humide du Cameroun. *International Journal of Biological Chemical Sciences*, 5(6): 2395-2406.

Ngueguim, J.R., Zapfack, L., Makombu, J.G., Foahom, B., 2009. Le Moabi (*B. toxisperma*) un arbre multi-ressources des forêts denses humide du Cameroun. *Le Flamboyant*, 65: 2-5.

Nguelefack M.P.E., Ngu B.K., Atchade A., Dimo T., Tsabang N., Mbafor T.J., 2005. Phytochemical composition and in vitro effects of the ethyl acetate bark extract of *Distemonanthus benthamianus* Baillon (*Caesalpinaceae*) on *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. *Cameroon Journal of Experimental Biology*, 1(1): 50-53.

Nguila I.G., Petrisans M., Lambert J., Ehrhardt J.J., Gérardin P., 2006. XPS characterization of wood chemical composition after heat-treatment. *Surface and Interface Analysis*, 38(10): 1336-1342.

Niamké F.B., Amusant N., Stien D., Chaix G., Lozano Y., Kadio A.A., Lemenager N., Goh D., Adima A.A., Kati-coulibaly S., Jay-allemant C., 2012. 4'-5'-Dihydroxy-epiisocalponol, a new naphthoquinone from *Tectona grandis* L.f. heartwood and fungicidal activity. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 74: 93-98.

Nzokou P., Wehner K., Kamdem D. P., 2005. Natural durability of eight tropical hardwoods from Cameroon. *Journal of Tropical Forest Science*. 17(3): 416-427.

Ohigashi H., Kaji M., Sakaki M., Koshimizu K., 1989. 3-hydroxyuridine an allelopathic factor of an African tree, *Baillonella toxisperma*. *Phytochemistry*, 28(5): 1365-1368.

Oliveira L.S., Santana A.L.B.D., Maranhão C.A., Miranda R.C.M., Galvão de Lima V.L.A., Silva da S.I., Nascimento M.S., Bieber L., 2010. Natural resistance of five woods to *Phanerochaete chrysosporium* degradation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64: 711-715.

Onuorah O.E., 2000. The wood preservative potentials of heartwood extracts of *Milicia excelsa* and *Erythrophleum suaveolens*. *Bioresource Technology*, 75: 171–173.

Pandey K.K., Pitman A.J., 2004. Examination of lignin content in softwood and a hardwood decayed by brown-rot fungi with acetyl bromide method and Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of Polymer Science*, 42: 2340-2346.

Pérez-Bonilla M., Salido S., Van deek T.A., Linares-Palomino P.J., Altarejos J., Nogueras M., Sanchez A., 2006. Isolation and identification of radical scavengers in olive tree (*Olea Europaea*) wood. *Journal of chromatography A*, 1112(1-2): 311-318.

Pietta P.G., 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63: 1035-1042.

Pometti L. C., Palanti S., Pizzo B., Charpentier J.-P., Boizot N., Resio C., Saidman O.B., 2010. Durability of five native Argentine wood species of the genera *Prosopis* and *Acacia* decayed by rot fungi and its relationship with extractive content. *Biodegradation*, 21:753-760.

Popov I.N., Lewin G., 1994. Photochemiluminescent detection of antiradical activity: II. Testing of nonenzymic water-soluble antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*. 17(3): 267-271.

Prabhu K.H., Teli M.D., 2011. Eco-dyeing using *Tamarindus indica* L. seed coat tannin as a natural mordant for textiles with antibacterial activity. *Journal of Saudi Chemical Society*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jscs.2011.10.014>. consulté le 31/12/2014.

Qa'dan F., Nahrstedt A., Schmidt M., Mansoor K., 2010. Polyphenols from *Ginkgo biloba*. *Scientia Pharmaceutica*, 78: 897-907

Qiang X., Liang-Yi S., 2012. Resveratrol role in cardiovascular and metabolic health and potential mechanisms of action. *Nutrition Research*, 32: 648-658.

Roggenstein W., 2011. Viscose fibres with new functional qualities. *Lenzinger Berichte* 89, 72-77.

Samanta A.K., Agarwal P., 2009. Application of natural dyes on textiles. *Indian Journal of Fibre and Textile Research*, 34: 384-399.

Santana A.L.B.D., Maranhão C.A., Santos J.C., Cunha F.M., Conceição G.M., Bieber L.W., Nascimento M.S., 2010. Antitermitic activity of extractives from three Brazilian hardwoods against *Nasutitermes corniger*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64: 7-12.

Savvidis G., Zarkogianni M., Karanikas E., Lazaridis N., Nikolaidis N., Tsatsaroni E., 2013. Digital and conventional printing and dyeing with the natural dye annatto: optimisation and standardisation processes to meet future demands. *Coloration Technology*, 129(1): 55-63.

Schultz T.P., Harms W.B., Fisher T.H., Mcmurtrey K.D., Minn J., Nicholas D.D., 1995. Durability of angiosperm heartwood: The importance of extractives. *Holzforschung*, 49(1): 29-34.

Schultz T.P., Nicholas D.D., 2000. Naturally durable heartwood: evidence for a proposed dual defensive function of the extractives. *Phytochemistry*, 54: 47-52.

Seppänen S. K., Syrjälä L., von Weissenberg K., Teeri T H., Paajanen L., Pappinen A., 2004. Antifungal activity of stilbenes in in vitro bioassays and in transgenic populus expressing a gene encoding pinosylvin synthase. *Plant Cell Reports*, 22: 584-593.

SGS Cameroun, S.A. 1997. Log Exports, Cameroon, January to September 1996-97. ATIBT Newsletter N° 4/97. Paris.

Shahid M., Shahid-ul-Islam, Mohammad F., 2013. Recent advancements in natural dye applications: a review. *Journal of Cleaner Production*, 53: 310-331.

Shaukat A., 2007. Evaluation of cotton dyeing with aqueous extracts of natural dyes from indigenous plants. Thèse de l'Université d'Agriculture de Faisalabad (Pakistan). 199 pp.

Shaukat A., Tanveer H., Rakhshanda N., 2009. Optimization of alkaline extraction of natural dye from Henna leaves and its dyeing on cotton by exhaust method. *Journal of Cleaner Production*, 17: 61-66.

Silva C.A., Monteiro M.B.B., Brazolin S., Lopez G.A.C., Richter A., Braga M.R. 2007. Biodeterioration of brazilwood *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae-Caesalpinioideae) by rot fungi and termites. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 60: 285-292.

Sirmah, P., Dumarçay S., Gérardin P., 2009. Effect of Unusual amount of (-)-mesquitol of from the heartwood of *Prosopis juliflora*. *Natural Product Research*, 23: 183-189.

Sirmah K. P., 2009. Towards valorisation of *Prosopis juliflora* as an alternative to the declining wood resource in Kenya. Thèse de l'Université Henri Poincaré, Nancy-1 (France). 116 pp.

Sirmah P., Iaych K., Poaty B., Dumarçay S., Gerardin P., 2009. Effect of extractives on durability of *Prosopis juliflora* heartwood. International Research Group on Wood Protection, Doc. n°: IRG/WP 09-30518, 18 pp.

Sivakumar V., Vijaeeswarri J., Lakshmi A.J., 2011. Effective natural dye extraction from different plant materials using ultrasound. *Industrial Crops and Products*, 33: 116-122.

Sjostrom Eero, 1993. *Wood Chemistry-Fundamentals and Applications*. 2. Ed., pp 51-108. San Diego, USA, Academic Press.

Smeds A. I., Ceskova I., Eklund P. C., Wilför S. M., 2012. Identification of new lignans in Norway spruce knotwood extracts. *Holzforschung*, 66 : 553-567.

Stevanovic T., 2011. Potentiel de développement lié aux extractibles forestiers du Quebec. Année internationale des forêts-forêts 2011. Université de Laval (Quebec). 53 p.

Stevanovic T., Perrin D., 2009. *Chimie du bois*. Presses polytechniques et universitaires romandes, Nancy. 241 p.

Stevanovic T., Diouf P.N., Garcia-Perez M.E., 2009. Bioactive polyphenols from healthy diets and forest biomass. *Current Nutrition and Food Science*. 5(4): 264-295.

Su Z., Wang P., Yuan W., Li S., 2013. Flavonoids and 3-arylcoumarin from *Pterocarpus soyauxii*. *Planta Med.*, 79: 487-491.

Su Z., Wang P., Yuan W., Li S., 2014. Chemical Constituents from *Pterocarpus soyauxii*. *Natural Products Communications.*, 9: 1-4.

Taga M.S., Miller E.E., Pratt D.E., 1984. Chia seeds as a natural lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 61: 928-931.

Tang R.-C., Tang H., Yang C., 2010. Adsorption isotherms and mordant dyeing properties of tea polyphenols on wool, silk, and nylon. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 49(19): 8894–890.

Taylor A.M., Gartner B.L., Morrell J.J., 2006. Effects of Heartwood Extractive fractions of *Thuja plicata* and *Chamaecyparis nootkatensis* wood degradation by termites or fungi. *Journal of Wood Science*, 52: 147-153.

Tchamadeu M.C., Dzeufiet P.D.D., Nana P., Kouambou N.C.C., Nguenguim T.F., Allard B.J., Siagat N., Zapfack R.L., Girolami J.P., Tack I., Kamtchouing P., Dimo T., 2011. Acute and sub-chronic oral toxicity studies of an aqueous stem bark extract of *Pterocarpus soyauxii* Taub (Papilionaceae) in rodents, *J. Ethnopharmacol*, 133: 329-35.

Thévenon M.F., Roussel C., Haluk J.P., 2001. Possible durability transfer from durable to non durable wood species. The case study of teak wood. The International Research Group on Wood Preservation, 32<sup>nd</sup> Annual Meeting, Doc n° IRG/WP 01-10392. 6 p.

Tirzitis G., Bartosz G., 2010. Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights. *Acta Biochimica Polonica*, 57(1): 139-142. Online at [www.actabp.pl](http://www.actabp.pl).

Tiwari H.C., Singh P., Mishra P.K., Srivastava P., 2010. Evaluation of various techniques for extraction of natural colorant from pomegranate ring - Ultrasound and enzyme-assisted extraction. *Indian Journal of Fibre and Textile Research*, 35(9): 272-276.

Triboulot M.C., 2007. Anatomie du bois. École Nationale Supérieure des Technologies et Industries du Bois (ENSTIB), Epinal (France), 09 pp.

Uddin G., Rauf A., Siddiqui S.B., Shah Q.S., 2011. Preliminary Comparative Phytochemical Screening of *Diospyros lotus* Stewart. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 10(1): 78-81.

Vankar P.S., Shanker R., 2009. Eco-friendly pretreatment of silk fabric for dyeing with *Delonix regia* extract. *Coloration Technology*, 125: 155-160.

Venalainen M., Anni M., Saranpa H.P., Kainulainen P., Tiitta M., Velling P., 2004. The concentration of phenolics in brown-rot decay resistant and susceptible Scots pine heartwood. *Wood Sciences and Technology*, 38: 109-118.

Wageningen, 2008. Plantes médicinales 1, fondation Prota, ressources végétales de l'Afrique tropicale 11(1). Backhuys publishers/CTA, Pays-Bas, pages 276-281.

Wayner D.D.M., Burton G.W., Ingold K.U., Locke S., 1985. Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capacity of human blood plasma by controlled peroxidation. FEBS Letters, 187(1): 33-37.

Windeisen E., Wegener G., 2002. Investigation of the correlation between extractives content and natural durability in 20 cultivated larch trees. Holz als Roh- und Werkstoff, 60: 373-374.

Winston G.W., Regoli F., Dugas A.J., Fong J.H., Blanchard K.A., 1998. A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. Free Radical Biology Medicine, 24(3): 480-493.

Yi E., Cho J.Y., 2008. Color analysis of natural colorant-dyed fabrics. Color Research and Application. 33: 148-157.

Zarkogianni M., Mikropoulou E., Varella E., Tsatsaroni E., 2011. Colour and fastness of natural dyes: revival of traditional dyeing techniques. Coloration Technology. 127(1): 18-27.

Zhuqi C., Guochuan Y., 2015. The reactivity of the active metal oxo and hydroxo intermediates and their implications in oxidations. Chemical Society Review, 44: 1083-1100.

Zushang Su, Ping Wang, Wei Yuan, Shiyu Li, 2013. Flavonoids and 3-Arylcoumarin from *Pterocarpus soyauxii*. Planta Med., 79: 487-491.

## RESUME

Au cours de ce travail, le taux d'extractibles de cinq essences camerounaises a été évalué par la technique d'extraction accélérée ASE 200 et au Soxhlet. Le taux d'extractibles varie de 4,4 à 17,7%. Le screening des extractibles a révélé la présence de polyphénols, de saponines, de flavonoïdes, de stérols et de terpènes. Les phénols totaux contenus dans les extractibles ont été évalués par la méthode de Folin–Ciocalteu en utilisant l'acide gallique comme standard. La teneur varie de 16,5 à 165,83 mg éq acide gallique / g d'extractible. Le dosage des tannins condensés par la méthode colorimétrique a permis de montrer que ces derniers varient de 0,15 à 23,61 g cyanidin équivalents / 100 g de matière sèche. L'identification des composés contenus dans les extractibles par GC-MS a permis d'identifier de l'homoptero-carpine et de la pterocarpine dans les extractibles de padouk. Les extractibles de tali contiennent de la catéchine, l'acide gallique et du pyrogallol. L'acide gallique, le squalène et les triterpènes sont les composés majoritairement identifiés dans les extractibles de movingui. La durabilité naturelle des bois a été évaluée par la norme européenne EN 350-1, 1994. Il ressort que les pertes de masse deviennent plus importantes lorsque les éprouvettes de bois ont été extraites. La perte de masse des éprouvettes non extraites varie de 0,1 à 59% (le hêtre a été pris comme référence). Les essais d'inhibition de croissances sur les champignons de pourriture ont montré qu'à des concentrations de 250 ppm, les extractibles étaient fongistatiques et qu'à des concentrations de 500 ppm certains extractible étaient fongicides (extractible de tali).

L'évaluation des propriétés antioxydante et colorante des extraits pour envisager de potentielles applications industrielles a été effectuée. Le pouvoir antioxydant des extractibles a été évalué par la méthode d'inhibition du linoléate de méthyle induite par l'azobisisobutyronitrile (AIBN). Les résultats obtenus sont satisfaisants car l'activité antioxydante varie de 10 à 86%. Le pouvoir anti-radicalaire des extractibles a été évalué en utilisant le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Les concentrations nécessaires pour consommer 50% du radical varie de 2,7 à 60,5 mg/L. La capacité des extraits aqueux et alcalins à teindre les fibres naturelles et artificielles a été évaluée. La mesure de la coloration prise par les fibres s'est faite à l'aide d'un colorimètre Datacolor D65°10. Les résultats montrent que ces extraits donnent une coloration jaune avec les extraits de movingui et une coloration rouge avec les extraits de padouk. L'utilisation des extractibles pour inhiber la croissance bactérienne a montré que les extractibles étaient bactériostatiques pour les concentrations testées.

Mots clés : essences camerounais, extractibles, valorisation, antioxydant, fibres cellulosiques, teinture.



## ABSTRACT

In this work, the accelerated technical ASE 200 and Soxhlet was used to evaluate the amount of extractives contained in five Cameroonian wood species. The amount of extractives ranged from 4.4 to 17.7% with respect to oven-dry matter. Phytochemical screening of the extractives revealed the presence of polyphenols, saponins, flavonoids, sterols and terpenes. The total phenolic content of the extracts was measured by the Folin-Ciocalteu method using gallic acid as standard. The phenolic content ranged from 16.5 to 165.83 mg eq gallic acid/g of extract. The condensed tannins, evaluated by colorimetric method, ranged from 0.15 to 23.61 g cyanidin equivalents/100 g of dry matter. GC-MS identified the homopterocarpine and pterocarpin as major compound in extracts of padouk. Catechin, gallic acid and pyrogallol were the major compounds found in the extracts of tali. Extracts of movingui consisted mainly of diterpenes and several compounds not readily identifiable. Gallic acid, squalene and triterpenes were the predominant compounds identified in the extracts of movingui. The natural durability of wood was evaluated using the European Standard EN 350-1. Mass losses increased when the wood samples were extracted. Mass losses of non-extracted samples ranged from 0.1 to 59% (with beech taken as a reference). The effect of extractives on fungal growth showed that at 250 ppm concentrations, the extracts were fungistatic and that at 500 ppm concentrations, the extracts of tali were fungicidal.

Valorization of the extractives in the food and the textile industries was attempted. In food, the antioxidant activity of the extracts by inhibition of methyl linoleate induced by AIBN was evaluated. The results obtained were satisfactory because all the extracts showed antioxidant activity which varied from 10 to 86%. Then the anti-radical capacity of our extracts was assessed by the DPPH method. The concentration necessary to consume 50% of DPPH varied from 2.7 to 60.5 mg/L. Aqueous and alkaline extracts were used to dye natural and artificial fibers. The coloration taken by the fibers was measured using a Datacolor D65°10 apparatus. These extracts gave a yellow color with extracts of movingui and a red color with extracts of padouk. The effect of extractives on bacteria growth showed that the extracts were bacteriostatic at the tests concentrations.

Keywords: Cameroonian wood species, extractives, valorization, antioxidant, cellulose fiber, dye.