

# SOMMAIRES

## INTRODUCTION

### *Première partie : ETUDES BIBLIOGRAPHIQUES.*

**Chapitre I :** Généralité sur la biomasse.

**Chapitre II :** Technique de transformation de la biomasse.

**Chapitre III :** Utilisation des produits de pyrolyse.

### *Deuxième partie : ETUDES EXPERIMENTALES DE LA PYROLYSE.*

**Chapitre I :** Appareillage.

**Chapitre II :** Essais à la pyrolyse.

**Chapitre III :** Etudes chimiques des produits de pyrolyse.

**Chapitre IV :** Extension de l'étude chimique de la pyrolyse de l'osséine.

### *Troisième partie : EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES PRODUITS ISSUS DE PYROLYSE.*

**Chapitre I :** Test antimicrobien.

## CONCLUSION.

## LISTE DES SYMBOLES.

Symboles	Significations
<b>Kg</b>	kilogramme
<b>g</b>	gramme
<b>cm</b>	Centimètre,
<b>kcal</b>	kilocalorie
<b>cal</b>	calorie
<b>MJ</b>	Mégajoule
<b>°C</b>	Dégré Celsius
<b>hPa</b>	hectopascal
<b>s</b>	secondes
<b>N</b>	Normale
<b>ml</b>	Millilitre
<b>l</b>	litre
<b>Ka</b>	Constante d'acidité
<b>ufc</b>	Unité formant de colonie

## LISTE DES ABREVIATIONS

Abréviations	Significations
<b>OH</b>	Fonction hydroxyle
<b>T<sub>eb</sub></b>	Température d'ébullition
<b>T<sub>fus</sub></b>	Température de fusion
<b>P<sub>vap</sub></b>	Pression de vapeur
<b>T<sub>inf</sub></b>	Température d'inflammation
<b>DL</b>	Dose Létale
<b>ms</b>	Quantité en matière minérale de produit de pyrolyse
<b>mg</b>	Produits gazeux obtenus lors de la pyrolyse
<b>m</b>	masse
<b>M</b>	Masse molaire
°C	Degré Celsius
<b>V</b>	Volume
<b>C</b>	Concentration
<b>T</b>	Température
<b>K</b>	Constante de vitesse
<b>A</b>	Fréquence ou Facteur pré exponentiel
<b>e</b>	Epaisseur
<b>E</b>	Energie d'activation
<b>I<sub>r</sub></b>	Indice de rétention
<b>[Cat]</b>	Catalyseur
<b>ΔH</b>	Enthalpie
<b>k<sub>i</sub></b>	Constante d'acidité
<b>Eq.g</b>	Equivalent gramme
<b>T.vulg</b>	Thymus vulgaris
<b>O.grat</b>	Ocimum grattissimum
<b>H.E</b>	Huile essentielle
<b>NAG</b>	N-acétylglucosamine
<b>NAM</b>	Acide N-acétylmuramique

<b>DMSO</b>	Diméthyl sulfoxyde
<b>MHB</b>	Muller Hinton gélosé
<b>SAB</b>	Bouillon de Sabouraud
<b>MHA</b>	Muller Hinton gélosé
<b>SA</b>	Sabouraud gélosé
<b>CPG</b>	Chromatographie en phase gazeux
<b>Chl</b>	Chloramphénicol
<b>Nyst</b>	Nystatine

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Composition élémentaire du bois sec.....	6
Tableau 2 : Pourcentage des différentes compositions chimiques de l'os .....	11
Tableau 3 : Pourcentage des matières minéral de l'os .....	11
Tableau 4 : Pourcentage des acides aminés provenant de l'hydrolyse de la gélatine d'os animal .....	12
Tableau 5 : Valeur limite des énergies d'activation E pour chacun des constituants du bois .....	23
Tableau 6 : Bilan moyen de la fraction condensable.....	25
Tableau 7 : Produits majoritaires d'huile de pyrolyse.....	26
Tableau 8 : Caractéristiques physico-chimiques de la créosote .....	27
Tableau 9 : Caractéristiques physico-chimiques de quelques composés phénoliques .....	28
Tableau 10 : Caractéristiques physico-chimiques des constituants du « <b>ranomena</b> » .....	36
Tableau 11 : Résultat d'essais de pyrolyse du bois .....	48
Tableau 12 : Résultat d'essais de pyrolyse des os.....	53
Tableau 13 : Propriété physico-chimique de la créosote.....	59
Tableau 14 : Caractéristique physico-chimique du « <b>ranomena</b> ».....	60
Tableau 15: Diamètre d'inhibition (mm) du « <b>ranomena</b> » et son résidu sur les germes testé .....	79
Tableau 16 : Références des sensibilités selon Leclerc et Al.1983.....	80
Tableau 17 : Diamètre d'inhibition de ptomaïne extrait du ranomena et de son résidu.....	83
Tableau 18 : Pourcentages des constituants majoritaires pour le d' <i>O.gratissimum</i> .....	87
Tableau 19 : Pourcentage des constituants majoritaires pour le <i>T. vulgaris</i> .....	87
Tableau 20 : Diamètre d'inhibition de la créosote. (En mm).....	89

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Coupe transversale d'un tronc de chêne .....	5
Figure 2 : Structure de la cellulose.....	7
Figure 3 : Structure de l'hémicellulose .....	8
Figure 4 : Motifs élémentaires de la lignine.....	8
Figure 5 : Structure de la lignine .....	9
Figure 6 : Coupe longitudinale d'un os long.....	10
Figure 7 : Tranche d'un os plat .....	10
Figure 8 : courbe évolution des produits de pyrolyse du bois en fonction de T °C.....	18
Figure 9 : Courbe générale pour la détermination des paramètres cinétiques .....	21
Figure 10 Bilan moyen d'une pyrolyse lente de bois par tonne de bois sec .....	25
Figure 11 : Schéma d'un appareil de production artisanale de « <b>ranomena</b> ».....	32
Figure 12 : Schéma récapitulatif d'utilisation des produits de pyrolyse .....	40
Figure 13 : Dimension de l'installation.....	45
Figure 14 : Courbe indiquant la masse du produit de pyrolyse de bois en fonction de la température de conversion .....	50
Figure 16 : Courbe représentatif de la masse du pyroligneux d'os en fonction de la température de conversion .....	54
Figure 17 : Procédé d'isolement de la créosote.....	58
Figure 18 : Processus d'isolement de ptomaïne .....	65
Figure 19 : Isolement de ptomaïne du ranomena .....	66

## LISTE DES PHOTO

Figure 14 : schéma de l'appareil .....	46
Figure 15 : Séparation des produits : la phase huileuse et « <b>ranomena</b> » à l'aide d'une ampoule à décanter.....	52
Figure 20 : Résultats d'inhibition microbienne pour le « <b>ranomena</b> ».....	80
Figure 21 : Résultats d'inhibition microbienne pour la ptomaïne .....	84
Figure 22 : Résultat d'inhibition microbienne pour la créosote.....	89

# LISTE DES ANNEXES

**Annexe I : Protocole des analyses physico-chimiques de la créosote..... A**

- 1- Densité relative de la créosote selon la norme NF ISO 6883.....A
- 2- Détermination d'indice de réfraction selon la norme NF ISO 6320 .....A
- 3- Détermination du pouvoir rotatoire.....A

**Annexe II : Protocole d'analyse physico-chimique des composants du ranomena.... B**

**A. Analyse qualitative ..... B**

- 1- Dosage volumétrique du ranomena..... B
  - a- Matériels et réactifs utilisés..... B
  - b- Modes opératoire..... B
- 2- Calcul de la quantité de l'élément basique..... C
- 3- Détermination du pH de l'hydrogénocarbonate d'ammonium (NH<sub>4</sub>)HCO<sub>3</sub>..... C

**B. Analyse quantitative ..... C**

- 1- Densité du ranomena selon la norme NF ISO 6883..... C
- 2- Indice de réfraction selon la norme NF ISO 6320. .... D

**C. pKa des dérivés ammoniacaux composant du ranomena. .... D**

**Annexe III : Structure des principaux acides aminés ..... E**

**Annexe VI : Principe de coloration au gram. .... G**

**Annexe IV : Protocole de préparation du milieu et de l'inoculum..... H**

- 1- Préparation du milieu. .... H
- 2- Préparation de l'inoculum. .... H

**Annexe V : Composition chimique d'huile essentielle de :..... J**

**A. *Thymus vulgaris*. .... J**

**B. *Ocimum grattissimum* ..... K**

# GLOSSAIRE

**Hygroscopie** : Etude et mesure de degré d'humidité.

**Propriété hygroscopique** : C'est la Tendance à absorber l'humidité de l'air, par absorption ou par adsorption.

**Empyreumatique** : famille des odeurs brûlées.

**L'analyse thermogravimétrique** ou *TG* est un type de caractérisation destinée à déterminer les changements de la masse d'un échantillon en fonction de la température. Cette analyse repose sur un haut degré de précision pour trois types de mesures : la masse, la température et la variation de température.

**Hydrogèneolyse** : rupture, en présence d'un catalyseur, d'une liaison chimique par l'hydrogène

**Bubon** : abcès, Inflammation du ganglion.

**Dose létale (DL)** : est une indication de la létalité d'une substance ou d'un type donnée de radiation ou la radiorésistance. Puisque la résistance est variable d'un individu à l'autre, la dose létale représente la dose à laquelle un pourcentage donné d'une population donnée décède. Cette dose est habituellement exprimée en unités de masse de substance par masse corporelle, c'est-à-dire en g/kg.

**Energie d'activation** : C'est la quantité d'énergie nécessaire pour initier un processus chimique.

**Le N-acétyl-glucosamine** ou *NAG* est un ose modifié qui partage le même squelette que le glucose.

**Peptidoglycane** : Forme la paroi bactérienne des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, assurant la forme des cellules ainsi qu'une protection mécanique et physique

## **INTRODUCTION GENERALE**

---

L'abondance de biomasse végétale et animale pourrait être profitable. Elle paraît comme une source d'énergie, de produit chimique et pharmaceutique

La biomasse constitue la plus abondante et la plus polyvalente des sources primaires d'énergie renouvelable, assure actuellement environ 12% des besoins en énergie primaire de la planète.

Dans un contexte de développement durable, la maîtrise de la filière biomasse est une voie prometteuse. Elle présente de plus une grande souplesse par rapport aux autres sources d'énergie renouvelable et d'autres produits chimiques de synthèse, souvent tributaire des conditions géologiques ou météorologiques du milieu. La ressource en biomasse est très diversifiée : elle peut provenir de cultures énergétiques, des sous-produits de l'industrie du bois, de papeterie, ou d'abattage d'animaux. La biomasse (bois), utilisé depuis des siècles comme énergie de chauffage et de cuisson, revient en force avec les possibilités offertes par les technologies de production des produits chimiques et d'énergie, comme la pyrolyse.

Ainsi, la valorisation des produits connexes du bois, qui sont des déchets ligno-cellulosique et des déchets d'origine animales (comme les os) se situe à la frontière entre la chimie, l'énergie et la médecine.

A Madagascar, il existe un produit, bien connu, qui figure dans la pharmacopée Malgache, obtenue par distillation sèche de l'os animal, et que tout le monde l'appelait : « **ranomena** » qui est couramment utilisé en médecine traditionnelle humaine et vétérinaire.

Du point de vue chimique, l'osséine, un constituant organique de l'os, ainsi que la lignine, une molécule polyphénolique constituant du bois, par dégradation thermique, sont des principales sources des produits chimiques valorisables, utilisés en thérapeutique.

La présente étude a pour objectif, de valoriser la lignine et l'osséine par voie thermique dans le but d'atteindre des fins thérapeutiques.

Le présent mémoire comporte 3 parties :

- La première partie est consacrée à une étude bibliographique regroupant la généralité de la biomasse et aussi parlant les différentes techniques de transformation de la biomasse.

- La deuxième partie concerne l'étude expérimentale : commençant d'abord de la pyrolyse, suivi de traitement et d'analyse chimique des produits.

- Enfin la troisième partie, expose l'évaluation de l'activité antimicrobienne des produits issus de la pyrolyse. Dans ce même chapitre, nous avons proposé une étude comparative de l'activité antimicrobienne de produits issus du bois à celle des deux huiles essentielles bactéricides (*Thymus vulgaris*, *Ocimum grattissimum*)

Nous terminons cette étude par une conclusion générale.

---

**Première partie : ETUDES  
BIBLIOGRAPHIQUES**

---

## **Chapitre I : Généralités sur la biomasse**

### **I-1) Définition [1] ; [2]**

Autrefois, tous produits connexes issus de l'industrie des bois, de papeterie, d'abattage d'animaux étaient qualifiés des déchets. Au sens large du mot, les déchets sont des résidus inutilisables, supposés sales et encombrants, qui changent des statuts lorsqu'ils sont pris en charge par un autre opérateur secondaire. D'où l'appellation : « biomasse ».

### **Qu'est-ce-que la biomasse ?**

La biomasse est définie comme l'ensemble des matières organiques directement issues du vivant, accessibles sur une base renouvelable et durable : culture agricole et forestière, coproduits et résidus de cultures ainsi que résidus de diverses activités (papeteries, scieries, fraction organique des déchets industriels, ménagers et agricoles...). En d'autre terme, la biomasse est une matière première essentielle pour des usages très variés (alimentation, pharmaceutique, et chimiques...).

Dans notre travail, nous avons pris comme matériaux de travail d'origine différente :

- D'origine végétale : Sciure de bois d'eucalyptus.
- D'origine animale : l'os.

### **I-2) Le bois**

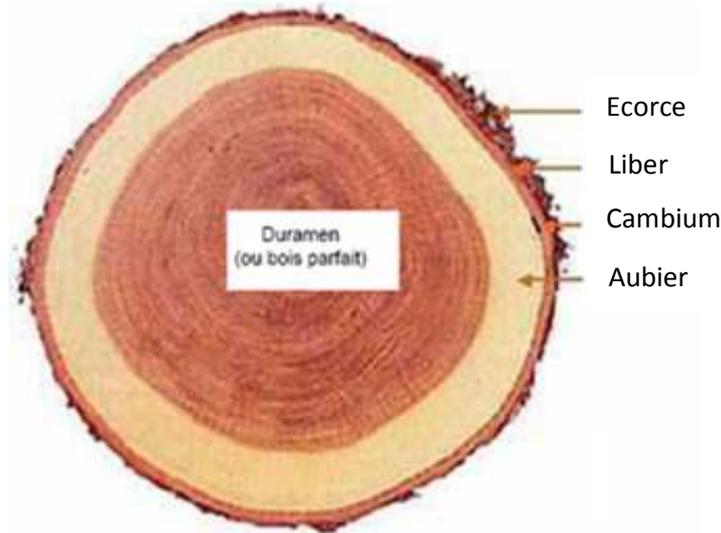
#### **I-2-1) Anatomie du bois [3]**

Le bois est essentiellement constitué : de vaisseaux, conduisant la sève pour nourrir les parties vivantes de l'arbre, et de fibres ligneuses, assurant sa résistance mécanique.

En observant la coupe d'un tronc de chêne (**Figure 1**), on distingue différentes couches successives (de l'extérieur vers l'intérieur) :

- L'*écorce* et le *liber* ont un rôle de protection imperméable pour l'arbre.
- Le *cambium* est une couche de cellules vivantes assurant la division cellulaire.
- L'*aubier* est la partie vivante de l'arbre, dans laquelle circule la sève. Il se forme sous le cambium.

– Le *bois parfait* ou *duramen*, qui constitue le cœur du tronc. C'est la partie de l'arbre que l'on valorise lors de son abattage.



**Figure 1 :** Coupe transversale d'un tronc de chêne.

## **I-2-2) Caractéristique physique [1] ; [2] ; [3] ; [4].**

### **a) Humidité ou teneur en eau [2]**

Le bois est un matériau très hygroscopique. En effet, ces propriétés hygroscopiques du bois le rendent très sensible à la température et à l'hygrométrie ambiante. Avant séchage, le bois peut contenir jusqu'à 50% d'eau. Après séchage naturel, il conserve une humidité comprise entre 10 et 20% suivant les conditions de stockage.

### **b) Masse volumique [1] ; [2] ; [3]**

La masse volumique peut varier d'une essence à l'autre : on relève des valeurs de 500 kg.m<sup>-3</sup> pour un bois tendre comme le pin et de 800 kg.m<sup>-3</sup> pour un bois dur comme l'eucalyptus. La masse volumique du bois dépend également beaucoup de son humidité et de sa granulométrie : pour une même essence, la masse volumique passe du simple au double selon que le bois est sous forme de sciure, de plaquettes forestières ou de rondins.

### I-2-3) caractéristiques chimiques

#### a) Composition élémentaire [1] ; [2]

Le bois sec est principalement composé de carbone, d'oxygène, d'hydrogène et d'azote. Il présente également un faible taux de matières minérales qui constituent les cendres. Les proportions des différents composés sont variables d'une essence à l'autre. Le **Tableau 1** rapporte la composition élémentaire moyenne des bois feuillus et résineux.

**Tableau 1 :** Composition élémentaire du bois sec

élément chimique	Fraction massique sur sec (%)
C	49.5 (± 2.0)
H	5.7 (± 0.4)
O	41.9 (± 2.6)
N	0.4 (± 0.4)
Cendres	2.5 (± 4.4)

Les bois ont des teneurs variables en matière minérales (calcium, sodium, phosphore, fer, potassium.....) en fonction de l'essence.

Le bois a un faible teneur en cendre vis-à-vis des autres biomasses. Les charbons minéraux contiennent 20% de teneur en cendre, tandis que pour les déchets agricoles, n'ont que 10 à 15% de teneur en cendre.

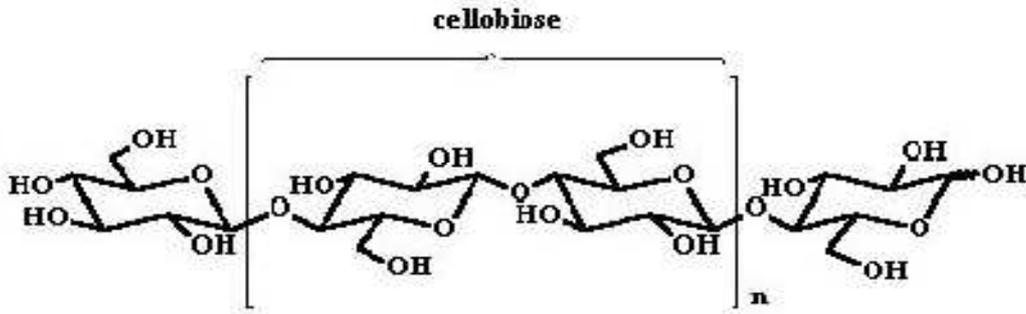
### I-2-4) Les divers polymères naturels, constituants majoritaires du bois [1] ; [4] ; [5] ; [6]

Selon Rousset [5], les principaux polymères qui composent les bois sont :

#### a) La cellulose :

C'est le composé le plus abondant dans le bois, elle constitue la paroi des cellules, elle représente 40 à 50% de sa masse totale. C'est un polymère de glucose (polysaccharide) de formule générale  $(C_6H_{10}O_5)_n$  Elle est formée d'une longue chaîne dont le degré de polymérisation peut se situer entre 1.000 et 3.000 unités glucose. La chaîne,

dont le motif répétitif est la cellobiose (**Figure 2**), a une structure linéaire qui confère au bois son caractère fibreux.

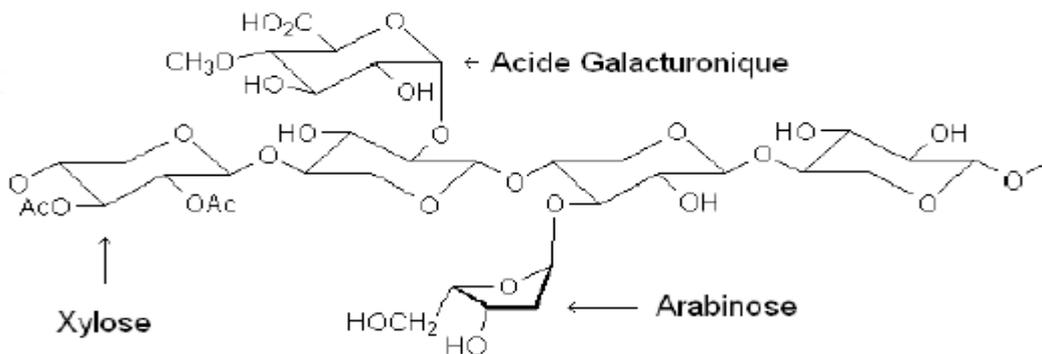


**Figure 2:** Structure de la cellulose

**b) Les Hémicelluloses :**

Les hémicellulose représentent 15 à 25% de la masse totale du bois. Ce sont également des polysaccharides, mais de structure plus complexe que la cellulose. Les polymères sont formés de différents types de monomères et leur composition est variable en fonction des espèces.

Les chaînes sont moins longues que celles de la cellulose (avec un degré de polymérisation inférieur à 200) mais sont par contre davantage ramifiées. Lors de la pyrolyse, les hémicelluloses sont les premières à être dégradées : elles présentent une très forte instabilité thermique.



**Figure 3 :** structure de l'hémicellulose : xylane

### c) *La lignine* [6] ; [7] ; [8] ; [9] ; [10].

La lignine, qui constitue la matrice rigide du bois, représente 20 à 30% de sa masse totale. La lignine est en fait un nom générique pour un ensemble de polymères polyphénolique, de masses moléculaires élevées, de compositions et de structures variables et complexes. Elle résulte de la polymérisation oxydative de trois alcools phénoliques (figure 4). La multiplicité des unités hydroxyphényle, guaiacyle et syringyl, des types de liaisons et des combinaisons détermine un grand nombre de structures tridimensionnelles.

En quelque sorte, la lignine est un composé du bois le plus stable thermiquement

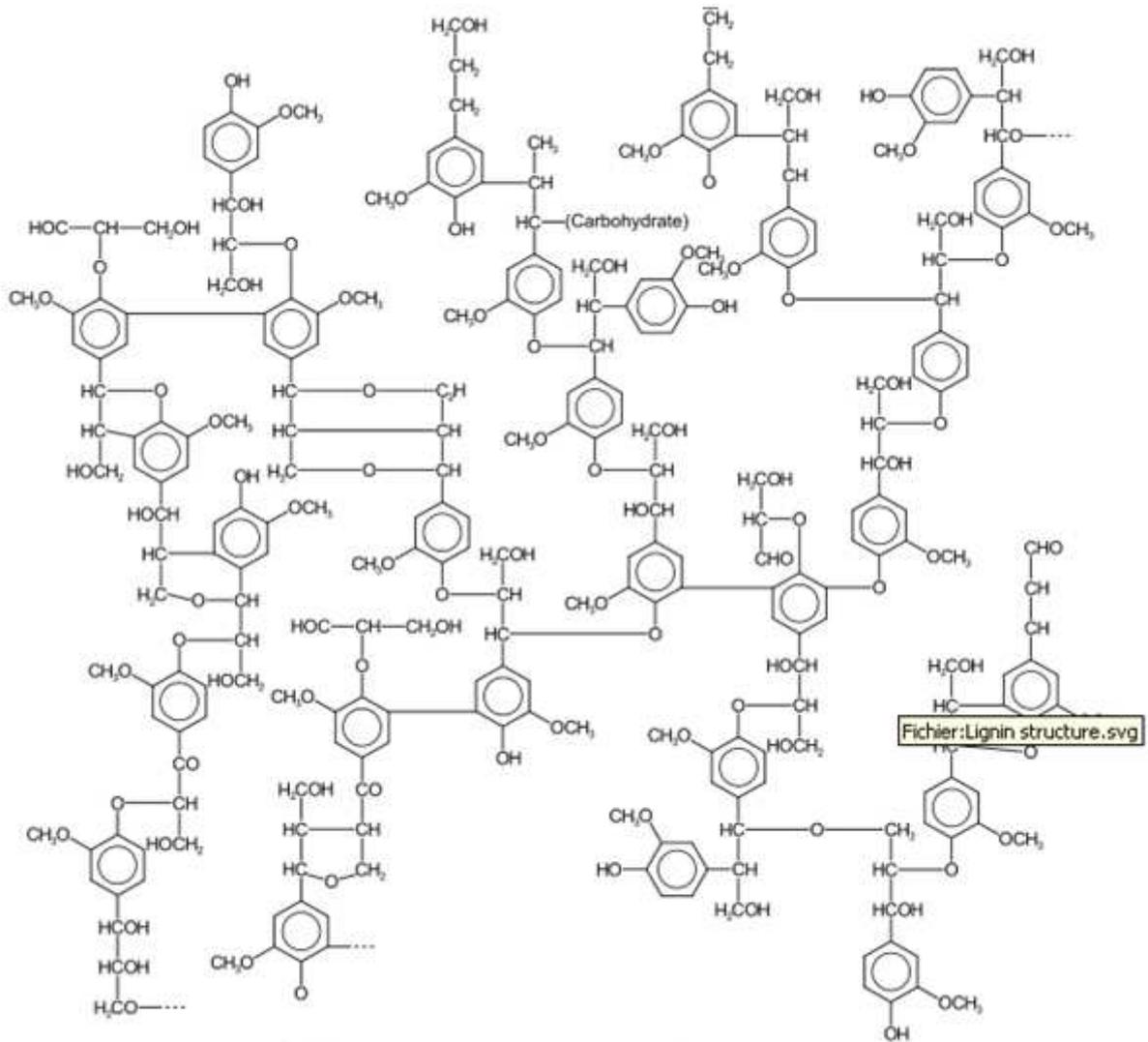


**Figures 4 :** Motifs élémentaires de la lignine.

### d) *Généralité sur la lignine*

#### d-1) *Structure de la lignine*

La structure de la lignine est complexe et encore mal connue à ce jour, en raison de la difficulté à l'isoler des autres composés du bois sans la dégrader. C'est une structure tridimensionnelle polyphénolique, qui est la suivante :



**Figure 5 :** Structure de la lignine

## d-2) Dégradation de la lignine. [7]

### i) Dégradation chimique

La lignine est un composé dégradable par coupure des différentes liaisons. Les principales méthodes de dégradation chimique de la lignine sont :

- Hydrolyse acide et basique
- Oxydation
- Fusion alcaline
- Hydrogènyse
- Conversion thermique

## ii) Biodégradation de la lignine

Les champignons et les bactéries sont susceptibles de dégrader la lignine. Les agents responsables de la biodégradation sont des champignons ligninolytiques qui sont :

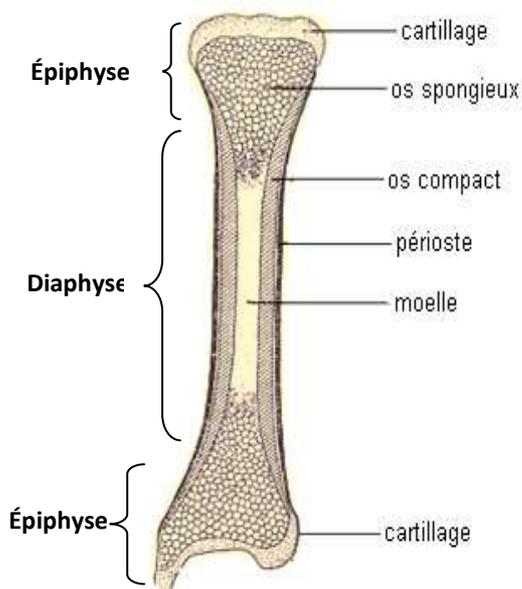
- Les *champignons Basidiomycète* : Ce sont des champignons de l'ordre des *Aphylophorales* appartenant à la famille des *Théléphoraceae*.
- Les *Phanerochaète Chrysosporium* : Ces sont des microorganismes ligninolytique qui dégradent la lignine jusqu'au stade ultime de CO<sub>2</sub> et de H<sub>2</sub>O.

### I-3) Les os [11] ; [12] ; [13] ; [14] ; [15] ; [16]

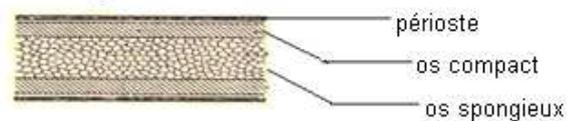
Par définition, l'os est la partie dure qui forme la charpente du corps de l'homme et des animaux [1]. Les os, provenant d'abattage d'animaux, sont classés parmi les différents types de biomasse.

#### I-3-1) Anatomie de l'os

L'anatomie de l'os long et os plat sont donnés par les figures suivantes :



**Figure 6:** Coupe longitudinale d'un os long.



**Figure 7:** Tranche d'un os plat.

### I-3-2) Composition chimique de l'os. [12] ; [13] ; [14]

La composition moyenne de l'os est donnée par le **tableau 2**, dont la teneur en osséine est de 12%.

**Tableau 2 :** Pourcentage des différents composants chimique de l'os.

Composants	% en masse
Eau	50
Matières minérales	22
Osséine	12
Lipides	16

Les matières minérales sont formées majoritairement par du phosphate tricalcique (60%) :

**Tableau 3 :** Pourcentage des matières minéral de l'os

Matières minéral	% en masse
Phosphates tricalciques	60
Phosphate de magnésie	11,5
Carbonate de calcium	26,6
Fluorure de calcium	1,32
Potassium, Calcium, Fer, Zinc, Aluminium...	Traces

### I-3-3) L'osséine [15]

C'est un polymère naturel de nature protéique qui est l'un des constituants fondamentaux de l'os. Elle peut être isolée après destruction des sels minéraux par immersion de l'os dans de l'acide chlorhydrique dilué: l'os devient mou et flexible il reste alors la matrice faite d'une matière protéique : qui est l'osséine.

#### a) *Caractéristique physique de l'osséine.*

L'osséine est insoluble dans l'eau froide ou chaude et susceptible de se transformer en gélatine. Les osséines représentent 12 à 15% en masse dans les os.

C'est un produit très altérable quand elle est humide. Exposée à l'air dans cet état, elle se putréfie.

### b) *Caractéristique chimique.*

L'osseiné constitue un principe immédiat formé de carbone, hydrogène, azote, oxygène et d'une petite quantité de soufre. Avec l'acide sulfurique et les *alcalis*, l'osseiné donne du *glycocolle* ou *glycine* (constituant le plus prépondérant) et d'autres acides aminés (minoritaire) comme : la proline, hydroxyproline....

L'osseiné a la capacité de se combiner à certains oxydes métalliques et au tanin, en formant des composés insolubles dans l'eau et imputrescibles. Cette substance est utilisée dans l'industrie pour la conservation et le travail des peaux des animaux. Sous l'influence de l'ébullition l'osseiné se transforme en gélatine.

**Tableau 4 :** Tableau montrant le pourcentage des acides aminés provenant de l'hydrolyse de la gélatine d'os animal.

Acides aminés	%	Acides aminés	%
Glycine ou glycocolle	31	Proline	10
Hydroxyproline	10	Acide glutamique	8
Alanine	7	Arginine	6
Acide aspartique	5	Lysine	4
Sérine	4	Leucine	3
Valine, Phénylalanine, thréonine	2	Isoleucine, Hydroxylisine	<1
Méthionine et Histidine	<1	Tyrosine	<0,5

Ce tableau nous montre que les constituants majeurs de la gélatine d'os ou osseiné sont : *glycine* ou *glycocolle*, *Proline*, et l'*Hydroxyproline*.

### c) *Dégradation des composés protéiques* [16] ; [17]

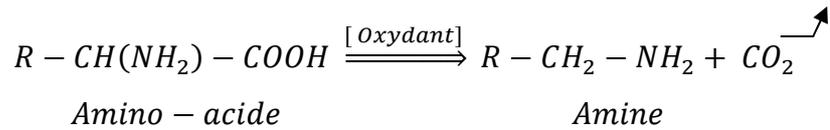
Les composés protéiques ont la possibilité d'être dégradés selon deux voies bien distinctes.

- La première concerne la **décarboxylation**
- La deuxième concerne la **désamination ammoniacale**.

De façon générale, la dégradation d'un acide aminé débute par le départ de son groupe  $\alpha$ -aminé. Ce phénomène conduit à l'excrétion de l'azote en excès et à la dégradation du squelette carboné restant.

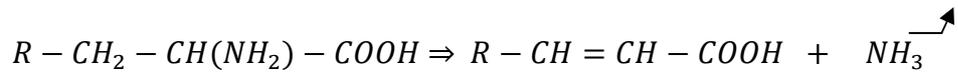
**i) La décarboxylation des composés protéique.**

Certains oxydants attaquent les acides aminés et réalisent la décarboxylation, selon la réaction :



**ii) La réaction de désamination ammoniacale.**

C'est le départ du groupe aminé, et ce groupe va donner naissance à de l'ammoniaque.



## **Chapitre II: Technique de transformation de la biomasse.**

### **II-1) Introduction.**

Depuis plusieurs années, la recherche sur la valorisation de biomasse en énergie, en produit chimique ou pharmaceutique fait l'objet de recherche de nombreuses publications.

De nos jours, de nombreux travaux ont exposés que la biomasse est susceptible d'être transformé en produits chimiques, produits pharmaceutiques, de l'énergie sous diverses formes. La transformation de biomasse en énergie repose essentiellement sur trois familles de procédés de conversion [3] :

- Voie thermique : combustion, pyrolyse et gazéification.
- Voie biologique : fermentation, réaction enzymatique.
- Voie oléochimique : raffinage d'huile et graisses végétales et animales

Dans notre cas ce qui nous intéresse c'est la transformation par voie thermique.

### **II-2) La transformation par voies thermique : la pyrolyse.**

#### **II-2-1) définition.** [4] ; [18]

Par définition, la pyrolyse ou carbonisation en vase clos est la décomposition physique et chimique des matières organiques sous l'action de la chaleur et en absence d'oxygène. **Elle permet non seulement d'obtenir de charbon de bois mais essentiellement de récupérer de produits dégagés condensable et non condensables.**

#### **II-2-2) les différents types de pyrolyse.** [3] ; [4] ; [5] ; [6]

Il existe deux types de pyrolyse :

- **La pyrolyse lente à basse température**
- **La pyrolyse rapide à haute température**

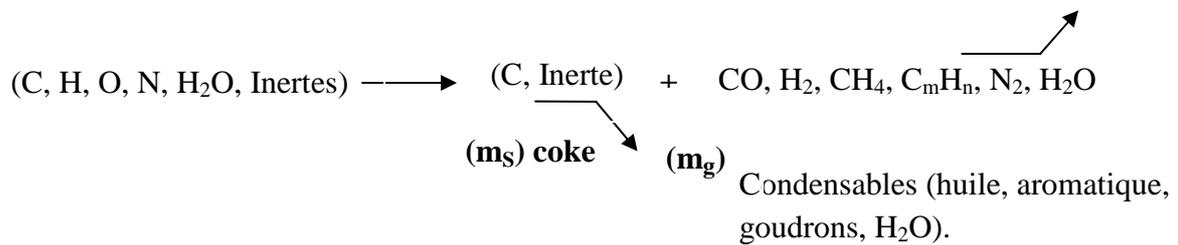
**a) La pyrolyse lente.**

La pyrolyse lente est une décomposition thermique des déchets, en absence ou défaut d'oxygène, à une température de l'ordre de 350 à 500°C. En général, les matières premières doivent être broyées avant traitement.

**b) La pyrolyse rapide.**

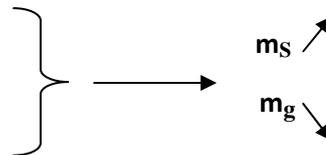
La pyrolyse rapide est une décomposition thermique à une température élevée de l'ordre de 500 à 600°C.

On peut résumer les 2 types de pyrolyse par le schéma simplifié suivant :



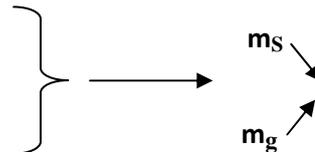
Pyrolyse lente :

Temps de séjour élevé  
 Vitesse de chauffe faible  
 Température basse (350 à 400°C)



Dans le cas de la Pyrolyse rapide :

Temps de séjour faible  
 Vitesse de chauffe élevée  
 Température basse (500 à 600°C)



La décomposition thermique d'un composé en atmosphère réductrice est exothermique ( $\Delta H < 0$ )

**ms** : quantité en matière minérale (résidu) de produit de pyrolyse.

**mg** : les produits gazeux obtenus lors de la pyrolyse.

### **II-2-3) Principaux paramètres influençant la réaction de pyrolyse. [1] ; [2] ; [3]**

La pyrolyse de la biomasse produit du charbon, des vapeurs condensables et des gaz combustibles non condensables. La proportion et la nature de ces différentes phases sont fortement dépendantes des conditions opératoires.

Les principaux paramètres qui agissent sur la réaction sont :

- Nature de la matière première :
- La température finale de réaction
- La pression
- La vitesse de la chauffe
- le temps de séjour à la température finale.

#### ***a) Influence de la matière première.***

##### **i) Composition de la matière première.**

La composition chimique et la qualité des produits de pyrolyse dépendent de la répartition en lignine, en cellulose, en hémicellulose.

##### **ii) Dimension de la matière première.**

Plus le diamètre de la particule sera élevé, plus le temps de séjour devra être long.

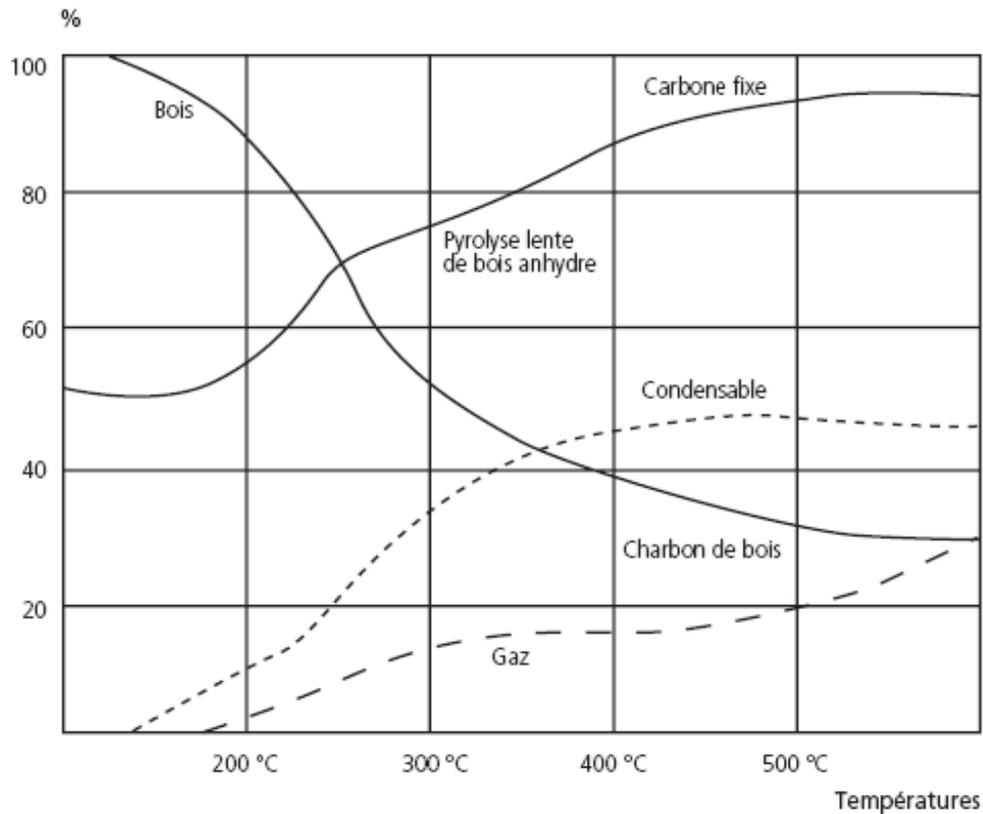
##### **iii) Caractéristique physique. [2]**

Le caractère physique de la biomasse tel que la masse volumique et la granulométrie sont très importants pour la pyrolyse, est d'une extrême variabilité. A titre d'exemple, la masse volumique apparente pour certains bois tropicaux (eucalyptus, pin,...) est de  $1\text{t/m}^3$  tandis que  $18\text{kg/m}^3$  pour la biomasse herbacée.

Cette valeur varie également pour un même produit en fonction de la taille des particules.

### b) Influence de la température de réaction. [1]

La température conditionne, d'une part, le degré de conversion de la matière en produit solide, liquide et gazeux et d'autre part, la qualité de ces produits en association avec la vitesse de chauffage et la pression.



Sources : SCHWOB, et Al. 1977

**Figure 8** : Evolution des produits de pyrolyse du bois (charbons, pyrolygneux et bois) en fonction de la température. [2]

De ce graphe, on peut déduire que les hautes températures ont tendance à minimiser la formation des solides au profit des gaz et des liquides.

Pour des températures inférieures à 400°C, la conversion risque d'être incomplète et le solide est favorisé ; une fraction non négligeable des matières volatiles reste dans le charbon.

### c) Influence de la vitesse de chauffe. [2]

Quand elle est élevée, on obtient une huile homogène ; à l'inverse, quand elle est faible, on aboutit à la formation de deux phases nettement séparées : une phase aqueuse,

dans laquelle se retrouve l'ensemble des produits solubles dans l'eau (acide, alcool,...) et une phase huileuse, très polymérisée appelée communément « goudrons ». L'ensemble des produits solubles et non solubles porte le nom du liquide pyroligneux.

#### **II-2-4) Les phases de la pyrolyse de bois en fonction de la température [1] ; [19]**

Le chauffage à une température modérée et sous une atmosphère inerte d'un solide carboné (comme le bois) provoque différents phénomènes qui apparaissent pendant la montée en température.

On peut distinguer plusieurs phases en fonction du niveau de température dans le réacteur,

- vers  $100^{\circ}\text{C}$ , le solide (bois ou os) perd d'abord son eau résiduelle

- $T < 200^{\circ}\text{C}$  : phase de séchage, au cours de laquelle l'humidité résiduelle est évacuée

- $200 < T < 275$  : les constituants les moins stables du bois se décomposent et donnent un dégagement de gaz oxygénés  $\text{CO}$ ,  $\text{CO}_2$ , de vapeur d'eau, d'acide acétique, de méthanol.

- A partir de  $275^{\circ}\text{C}$ , se produit alors une réaction exothermique qui élève la température sans apport extérieur de calories jusque vers  $350^{\circ}\text{C}$ . Des dégagements gazeux se produisent contenant toujours des gaz oxygénés mais en quantité plus faible et également des hydrocarbures : de méthane, éthane, éthylène. Parallèlement, la formation d'acide acétique, de méthanol, acétone, des produits phénoliques etc..... est accompagnée de celle des goudrons légers qui apparaissent aussi à ce stade.

- $350 < T < 450^{\circ}\text{C}$  c'est la phase de dégradation des hémicelluloses, des celluloses et de la lignine. Parallèlement, le distillat s'appauvrit, en  $\text{CO}$ ,  $\text{CO}_2$ , mais s'enrichit, par contre, en hydrocarbure : méthane et éthylène ; la proportion du goudron augmente.

Si l'on continue à chauffer au-dessus de  $450^{\circ}\text{C}$  et jusqu'à  $600^{\circ}\text{C}$ , il se produit alors une phase de dissociation, les gaz produits sont moins importants. Ils contiennent alors de l'hydrogène dont son départ entraîne un enrichissement relatif en carbone (90% à 95%)

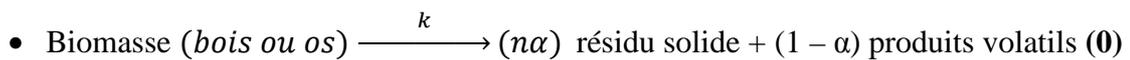
Ce résultat est visualisé au cours de l'évolution typique de la masse d'un échantillon (réalisée en thermogravimétrie) lors d'une pyrolyse lente.

### II-3) Paramètre cinétique de la dégradation de la biomasse.

[7]

La majorité des études portant sur la pyrolyse de la biomasse établit clairement que 95% de la réaction de thermolyse surviennent entre 200 et 400°C. Pour pouvoir comprendre le phénomène, il faut savoir identifier les chemins réactionnels et comprendre le phénomène de dégradation thermique des constituants chimique des matériaux.

Selon P. Rousset [2], la pyrolyse de la biomasse contenant les composés primaires (lignine, cellulose, Hémicellulose pour le bois et l'osséine pour les os) est fréquemment décrite par une réaction unique irréversible d'ordre 1 :



La vitesse de perte de masse du solide initial  $da$  est fonction de la température et est donnée par la réaction :

$$\bullet \quad da/dt = K(T) f(\alpha) \quad (1)$$

La constante de vitesse de réaction K est déduite de l'équation d'Arrhenius :

$$\bullet \quad K(T) = A \exp^{(-E/RT)} \quad (2)$$

Où : A : Fréquence ou facteur préexponentiel ( $s^{-1}$ ).

. E : Energie d'activation ( $kJ/mol^{-1}$ )

. R : Constante des gaz parfaits égale à  $8,314 J.K^{-1}.mol^{-1}$

. T : La température absolue en °K.

$f(\alpha)$  est habituellement définie par :

$$\bullet \quad f(\alpha) = (1 - \alpha)^n \quad (3)$$

Où  $\alpha$  : l'avancement de la réaction

. n : étant l'ordre de réaction.

$$\bullet \alpha = \frac{(m_0 - m_t)}{(m_0 - m_\infty)} \quad (4)$$

Où  $m_0$ ,  $m_t$ ,  $m_\infty$  sont les valeurs respectives des masses de la matière première à l'état initial, à l'instant  $t$ , et à la fin de l'expérience.

Plusieurs méthodes ont été décrites pour déterminer les paramètres cinétiques ( $E$ ,  $A$ ,  $n$ ).

Le principe est de déterminer expérimentalement la constante de vitesse en fonction de la température et de reporter les données sous forme d'un graphe :

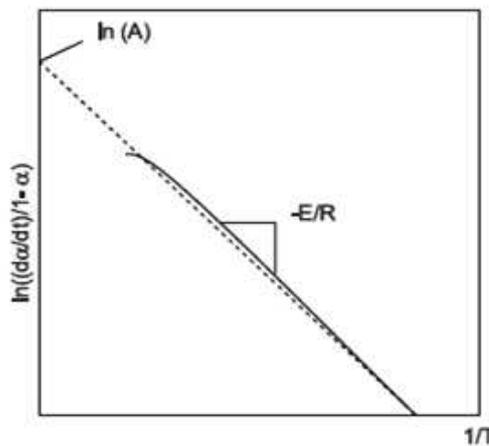
$\ln k = f(1/T)$ . En supposant la réaction du premier ordre, l'équation (1) devient :

$$\bullet \frac{d\alpha}{dt} = A \exp\left(-\frac{E}{RT}\right) \cdot (1-\alpha) \quad (5)$$

L'intégration de l'équation (5) mène à l'équation (6) utilisée dans le calcul des paramètres cinétiques par la méthode différentielle.

$$\bullet \ln \left[ \frac{d\alpha/dt}{1-\alpha} \right] = \ln(A) - E/RT \quad (6)$$

En utilisant expérimentalement les valeurs de  $\alpha$  et  $d\alpha/dt$ , le graphe  $\ln \left[ \frac{d\alpha/dt}{1-\alpha} \right]$  en fonction de  $1/T$  (**Figure 9**) donne une droite de pente égale à  $-E/R$ . L'ordonnée à l'origine est égale à  $\ln(A)$ .



**Figure9 :** Courbe générale pour la détermination des paramètres cinétiques

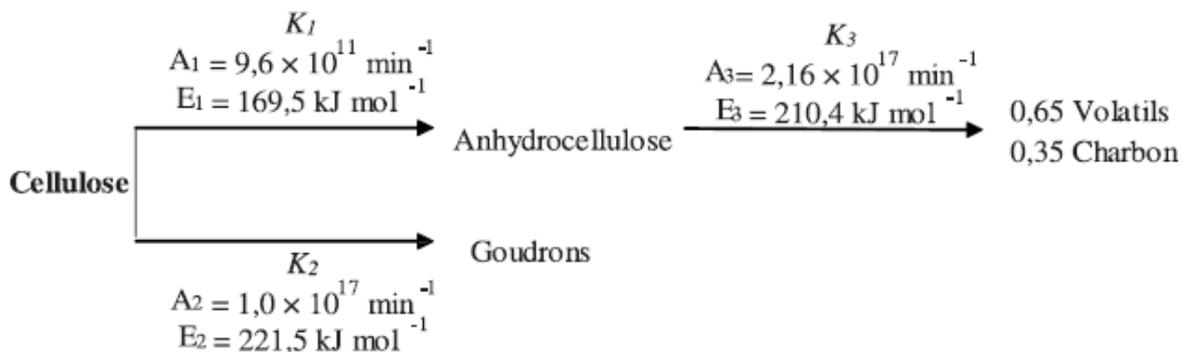
### II-3-1) cinétique de dégradation pour les 3 composants du bois

[7]

#### a) Dégradation thermique de la cellulose.

La structure cristalline de la cellulose a été déterminée par diffraction des rayons X et par des méthodes basées sur la polarisation du rayonnement infrarouge.

Le mécanisme multi-réactionnel proposé est celui de **Broido** et **Weinstein** (1979). Une première étape, légèrement endothermique entre 200 et 280°C, aboutit à la formation d'anhydrocellulose (déshydratation intermoléculaire), molécule qui sera dégradée au-delà de 280°C (réaction exothermique) en charbon et en produits volatils. Il se produit de façon compétitive une réaction de dépolymérisation endothermique produisant les goudrons.



#### b) Dégradation thermique des hémicelluloses.

Parmi les différentes hémicelluloses, les xylanes (**figure 3**) sont les plus réactives et très sensibles aux réactions de dégradation et de déshydratation entre 200 et 260°C [5]. Elles sont la principale source de produits volatils et jouent un rôle important dans la propagation des réactions de pyrolyse.

#### c) Dégradation thermique de la lignine. [1] ; [7]

Des trois principaux constituants du bois, la lignine serait celui qui commence à se décomposer dès les basses températures (110-200°C). Il semblerait qu'à ces températures, seules des réactions de condensation soient présentes et non pas une dégradation réelle qui n'interviendrait qu'au-delà de 350°C. Ainsi, on pourra noter qu'à basse température (<250°C), les groupements hydroxyles (OH) catalysent la rupture des fonctions COOH entraînant la formation d'eau et de dioxyde de carbone.

En résumé, voici un tableau récapitulatif des énergies d'activation E des constituants du bois.

**Tableau 5:** Valeurs limites des énergies d'activation E pour chacun des constituants du bois.

	Cellulose	Hémicellulose	Lignine	
E (kJ/mole)	90 à 297	125 à 260	18	124

### II-3-2) Les enthalpies de la réaction. [6] ; [7]

La chaleur de réaction a souvent été rapportée comme endothermique, exothermique ou la combinaison des deux. Dans la littérature, une variété de méthodes de mesure et de compilation est disponible et sert de référence.

Globalement, sous atmosphère inerte, les réactions exothermiques commencent dès 196°C avec des pics maximum entre 240°C et 280°C.

Ces valeurs peuvent être évaluées de :

- -2300kJ/kg à 418kJ/kg pour le bois.
- -510 à 120kJ/kg pour la cellulose.
- -455 à 79 kJ/kg pour la lignine.
- -363 à 42 kJ/kg pour les hémicelluloses.

## **Chapitre III : Utilisation des produits de pyrolyse.**

### **III-1) Introduction**

La pyrolyse a pour objectif la production d'un produit liquide énergétiquement ou chimiquement valorisable : les huiles de pyrolyse ou liquide pyroligneux

Depuis l'époque royale, les Malgaches ont déjà su que, la distillation des os provenant de l'abattage ou de désossage des animaux peut produire un liquide rouge appelé « ranomena » qui joue un grand rôle dans la pharmacopée malgache.

Qui pourrait penser que les os restant de la consommation et jetés pour être attrapés par les chiens pouvaient être profitables et que le bois utilisé pendant des siècles comme une énergie de chauffage et de cuisson devenait une source potentielle d'énergie, de produits chimiques et pharmaceutiques ?

### **III-2) Les produits de pyrolyse du bois.** [1] ; [2] ; [18] ; [19] ; [20].

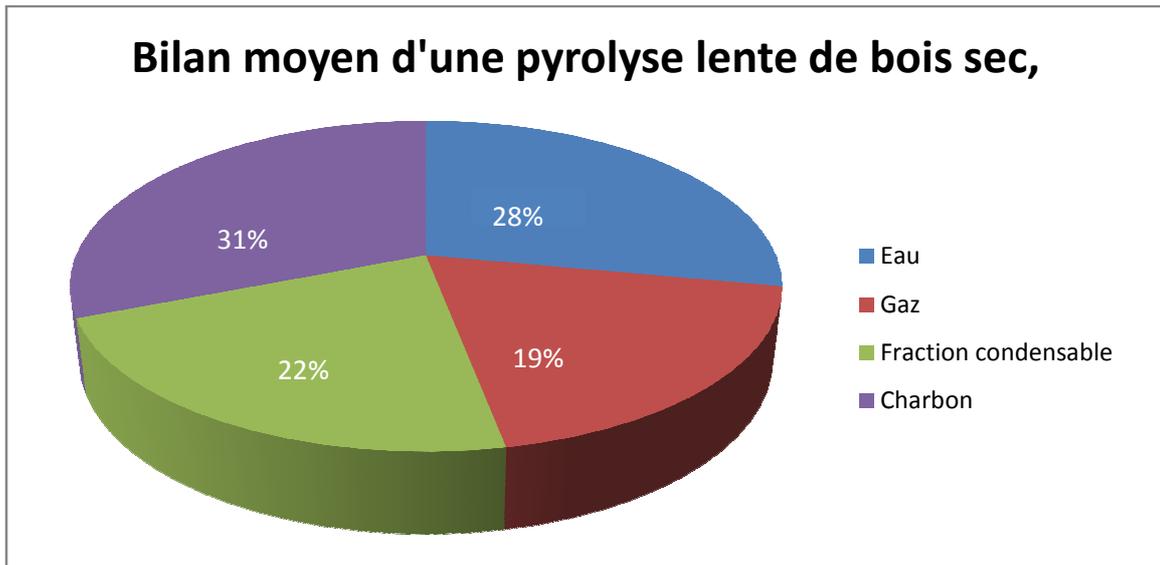
La pyrolyse a pour objectif la production d'un produit liquide énergétiquement ou chimiquement valorisable [1]

Dans le cas de pyrolyse lente et flash, les bois donnent un liquide homogène de couleur rouge brun.

#### **III-2-1) Caractéristiques du liquide pyroligneux.**

Le liquide pyroligneux du bois se présente sous la forme d'un fluide rouge-brun foncé, composés de l'eau, de goudron et de créosote. Cette couleur peut varier selon la composition chimique du liquide.

La **figure 10** présente le bilan moyen d'une pyrolyse lente de bois par tonne de bois sec.



**Source** : SCHWOB, et Al 1977

**Figure 10** : Bilan moyen d'une pyrolyse lente de bois par tonne de bois sec

La fraction condensable est répartie comme suit :

**Tableau 6** : Bilan moyen de la fraction condensable.

Fraction condensable	% massique
<i>Acide acétique</i>	6
<i>Méthanol</i>	2,5
<i>Divers dont arôme</i>	3,5
<i>Dérivés du phénol</i>	3
<i>Furfural et dérivés</i>	1
<i>Brai</i>	6

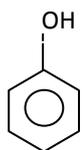
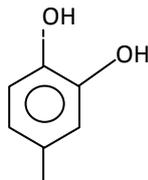
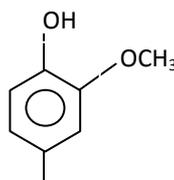
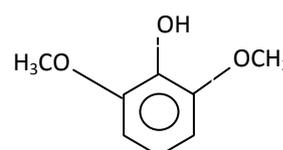
D'autre étude récente (Bridgewater et Al. [5]) a confirmé en détail les principaux composants d'une huile de pyrolyse, ainsi que leurs proportions qui dépendront de la composition en hémicellulose, en cellulose et en lignine du bois ainsi que des conditions de pyrolyse.

**Tableau 7 :** Produits majoritaires d'huile de pyrolyse (Bridgewater et Al., 2002)

Composants majoritaires		%massique
<b>Eau</b>		20 - 30
<b>Fraction Lignine</b>	<i>Lignine pyrolysée insoluble</i>	15 - 30
<b>Aldéhydes</b>	<i>Formaldéhyde, acétaldéhyde, hydroxyacetaldehyde, glyoxal, methylglyxal</i>	10 - 20
<b>Acides carboxyliques</b>	<i>Formique, acétique, propénoïque, butyrique, pentatonique, hexanoïque, glycolique, (hydroxy acétique)</i>	10 - 15
<b>Carbohydrates</b>	<i>Cellobiose, <math>\alpha</math>-D-levoglucosane, oligosaccharides, 1,6 anhydroglucofuranose</i>	5 - 10
<b>Phénols</b>	<i>Phénol, crésols, gaïacols, syringols</i>	2 - 5
<b>furfurals</b>		1 - 4
<b>Alcools</b>	<i>Méthanol, éthanol</i>	2 - 5
<b>Cétones</b>	<i>1-hydroxy-2-propanone, cyclo pentanone</i>	1 - 5

### III-2-2) Les caractéristiques des composés phénoliques issus de la pyrolyse des bois. [21] ; [22]

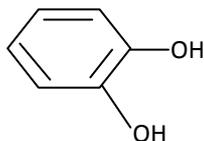
Les phénols simples sont des composés rares dans la nature, à l'exception de l'hydroquinone, qui existe dans plusieurs familles végétales (Ericacée et Rosacée). Le plus souvent à l'état du glucoside de phénol (**Ex** : Gaïacol). Le Créosote (goudrons de bois) renferme des quantités abondantes de gaïacol, (éther mono méthylique de la pyrocatéchine), de crésol et ainsi de syringol

**Phénol****Crésol****Gaïacol****Syringol**

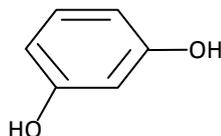
On peut classer en deux les phénols selon le nombre de la fonction hydroxyle (OH) :

- **Les diphénols.**

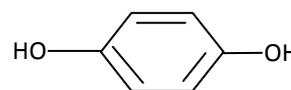
Ils sont au nombre de trois, et ont reçu des noms particuliers :



**Pyrocatechol**



**Résorcinol**

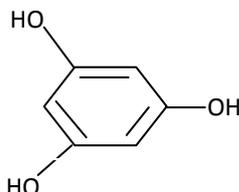


**Hydroquinone**

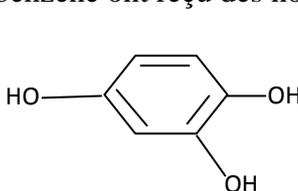
Ces sont des solide cristallisant facilement, très soluble dans l'eau chaude, alcool, et éther. Le diphénol présente généralement 2 fois les propriétés des mono phénols. Ils présentent vis-à-vis de la soude, deux acidités inégales.

- **Les triphénols.**

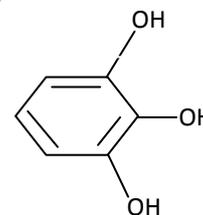
Les trois triphénols dérivés du benzène ont reçu des noms particuliers.



**Phloroglucinol**



**Hydroxy-hydroquinone**



**Pyrogallol**

**a) Caractéristique physico-chimique de la créosote.**

La créosote est un mélange de gâïacol, créosol, et des phénols, obtenu par distillation de goudron du bois. C'est un liquide à aspect rougeâtre et a une forte odeur empyreumatique. Il se colore en vert par la présence de FeCl<sub>3</sub>. Le test d'activité optique induisant une déviation de vecteur vers la gauche (lévogyre).

**Tableau 8 :** Caractéristique physico-chimique de la créosote

Caractéristique	Valeur
<b>densité</b>	1,079
<b>Température d'ébullition</b>	200°C
<b>Solubilité dans l'eau à 20°C</b>	150g/l,

**Tableau 9 :** Caractéristique physico-chimique des quelques composés phénoliques.

<i>Constituants</i>	<b>Phénol</b>	<b>Pyrocatechol</b>	<b>Résorcinol</b>	<b>Hydroquinone</b>	<b>Phloroglucinol</b>	<b>Hydroxyhydroquinone</b>	<b>Gaïacol</b>
<i>Caractéristique</i>							
<b>Masse Molaire</b> (g/mol)	94,11	110,11	110,11	110,11	126,11	126,11	154
<b>Densité</b>	1,06	1,37	1,28	1,358	-	-	1,13
<b>Point de fusion</b> (°C)	40,8	104	119	169	219	141	120
<b>Point d'ébullition</b> (°C)	181,8	245	273	285	380	360	205
<b>pH</b>	~ 5	6	4 - 6	3,75	-	~ 4	-
<b>Température d'inflammation</b>	595	-	605	515	-	-	-
<b>Solubilité dans H<sub>2</sub>O à 20°C</b>	84g/l	450g/l	1000g/l	72g/l	-	-	150g/l
<b>Point éclair</b> (°C)	81	127	127	165	-	-	-
<b>Dose létal</b>	DL 50 oral rat 317m g/kg	DL 50 oral rat 358mg/ kg	DL 50 oral rat 301mg/ kg	DL 50 oral rat 302mg /kg	-	-	-

### III-2-3) Rendement d'huiles de pyrolyse. [1]

La notion de rendement en huile est liée à la matière première et à son humidité. Ainsi, les rendements en huile peuvent atteindre 75% en masse sur anhydre, ce qui correspond à une conversion énergétique de l'ordre de 80%.

Le rendement est exprimé par la formule :

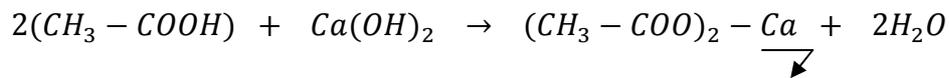
$$\eta = \frac{\text{Masse du liquide produite}}{\text{Masse de la matière première}} * 100$$

### III-2-4) Utilisation des huiles de pyrolyse. [19] ; [22]

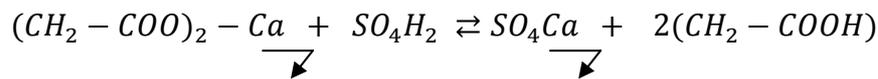
#### a) Production d'acide acétique. [19]

A partir de Xylane, se forment, tout d'abord, de l'eau (qui s'ajoute à celle qui provient de l'humidité du bois), puis des acides acétique et formique (qui proviennent des groupements acétyles et groupement carboxyles). Le liquide pyroligneux du bois contient environ 6% d'acide acétique.

L'isolement se fait par précipitation d'acide acétique avec du lait de chaux.



L'acétate additionné avec de l'acide sulfurique concentré va donner de l'acide acétique et de précipité de sulfate de calcium ( $\text{SO}_4\text{Ca}$ ). Selon la réaction :



Les poids moléculaires de l'acétate de calcium et de l'acide sulfurique étant respectivement de 156 et 98, il faudra, pour 100kg d'acétate, ajouter :  $\frac{98 \times 100}{156} = 62,82 \text{ kg}$  d'acide sulfurique concentré.

#### b) Sources de la créosote.

Les créosotes sont des produits de pyrogénéation riche en phénol surtout le gaiacol. Dans le procédé industriel, l'extraction des phénols se fait en principe en quatre 4 opérations :

- L'isolement, par distillation fractionnée de la créosote (« huiles phénoliques » bouillant entre 170 et 220°C).
- Traitement alcalin (soude concentrée), qui fait passer les phénols en solution aqueuse, et laisse surnager les carbures et les composés basiques.
- Libération des phénols par acidification de la solution aqueuse.
- Distillation fractionnée des phénols régénérée, et ; éventuellement, cristallisation fractionnée.

### **Utilisation de la créosote. [22]**

La créosote est utilisée à des fins thérapeutiques.

- Dans la médecine traditionnelle, la créosote est utilisé pour le traitement de Tuberculose pulmonaire dont voici 2 recettes :

**Exemple :** 50 gr de créosote ajouté d'un litre d'huile de foie de morue (1 à 2 cuillerées matin et soir)

Ou 10 gouttes, de créosote dans 125 gr de glycérine (1 cuillerée à café matin et soir, dans un verre de vin blanc)

- La créosote est utilisée pour de traitement des dents cariées.
- La créosote est antiseptique et anti catarrhal.

**Exemple :** 1 à 2 gramme par jour dans du vin, de l'huile de foie de morue, de la glycérine.

Dans le domaine pharmaceutique, il existe des médicaments à base de gaïacol, ou ses dérivés parmi eux, on peut citer :

- **La BROCHODERMINE :** c'est une pommade à base de Gaïacol (1.55g).

Ce médicament est utilisé comme décongestionnant au cours des affections respiratoires banales (rhumes, toux, bronchite simple).

- **Le Guaifenesin :** C'est un sirop en glyceryl guaiacolate (dérivé du gaïacol); qui a un rôle expectorant ; utilisé pour stimuler le courant de sécrétions de l'étendue respiratoire

Les résultats d'études cliniques subjectives suggèrent que l'action expectorante de guaifenesin améliore la toux sèche.

### **III-3) Le produit de pyrolyse de l'os : Le ranomena**

#### **III-3-1) Historique [12]**

D'après l'enquête faite par RANAIVOSON [12], concernant la fabrication du « **ranomena** », l'origine de fabrication du « **ranomena** » a été entreprise dans le fokontany d'Antanetibe Ikianja, Fivondronam-pokotany d'Antananarivo Avaradrano par un certain ANDRIANISAVALAMBO. Au temps de la monarchie Merina et durant le règne de RAZAFINDRAHETY qui est la reine RANAVALOMANJAKA III (1883-1897), la première installation était composée d'une cocotte en argile pouvant contenir trois pièces d'os, et d'un bambou à une taille convenable servant de tuyau de distillation.

Pendant la première moitié de la colonisation, cette fabrication a été interdite par les colonisateurs, en raison de la toxicité de ce produit, alors que les paysans artisans continuaient d'en fabriquer en cachette. En effet, ils laissaient les produits finis et les matériels de fabrication cachés dans les champs pour éviter la fouille des colonisateurs. Plus tard, quand les colonisateurs ont trouvé que ce produit n'a pas la hauteur de se concurrencer à des produits d'importation, ils ont laissé libre la fabrication.

#### **III-3-2) Définition [23] ; [24] ; [25] ; [26]**

Le « **ranomena** » est un liquide obtenu par la distillation sèche des os secs dégraissés. C'est un produit à forte odeur empyreumatique et piquante, très forte surtout à l'état pur, liquide miscible à l'eau. Ce liquide rougeâtre, à toucher gras, est couramment utilisé en médecine traditionnelle humaine et vétérinaire.

#### **III-3-3) Production du « ranomena »**

##### **a) Technique de production. [25]**

##### **i) Traitement préliminaire de la matière première.**

Les os bien débarrassés des morceaux de chair, de graisse ou de moelle adhérente, sont coupés en petits morceaux et mis à bouillir dans l'eau.

Après refroidissement. On enlève, à l'aide d'une cuillère, les matières grasses qui surnagent. Ceci fait, les os sont retirés et mis à sécher au soleil pendant quelques jours.

Notons que dans cette préparation, on n'emploie que des os durs.

### ii) Description de l'appareil de distillation.

L'alambic, dans sa forme primitive, est constitué par une marmite en terre munie à sa partie supérieure un tuyau à l'intérieur duquel un cylindre creux bouché à ses deux extrémités. Ce cylindre sert de réfrigérant

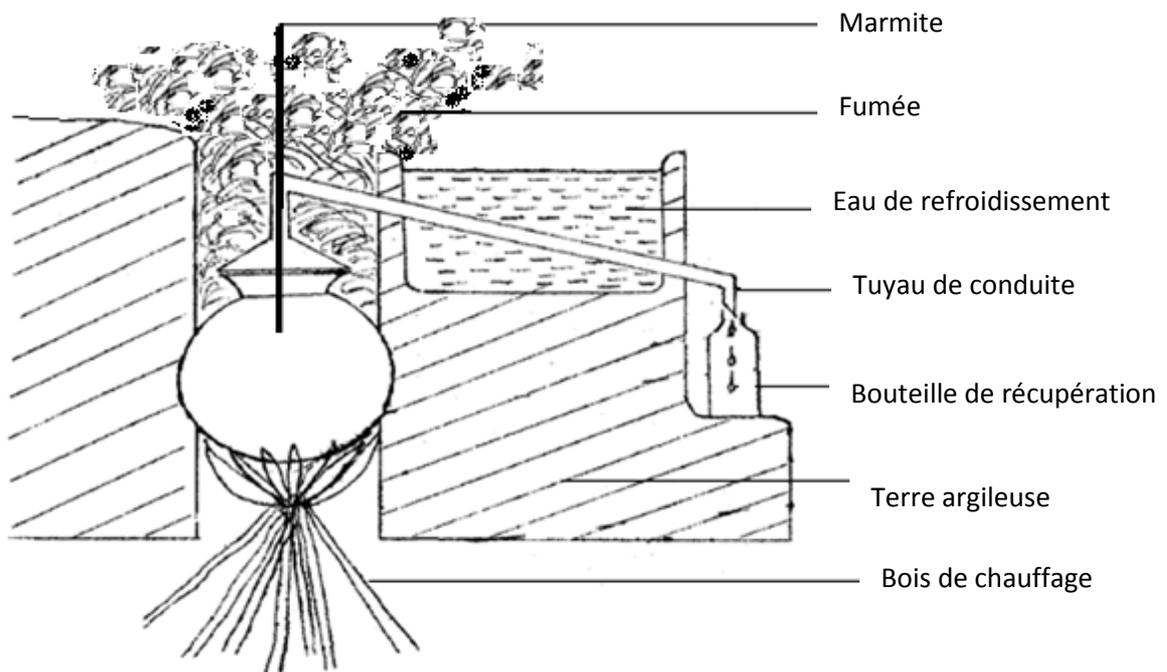
On a pratiqué à sa partie inférieure, un autre trou pour la vidange. L'eau doit être remplacée au fur et à mesure qu'elle s'échauffe, afin de faciliter la condensation des vapeurs sortant de l'alambic.

### iii) Obtention artisanale du « ranomena ».

Après dessiccation, les os sont introduits dans la marmite ; on place le couvercle qui est attaché solidement et on boucle soigneusement tous les joints avec de l'argile.

La marmite est chauffée fortement au début, mais dès que les premiers gouttes apparaissent à l'extrémité du réfrigérant, le chauffage est ralenti afin que le distillat, que l'on recueille dans une bouteille, y tombe goutte à goutte. Ce point est important, car la qualité du produit en dépend.

Au cours de cette distillation, on obtient d'abord un liquide clair qui constitue le « ranomena », et ensuite une fraction huileuse, de couleur noire, à fluorescence verte, appelée « Faikandranomena » (résidu du « ranomena »)



**Figure 11 :** Schéma types d'un appareil de production artisanale du « ranomena ».

#### iv) Caractère physique du « ranomena ».

Par simple décantation, on sépare les deux phases (aqueuse et huileuse). Le « **ranomena** » liquide de couleur jaune pâle, possède une odeur suffocante. A la sortie de l'alambic, le « **ramonena** » est de couleur jaune pâle, mais celle-ci devient rouge en vieillissant, d'où son nom qui signifie « eau rouge ».

#### b) Utilisation

##### i) En médecine traditionnelle. [27] ; [28]

C'est un médicament à usages multiples, on l'emploie surtout comme remède sédatif, notamment dans les céphalées. Mais elles sont considérées, dans les milieux populaires, comme de véritables panacées.

Théoriquement, leur emploi doit être externe. Voici, à titre d'exemples, quelques recettes couramment utilisées :

- **Maux de têtes** : se masser le cou et les tempes avec un mélange du « **ranomena** » et de feuilles pilées de *Taimborontsiloz* « *chenopédium Ambrosioides* ».

Ou : Etant assis, se couvrir avec un drap ; placer devant soi une bêche portée au rouge, puis on fait tomber dessus une cuillerée du « **ranomena** » et on inhalera les vapeurs formées.

- **Maux de dents** : introduire dans la dent cariée un tampon de coton imbibé de « **ranomena** ».

Prendre une cuillerée à café d'un mélange, à volume égal, du « **ranomena** » et de miel.

- **Bubons** : Application de cataplasme composé d'un mélange de « **ranomena** », farine de riz et piment rouge.

- **Tuberculose** : prendre tous les matins, à jeun, une cuillerée à café de « **ranomena** » dans un verre d'eau.

- **diarrhée sanguinolente** : « **ranomena** » + tabac.

Pour enfant (> 5ans) : ½ cuillère à thé (**ranomena**) + 1 pincée de tabac.

Pour adulte : 1 cuillère à thé + 1 cuillère thé de tabac.

- **Grippe.** : En 1919, une terrible épidémie de grippe fit des ravages à Madagascar. Dès que la maladie fut déclarée, le « **ranomena** » entra en jeu.

Verser du « **ranomena** » goutte à goutte dans le nez.

- **Toux sèche** : surtout pour l'enfant, ½ cuillère à thé « **ranomena** » + ½ huiles de coco.

Bien mélanger puis se masser la poitrine et le dos.

- **Poliomyélite** : Dès l'apparition de la poliomyélite, plusieurs formules à base de « **ranomena** » ont été lancées dans la pharmacopée clandestine ; voici l'une des plus employées :

### **A**

Feuille de *datura stramonium* et feuille de *chénopodium Ambrosioides* (Mélange à partie égale ; piler et presser pour en retirer le jus).

### **B**

- Ranomena ..... 1 cuillère à café.
- Pétrole ..... 1 cuillère à café.
- Crétyl..... 1 cuillère à café
- 2 gousses d'ail.

Mélanger intimement **B** avec deux cuillérées à soupe de **A** et masser les parties atteintes avec le produit obtenu.

**ii) Dans le domaine de l'agriculture : le « ranomena » est utilisé en tant qu'insecticide.** [29] ; [30].

Plusieurs recherches ont été établies sur la valeur nématocide du « **ranomena** ». D'une part, **Razafindramamba** [29] expose son étude que le « **ranomena** » possède une forte activité dans la lutte contre l'*anguillulose* du riz, et d'autre part **Ratsimbazafy H.** [30] affirme que le résidu du « **ranomena** » est très efficace pour la lutte contre les vers blancs (*Hétéronychus*).

L'étude révèle que, parmi les 14 produits préconisés dans le monde rizicole pour le traitement de cette maladie, le « **ranomena** » présente une meilleure valeur nématicide, il est classé deuxième devant la pyridine.

Par ordre décroissante d'activité, on note : 1- Pyridine ; 2- ranomena ; 3- créosote ; 4- ammoniacque ; 5- essence de girofle ; 6- essence de *chènopodium* ; 7- essence de niaouli ; 8- feuilles de pécher ; 9- eugénol ; 10- racine de riz ; 11- goyavier ; 12- feuille de manioc ; 13- essence d'*eucalyptus* ; 14- sorgho.

Pour déterminer l'activité de ces produits, l'auteur a normalisé les doses employées : 4 gouttes pour 5 ml d'eau, en ce qui concerne les produits liquides et 20g de plantes fraîches pour toutes les plantes, cette quantité correspond à peu près à 4 gouttes d'essence.

### III-3-4) Composition chimique du « **ranomena** ». [27]

La distillation des matières *albuminoïdes* et des *colloïdes*, de toutes les matières animales azotée, donne entre autres produits des composés ammoniacaux. Le docteur SALVAT indique comme composants du « **ranomena** » :

- *L'ammoniaque et le carbonate d'ammonium*

Le « **ranomena** » additionné avec l'eau de chaux donne un précipité blanc de carbonate de chaux, et que le gaz produit lors de la distillation du « **ranomena** » en présence de la magnésie bleuit le papier rouge de tournesol, puis reçu dans le réactif de Nessler, il donne la coloration et le précipité caractéristique de la présence de l'ammoniaque.

Le « **ranomena** » contient de l'ammoniaque, de l'acide carbonique, et très certainement une grande partie de la combinaison des deux qui sont des carbonates d'ammonium.

A part ce carbonate d'ammonium, il a découvert d'autres constituants peu abondants :

- *Mono et di et triméthylamines.*
- *Un alcaloïde animal de la putréfaction ou Ptomaïne.* (exemple : *Le pyrrole*)
- *Alcool méthylique* (traces).

Il est d'ailleurs très probable que ces substances ne soient pas les seuls constituants du « **ranomena** » qui est un produit extrêmement complexe.

**a) Propriétés physico-chimiques des constituants du « ranomena ».**

Le tableau ci-après nous renseigne les propriétés physico-chimiques de l'ammoniaque et ses dérivés.

**Tableau 10 :** Caractéristique Physico-chimique des constituants du « **ranomena** ».

<b>Constituants</b>	<i>Ammoniaque</i> (25%)	<i>Méthylamine</i> (Solution aqueuse à 40%)	<i>Diméthylamine</i> (solution aqueuse à 40%)	<i>Triméthylamine</i> (solution aqueuse à 50%)	<i>Pyrrole</i>
<b>Caractéristique</b>					
<i>Densité</i>	0,91 g/cm <sup>3</sup>	0,90g/cm <sup>3</sup>	0,86g/cm <sup>3</sup>	0,85g/cm <sup>3</sup>	0,97g/cm <sup>3</sup>
<i>Température d'inflammation</i>	-	425°C	415°C	250°C	550°C
<i>Point de fusion</i>	-57,5°C	40°C	-40°C	-2°C	-24°C
<i>Point d'ébullition</i>	37°C	54°C	54°C	30-100°C	130-131°C
<i>Point éclair</i>	-18°C	-18°C	-18,5°C	-45°C	39°C
<i>Solubilité</i>	Dans H <sub>2</sub> O	Dans H <sub>2</sub> O (20°C)	Dans H <sub>2</sub> O (20°C)	Dans H <sub>2</sub> O (20°C)	Dans H <sub>2</sub> O 60g/l (20°C)
<i>Dose létale</i>	DL 50 oral rat 350mg/kg	DL 50 oral rat 698 mg/kg	DL 50 dermal rat 3900mg/kg	DL 50 oral rat 500mg/kg	DL 50 oral rat 137mg/kg
<i>Corrosivité</i>	corrosif	corrosif	corrosif	corrosif	corrosif

### III-3-5) Toxicité du « ranomena ». [27]

Pour déterminer la toxicité de ce produit, docteur Salvat [27] a réalisé des expériences physiologiques sur 3 groupes d'animaux.

#### 1) Expérience avec le Lapin

Introduction d'une solution du « **ranomena** » à l'aide d'une pipette, goutte à goutte dans le fond de la bouche d'un lapin. Au cours de cette expérience, il a observé, presque à chaque goutte, une sorte de spasme de la glotte puis bien vite, une écume sanguinolente dans la gorge et le nez. Le lapin meurt après avoir présenté quelques secousses convulsives des quatre membres et des contractions saccadées du diaphragme suivies d'arrêt brusque. Deux autres lapins sont tués de la même façon, comme par « Suffocation ».

#### 2) Expérience avec des Cobayes.

Des expériences analogues effectuées sur des cobayes, à des doses différentes, ont également provoqué la mort, après introduction du produit par la bouche, à l'aide d'une pipette, ou directement dans l'estomac au moyen d'une sonde en caoutchouc.

#### 3) Expérience avec des grenouilles

- Huit grenouilles reçoivent les unes dans la bouche, les autres sous la peau du dos. Du « **ranomena** » dilué au tiers dans de l'eau distillée, à des doses variant de 3 à 6 gouttes du mélange ; toutes meurent plus ou moins rapidement.

Le Dr Salvat conclut, sans hésitation, à la toxicité du « **ranomena** » pour les animaux et l'organisme humain, plus particulièrement pour les tous jeunes enfants. Administré soit directement dans l'estomac, soit par la bouche, il affirme que le « **ranomena** » est toxique, même à petite dose et que ce produit est presque rapidement mortel.

### III-3) Utilisation des sous produits. [12] ; [13] ; [14] ; [30]

#### III-3-1) Sous produits de pyrolyse de bois

Le sous produits de pyrolyse de bois est utilisé en :

##### a) *Charbon de bois.*

Une température de carbonisation basse donne un rendement plus élevé en charbon de bois. Un bon charbon de bois commercial doit avoir une teneur en carbone pur d'environ 75%.

##### b) *Charbon actif*

On peut appliquer une opération d'activation du charbon issu de la pyrolyse pour obtenir du charbon actif qui est un produit très employé dans divers domaines de la chimie (Élimination des éléments toxiques en traitement des eaux, décoloration des huiles alimentaire, dechlorophyllation des extraits de plante etc.....).

#### III-3-2) Utilisation de sous produits de pyrolyse des os

##### a) *Résidu du « ranomena » (Faikan-dranomena) [14]; [31]*

Cette fraction constitue le goudron d'os appelé aussi huile animale de Dippel, sa composition a été étudiée par **Weidel** et **Ciamician**. Il contient des dérivés azoté, dont les principaux sont des nitriles d'acide gras (butyrique, valérique, caproïque, octylique, palmitique, stéarique), pyrrole et homologue, des carbures d'hydrogène, pyridine et dérivés. Le « **faikan-dranomena** » est utilisé par les autochtones comme médicament contre les affections cutanées ; on l'emploie également pour les soins de la chevelure et en friction, contre la fièvre.

##### b) *Utilisation des sous produits (charbons d'os). [12]*

###### i) **Engrais.**

Après broyages du résidu d'os calciné (à 800°C), on obtient le « Phosphate d'os » ou « Engrais phosphaté simple ». Cet engrais contient :

- 4,5% d'azote au minimum,
- 26 – 29% de phosphate sous forme tricalcique,
- 34% de chaux vive (CaO).

Cet engrais peut être utilisé en rizière à raison de 300 à 600 kilogrammes par hectare au moment du labour et du piétinage.

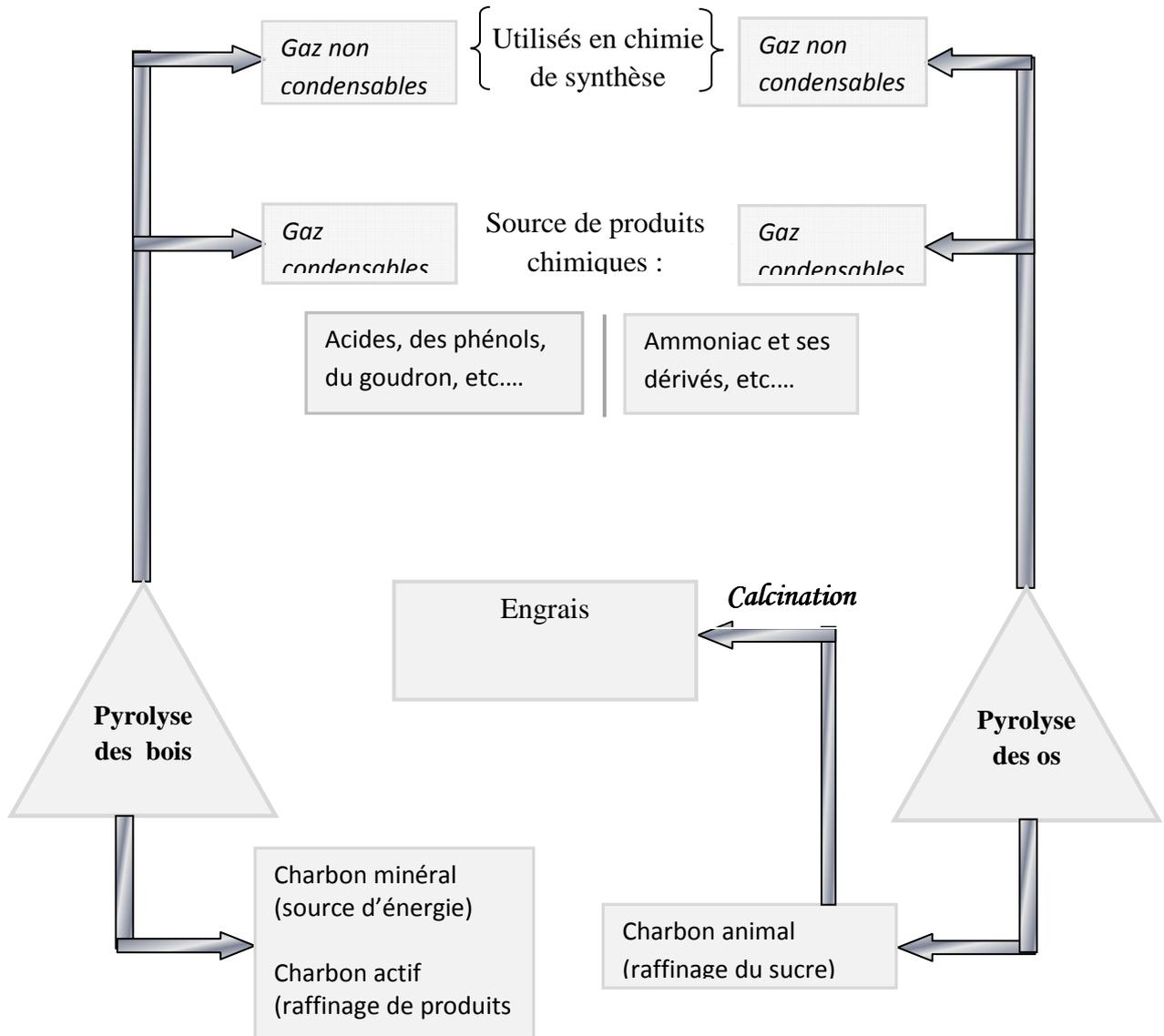
Pour toute culture, il est employé comme fumure de fond.

#### **ii) En raffinage.**

En dernier lieu, on peut dire que, le noir animal ou le charbon d'os possède la propriété remarquable d'absorber les matières colorantes d'origine organique, d'où son emploi dans le raffinage du sucre et la décoloration de certain liquide.

Si l'on agite pendant quelques instants le vin rouge avec du noir animal (broyé), on obtiendra, après avoir filtré, un liquide incolore.

En résumé, on peut rassembler sous forme de schéma les diverses utilisations des produits de pyrolyse



**Figure 12 :** Schéma récapitulatif d'utilisation des produits de pyrolyse

---

**Deuxième partie : ETUDES EXPERIMENTALES  
DE LA PYROLYSE**

---

## **Chapitre I: Appareillages**

### **I-1) Conception de l'appareil**

L'appareil que nous avons confectionné est une unité mobile pour une étude au laboratoire. Sa conception est inspirée à partir d'une unité de production (ranomena) artisanale. Il est destiné tout simplement pour la pyrolyse ou carbonisation en vase clos de biomasse. Elle est fabriquée à partir d'une bouteille à gaz usagé, de tôle noire et acier inoxydable.

### **I-2) Système de chauffage.**

L'énergie utilisée est le charbon du bois, car celui-ci est une source d'énergie universelle possédant avec un fort pouvoir calorifique allant de 7.000 à 7.500kcal/kg.

L'avantage du charbon de bois, ce que, il brulerait lentement, ce qui permet de contrôler la température du chauffage car l'opération que nous avons réalisé ne demande qu'une température inférieure à 500°C : C'est-à-dire une pyrolyse lente.

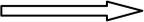
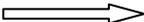
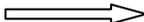
### **I-3) L'appareil.**

L'appareil de distillation est composée d'alambic et un condenseur des gaz condensables.

*a) l'alambic* : C'est cuve de chargement de matière première.

La dimension et la caractéristique de l'alambic sont rassemblées ci-après.

#### **❖ Dimension.**

- **D** : Diamètre  **24cm.**
- **H** : Hauteur.  **36cm**
- **e** : Epaisseur.  **1cm**
- **R<sub>i</sub>** : Rayon intérieur  **11cm**
- **R<sub>e</sub>** : Rayon extérieur :  **12cm**

#### **❖ Caractéristiques.**

- Capacité de l'alambic en sciure de bois : environ :  $2,5 \cdot 10^{-3} m^3$
- Capacité en os découpé : environ  $6 \cdot 10^{-3} m^3$

- Surface :  $S = \Pi \cdot (R_i)^2 = 3.14 \cdot (11)^2 = 379.94 \text{cm}^2 = 0,038 \text{ m}^2$
- Volume:  $V = S \cdot H = 379.94 \cdot 36 = 13677.84 \text{cm}^3 = 0.013 \text{ m}^3$ .

### b) Condenseur.

#### ❖ Description

Un échangeur de chaleur est un système qui permet de transférer un flux de chaleur d'un fluide chaud à un fluide froid à travers une paroi sans contact direct entre les deux fluides.

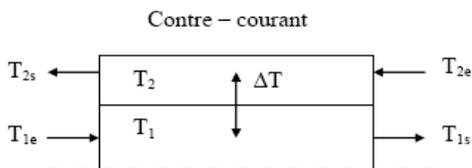
Notre échangeur est constitué de deux tubes cylindriques coaxiaux (échangeur tubulaire simple), dont la partie centrale est matérialisée en acier inoxydable.

#### ❖ Principe de fonctionnement.

Un fluide (généralement chaud) circule dans le tube intérieur, l'autre compris entre les deux tubes. Le transfert de chaleur du fluide chaud au fluide froid s'effectue à travers la paroi que constitue le tube intérieur.

Selon la loi de la conservation de l'énergie. La quantité de chaleur cédée par la vapeur doit être égal à la quantité de chaleur absorbée par le réfrigérant,

$$Q_R = Q_C$$



$Q_C$  : Quantité de chaleur cédée par la vapeur chaude.

$Q_R$  : Quantité de chaleur absorbée par le réfrigérant.

Avec :

$$Q = q_1 \cdot c_{P1} \cdot (T_{1e} - T_{1s}) = q_2 \cdot c_{P2} \cdot (T_{2s} - T_{2e})$$

[ 1 ]

$q_1$  : débit volumique de la vapeur produite

$q_2$  : débit volumique de l'eau de refroidissement. (38kg/h)

$c_{P1}$  : capacité spécifique de vapeur produite.

$c_{P2}$  : chaleur spécifique massique de l'eau. (1.009kcal/kg.°C)

$T_{1E}$  = Température d'entrée du vapeur.

$T_{1S}$  = Température de sortie du condensat. (34°C)

$T_{2E}$  = Température d'entrée d'eau. (20°C)

$T_{2S}$  = Température de sortie d'eau. (37°C)

Au cours de l'échange de chaleur entre le réfrigérant et la vapeur chaude, on constate que, la vapeur se condense et l'eau de refroidissement s'échauffe.

Puisque la température d'entrer du vapeur et le débit volumique de la vapeur produite restent inconnues, alors on n'a pas pu calculer la quantité de chaleur cédée par le vapeur chaud. Par ailleurs, en se référant sur la valeur de la quantité de chaleur absorbé par le réfrigérant, et aussi en suivant la loi de la conservation de l'énergie,  $Q_C$  est alors sensiblement égal à **651,81Kcal/h**.

$$Q_C = Q_R = q_2 \cdot c_{p2} \cdot (T_{2s} - T_{2e}) = 38 \cdot 1,009 \cdot (37 - 20) = 651.81 \text{Kcal/h}$$

#### **I-4) Choix des matériaux.**

##### **a) Alambic**

L'alambic ou cuve de chargement de matière première est confectionné à partir d'une bouteille à gaz de 1cm d'épaisseur. Nous avons choisi cette bouteille à gaz, car celle-ci résiste à la chaleur nécessaire à la réaction de pyrolyse.

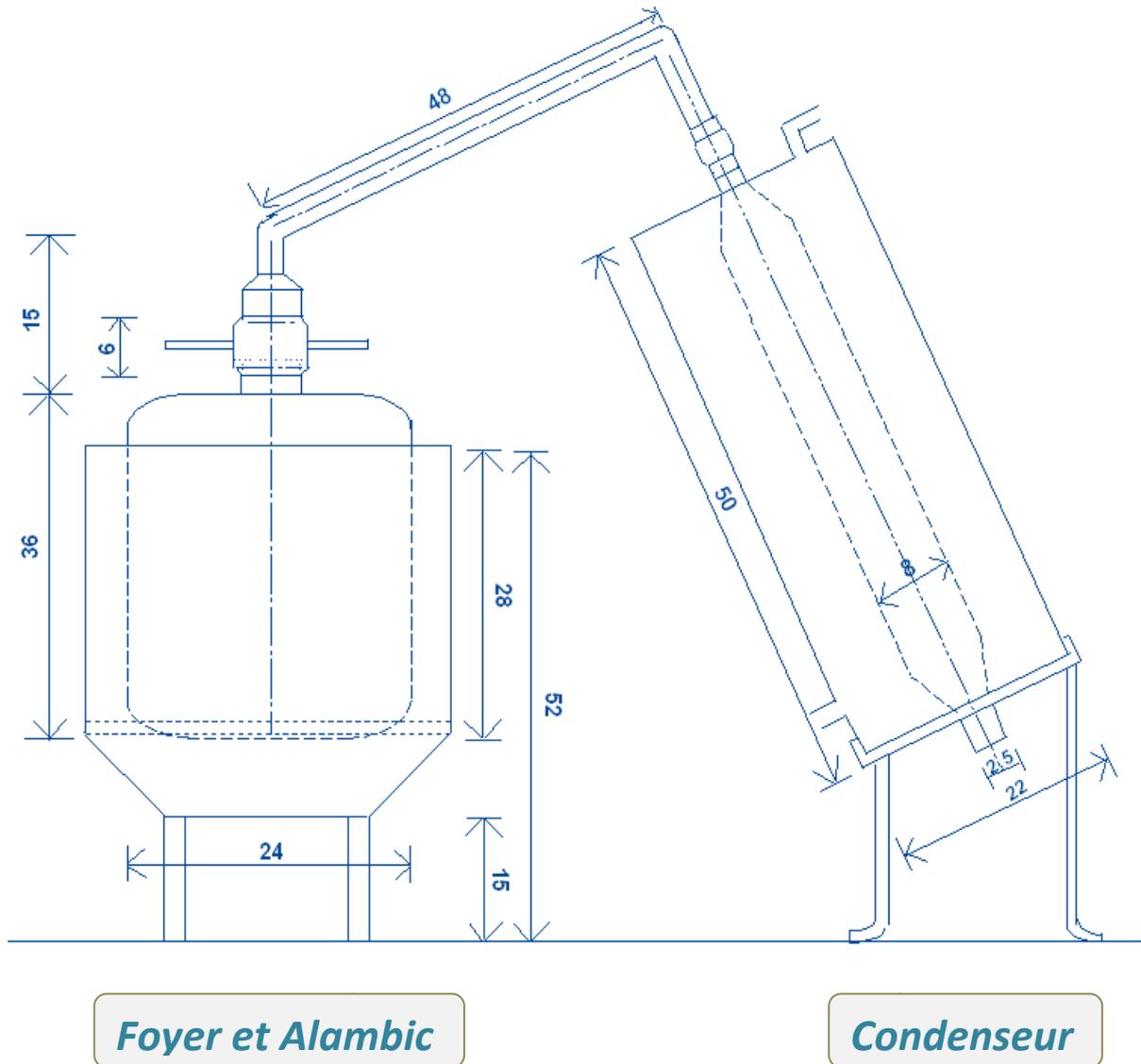
##### **b) Réfrigérant**

Pour le réfrigérant, nous avons choisi, comme matériaux de l'acier inoxydable. Ce choix étant pris, pour qu'il n'y ait pas de réaction entre le liquide de pyrolyse avec le réfrigérant.

##### **c) Foyer**

Le foyer est conçu à partir des tôles noires.

**I-5) Dimension de l'appareil (unité en cm)**



**Figure 12 :** Dimension de l'installation.

### I-6) Schéma de l'installation.



***Figure 13*** : schéma de l'appareil de pyrolyse.

## **Chapitre II : Essais de la pyrolyse.**

### **II-1) Généralité**

Du point de vue technique, la carbonisation est la transformation d'une substance organique en charbon sous l'effet de la chaleur, tandis que, la **pyrolyse**, est la décomposition d'un corps organique par la chaleur pour obtenir de liquide pyrolytique.

- La pyrolyse des bois donnent à la fois du charbon de bois et du liquide pyrolytique contenant des composés chimiquement valorisable, tel que : les hydrocarbures, l'acides acétique, et des produits phénoliques,....
- La pyrolyse des os donne d'une part de noir animal ; utilisé parfois comme engrais, provende et d'autre part du « **ranomena** » ; utilisé en médecine traditionnelle malgache.

Nous avons mené nos expériences en premier lieu avec la sciure de bois et en deuxième lieu avec des os de zébus restant de la consommation humaine.

### **II-2) Pyrolyse des bois.**

#### **II-2-1) Présentation de la matière première.**

Il s'agit alors de valoriser des sous produits de l'industrie de bois. On a choisi comme matière première la sciure d'eucalyptus en raison de son fort taux en lignine par rapport aux autres essences (pinus, etc....). Ainsi, cette forme en sciure facilite la conversion pyrolytique.

D'après la mesure des différentes particules, on prend en moyenne comme diamètre de sciure allant de 30 à 50mm environ et d'épaisseur environ 1mm

## II-2-2) Résultats d'essais de la pyrolyse.

### a) Essais de pyrolyse de sciures de bois

#### i) Expériences

Pour la pyrolyse de bois, nous avons fait 3 essais pour la même matière première, on a :

Essais	masse
- Essais n° 1	500 g
- Essais n°2	1500 g
- Essais n°3	2500 g

Au cours de ces 3 essais, nous allons mètre au point sur la température de conversion, et la vitesse de chauffage

**Tableau 11** : résultat d'essais de pyrolyse des bois.

Dates d'essais	Essais n°1			Essais n°2			Essais n°3		
	9/12/2008			10/12/2008			11/12/2008		
T° en °C	Durée (mn)	Masse (g)	Volume (ml)	Durée (mn)	Masse (g)	Volume (ml)	Durée (mn)	Masse (g)	Volume (ml)
75 °C	1 <sup>ere</sup> gouttes	1 <sup>ere</sup> goutte	1 <sup>ere</sup> gouttes	1 <sup>ere</sup> gouttes					
75-100	33	90	89	48	290	284	50	366	361
100-150	65	62	61	87	204	200	90	280	277
150-200	75	55	52	106	84	82	113	110	97
200-250	88	31	26	124	76	75	137	78	80
250-275	94	10	8	140	44	37	149	45	42
275-300	98	7	7	149	20	22	156	35	33
300-325	107	7	7	-	-	-	-	-	-
325-350	-	-	-	155	17	18	176	20	18
350-375	-	-	-	-	-	-	193	18	19
<b>Totaux</b>	<b>1h 47mn</b>	<b>262g</b>	<b>253ml</b>	<b>2h 35mn</b>	<b>737g</b>	<b>718ml</b>	<b>3h 13mn</b>	<b>951g</b>	<b>945ml</b>
%		52,4%			49,13%			37,8%	
résidu		162g			504,5g			670,2	
%		32,5%			33,53%			33,6 %	

La température et la durée de l'opération sont les principaux paramètres qui influent à la conversion pyrolytique.

➤ **Au niveau de la température.**

La première goutte débute à 75°C et la formation des produits de pyrolyse s'arrête entre 325°C et 375°C. Donc on conclut que la pyrolyse est lente. Enfin, on peut dire que le taux de condensat diminue en fonction de la montée de la température.

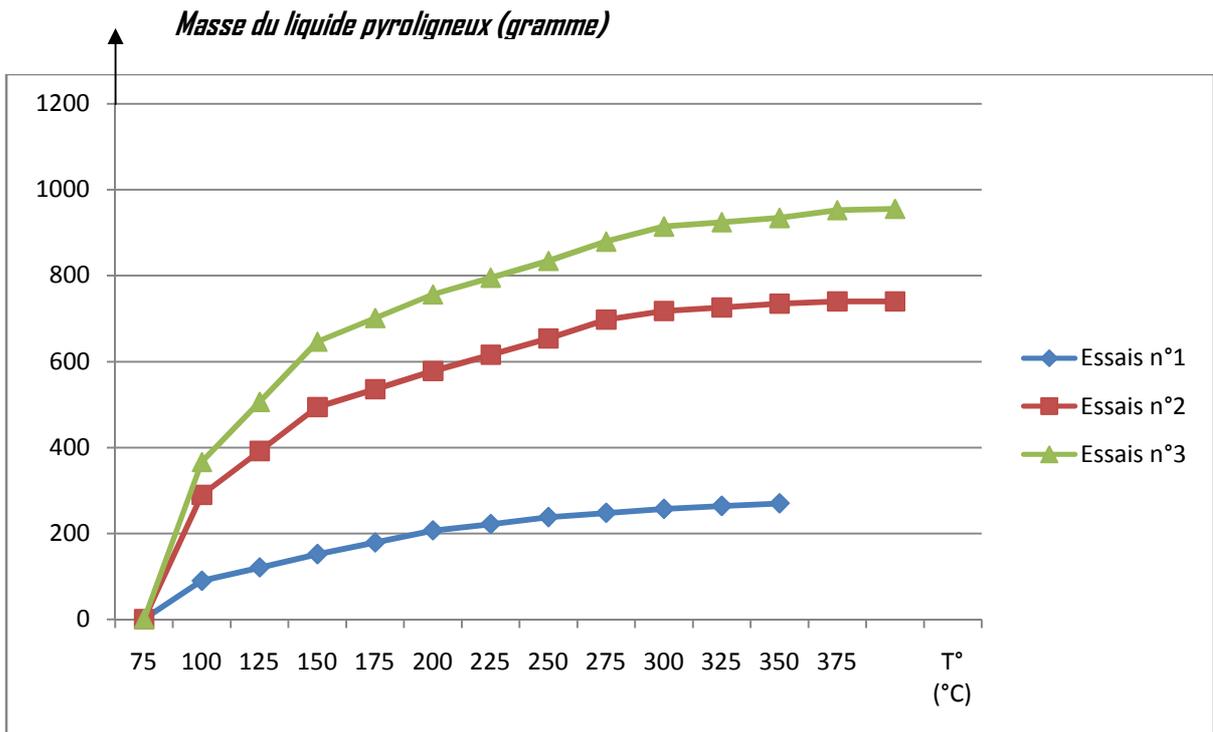
➤ **Au niveau de la durée de l'opération.**

Le temps de conversion est généralement long : c'est le cas de la pyrolyse lente. Il y a une interdépendance entre la durée de pyrolyse et la quantité de matière première. Plus la quantité de sciure augmente, plus le temps de conversion augmente lui aussi.

➤ **Au niveau de la matière première**

On remarque que quand la quantité de la matière première diminue, le rendement augmente. Le pourcentage du pyroligneux varie entre 37% à 53%

On donne ci-après la représentation graphique de la masse du pyroligneux en fonction de la température de conversion.



**Figure 14 :** Courbe indiquant la masse du produit de pyrolyse de bois en fonction de la température de conversion.

De cette courbe (en combinée avec le tableau), on aperçoit que lorsque la quantité de matière première augmente, la température de conversion augmente lui aussi. Et que le rendement du pyroligneux est limité par la quantité de la matière première. Généralement, en diminuant la quantité de la matière première, on obtient de meilleur rendement.

Dans notre cas, c'est l'essai n°1 qui nous permet d'obtenir le meilleur rendement.

Il est à noter que, le rendement du pyroligneux est lié avec la température de conversion et la durée de carbonisation. En effet, la basse température favorise la conversion incomplète.

### **b) Calcul de rendement du liquide pyroligneux produit.**

Le rendement est déterminé par le rapport entre la masse du pyroligneux et la masse de la matière première, selon la formule suivante :

$$\eta = \frac{m_{\text{pyroligneux du bois}}}{m_{\text{matière première}}}$$

Application numérique :

$$\eta = \frac{262+737+945}{500+1500+2500} = \frac{1944}{4500} = 0.432$$

Soit :  $\eta = 0,432$

Le rendement de pyroligneux du bois *d'eucalyptus sp.* produit est de 0,432

## II-3) Pyrolyse des os

Les os utilisés sont des déchets restant de consommation humaine ; ces os sont à la fois dégraissés et découpés en petits morceaux ; ce qui facilite aussi la pyrolyse.

### II-3-1) Prétraitement de la matière première

#### a) avant l'opération.

Pour obtenir un produit de qualité, il faut respecter les modes de préparation. Voici alors les différentes étapes :

- Triage des os (seuls les os durs sont acceptés).
- Enlèvement des morceaux de chair, et de moelle adhérente.
- Découpage en petits morceaux (ce qui facilite la dégradation de l'ossein).
- Dégraissage dans de l'eau bouillante
- Séchages : ce qui a pour effet d'enlever l'eau.

#### b) durant la pyrolyse.

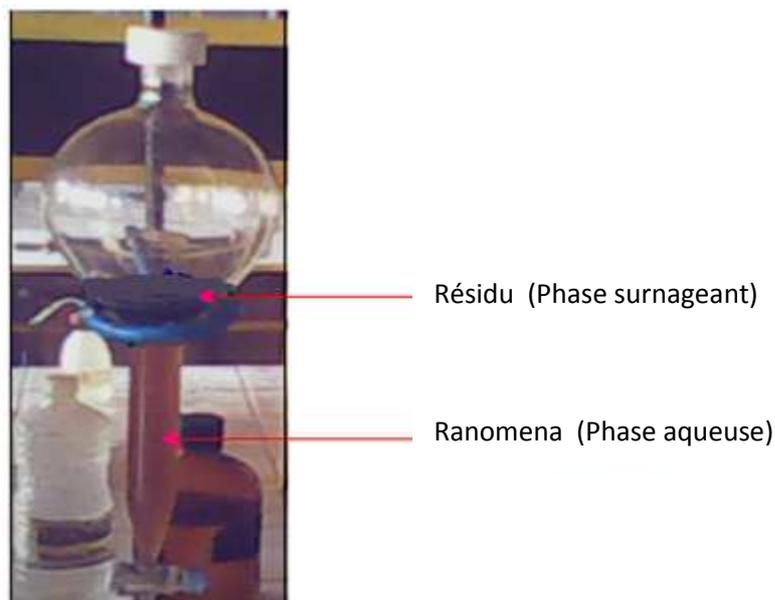
Après séchage, les os découpés sont introduits dans l'alambic. Ce dernier doit être fermé hermétiquement pour minimiser l'action de l'oxygène de l'air.

Au début de la cuisson, la cuve est chauffée à fond, mais dès qu'il sort un peu de liquide, le chauffage est ralenti pour que le distillat, que l'on recueille, y tombe goutte à goutte.

Au début de la distillation sèche des os, on recueille d'abord un liquide jaune clair qui constitue le « **ranomena** », et celui-ci devient rouge en vieillissant. Après quelques temps, il se forme une phase huileuse de couleur noire et une phase aqueuse qui constitue le « **ranomena** », et qui est conventionnellement vendu au marché.

**c) Séparation des produits.**

Après distillation, on fait la séparation par simple décantation des deux phases, la phase aqueuse, la plus dense (couleur rouge) qui constitue le « **ranomena** », et celle la moins dense surnageant, de couleur noire. Cette dernière est appelée : le résidu du « **ranomena** ».



**Figure 15** : Séparation des produits : le « **ranomena** » et la phase huileuse à l'aide d'une ampoule à décanter.

## II-3-2) Résultats d'essais

### a) Expériences.

Essais	masse
- Essais n° 1	1500 g
- Essais n°2	2500 g
- Essais n°3	3500 g

Voici alors le tableau montrant le résultat des 3 essais en fonction de température et de durée de l'opération.

**Tableau 12** : Résultat d'essais de pyrolyse des os

T°	Essais n°1			Essais n°2			Essais n°3		
dates	15/12/2008			16/12/2008			18/12/2008		
T° en °C	Durée (mn)	Masse (g)	Volume (ml)	Durée (mn)	Masse (g)	Volume (ml)	Durée (mn)	Masse (g)	Volume (ml)
75 °C	1 <sup>ere</sup> gouttes								
<b>75-100</b>	33	145	139	40	260	252	44	347	337
<b>100-150</b>	54	130	124	70	211	206	85	260	253
<b>150-200</b>	80	138	125	86	194	189	112	166	159
<b>200-250</b>	11	121	117	106	180	175	132	143	137
<b>250-275</b>	135	40	39	122	91	87	172	333	322
<b>275-300</b>	142	15	14	137	42	41	191	128	121
<b>300-325</b>				195	22	21			
<b>325-330</b>							230	122	118
<b>330-350</b>									
<b>totaux</b>	<b>2h22mn</b>	<b>589g</b>		<b>3h15mn</b>	<b>999g</b>		<b>3h50mn</b>	<b>1457g</b>	
<b>%</b>		<b>39,26%</b>			<b>39,96%</b>			<b>41,62%</b>	
<b>résidu</b>		<b>815,5g</b>			<b>1420g</b>			<b>1622</b>	
<b>%</b>		<b>54,36%</b>			<b>56,8%</b>			<b>46,34%</b>	

De ce tableau, on peut remarquer que :

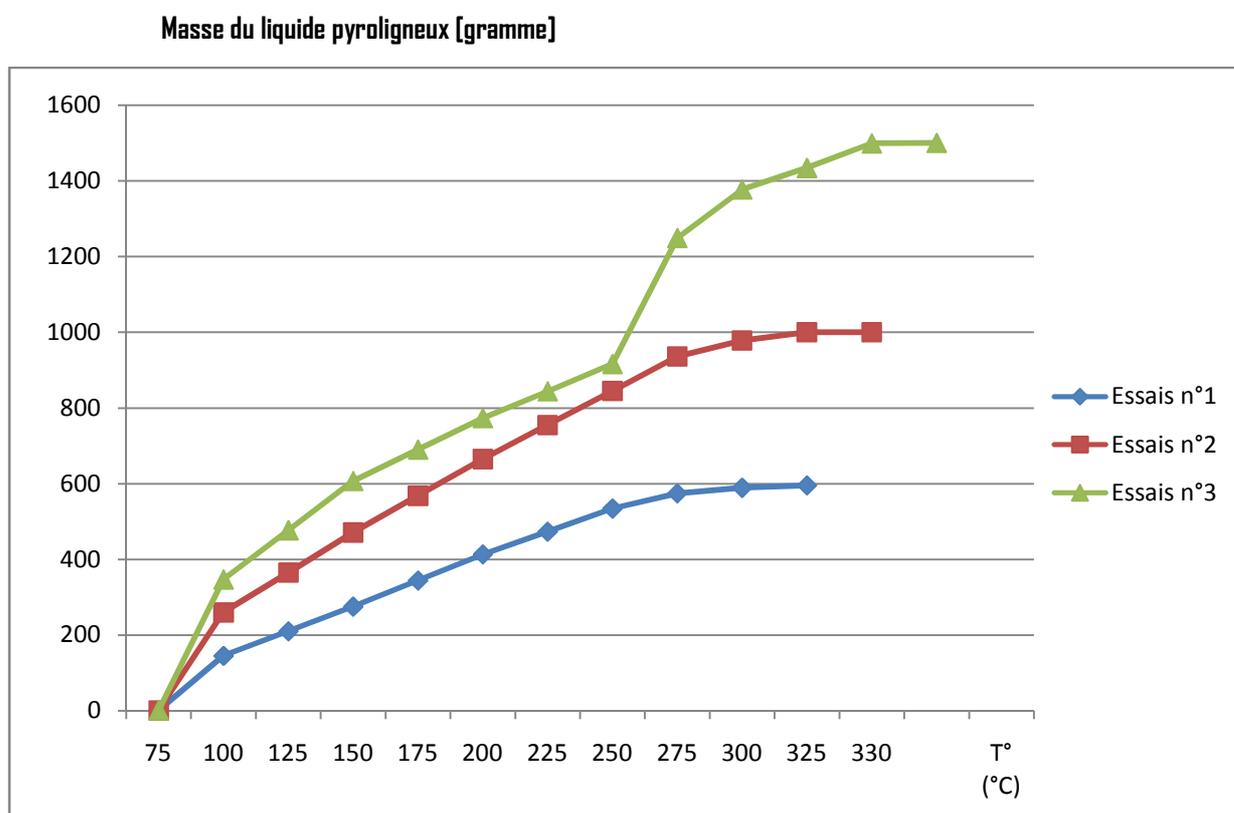
❖ **Au niveau de la température.**

A 75°C, il y a une apparition de la première goutte. La température de pyrolyse ne dépasse pas le 325°C.

❖ **Au niveau de la durée de l'opération.**

La durée de pyrolyse est généralement longue.

On peut représenter ce tableau par un graphique traduisant la masse du « **ranomena** » en fonction de la température de conversion.



**Figure 16 :** Courbe représentative de la masse du liquide pyroligneux d'os en fonction de la température de conversion.

De cette courbe (ou tableau), comme celle de la pyrolyse du bois, on aperçoit de même que lorsque la quantité de matière première augmente, la température de conversion augmente aussi. Par contre ce qui la différencie c'est que, en augmentant la quantité de la matière première, on obtient de meilleur rendement. Ceci peut être dû à la durée de

l'opération c'est-à-dire, dans notre cas, le troisième essai nous fournit le meilleur rendement.

On peut dire dans ce cas que le rendement en liquide pyroligneux dépend de la durée de carbonisation.

### II-3-3) Rendement du pyroligneux d'os produit.

Le rendement est le rapport entre la masse du liquide pyroligneux condensable et la masse de la matière première.

$$\eta = \frac{m_{\text{pyrolygneux des os}}}{m_{\text{matière première}}}$$

1<sup>ère</sup> essais :

$$\eta_1 = \frac{589}{1500} = 0,39$$

2<sup>ème</sup> essais :

$$\eta_2 = \frac{999}{2500} = 0,40$$

3<sup>ème</sup> essais :

$$\eta_3 = \frac{1457}{3500} = 0,416$$

En moyenne on a :

$$\eta = \frac{589+999+1457}{1500+2500+3500} = \frac{3045}{7500} = 0.406$$

Soit :

$$\eta = 40.650\%$$

(Y compris le résidu du ranomena)

Après séparation des deux phases, on trouve :

**Le rendement du « ranomena » est de : 2800 g soit 37,350%.**

**Le rendement du résidu : 274 g soit 3,650%.**

## **Chapitre III : Etudes chimiques des produits de pyrolyse**

### **III-1) Etude chimique du liquide pyroligneux du bois.**

#### **III-1-1) Isolement de créosote à partir du liquide pyroligneux.**

Le liquide obtenu lors de la distillation sèche de bois contient des divers produits chimiques et surtout de l'eau : C'est l'eau de pyrolyse.

C'est un liquide de couleur rouge claire contenant à la fois du goudron et de créosote (acides carboxyliques et des dérivés phénoliques) à caractère acide pH = 3,12.

L'obtention de créosote débute par l'évaporation de l'eau et ensuite, on fait une opération d'extraction par le dichlorométhane comme solvant. Finalement, la créosote est obtenue par évaporation du solvant d'extraction.

##### ***a) Evaporation de l'eau.***

La solution après pyrolyse ne présente qu'une seule phase. Il est difficile de distinguer la phase organique à la phase aqueuse. Or, théoriquement on savait que plus de 30% en masse du produit de pyrolyse sont de l'eau. Cette eau devrait-être éliminée d'une façon ou d'une autre. D'ailleurs, la large différence entre le point d'ébullition de l'eau et des composés phénoliques facilite la séparation. Donc une évaporation sous vide à la température 80°C suffit pour éliminer l'eau. A l'issue de cette opération, on obtient de résidu visqueux de couleur rouge brunâtre, pesant **69,853g soit 1,13%**. Qui est le liquide pyroligneux.

##### ***b) Extraction de la créosote par solvant :***

Ce liquide résiduel ou liquide pyroligneux contient probablement des produits phénoliques (créosote) et aussi d'autres composés organiques non négligeables (goudron). En sachant que la créosote est plus polaire que le goudron, on peut extraire le premier du liquide pyroligneux par un solvant approprié. Pour ce faire, nous avons essayé 3 solvants à polarité croissante : l'*hexane*, le *diéthylether*, et enfin le *dichlorométhane*.

- **Choix de solvant.**

Le test sur les trois solvants donne les résultats suivants :

- Le test avec *l'hexane* est échoué.
- Avec le *diéthylether* ; il est partiellement soluble.
- Enfin avec le *dichlorométhane* ; l'opération est positive.

Nous avons pris alors le *dichlorométhane* comme solvant d'extraction de la créosote. Le résidu d'extraction après décantation est du goudron.

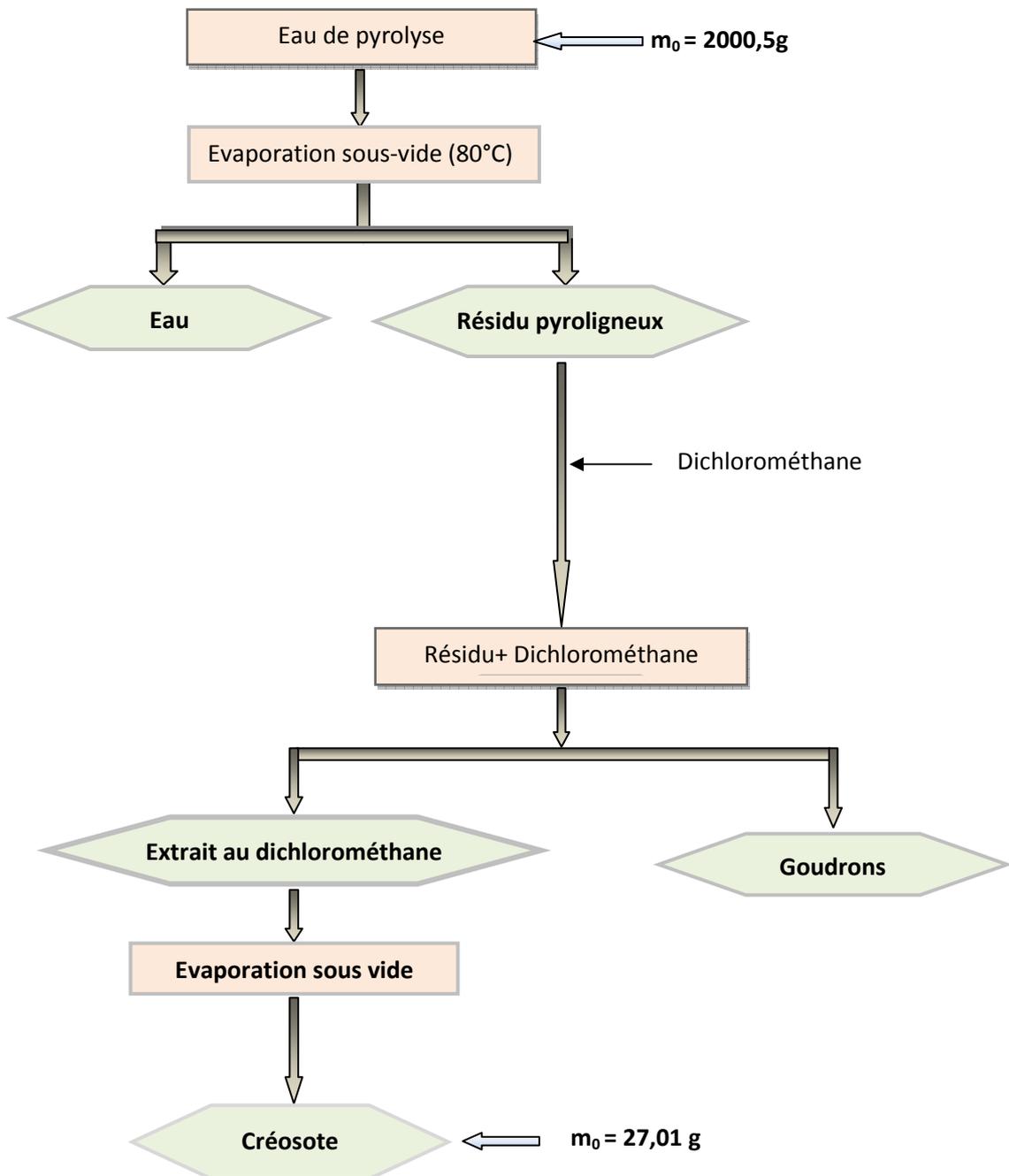
**c) Evaporation du solvant d'extraction.**

L'évaporation sous vide à 40°C de l'extrait dichlorométhanique nous donne le créosote de masse  $m = 27,010 \text{ g}$  soit **0,530%** de la masse de la matière première. D'autre part, on obtient du goudron

**d) Test aux réactifs révélateurs ( $\text{FeCl}_3$ ).**

Le  $\text{FeCl}_3$  est un réactif révélateur du phénol. Avec la présence de quelques gouttes de chlorure ferrique, la solution contenant du phénol devient de couleur verte, qui change rapidement en rouille.

Le flow-sheet de l'obtention de créosote à partir de l'eau de pyrolyse :



**Figure 17 :** Flow-sheet d'isolement de la créosote.

### III-1-2) Propriété physico-chimique de la créosote.

#### a) Densité.

La densité c'est le rapport entre la masse volumique du produit et celle de l'eau. Elle dépend en générale de la température.

#### b) Activité optique

Le pouvoir rotatoire, également appelé activité optique est la propriété qu'ont certains milieux de faire tourner le vecteur lumineux d'un faisceau lumineux la traversant. L'activité optique est mesurée à l'aide d'un polarimètre.

#### c) Indice de réfractions.

L'indice de réfraction varie avec la température de la mesure. Il augmente quand la température baisse

**Tableau 13 :** propriété physico-chimique de la créosote.

Paramètre	Valeur
Densité (d)	1,078
Pouvoir rotatoire ( $\alpha$ )	-1°
Indice de réfraction $I_r$	1,321

La créosote a une forte odeur empyreumatique. Il est un peu soluble dans l'eau, mais très soluble dans des solvants organique comme le dichlorométhane.

La densité du créosote est de 1,078, le test avec le chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) rend la solution de créosote en vert et qui change rapidement en rouille.

Le test d'activité optique d'une solution de 20g/l de créosote induisant une déviation de vecteur vers la gauche avec un angle  $\alpha = -1^\circ$  Donc ils sont qualifiés de lévogyre. Ce qui est le cas de gaïacol ou créosol. Enfin, l'indice de réfraction mesure  $I_r = 1,321$ .

**On peut dire dans ce cas que ces résultats confirment à la présence de la créosote.**

### III-2) Etude chimique des composants du « ranomena ».

#### III-2-1) Analyse qualitatives du « ranomena ».

##### a) *pH de la solution.*

Le pH sert à connaître la caractéristique de la solution.

##### b) *Indice de réfraction.*

Elle est mesurée à partir d'un réfractomètre

##### c) *Densité.*

La détermination de la densité se fait à partir de la norme NF ISO 6883

Voici le tableau montrant quelques caractéristiques physico-chimiques du « **ranomena** ».

**Tableau 14 :** Caractéristique physico-chimique du « **ranomena** ».

Paramètre	Valeur
<b>pH</b>	8,7
<b>(Indice de réfraction) <math>I_r</math></b>	1,3514
<b>(Densité) <math>d</math></b>	0,913

##### d) *Confirmation de l'état chimique de carbonate d'ammonium présent dans le « ranomena ».*

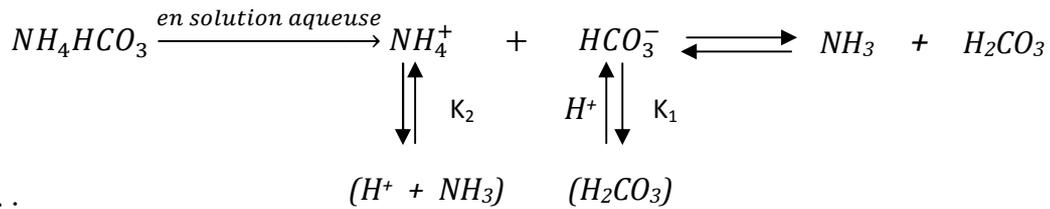
Il existe 2 formes de carbonate d'ammonium dont l'un c'est le carbonate acide (ou hydrogénocarbonate) de formule :  $(NH_4)HCO_3$  et l'autre carbonate neutre  $(NH_4)_2CO_3$ .

A l'aide de constante d'acidité, calculons le pH d'une solution de chacun des deux sels

- **Le pH de l'hydrogénocarbonate d'ammonium  $(NH_4) HCO_3$ .**

L'hydrogénocarbonate d'ammonium est un sel d'acide faible ( $H_2CO_3$ ) et d'une base faible ( $NH_3$ ).

Soit la réaction :



Avec :

$$k_1 = \frac{[\text{HCO}_3^-] \cdot [\text{H}^+]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} = 5,71 \cdot 10^{-10} \quad \text{et} \quad pk_2 = 9,24$$

$$k_2 = \frac{[\text{NH}_3] \cdot [\text{H}^+]}{[\text{NH}_4^+]} = 3 \cdot 10^{-7} \quad \text{et} \quad pk_1 = 6,52$$

L'hydrogénocarbonate d'ammonium est un sel amphotère dont l'expression de son pH est de :

$$pH = \frac{1}{2} pK_1 + \frac{1}{2} pK_2$$

Applications numériques :

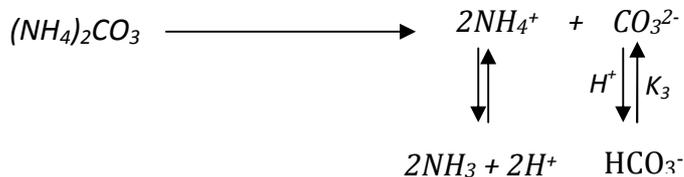
$$pH = \frac{6,52+9,24}{2} = 7,88$$

$$pH = 7,88$$

C'est une valeur proche du résultat expérimental

• **pH du carbonate neutre :  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$**

Le carbonate d'ammonium étant une base faible



$$k_3 = \frac{[\text{CO}_3^{2-}] \cdot [\text{H}^+]}{[\text{HCO}_3^-]} = 6,00 \cdot 10^{-10} \quad \text{et} \quad pk_3 = 10,22$$

L'expression de son pH est de :

$$pH = 7 + \frac{1}{2} pK_3 + \frac{1}{2} \log C$$

Applications numériques :

$$\text{pH} = 12,11 + \frac{1}{2} \log C$$

Discussion :

➤ Déterminons C dans le cas où le composé  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  est majoritaire, avec  $\text{pH}=8,7$  (pH mesuré)

$$8,7 = 12,11 + \frac{1}{2} \log C.$$

$$\text{Log } C = (8,7 - 12,11)^2 = -6,82$$

$$C = 10^{-6,82} = 1,51 \cdot 10^{-7} \text{ mol/l}$$

C'est une valeur très petite en contradiction avec l'hypothèse.

➤ Pour de faible concentration, le pH d'une solution de  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  est toujours au voisinage de 12,11.

A partir de ces deux calculs, on peut en conclure que le carbonate contenu dans le « **ranomena** » est sous forme de l'hydrogénocarbonate d'ammonium : car le pH mesuré avoisine celui calculé (7,88) pour le  $(\text{NH}_4) \text{HCO}_3$ .

### III-2-2) Analyse quantitative des composants du « **ranomena** ».

Il est à rappeler que jusqu'ici, les études faites par Salvat s'arrêtent sur le plan qualitatif et biologique du « **ranomena** ». Aucune étude n'a pas abordé la détermination de la composition centésimale des divers composants (ammoniaque, carbonate d'ammonium, mono, di et triméthylamine), il est nécessaire donc de quantifier la teneur des composants responsables de la basicité du « **ranomena** ».

#### a) *Dosage volumétrique des composants basiques du « **ranomena** ».*

Afin de déterminer quantitativement ceux-ci, nous avons effectué un dosage acido-basique volumétrique en utilisant comme solution titrant l'acide chlorhydrique **0,506N** en présence de phénolphtaléine et Hélianthine comme indicateurs colorés.

A l'équivalence, la formule classique :  $N_A \cdot V_A = N_B \cdot V_B$ , permet de déterminer la quantité de l'élément basique avec :

- $N_A = 0,506 N$
- $V_A = 68,8 ml$  (Valeur obtenue au cours du dosage)
- $N_B =$  Normalité de la solution basique
- $V_B = 10 ml$  (prise d'essai du ranomena.

On en déduit que 
$$N_B \cdot V_B = 0,506 * 68,8 \cdot 10^{-3}$$
$$= 0,034 Eq\text{-gramme}$$

En d'autre terme, 10ml de ranomena contient donc 0,034 Equivalent-gramme d'élément basique.

Soit :

 
$$\frac{0,034 Eq.g * 10^3}{10} = 3,48 Eq.g/litre$$

***b) Détermination de la quantité de l'élément basique rapporté au  $(NH_4) HCO_3$ .***

Comme le  $(NH_4) HCO_3$  est le composant basique abondant dans le milieu, calculons la masse de l'élément en se référant sur ce sel.

Sa masse molaire est de :

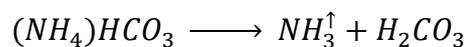
$$M_B = 76 g/mol.$$

La masse correspondant est de :

$$3,48 * 79 = 276,5 g/l$$

C'est une valeur très élevée, d'où la sensation de dégagement d'ammoniac, résultat de la décomposition de l'hydrogénocarbonate d'ammonium à la température ambiante.

Selon la réaction :



### **III-3) Isolement des ptomaines.**

Il existe ce qu'on appelle ptomaines ou alcaloïdes animal de la putréfaction qui sont des fonctions amines formés lors de la réaction de décarboxylation des acides aminés. Ou lors de la décomposition du cadavre. Ces composés ont une grande affinité avec l'huile. C'est pourquoi qu'on le trouve abondement dans le résidu du « **ranomena** »

L'étude de Dr Salvat sur la toxicité du « **ranomena** », et la recherche d'agent responsable de l'activité antimicrobienne nous à insister à isoler la ptomaine.

#### **III-3-1) Procédé**

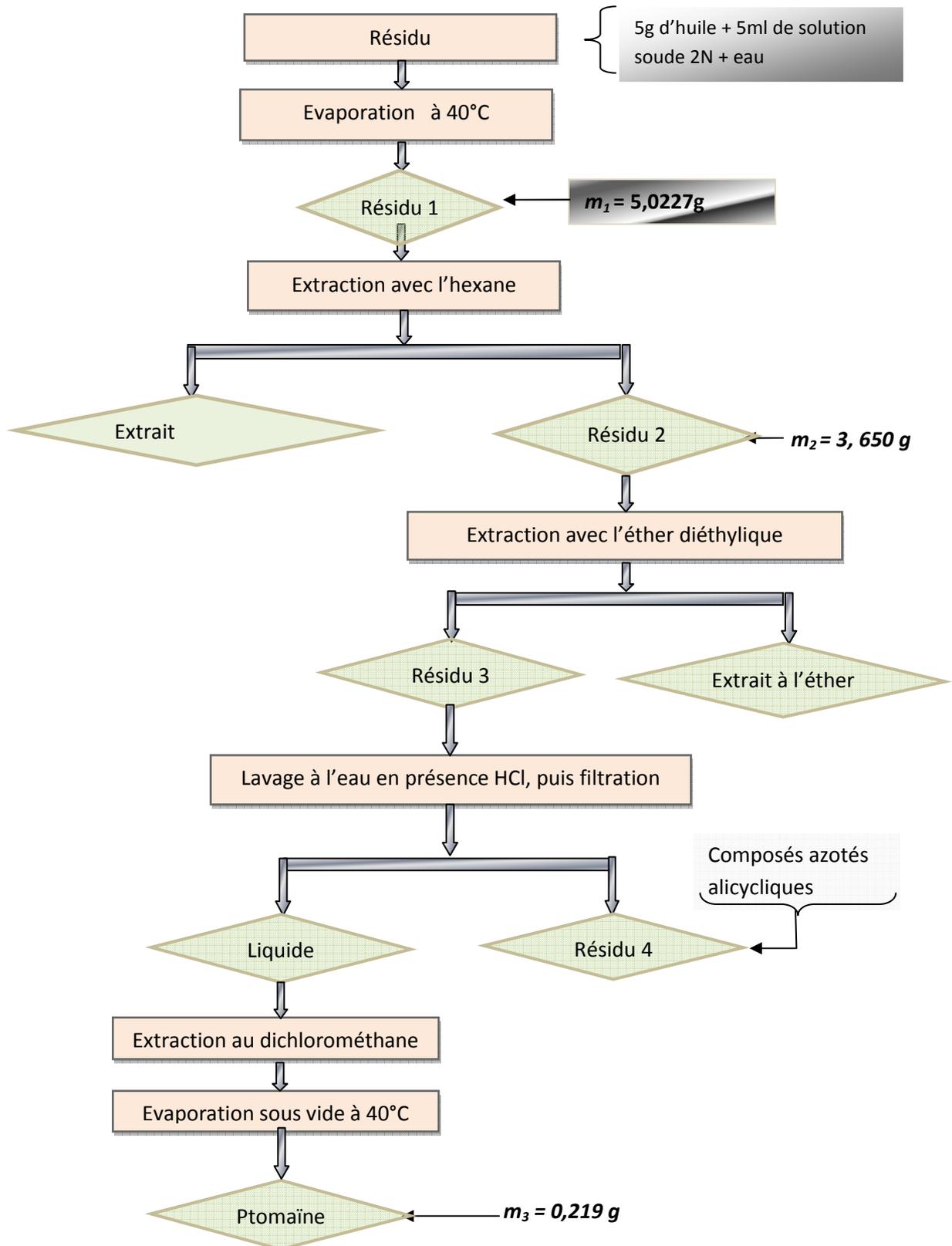
Le procédé consiste à séparer la ptomaine, par la méthode : d'évaporation, extraction, et de filtration.

Nous avons mené nos expériences d'une part sur 5g de résidu du « **ranomena** », et d'autre part sur 150ml de « **ranomena** », par un même procédé. Pour facilité nos travaux, nous allons nommer :

- **Expérience 1** ; protocole d'isolement de ptomaine à partir le résidu.
- **Expérience 2** ; protocole d'isolement de ptomaine à partir du « **ranomena** ».

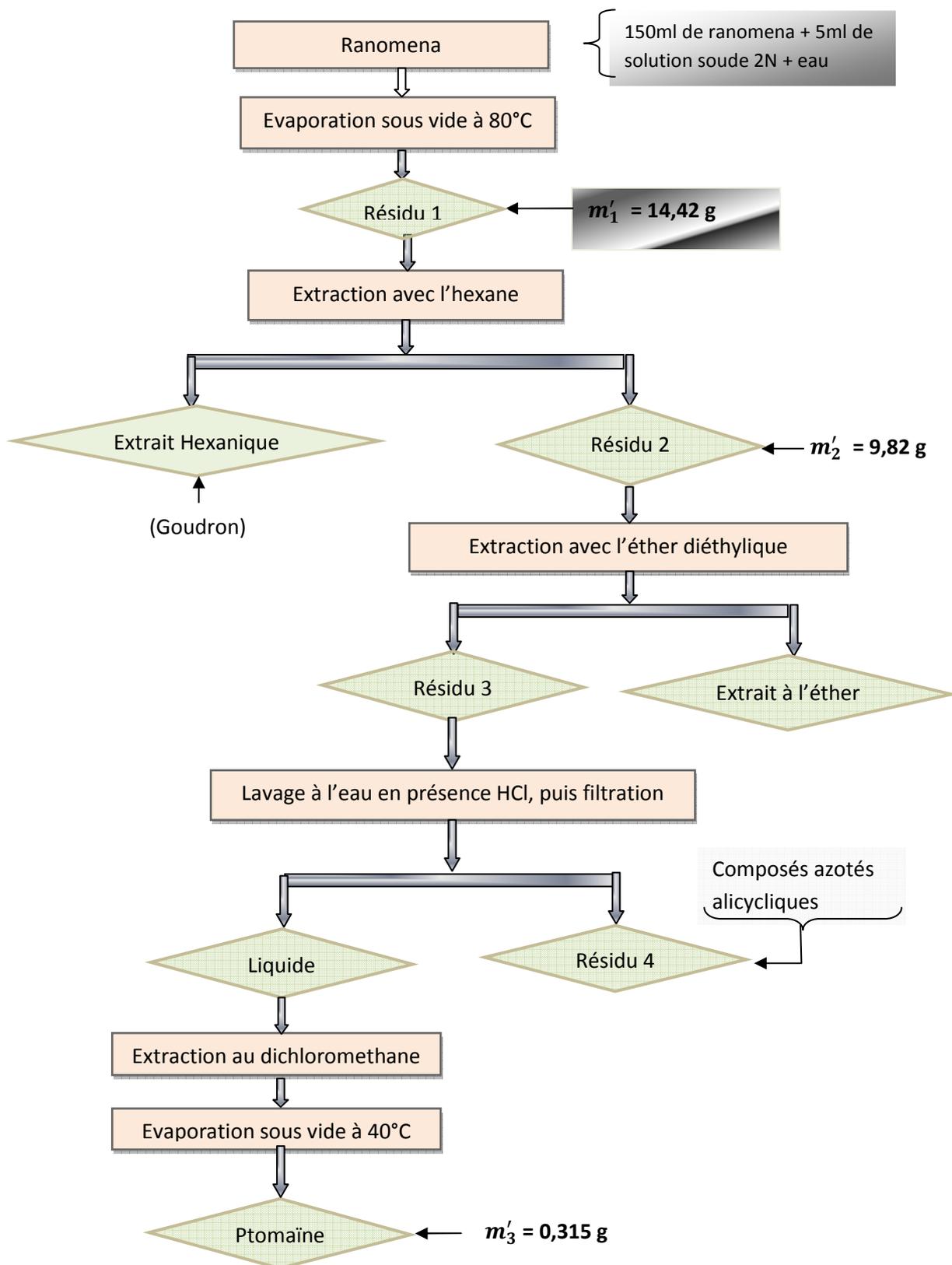
Voici alors le flow-sheet du procédé

**Expérience 1 :**



**Figure 17 :** Processus d'isolement de ptomaine.

**Expérience 2 :** Voici alors le flow-sheet du procédé



**Figure 17 :** Processus d'isolement de ptomaïne.

**a) Evaporation.**

On chauffe, (à 40°C), d'une part 5g de résidu du « **ranomena** » (ajouté d'eau distillée) et d'autre part 150ml de « **ranomena** ». Ajoutés chacun de 5ml de solution de soude à 2N. Ce qui a eu pour effet d'éliminer tous les gaz : tels que l'ammoniac, et ses dérivés (mono, di, triméthylamine).

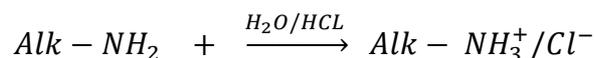
Le liquide résiduel ainsi obtenu est de couleur brun noirâtre foncé.

**b) Action du solvant.**

Le résidu ainsi obtenu est acidifié par de solution d'acide chlorhydrique, puis épuisé à son tour par l'éther diéthylique.

**c) Lavage à l'eau**

Après décantation et filtration, il laisse un résidu visqueux, épais, brunâtre, qui vient par la suite passé au lavage à l'eau, selon la réaction :



**d) Libération des alcaloïdes par basification**

Après lavage, on passe ensuite à la filtration. Pius libération de ptomaïne par basification de la solution par addition de solution de soude. Finalement on extrait la ptomaïne à l'aide du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> puis on évapore ce dernier sous vide et on obtient la ptomaïne

$m_3 = 0,219\text{g}$  quantités de la ptomaïne dans le résidu du ranomena

$m_3' = 0,315\text{g}$  quantité de la ptomaïne dans le ranomena.

## Interprétation

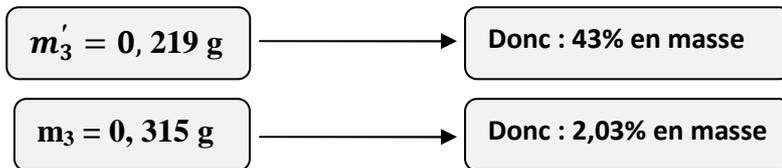
L'isolement de la ptomaïne débute par l'élimination des gaz ammoniacaux et ses dérivés. Le ranomena et résidu contiennent chacun des ptomaïnes, mais leur teneur les différencie.

D'après le résultat, on a prouvé que le résidu est constitué par une quantité abondante de ptomaïne.

Ce qui donne :

$m'_3 = 0,219$  de ptomaïne pour 5g de résidu.

$m_3 = 0,315$  g en ptomaïne pour 150ml soit 155g de ranomena.



## Conclusion

On a confirmé que le résidu du ranomena possède des quantités abondantes en ptomaïne. Elles occupent plus de 43%, tan dis que celui du ranomena, il n'a que 2.03% seulement.

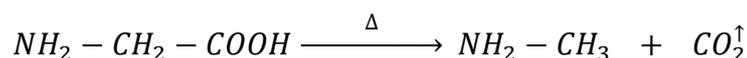
## **Chapitre IV : Extension de l'étude chimique de dégradation de l'osséine.**

### **IV-1) dégradation de l'osséine.**

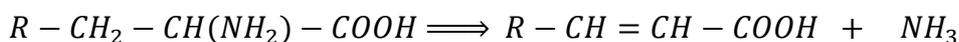
Dans ce chapitre, il est nécessaire d'apporter notre avis sur l'étude de dégradation thermique de l'osséine.

#### **IV-1-1) Réaction de décarboxylation.**

Sous l'action de la chaleur, le groupement carboxyle (COOH) se rompt sous forme de CO<sub>2</sub> (gaz), selon la réaction :



#### **IV-1-2) Réaction de désamination ammoniacale.**

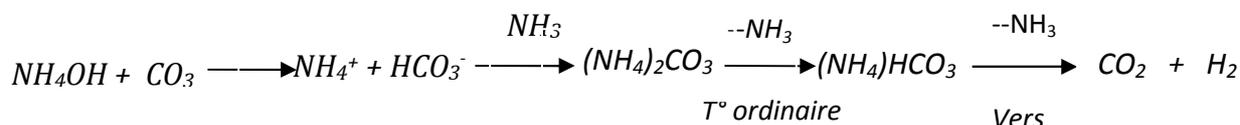


#### **IV-1-3) Réaction de formation de carbonate d'ammonium.**

Dr Salvat n'a pas précisé la nature de ce carbonate d'ammonium. En principe, il existe deux formes de carbonate d'ammonium :

- l'un c'est le carbonate neutre : (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.
- L'autre c'est le carbonate acide : (NH<sub>4</sub>)HCO<sub>3</sub> ou hydrogénocarbonate

Le sel carbonate neutre est obtenu par l'association de l'anhydride carbonique avec l'ammoniaque et en présence d'un excès de base ammoniac, ce cristaux de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sont très soluble dans l'eau et très instables. Ensuite la réaction avec le CO<sub>2</sub> (à température ordinaire) peut conduire à des cristaux beaucoup moins solubles que le précédent : c'est le bicarbonate NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>, qui ne se décompose qu'au-dessus de 60°C.



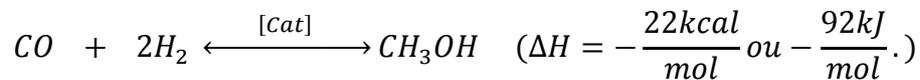
Par analogie, on peut soumettre que la présence de l'hydrogénocarbonate d'ammonium dans le ranomena est confirmé par sa stabilité à la température ambiante et le pH de la solution du milieu (pH= 8,7).

#### IV-1-4) Réaction de formation de méthanol.

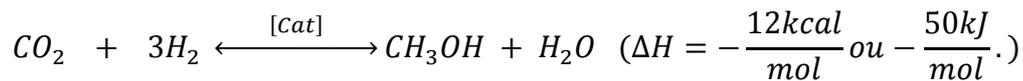
Selon Salvat, la présence du méthanol dans le ranomena est due à l'addition de la matière végétale ajoutée aux ossements au moment de chauffage. Par ailleurs, ce méthanol peut aussi dans cette condition se former à partir de gaz de la synthèse.

Dans la littérature, le méthanol peut obtenir au cours de la synthèse de  $NH_3$ .

- Voici la réaction de transformation du méthanol à partir de gaz de synthèse.



- Si le gaz de synthèse est obtenu à partir de gaz naturels riches en méthane, alors :



Le catalyseur utilisé doit être : du  $ZnO-Cr_2O_3$  ou  $CuO-ZnO$ .

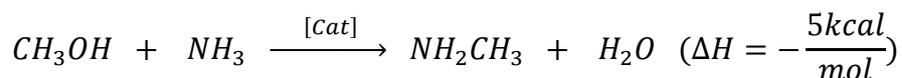
Rappelons alors que l'os contient des matières minérales tel que : le Zinc, le cuivre, le phosphore, le chrome, silicium, l'aluminium... Qui peuvent être participé comme catalyseur dans la réaction transformation.

#### IV-1-5) Formation de méthylamine, diéthylamine, triméthylamine.

##### a) Méthylamine.

Parmi les dérivés du méthanol, les éthylamines prennent la quatrième place.

dans la fabrication industrielle, le méthylamine est obtenue par réaction de méthylation catalytique par paliers de  $NH_3$  avec  $CH_3OH$  à  $350^\circ C - 500^\circ C$  et 30 bars, en présence d'oxyde, de silicate ou de phosphate d'Al.



L'alkylation ne reste pas au stade de la monométhylamine, de sorte que l'on obtient ensemble les trois méthylamine possibles. La mono, di, triméthylamine sont favorisées par un excès de  $NH_3$  et l'addition d'eau.

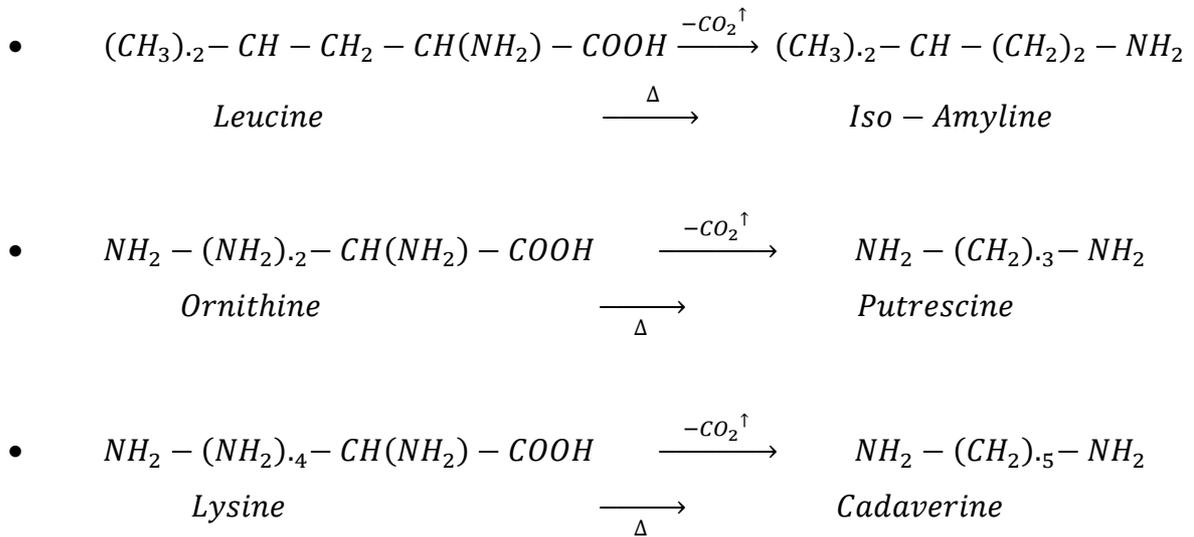
Par exemple ; Avec un rapport NH<sub>3</sub>/méthanol de 2,4/1 ; on obtient 54% de mono ; 26% de diéthylamine ; 20% de triméthylamines. Il se produit de réaction annexes comme : CO, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub> et N<sub>2</sub>

#### IV-1-6) La réaction de formation de la ptomaïne.

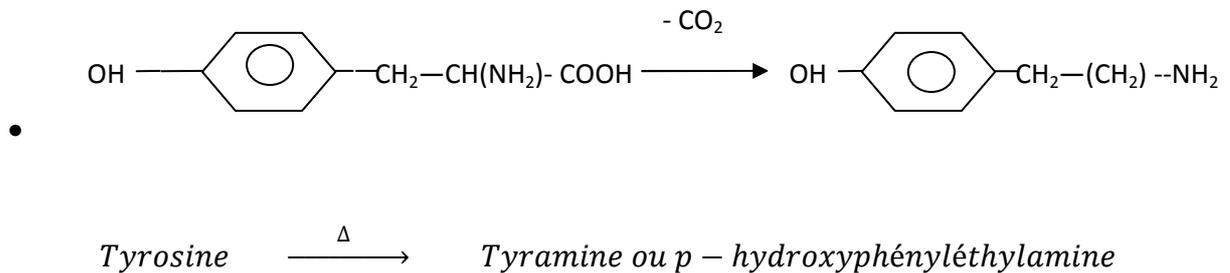
Il existe des produits à base d'amine qui prennent naissance sous l'action des décarboxylases bactériennes sur les acides aminés : d'où son nom ptomaïnes. La plus part d'entre eux se forme lors de la putréfaction de la viande, ...

Les principales sont :

##### Parmi les bases aliphatiques :



##### Parmi les bases cycliques.



## **Conclusion partielle**

La première étape de l'expérimentation a débuté par une conception d'un appareil dit « pyrolyseur ». Un appareil mobile, utilisé en laboratoire, conçu pour la carbonisation en vase clos ou encore « distillation sèche ». L'essai consiste à carboniser les sciures de bois et les os bovin restant de la consommation en liquides pyrolytique à des usages médicale. A fin d'obtenir des liquides pyroligneux, des opérations sont lancés sur l'étude chimique des constituants du liquide obtenues. D'une part, l'extraction du pyroligneux du bois par des méthodes assez complexes conduit a l'obtention des produits visqueux de couleur rouge foncé (créosote), qui après test de confirmation, vérifiés que ce sont des produits phénoliques qui sont des gaïacols. Et d'autre part, le doute posé sur le résultat d'analyse microbiologique entre le « **ranomena** » et son résidu nous a poussés à isoler la ptomaine du résidu.

● ————— ●

**Troisième partie : EVALUATION DE  
L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES  
PRODUITS ISSUS DE LA PYROLYSE**

● ————— ●

## **Introduction**

Les produits obtenus par distillation sèche des os, ainsi que les composés extraits du liquide pyroligneux des bois, possédaient des activités antimicrobiennes. L'inhibition du développement des microbes pathogènes est essentiellement due aux activités des constituants contenus dans ce liquide (Des dérivés d'ammoniac pour les os, d'ailleurs, phénols pour les bois).

Cette étude avait pour but d'évaluer et de comparer l'efficacité antimicrobienne et antifongique du « **ranomena** » ainsi que son résidu, et de la créosote des bois, qui est probablement des dérivés des phénols : (gaïacols, et le créosol) par la méthode de diffusion sur gélose.

Ce test d'activité est effectué au sein du laboratoire de l'Institut Malgache de recherches Appliquées (IMRA).

## **Chapitre I : Test antimicrobien**

### **I-1) Matériel et méthode**

Avant d'accéder à l'analyse microbiologique proprement dite, nous avons intérêt à connaître quelques termes techniques utilisés en microbiologie.

#### **I-1-1) Bactérie.**

##### **a) Bactérie à Gram positif** [35] ; [36]

Les bactéries à *Gram positif* apparaissent alors *mauves* au microscope

##### **b) Bactérie à gram négatif** [35] ; [36]

Les bactéries à Gram négatif apparaissent alors *roses* au microscope.

La technique de coloration repose sur les caractéristiques membranaires et de paroi de la bactérie. La coloration au Gram est un facteur déterminant dans la taxinomie (classification) bactérienne.

##### **c) Principe de coloration au gram** (voir annexe).

La coloration au gram dont le mode opératoire est donnée à l'annexe-IV.

##### **d) Caractéristique des bactéries.**

###### **i) Les bactéries Gram positif** [35].

Ils sont pour la plupart des germes non exigeants, c'est-à-dire qu'ils se cultivent facilement dans les milieux de base.

❖ au niveau de la couche.

La couche de peptidoglycane des bactéries est très épaisse, elle est principalement formée de plusieurs couches de polymère de N-acétyl-glucosamine (NAG) et d'acide N-acétylmuramique (NAM).

❖ Au niveau de la membrane.

La membrane possède des protéines poreuses aboutissant dans l'espace péri plasmique (synthèse de protéine). La membrane plasmique contient de nombreux autres complexes protéiques d'une importance vitale pour la bactérie (comme l'ATP synthase) qui ont des rôles prépondérants dans le métabolisme bactérien.

*ii) Les bactéries à gram négatifs.*

❖ Au niveau de la couche

Elle est principalement composée de phospholipides organisés en bicouche (partie hydrophile à l'extérieur et partie lipophile à l'intérieur) mais contient aussi de nombreuses protéines intrinsèques, notamment les protéines de transports appelées « porines ».

❖ Au niveau de la membrane

Elle possède des protéines poreuses aboutissant dans l'espace péri plasmique (synthèse des protéines). La membrane plasmique contient de nombreux autres complexes protéiques d'une importance vitale pour la bactérie (comme l'ATP synthase) qui ont des rôles prépondérants dans le métabolisme bactérien.

**I-2) Méthode de diffusion sur gélose.** [39]

La méthode de diffusion sur gélose ou méthode des disques permet de déceler la sensibilité des germes testés. Elle consiste à faire diffuser les produits à tester (ici, le ranomona et les produits phénoliques obtenus par pyrolyse de bois) sur culture microbienne par l'intermédiaire des disques.

La diffusion des produits sur la gélose peut inhiber la croissance des souches testées se traduisant par la présence de zone claire ou zone d'inhibition sur la culture microbienne autour des disques. Ces zones indiquent que le produit est actif et la mesure de leurs diamètres permet d'évaluer la sensibilité des souches.

### I-3) Résultats d'étude et discussion.

#### I-3-1) Activité microbiologique du « ranomena » et son résidu.

Nous avons déjà mentionné précédemment (dans l'étude bibliographique), que le ranomena, dans le contexte Malgache possédait des activités antimicrobiennes, et que son résidu est utilisé pour de propriétés insecticides ou même de médicament pour animal. Pour cette raison, il est nécessaire alors de confirmer par des tests, l'activité anti microbienne de ces deux produits.

Dans ce cas, nous avons choisi comme souches bactériennes :

- ***Bacillus subtilis*** :

Ce micro-organisme est impliqué dans les infections oculaire, des pathologies variées ; telles que les abcès, les septicémies.

Le bacillus détermine une maladie caractérisée par des vomissements, diarrhée, douleur abdominales, céphalées)

- ***Staphylococcus aureus*** :

Ils sont connues pour provoquer des infections cutanées : (furuncles, folliculites, panaris). Des infections des muqueuses : conjonctivites (s'ils peuvent atteindre les yeux), otites (oreilles).

- ***Escherichia coli*** :

C'est l'agent responsable d'infections nosocomiales. Ils peuvent causer de la gastro-entérite, infections de l'étendue urinaires, et méningite néo-natale.

- ***Salmonella typhi*** :

C'est l'agent responsable de la maladie infectieuse appelée fièvres typhoïdes. La dose infectante est de l'ordre de  $10^5$  germes.

- ***et de champignon : Candida albicans*** :

C'est une levure vivant en commensale dans le tube digestif de l'homme, des mammifères et d'oiseaux.

#### a) Matériels utilisés

- Produits à tester : (**ranomena** et résidu du **ranomena**) :
  - Solution aqueuse (E) : « **ranomena** ».
  - Solution huileuse (H) : résidu du « **ranomena** ».

- Bactéries indicatrices :
  - Bactéries à Gram positif : *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*.
  - Bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli* et *Salmonella typhi*.
- Champignon indicateur
  - *Candida albicans*
- Disques confectionné à partir de papier Whatman n°41 (diamètre environ 6mm) à l'aide d'un perforateur
- Diméthylsulfoxyde (DMSO)
- Produits de référence :
  - *chloramphénicol* et *nystatine* (ce sont des antibiotiques)
- Milieus de culture :
  - Milieux liquides
    - Bouillon de Muller Hinton (MHB) pour les bactéries
    - Bouillon de Sabouraud (SAB) pour *candida albicans*
  - Milieu solides
    - Muller Hinton gélosé (MHA) pour les bactéries
    - Sabouraud gélosé (SA) pour *Candida albicans*

**b) Mode opératoire de la préparation du milieu.** [Voir annexes]

**c) Préparation des produits à tester.**

Nous avons nommé E le produit « **ranomena** » et H résidu du « **ranomena** ».

- E/2 (dilution du produit E)
  - Prendre 1ml du produit E
  - Ajouter 1ml d'eau distillée stérile
- H/2 (dilution du produit H)
  - Prendre 1ml du produit H
  - Ajouter 1ml de DMS

**d) Mode opératoire.**

Ensemencer en nappe 1ml de l'inoculum [*préparation de l'inoculum : dans l'annexe*] de  $10^6$  ufc/ml préparé précédemment sur les milieux solides MHA pour bactéries

et SA pour *Candida* en inondant complètement le milieu dans chaque boîte. Laisser sécher environ 20 mn ; déposer des disques stériles de 6mm de diamètre imbibés de 20 $\mu$ l de produits E, E/2, H, H/2 sur la culture microbienne et des disques imbibés de 20 $\mu$ l de chloramphenicol (2mg/ml) sur la culture bactérienne et de 20 $\mu$ l de nystatine (2mg/ml). Incuber les boîtes pendant 24 heures à 37°C. Observer la présence de zone d'inhibition (zone claire autour du disque). Enfin, mesurer les diamètres d'inhibition

### e) Résultats

Le tableau 1 montre les mesures des diamètres d'inhibitions (mm) de chaque produit testé et ceux des produits de références après 24 heures d'incubation. Les produits H et H/2 sont actifs sur les souches testées.

Le tableau 166 donne les références des sensibilités des souches par rapport aux diamètres d'inhibition des produits testés selon *Leclerc et al.* 1983.

**Tableau 15** : Diamètre d'inhibition (mm) du « **ranomena** » et son résidu sur les germes testé

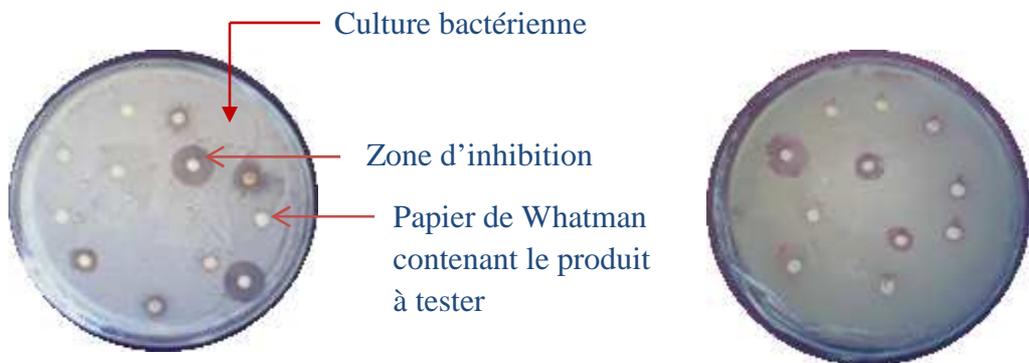
<i>Microorganismes</i>		produit				références	
		H	H/2	E	E/2	Chl	Nyst
<i>Bacillus subtilis</i>	Gram+	11	10	0	0	19	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram+	11	10	0	0	18	-
<i>Escherichia coli</i>	Gram-	8	7	0	0	16	-
<i>Salmonella typhi</i>	Gram -	14	11	7	0	21	-
<i>Candida albicans</i>	Levure	13	11	0	0	-	19

- ❖ Diamètre des disques : 6mm ;
- ❖ Produit déposé sur chaque disque : 20 $\mu$ l ;
- ❖ H : solution huileux (résidu du « **ranomena** ») ; H/2 : dilution 1/2 de la solution huileux
- ❖ E : solution aqueuse ; E/2 : dilution 1/2 de la solution aqueuse,
- ❖ Chl : chloramphénicol 2mg/ml
- ❖ Nystatine 2mg/ml.

**Tableau 16** : Références des sensibilités selon Leclerc et Al.1983

Diamètre d'inhibition	Sensibilité des souches
	Résistante
	Moins sensible
9 mm	Sensible
9 mm	Très sensible

*f) Exploitation des résultats sur la sensibilité des différentes souches vis-à-vis des produits à tester*



Résultats sur la sensibilité de *Staphylococcus aureus*

Résultat sur la sensibilité de *Candida albicans*



Résultat sur la sensibilité de *Salmonella typhi*

Résultat sur la sensibilité de *Bacillus Subtilis*

**g) Interprétation**

De ce tableau 15, on aperçoit que le « **ranomena** » n'a aucun effet pour les bactéries, surtout pour les bactéries à gram positif, ainsi que pour les levures. Mais il résiste sur le *Salmonella typhii* avec un diamètre d'inhibition de 7mm. À la dilution au demi de son volume, il ne présente aucune activité. Dans ce cas, on peut dire que le « **ranomena** » n'est pas bactéricide, mais plutôt antiseptique d'ordre viral d'où son utilisation dans le domaine antigrippe.

D'ailleurs, le résidu du « **ranomena** » apparaît très sensible avec les bactéries, même si on procède à la dilution (i.e. au demi de son volume). Sauf pour l'*Escherichia coli*, le résidu se montre moins sensible.

De ce faite, il est à noter que le diamètre d'inhibition diminue avec la concentration de produits à tester ; et que le résidu du « **ranomena** » est le responsable de l'activité anti microbiologique.

La partie huileuse du « **ranomena** » possède plutôt une activité microbienne plus marqué, son utilisation est prouvée dans le traitement de maladie diarrhéique en médecine traditionnelle malgache.

### **I-3-2) Test d'activité anti microbienne de la ptomaïne.**

L'isolement de ptomaïne a été décrit dans le chapitre précédemment. Nous allons alors décider de tester l'activité antimicrobienne de ce produit.

#### ***a) Produit à tester***

Pour faciliter l'étude, notons alors :

- E : le produit obtenu du ranomena (ptomaïne)
- H : Produit obtenu du résidu (ptomaïne)

#### ***b) Préparation du produit***

- E<sub>1</sub>/H<sub>1</sub> (dilution du produit E/H)

20mg de E dans 1ml d'eau distillée.

20mg de H dans 1ml d'eau distillée.

- E<sub>2</sub>/H<sub>2</sub> (dilution du produit E/H)

10mg de E dans 1ml d'eau distillée.

10mg de H dans 1ml d'eau distillée.

- E<sub>3</sub>/H<sub>3</sub> (dilution du produit E/H)

4mg de E dans 1ml d'eau distillée.

4mg de H dans 1ml d'eau distillée.

**c) Diamètre d'inhibition (en mm)**

**Tableaux 17:** Diamètre d'inhibition de ptomaïne extrait du ranomena et de son résidu.

Microorganismes		produit						références	
		E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	H <sub>1</sub>	H <sub>2</sub>	H <sub>3</sub>	Chl	Nyst
Bacillus subtilis	Gram +	0	0	0	0	0	0	23	-
Staphylococcus aureus	Gram +	0	0	0	0	0	0	17	-
Escherichia coli	Gram -	0	0	0	7,5	7	7	22	-
Salmonella typhi	Gram -	0	0	0	8,5	8,5	8,5	19	-
Candida albicans	levure	0	0	0	11,5	8	8	-	20

**Diamètre de disque :**

**E<sub>1</sub> et H<sub>1</sub> :** 400µg/disque ; **E<sub>2</sub> et H<sub>2</sub> :** 200µg/disque ; **E<sub>3</sub> et H<sub>3</sub> :** 80µg/disque ;

**Chl :** chloramphénicol 2mg/ml ou 40µg/disque ; **nystatine :** 2mg/ml ou 40µg/disque

La ptomaïne a exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis des champignons (candida albicans). La salmonella typhi s'est montré sensible, ainsi que l'Escherichia coli s'est montré moins sensible, Ils ont été inhibés à partir de la concentration différente. La concentration 4mg/1ml d'eau à été suffisante pour arrêter la croissance des bactéries.

Il n'y a plus d'activité pour le produit extrait du ranomena.

La ptomaïne n'a aucune activité sur la bactérie à gram positif. En effet il reste sensible à la bactérie à gram négatif, et puis très sensible au champignon (candida albicans). De plus la dilution des produits n'a aucun effet majeur sur l'inhibition.

**d) Exploitation des résultats sur la sensibilité des différentes souches vis-à-vis des produits à tester**



Résultats sur la sensibilité pour le *Candida Albicans*



Résultats sur la sensibilité de *Staphylococcus aureus*



Résultats sur la sensibilité pour la *salmonella typhi*



Résultats sur la sensibilité pour *l'Escherichia coli*



Résultats sur la sensibilité de *Bacillus subtilis*

### e) Conclusion.

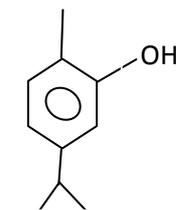
On peut soumettre que la ptomaïne participe à l'inhibition bactérienne. En effet, l'activité synergique entre la ptomaïne et les dérivés d'ammoniac contribue à l'efficacité de ces produits. C'est pourquoi, les paysans Malgaches utilisent le résidu du ranomena comme insecticides. D'ailleurs, l'utilisation de cette formulation à base d'ammoniac peut présenter de nombreux avantages. En effet ils sont faiblement toxiques pour l'environnement et peuvent avoir une activité biocide plus élevée.

### I-3-3) Activité antimicrobienne de créosote issus de bois.

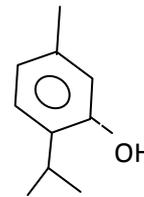
Afin de déterminer l'activité antimicrobienne du créosote, nous avons comparé l'activité de ce dernier avec deux huiles essentielles bactéricides comme référence (thymus vulgaris et ocimum grattissimum)

L'huile essentiel de thymus vulgaris est composé majoritairement par de :

- **thymol : 40,7%** (c'est un composé mono terpénique à chaîne latérale saturée isopropylique).
- **$\alpha$ -terpinène : 18%**
- **$\gamma$ -terpinène : 8,3**
- ***p*-cymène : 6,2%**
- **carvacrol : 1,7%**



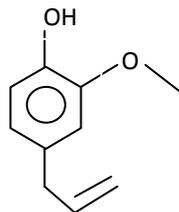
Carvacrol



Thymol

L'huile essentielle d'Ocimum grattissimum est composé majoritairement de :

- **l'eugénol : 67,2%** (il appartient au phénylpropanoïde à chaîne latérale insaturée propénylique).



Eugénol

- $\beta$ -ocimène : 16,8%
- $\alpha$ -muurolène : 7,2%

### a) Résultats et discussions.

#### ❖ Composition chimique.

Puisque, le produit d'extrait de goudrons de bois est un extrait brute, nous n'avons pas pu faire une analyse des ses constituants, mais théoriquement, (physiquement et chimiquement), cet extrait est constitué du gäiacol, et du créosol.

Les analyses chromatographiques des huiles essentielles ont permis d'identifier :

25 composés qui représentent environ 98,93% pour *Thymus vulgaris*, contre 23 composés 97,10% pour l'*ocimum grattissimum*.

- L'huile essentielle de *T. vulgaris* de Madagascar est composée principalement par le **thymol** (40,7%), et  **$\alpha$ -terpinène** (18,0%), accompagné d'autres constituants à teneurs relativement faibles :  **$\gamma$ -terpinène** (8,3%), ***p*-cymène** (6,2%).

- La composition chimique de l'huile d'*ocimum grattissimum* est différente de celle de *thymus vulgaris*. En effet, **le thymol**, composé principal de l'huile de *thymus vulgaris* n'est autre qu'une trace dans l'*ocimum grattissimum*. Ainsi, **l'eugénol** représente environ (67,2%) de l'essence d'*ocimum grattissimum*, tandis que 2,38% pour *le thymus*. D'un autre coté, le ***cis*- $\beta$ -ocimène** et le  **$\alpha$ -muurolène** sont totalement absents de l'huile de *T. vulgaris* alors que ce sont les constituant majeur de celle de l'*ocimum grattissimum*. Il vaut respectivement : 16,8% et 7,2%

Voici le tableau montrant le pourcentage des constituants des deux huiles essentielles : *Thymus vulgaris* et *Ocimum grattissimum*, obtenue par analyse CPG.

**Tableau 18** : Pourcentage du constituant majoritaire d'*O. grattissimum*.

Constituants	Pourcentage. %
<i>Cis</i> - $\beta$ -ocimène	5,9
<i>Ter pinène-4-ol</i>	1,9
<b>Eugénol</b>	67,2
<i>Thymol</i>	Trace
$\beta$ -caryophyllène	4,9
$\alpha$ -muurolène	7,2

**Tableau 19** : Pourcentages des constituants majoritaires pour le *T.vulgaris*.

Constituants	Pourcentages
<i>α-pinène</i>	2,6
<i>Mycènes</i>	1,4
<i>α-terpinène</i>	18
<i>1,8-cinéol</i>	0,9
<i>γ-terpinène</i>	8,3
<i>p-cymène</i>	6,2
<i>Linalol</i>	1,9
<i>β-caryophyllène</i>	11,1
<i>Terpinène-4-ol</i>	1,5
<i>Thymol</i>	40,7
<i>Carvacrol</i>	1,7

**b) Produit à tester**

- Produit de la pyrolyse du bois : H
- H E d'Ocimum grattissimum : O
- H E de Thymus vulgaris : T

**c) Diamètre d'inhibition (en mm)**

**Tableau 20** : Diamètre d'inhibition de la créosote du bois.

Microorganismes		produit			références	
		<i>H</i>	<i>O</i>	<i>T</i>	<i>Chl</i>	<i>Nyst</i>
Bacillus subtilis	Gram +	20,5	20	19	25	-
Staphylococcus aureus	Gram +	15,5	12	11	22	-
Escherichia coli	Gram -	-	-	-	18	-
Salmonella typhii	Gram -	-	-	-	19	-
Candida albicans	levure	23	13	12	-	25

***d) Etude comparative d'activité anti microbiologique de l'extrait du goudron de bois et des huiles essentielles.***

Les résultats de l'activité antifongique des huiles essentielles de *T. vulgaris* et d'*O. grattissimum*, et d'extrait du goudron de bois (qui sont probablement de gaiacol et du créosol). sont résumés dans le **tableau 20**.

Les 3 produits ont exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis des bactéries à gram positif (*Bacillus subtilis*, et *Staphylococcus aureus*) et la levure (*Candida albicans*). Ainsi, il s'est montré insuffisante pour arrêter la croissance d'*Escherichia coli* et *Salmonella typhi* qui sont des bactéries à gram négatifs.

Les bactéries (à gram positif) et le champignon ont montré une très grande sensibilité à l'extrait du goudron de bois (gaiacol), les trois souches fongiques *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* ont toutes été inhibées à partir de la même concentration (10mg pour 1ml d'eau).

L'inhibition des deux autres huiles essentielles sur les bactéries se montre très sensible, mais de diamètre d'inhibition assez faible par rapport à celle du gaiacol (goudron).

A titre d'exemple : à celui de l'extrait du goudron on atteint 15mm de diamètre pour inhiber la croissance de *Staphylococcus*, tandis que 12mm et 11mm pour les deux huiles.

On remarque que les bactéries à gram positif se sont montrées non résistantes aux produits phénoliques. Ceci peut être attribué au fait que cette bactérie et d'autres enzymes extracellulaires qui catalysent l'oxydation de ces composés phénoliques et conduisent à leur inactivation (**Banci, 1997 ; Mester et al., 2000**). [39]

En général, ces 3 produits ont exercé une forte activité fongicide contre les bactéries. Ceci est dû à leurs profils chimiques riches respectivement en gaiacol pour les bois, en thymol (40,7%) et 1,8-cinéol (18,0%) pour le *T. vulgaris*, et enfin eugénol (67,2%) pour l'*O. grattissimum*.

Nos résultats confirment ceux d'autres recherches qui ont démontré que le gaiacol, le thymol, et l'eugénol sont parmi les composés les plus actifs contre les bactéries et les champignons. En effet, **P. Franchomme** (chercheur aromatologue) [37] a affirmé que les molécules possédant le coefficient antibactérien le plus élevé sont : le Carvacrol, le thymol et l'eugénol ; l'australol et le gaiacol font partie de ce groupe mais les huiles essentielles les recelant sont moins actives.

Cependant, on note que l'extrait du goudron de bois est doté d'une activité antifongique légèrement supérieure à celle de *T. vulgaris* et d'*O. grattissimum*. Ceci peut être attribué au

fait que les goudrons des bois compte parmi ses principaux constituants le gäiacol, alors que le *T. vulgaris* est dominée par le *thymol*, et l'*ocimum* par de l'*eugénol*.

L'efficacité antifongique de l'extrait du goudron de bois par rapport à celles de *T. vulgaris* et *d'O. grattissimum* peut être due aussi à l'activité synergique entre le gäiacol, le créosol, et d'autres produits chimiques, signalons que nos produits (extrait du goudron) sont des produits bruts

**e) Exploitation des résultats sur la sensibilité des différentes souches vis à vis des produits à tester.**



**Résultats sur la sensibilité pour l'*Escherichia coli***



**Résultats sur la sensibilité pour la *salmonella***



**Sensibilité pour le *Staphylococcus aureus***



**Résultats sur la sensibilité *Bacillus subtilis***

### ***f) Conclusion***

La détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et de l'extrait de goudrons de bois nous a permis d'identifier respectivement que les composés phénolique constituants majoritaires du créosote et des huiles essentielles n'ont aucune activité sur la bactérie à gram négatif (*Salmonella typhi* et *Escherichia coli*). Mais il s'est montré très sensible vis-à-vis des bactéries à gram positif. Ce grand pouvoir bioactif observé chez les trois produits est attribué principalement à leurs teneurs élevées en phénol terpénique (gaiacol, thymol, eugénol).

On a remarqué que la créosote de bois d'eucalyptus, inhibe fortement le développement des bactéries à gram positif et le *Candida albicans*. Ces résultats précieux nous indiquent l'utilisation future de ces composés dans le domaine antibactérien et antifongique.

## **CONCLUSION GENERALE**

---

Ce travail a été réalisé aux seins du laboratoire de génie chimique, dont l'objectif est multiple. Tout d'abord, la réalisation d'un appareil de pyrolyse en vase clos, suivie des essais sur les déchets lino-cellulosique (sciure de bois) et des os, et puis évaluation des activités antimicrobiens des produits issus de la pyrolyse du bois et des os.

La pyrolyse, ici est une voie qui permet de transformer les os et les déchets de bois en liquide pyroligneux qui contient généralement des constituants indispensables à la médecine traditionnelle malgache. D'ailleurs, la transformation de ces liquides à des fins thérapeutiques, nécessite des traitements assez complexes. L'isolement de constituant responsable d'activité biologique est basé par des méthodes telles que : l'évaporation de l'eau, extraction au solvant. Enfin, des analyses microbiologiques ont été réalisées en vue d'évaluer l'activité antimicrobienne des produits obtenus. Nous avons trouvé dans ce cas la ptomaïne, la créosote, les dérivés ammoniacaux comme responsables de l'activité.

D'après ces résultats, on peut penser que la créosote, produits de pyrolyse issus des bois et le « **ranomena** », celui des os méritent une étude plus approfondie pour exploiter leurs propriétés antifongiques et antimicrobienne dans le domaine de la médecine.

Finalement, notre étude, certes, présente des imperfections : mais si besoin est, elle pourra constituer une sorte de guide pour les autres étudiants axant leur projet de fin d'études sur ce thème.

## **BIBLIOGRAPHIES ET WEBOGRAPHIES**

---

- [1] : **Dominique BRIANE- ABF/ Jacqueline DOAT-CTFT/** : Guide Technique de la carbonisation : « La carbonisation du charbon des bois »
- [2] : **Philippe GIRARD, Jérôme DELCARTE, José CARRE** : « Guide biomasse énergie ». 2<sup>ème</sup> Edition. ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'énergie).
- [3] : **Floriane MERMOUD** : « Gazéification de charbon de bois à la vapeur d'eau : de la particule isolée au lit fixe continu ». Thèse présentée pour obtenir le titre de Docteur de l'Institut National Polytechnique de Toulouse ». Spécialité : Energétique et transfert. 2006
- [4] : **Gérard ANTONINI- Mourad HAZI** : « Pyrolyse- Gazéification de déchets solides ». ETUDE ADEME/PROCEDIS
- [5] : **J.SAVARD/A.BESSON/S.MORIZE**. « Analyse chimique des bois tropicaux » (1954)
- [6] : **Patrick ROUSSET** : « Choix d'un modèle de pyrolyse ménagée du bois à l'échelle de «la microparticule en vue de la modélisation macroscopique ».
- [7] : **RAZAFIMANDEFITRA André** : «Contribution à la valorisation de la lignine par des procédés biotechnologiques grâce aux propriétés des microémulsions ». Université de Madagascar : Diplôme d'études Approfondies, Chimie Organique Option Produits naturels 1984
- [8] : [www.larouatiere.com/lycee/file/1BEPA/squelette/os.pdf](http://www.larouatiere.com/lycee/file/1BEPA/squelette/os.pdf)
- [9]: [fr.wikipedia.org/wiki/Lignin](http://fr.wikipedia.org/wiki/Lignin)
- [10] [www.pindeslandes.org/arbora/presentations/neuf/articles/pierre.pdf](http://www.pindeslandes.org/arbora/presentations/neuf/articles/pierre.pdf).
- [11] : Larousse.
- [12] : **RANAIVOSON Andrianjato Ambinintsoa Ianteherana** : « Utilisation de l'os à Madagascar » Mémoire de fin d'étude EESSA 1985.
- [13] : **RAKOTOMENA Yvon Zafimangasoavina et RASOLOFO Yves Patrick** : « Etude de la valorisation de l'os à Madagascar » ; Mémoire de fin d'étude ESPA. 1989

- [14] : **P. RIAUX** : « Valorisation des sous-produits d'origine animale ». L'utilisation du 5<sup>ème</sup> Quartier.
- [15]: "phenol"; "<http://scienceamusante.net/wiki/polyphenol/caractéristique>"
- [16] : Technique de l'ingénieur : « L'ammoniac »
- [17] : [www.members.wto.org/crnattachments/2008/sps/AAs/acidamin.pdf](http://www.members.wto.org/crnattachments/2008/sps/AAs/acidamin.pdf)
- [18] : <http://www.FAO.org/docrep/>
- [19] : « Eléments de pharmacopée Malagasy » : TOME 1 (notice I A 39), Société pour la promotion de la pharmacopée Malagasy.
- [20] : **J.B. BAILLIERE et FILS** : « Manuel du distillateur » ch. **MARILLER**
- [21]: <http://ecofog.cirad.fr/fr/enseignement/LicenceProG%/support/degradationbois.pdf>.
- [22]: Hand Book
- [23] : **Pierre BOITEAU, Marthe BOITEAU, Lucile BOITEAU** ; « Dictionnaire des noms Malgaches des végétaux ». Collection nature : Flore de M<sup>scar</sup> ; Edition Alzieu, Juin 1999.
- [24] : **Pierre BOITEAU**, « Médecine traditionnelle et Pharmacopée : Précis de matière médicale Malgache »
- [25] : **R. RAZAFIMAHERY** « La pharmacopée Malgache : Le ranomena » Bulletin de Madagascar, Février 1954 (pages : 170-173)
- [26] : Réunion sous régionale de l'océan indien ANTANANARIVO. Madagascar du 26 au 30 aout 1993 : Médecine traditionnelle et Pharmacopée Environnement et développement durable.
- [27] : **Docteur SALVAT** : « Etude toxicologique d'un médicament empirique indigène appelé : Ranomena » ; Bulletin de la société des sciences médicales de Madagascar 7<sup>ème</sup> édit. (1<sup>er</sup> semestre) : pages 7-22
- [28] : **Edmond RAZAFINDRAKOTO** : « Ny fomba fanasitranana amin'ny Ranomena ». Imprimerie de Madagascar Antananarivo 1962.

[29] : **Rasolofa RAZAFINDRAMAMBA** : « Recherche sur la valeur néματοïde du ranomena et des extraits des plantes courantes à Madagascar susceptibles d'être employés dans la lutte contre l'anguillulose du riz »

[30] : **Eric Heritiana RATSIMBAZAFY** : « Possibilité d'utilisation de résidu de « ranomena » en tant qu'insecticide terricole. Résultats d'expérimentation d'analyse de rentabilité économique ». Sortant de l'ESSA

[31] : **Klaus WEISSERMEL, Hans-Jürgen Apre** : « Chimie Organique industriel ». Principaux produits de base et intermédiaire.

[32] : **LOUIS Hackspill** : « Chimie minérale », Imprimerie des presses universitaire de France 1958.

[33] : **Jacqueline DOAT et Xavier DEGLISE** : « Comparaison entre pyrolyse rapide et pyrolyse lente classique ». Revue Bois et Forêts des Tropiques, n° 198, 4<sup>e</sup> trimestre 1982.

[34]: <http://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/98fr/04-15880.pdf>

[35]: "osséine" [fr.wikipedia.org/wiki/Ostéine](http://fr.wikipedia.org/wiki/Ostéine).

[36] : **Andrianaivoravelona Jaconnet Oliva** : « Analyse de la composition chimique de quelques huiles essentielles Malgaches par Chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse » Mémoire de fin d'études pour l'obtention du DEA (ESPA)

[37] : **P.Franchomme** : « l'aromathérapie : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles » Nouvelles éditions ROGER JOLLOIS 1995.

[38]: **BRIDGWATER A., SZERNIKS. PISKORZ J.** (2002) «The status of biomass fast pyrolysis » « \_Fast pyrolysis of biomass: A handbook ». Vol 2, p 1-22

[39] : **A. DESCEEMAEKER** : « Ravi-maitso » Librairie Md Paoly 1975 Ambositra Fianarantsoa.

# ANNEXE.

## ANNEXE I: *Protocole des analyses physico-chimiques de la créosote.*

### 1) **Densité relative de l'extrait de la créosote selon la norme NF ISO 6883.**

- **Définition** : c'est la masse volumique de la créosote ou bien le rapport de la masse de la créosote sur son volume à une température donnée. Elle est exprimée en gramme par millilitre.

- **Le principe** est basé sur la mesure de la masse, à une température ambiante, d'un volume de créosote contenu dans le pycnomètre préalablement étalonné à la même température.

La densité est donnée par la formule suivante :  $d = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0}$

$M_0$  : la masse en gramme du pycnomètre vide ;

$M_1$  : la masse en gramme du pycnomètre rempli d'eau ;

$M_2$  : la masse en gramme du pycnomètre rempli de « **ranomena** ».

### 2) **Détermination d'indice de réfraction selon la norme NF ISO 6320**

- **Définition** : Il permet de mesurer le pouvoir réfringent de la créosote par rapport à la raie «D» du sodium (589,6 NM).

- **Principe** : L'indice de réfraction est déterminé dans un réfractomètre en utilisant la raie «D» du sodium à une température aussi proche que possible de la température de référence. La température de référence est de 20 °C pour les huiles.

- **Expression des résultats** : La détermination de cet indice est donnée par lecture directe sur le réfractomètre à température fixée à 20°C.

### 3) **Détermination du pouvoir rotatoire.**

C'est la propriété qu'ont certains milieux de faire tourner le vecteur lumineux d'un faisceau lumineux la traversant. Il est mesuré à l'aide d'un polarimètre.

La méthode consiste à prendre 5g de produit, puis dissoudre dans 250ml d'eau distillée.

**ANNEXE II : Protocole d'analyse physico-chimique des composants du « ranomena ».**

**A. Analyse qualitative.**

**1) Dosage volumétrique du « ranomena ».**

**a) Matériels et réactifs utilisés.**

- Phénolphtaléine et hélianthine.
- Acide chlorhydrique a  $1/2$  N
- Fiole jaugée
- Becher
- Eprouvette graduée
- Pipette.

**b) Mode opératoire**

- (1) Dans un bécher, prendre 10ml de la solution du « **ranomena** ».
- (2) ajouter quelques gouttes de phénolphtaléine puis de l'hélianthine dès que la coloration rouge violette disparaît.
- (3) Préparer une solution d'acide chlorhydrique de 0.5N.
- (4) Faire le dosage jusqu'à ce que l'on arrive à la zone de virage (rouge au jaune orangé).

A l'équivalence on obtient :

$$V_A = 68,8\text{ml}$$

- $N_A = 0,506$   $\implies$  Normalité de la solution titrante
- $V_A = 68,8$  ml  $\implies$  Volume versé à l'équivalence.
- $V_B = 10$  ml  $\implies$  Prise d'essais du « **ranomena** ».
- $N_B =$   $\implies$  Normalité inconnue.

A l'équivalence, on a :

$$N_A * V_A = N_B * V_B$$

**D'où :**

$$N_B = \frac{(N_A * V_A)}{V_B}$$

**Application Numérique:**

$$N_B = \frac{0,506 \cdot 68,8}{10} = 3,48N$$

$$N_B = 3,48N$$

**4) Calcul de la quantité de l'élément basique:**

$$N_B \cdot V_B = 3,48 \cdot 10 \cdot 10^{-3} = 0,035 \text{ Eq.g pour } 10\text{ml de « ranomena ».}$$

Soit :

$$3,48 \text{ Eq.g/litre}$$

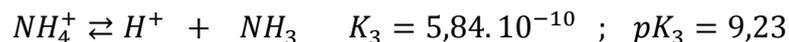
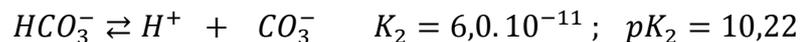
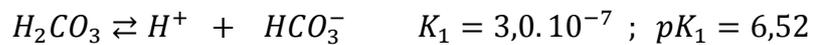
**5) Détermination du pH de l'hydrogencarbonate d'ammonium (NH<sub>4</sub>) HCO<sub>3</sub>.**

L'hydrogencarbonate d'ammonium est un sel d'acide faible (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) et d'une base faible (NH<sub>3</sub>), selon la réaction :



$$pH = \frac{1}{2} pK_1 + \frac{1}{2} pK_3$$

Avec :



Applications numériques :

$$pH = \frac{6,52 + 9,23}{2} = 7,88$$

$$pH = 7,88$$

**B. Analyse quantitative**

**1) Densité du ranomena selon la norme NF ISO 6883**

$$\text{Soit : } d = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0}$$

M<sub>0</sub>, M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> : masse respective du pycnomètre à vide, remplie d'eau et remplie du « ranomena ».

## 2) Indice de réfraction

La détermination de cet indice est donnée par lecture directe sur le réfractomètre à température fixée à 20°C.

### C. pKa de quelques des dérivés ammoniacaux composants du « ranomena ».

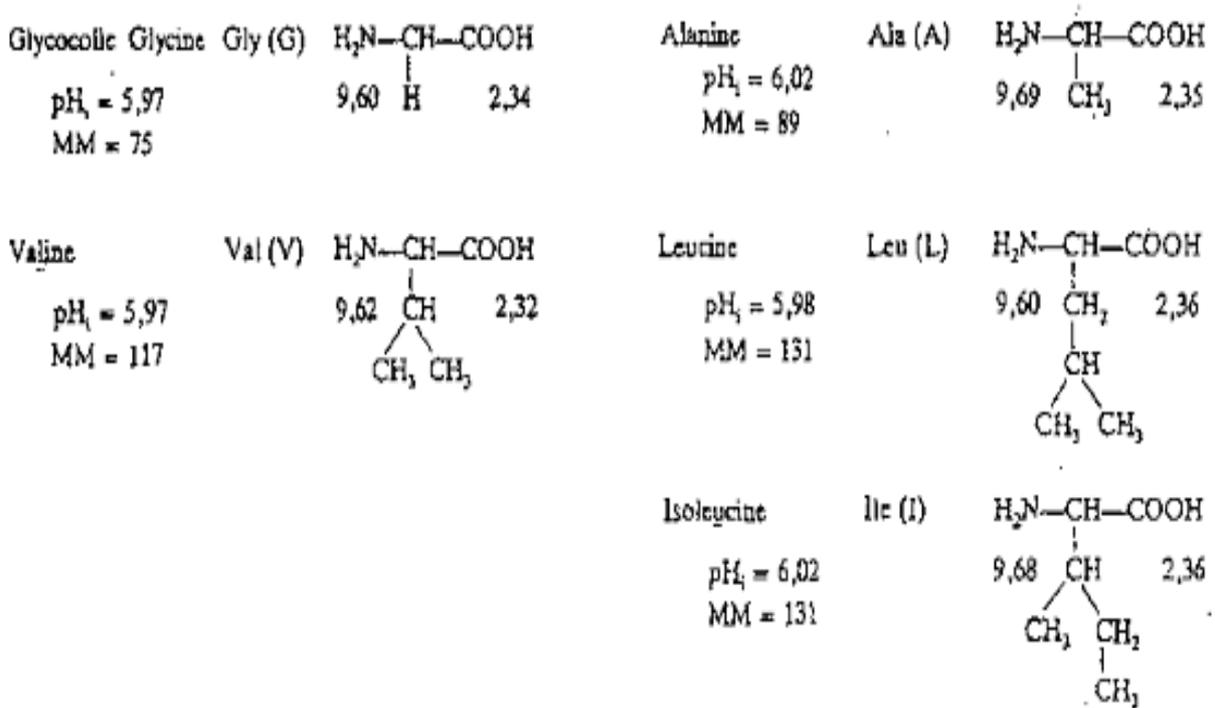
amines	NH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> NH	(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> N
pKa de l'acide conjugué	9,25	10,25	10,75	9,80
pK <sub>b</sub> de la base conjuguée	4,76	3,60	3,25	4,20
Kb	(1,74.10 <sup>-5</sup> )	(2,51.10 <sup>-4</sup> )	5,62.10 <sup>-4</sup>	6,31.10 <sup>-5</sup>

**ANNEXE III. Structure des principaux acides aminés.**

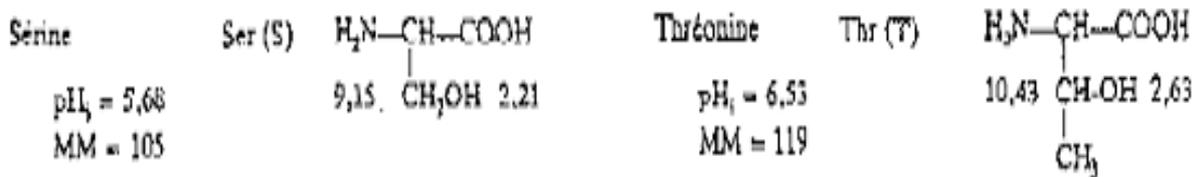
• **Acides aminés aliphatiques**

Acides monoaminés monocarboxyliques

[Sous la formule à droite : pKa<sub>1</sub> (forme acide) ; à gauche : pKa<sub>2</sub> (forme basique) ; masse molaire : MM en g.mol<sup>-1</sup>].



• **hydroxylés.**



• dicarboxyliques et leurs amides

Acide aspartique	Asp (D)	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{COOH} \end{array}$	<p>Asparagine</p> <p>Asn (N)</p> $\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CO}-\text{NH}_2 \end{array}$
pH <sub>1</sub> = 2,98		9,82      2,09	pH <sub>1</sub> = 5,41
MM = 133		3,86	MM = 132
Acide glutamique	Glu (E)	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{COOH} \end{array}$	<p>Glutamine</p> <p>Gln (Q)</p> $\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CO}-\text{NH}_2 \end{array}$
pH <sub>1</sub> = 3,22		9,67      2,19	pH <sub>1</sub> = 5,65
MM = 147		4,25	MM = 146

#### **ANNEXE IV : Principe de coloration au gram**

- fixation des bactéries sur une lame puis passage de la lame dans la flamme, dite *frottis*;
- La lame est plongée dans un premier colorant : le *violet de gentiane* (1 minute). Il va traverser les parois et membranes des bactéries et se fixer dans leurs cytoplasmes. Ainsi à cette étape toutes les cellules sont colorées en violet.
- La lame est ensuite traitée au lugol (diode) en solution qui sert de *mordant* (30 secondes) : il va *renforcer* le violet de gentiane contenu dans le cytoplasme des bactéries.
- On chasse ensuite le violet avec une solution d'éthanol à 90°. Cette étape est cruciale car permet de discriminer les bactéries *Gram négatif* des bactéries Gram positif.

Le principe est le suivant : les bactéries *Gram négatif* possèdent une paroi pauvre en peptidoglycane, composant qui en raison de sa faible quantité va permettre à l'alcool d'emporter le violet de gentiane, celui-ci disparaissant du cytoplasme. La bactérie est donc décolorée

- La lame, après avoir été rincée, est plongée brièvement dans un deuxième colorant, la *fuchsine* (1 minutes). Ce colorant traverse toutes les parois et membranes et va colorer les bactéries

La lame est ensuite récupérée, rincée et séchée, puis observée au microscope optique. Les bactéries *Gram négatif* apparaîtront en rose, tandis que les bactéries à gram positif apparaîtront en violet.

## **ANNEXE V : Protocole de préparation du milieu et de l'inoculum.**

### **1) préparation du milieu**

➤ *Composition MHA (milieux solides) et MHB (milieux liquides)*

Extrait de viande	: 3 g/l
Hydrolysate de caséine	: 17.5g/l
Amidon	: 1.5g/l
Agar (pour le milieu solide)	: 15g/l
PH	: 7.4 ± 0.2

➤ *Composition SAB (milieu liquide) et SA (milieu liquide)*

Extrait viande	: 5g/l
Caséine	: 5g/l
Glucose	: 20g/l
Agar (pour le milieu solide)	: 15g/l
pH	: 5.7 ± 0.2

- Peser tous le composant du milieu
- Mettre dans l'Erlenmeyer de 2000ml
- Ajouter 1000 ml d'eau distillée
- Mélanger sur une plaque chauffante puis agiter
- Mesurer et ajuster le pH à l'aide d'un pH-mètre
- Ajouter l'agar
- Porter à l'ébullition
- Stériliser à 121°C pendant 15mn à l'autoclave
- Couler dans des boites de petristeril sous la hotte à flux laminaire autour de la flamme du bec bunsen
- Laisser refroidir

### **2) préparations de l'inoculum**

- Repiquer les souches sur des milieux solides MHA et SA Candida albicans
- Incuber à 37° C pour les bactéries et à 25°C pour le Candida pendant 24 Heures
- Ensemencer deux à trois colonies isolée de cette culture jeune dans 50ml des milieux liquides MHB et SAB
- Incuber les cultures pendant 24 heures

- Effectuer une suspension microbienne dont la turbidité est de 0.5 Macfarland et qui correspond à  $10^8$  ufc/ml de bactéries et  $10^7$  ufc/ml de levure à partir de ces cultures microbiennes par l'intermédiaire d'un densicheck
- Diluer dans des milieux liquides adéquats jusqu'à avoir un inoculum de  $10^6$  ufc/ml de germe

**ANNEXE VI : Composition chimique des huiles essentielles :****A. *Thymus vulgaris*.**

Composition	Temps de rétention (min)	% Area
$\alpha$ -pinène	3,617	2,559
camphène	4,098	0,244
$\beta$ -pinène	4,603	1,061
<b>sabinène</b>	4,81	3,905
<b><math>\delta</math>-3-carène</b>	5,197	0,037
$\beta$ -phellandrène	6,348	0,314
limonène	6,032	0,389
$\alpha$ -terpinène	5,705	0,924
$\beta$ -myrcène	<b>5,437</b>	1,366
1,8-cinéol	7,127	17,981
Cis- $\beta$ -ocimène	7,512	0,085
$\gamma$ -terpinène	<b>7,768</b>	<b>8,264</b>
Trans- $\beta$ -ocimène	<b>7,892</b>	0,179
p-cymène	<b>8,373</b>	6,177
terpinolène	11,347	0,119
Trans-thuyan-4-ol	12,892	0,523
camphre	14,5	0,441
linalol	<b>15,328</b>	<b>1,857</b>
$\beta$ -élémente	16,245	0,062
$\beta$ -caryophyllène	16,405	1,083
$\alpha$ -terpinéol	19,012	2,307
bornéol	19,093	0,261
$\delta$ -cadinène	20,353	<b>0,196</b>
Caryophyllène oxyde	25,48	0,253
Eugénol	29,327	2,382
Thymol	29,675	40,663
Carvacrol	30,232	1,731

**B. Ocimum grattissimum.**

Nom du composé	Taux %
$\alpha$ -thujène	-
$\alpha$ -pinène	-
<b>camphène</b>	-
$\beta$ -pinène	<b>0,9</b>
<b>sabinène</b>	<b>0,9</b>
myrcène	0,6
limonène	-
$\alpha$ -terpinène	-
p-cymène	0,6
limonène	-
cis- $\beta$ -ocimène	5,9
$\gamma$ -terpinène	-
Hydrate de sabinène	3,4
Terpinèn-4-ol	1,9
Acétate de bornyle	-
thymol	-
eugénol	67,2
$\alpha$ -copaène	1,5
$\beta$ -caryophyllène	4,9
$\alpha$ -muuroène	7,2
Germacrène D	-
$\alpha$ -humulène	0,5
cadinène	0,6
Caryophyllène oxyde	0,9
total	97,1

## TABLE DE MATIERES

### REMERCIEMENTS

SOMMAIRE .....	i
LISTE DES SYMBOLES .....	ii
LISTE DES ABREVIATION.....	iii
LISTE DES FIGURES.....	iv
LISTE DES TABLEAUX .....	v
LISTE DES ANNEXES .....	vi
GLOSSAIRE.....	vii
INTRODUCTION.....	1

### *Première partie : ETUDES BIBLIOGRAPHIQUES*

<b>CHAPITRE I : Généralité sur la biomasse</b> .....	4
I-1) Définition .....	4
I-2) Le bois.....	4
I-2-1) Anatomie des bois .....	4
I-2-2) Caractéristique physique .....	5
a) Humidité ou teneur en eau .....	5
b) Masse volumique .....	5
I-2-3) Caractéristique chimique du bois .....	6
a) Composition.....	6
b) Composition élémentaire .....	6
I-2-4) Les divers polymères naturels constituants majoritaires du bois. ....	6
a) La cellulose .....	6
b) Les hémicellulose .....	7
c) La lignine .....	8
d) généralité sur la lignine.....	8
d-1) Structure de la lignine.....	8
d-2) Dégradation de la lignine.....	9
i) Dégradation chimique .....	9

ii) Biodégradation de la lignine .....	10
I-3) les os .....	10
I-3-2) Composition chimiques de l'os .....	11
I-3-3) L'osséine .....	11
a) Caractéristique physique de l'osséine .....	11
b) Caractéristique chimique de l'osséine .....	12
c) Dégradation des composés protéique de l'os .....	12
i) La décarboxylation de .....	13
ii) La réaction de désamination ammoniacale .....	13
<b>CHAPITRE II : Technique de transformation de la biomasse.....</b>	<b>14</b>
II-1) Introduction .....	14
II-2) Transformation par voies thermiques : la pyrolyse .....	14
II-2-1) Définition .....	14
II-2-2) Les différents types de pyrolyse .....	14
a) La pyrolyse lente.....	15
b) La pyrolyse rapide .....	15
II-2-3) Principaux paramètre influençant la réaction de pyrolyse.....	16
a) Influence de la matière première .....	16
i) Composition de la matière première .....	16
ii) Dimension de la matière première .....	16
iii) Caractéristique physique.....	16
b) Influence de la température de réaction.....	16
c) Influence de la vitesse de chauffe .....	17
II-2-4) Les phases de la pyrolyse de bois en fonction de la température .....	18
II-3) Paramètre cinétique de la dégradation de la biomasse .....	19
II-3-1) Cinétique de dégradation pour les 3 composants du bois.....	21
a) Dégradation de la cellulose.....	21
b) Dégradation thermique de l'hémicellulose.....	21
c) Dégradation thermique de la lignine.....	22
II-3-2) Les enthalpies de la réaction.....	23

<b>CHAPITRE III : Utilisation des produits de pyrolyse</b> .....	23
III-1) Introduction .....	23
III-2) Les produits de pyrolyse du bois.....	23
III-2-1) Caractéristiques du liquide pyroliqueux .....	23
III-2-2) Les caractéristiques des composés phénoliques issus de la pyrolyse des bois.....	25
a) Caractéristique physico-chimique de la créosote .....	26
III-2-3) Rendement d'huiles de pyrolyse .....	27
III-2-4) Utilisation des huiles de pyrolyse.....	28
a) Production d'acide acétique.....	28
b) Source de la créosote .....	28
i) Utilisation de la créosote.....	29
III-3) Le produit de pyrolyse de l'os : Le « <b>ranomena</b> ».....	30
III-3-1) Historiques.....	30
III-3-2) Définition.....	30
III-3-3) Production du « <b>ranomena</b> » .....	30
a) Technique de production .....	30
i) Traitement préliminaire de la matière première.....	30
ii) Description de l'appareil de distillation.....	31
iii) Obtention artisanale du « <b>ranomena</b> ».....	31
iv) Caractère physique du « <b>ranomena</b> ».....	32
a) Utilisation du « <b>ranomena</b> ».....	32
i) En médecine traditionnelle.....	32
ii) Dans le domaine de l'agriculture .....	33
III-3-4) Composition chimique du « <b>ranomena</b> » .....	34
a) Propriété physico-chimiques des constituants du « <b>ranomena</b> »....	35
III-3-4) Toxicité du « <b>ranomena</b> » .....	36
III-3) Utilisation des sous produit.....	37
III-3-1) Sous produits de pyrolyse de bois .....	37
a) Charbon de bois .....	37
b) Charbon actif .....	37
III-3-2) Utilisation de sous produits de pyrolyse des os.....	37
a) Résidu du ranomena.....	37

b) Utilisation des sous produits (charbon d'os) .....	38
i) Engrais .....	38
ii) En farine animale .....	38
iii) En raffinage.....	38

**Deuxième partie : ETUDES EXPERIMENTALES DE LA PYROLYSE.**

<b>CHAPITRE I : Appareillage</b> .....	41
I-1) Conception de l'appareil .....	41
I-2) Système de chauffage .....	41
I-3) L'appareil.....	41
a) L'alambic .....	41
b) Condenseur .....	42
I-4) Choix des matériaux .....	43
a) Alambic.....	43
b) Réfrigérant .....	43
c) Foyer .....	43
I-5) Dimension de l'appareil.....	44
I-6) Schéma de l'installation.....	45
<b>CHAPITRE II : Essais à la pyrolyse</b> .....	46
II-1) Généralité .....	46
II-2) Pyrolyse des bois .....	46
II-2-1) Présentation de la matière première.....	46
II-2-2) Résultats d'essais de la pyrolyse.....	47
a) Essais de pyrolyse des sciures des bois .....	47
i) Expériences.....	47
b) Calcul de rendement du pyroligneux .....	49
II-3) Pyrolyse des os .....	50
II-3-1) Prétraitement de la matière première .....	50
a) Avant la pyrolyse .....	50
b) Durant la pyrolyse.....	50
c) Séparation des produits .....	51
II-3-2) Résultats d'essais .....	52

a) Expériences.....	52
II-3-3) Rendement .....	54
<b>CHAPITRE III : Etudes chimiques des produits de pyrolyse.....</b>	<b>54</b>
III-1) Etude chimique de pyroligneux du bois.....	55
III-1-1) Test d'isolement de créosote à partir du liquide pyroligneux .....	55
a) Evaporation de l'eau .....	55
b) Extraction de la créosote par solvant.....	55
c) Evaporation du solvant d'extraction.....	56
d) Test aux réactifs révélateurs .....	56
e) Evaporation à l'air libre .....	57
III-1-2) Propriété physico-chimique de la créosote.....	58
a) Densité .....	58
b) Activité optique .....	58
c) Indice de réfraction .....	58
III-2) Etude chimique des composants du « <b>ranomena</b> » .....	59
III-2-1) Analyse qualitatives du « <b>ranomena</b> » .....	59
a) pH de la solution .....	59
b) Indice de réfraction.....	59
c) Densité .....	59
d) Confirmation de l'état chimique de carbonate d'ammonium présent dans le « <b>ranomena</b> » .....	59
III-2-2) Analyse quantitative des composants du « <b>ranomena</b> ».....	61
a) Dosage volumétrique des composants basique du « <b>ranomena</b> » ...	61
b) Détermination de la quantité de l'élément basique rapporté au (NH <sub>4</sub> )HCO <sub>3</sub> .....	62
III-3) Isolement des ptomaines .....	63
III-3-1) Procédé .....	63
Expérience 1 (résidu du ranomena).....	64
Expérience 2 (ranomena) .....	65
a) Evaporation.....	66
b) Action du solvant.....	66
c) Lavage à l'eau .....	66

d) Libération de base par basification .....	66
--	----

#### **CHAPITRE IV : Extension de l'étude chimique de dégradation de l'osséine.**

IV-1) Dégradation de l'osséine .....	68
IV-1-1) Réaction de décarboxylation .....	68
IV-1-2) Réaction de désamination ammoniacale .....	68
IV-1-3) Réaction de formation de carbonate d'ammonium .....	68
IV-1-4) Réaction de formation de méthanol.. .....	69
IV-1-5) La formation de méthylamine, diéthylamine, triméthylamine .....	69
a) Méthylamine .....	70
IV-1-6) La réaction de formation de la ptomaine.....	70

<i>Conclusion partielle</i> .....	71
-----------------------------------	----

### **Troisième partie : EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES PRODUITS ISSUS DE LA PYROLYSE.**

<i>A. Introduction</i> .....	73
<b>CHAPITRE I : Test antimicrobien</b> .....	74
I-1) Matériel et méthode .....	74
I-1-1) Bactérie .....	74
a) Bactérie à Gram positif .....	74
b) Bactérie à Gram négatif .....	74
c) Principe de coloration au gram .....	74
d) Caractéristique des bactéries .....	74
i) Les bactéries gram positifs .....	74
ii) Les bactéries à gram négatifs.....	75
I-2) Méthode de diffusion sur Gélose .....	75
I-3) Résultat d'étude et discussion.....	76
I-3-1) Activités microbiologique du « <b>ranomena</b> » et son résidu .....	76
a) Matériel utilisé .....	76
b) Mode opératoire de la préparation du milieu.....	77
c) Préparation des produits à tester .....	77

d) Mode opératoire.....	77
e) Résultats .....	78
f) Exploitation de résultats sur la sensibilité des différentes souches vis-à-vis du produits à tester .....	79
g) Interprétation .....	80
e) Conclusion .....	80
I-3-2) Test d'activités microbiologique de la ptomaïne.....	81
a) Produit à tester .....	81
b) Préparation du produit .....	81
c) Diamètre d'inhibition.....	82
d) Exploitation de résultats sur la sensibilité des différentes souches vis-à-vis des produits à tester .....	83
e) Conclusion .....	84
I-3-3) Activités antimicrobienne de créosote issus de bois .....	84
a) Résultat et discussion.....	85
i) Composition chimique .....	85
b) Produits à tester .....	86
c) Diamètre d'inhibition de la créosote du bois .....	86
d) Etude comparative d'activités microbiologiques du créosote et à celles des deux huiles essentielles (Thymus Vulgaris, Ocimum Grattissimum).....	87
e) Exploitation de résultats d'analyse .....	88
f) Conclusion.....	89
<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>90</b>