



UNIVERSITÉ D'ANTANANARIVO  
FACULTÉ DES SCIENCES  
DÉPARTEMENT DE CHIMIE MINÉRALE ET DE CHIMIE PHYSIQUE



**MÉMOIRE**

Pour l'obtention du

**DIPLÔME D'ÉTUDES APPROFONDIES**

En Chimie, option : Chimie Physique

Présenté par : **RASOLOFONIRINA Haritiana**

**Contribution à l'étude physico-chimique d'une plante  
du genre *Mundulea* (Leguminoseae)**

Soutenu publiquement le : 19 Mars 2009

Devant la commission d'examen composée de :

**Président** : Monsieur RAFENOMANANTSOA Alphonse, Professeur Titulaire

**Rapporteur** : Madame RANDRIAMBOLA Lygie, Professeur Titulaire

**Examineur** : Monsieur RAKOTOARIMANGA Jeannot, Professeur







UNIVERSITÉ D'ANTANANARIVO  
FACULTÉ DES SCIENCES  
DÉPARTEMENT DE CHIMIE MINÉRALE ET DE CHIMIE PHYSIQUE



MÉMOIRE

Pour l'obtention du

**DIPLÔME D'ÉTUDES APPROFONDIES**

En Chimie, option : Chimie Physique

Présenté par : **RASOLOFONIRINA Haritiana**

**Contribution à l'étude physico-chimique d'une plante  
du genre *Mundulea* (Leguminosae)**

Soutenu publiquement le : 19 Mars 2009

Devant la commission d'examen composée de :

**Président** : Monsieur RAFENOMANANTSOA Alphonse, Professeur Titulaire

**Rapporteur** : Madame RANDRIAMBOLA Lygie, Professeur Titulaire

**Examineur** : Monsieur RAKOTOARIMANGA Jeannot, Professeur



*Que toutes les personnes m'ayant permis de mener ce travail de mémoire dans des conditions agréables soient assurées de ma gratitude.*

*Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde reconnaissance à Madame RANDRIAMBOLA Lygie, Professeur titulaire, Responsable de la Formation Doctorale de Chimie Physique et Directeur du Laboratoire de Chimie Structurale à la Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, et d'avoir bien voulu diriger ce mémoire malgré ses multiples responsabilités.*

*J'aimerais exprimer ma profonde gratitude à Monsieur RAFENOMANANTSOA Alphonse, Professeur titulaire, Chef de Département de Chimie Minérale et de Chimie Physique à la Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, d'avoir bien voulu présider ce mémoire malgré ses multiples obligations.*

*Je tiens également à exprimer mes sincères remerciements à Monsieur RAKOTOARIMANGA Jeannot, Professeur, d'avoir bien voulu examiner ce mémoire malgré ses lourdes obligations.*

*J'adresse mes remerciements à Monsieur RAJERISON Wilson, Professeur titulaire, pour ses conseils appréciables et ses aides tout au long de ce travail.*

*Toute ma reconnaissance s'adresse à Madame RAFARASOA Lala, Maître de conférences, Directeur du Laboratoire d'Entomologie Médicale à la Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, Chercheur impliqué dans l'URP/SCRiD (Unité de Recherche en partenariat sur les Systèmes de Culture et Rizicultures Durables) pour tous ses efforts et pour le soutien qu'elle a toujours témoigné tout au long de cette étude. Par le biais de l'URP/SCRiD, elle nous a fourni en particulier le matériel végétal étudié au cours de ce travail et quelques réactifs.*

*Que Monsieur RAROJOSON Ndrianja Jemisa, Responsable du Laboratoire de Pédologie FO.FI.FA. Tsimbazaza trouve ici l'expression de ma gratitude pour son accueil chaleureux dans son Laboratoire de Recherche.*

*Je remercie vivement Monsieur ROGER Edmond, Maître de conférences, Enseignant Chercheur du Département de Biologie et Ecologie Végétale à la Faculté des Sciences, de m'avoir aidé à la détermination de mon matériel végétal.*

*Grand merci à tous mes amis de l'option Chimie physique et au personnel administratif et technique du Département de Chimie minérale et de Chimie physique et du Département d'Entomologie Médicale.*

*A ma famille : mes parents, mes frères et ma sœur dont le soutien et les encouragements de tous les jours ont été essentiels tout au long de mes études, et tout particulièrement au cours de ce travail, soyez tous assurés de ma profonde reconnaissance.*

---

INTRODUCTION GENERALE .....	1
PARTIE THEORIQUE .....	3
I. LES EXTRACTIONS .....	4
I.1. L'EXTRACTION SOLIDE-LIQUIDE .....	4
I.2. L'EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE .....	4
II. LA REACTION DE COMPLEXATION .....	5
II.1. STRUCTURE DU COMPLEXE .....	5
II.2. EQUILIBRE DE LA REACTION DE COMPLEXATION .....	5
III. LES TESTS PHYTOCHIMIQUES .....	5
III.1. LES TRITERPENOIDES ET STEROIDES .....	6
III.2. LES FLAVONOIDES .....	7
III.3. LES SAPONINES .....	7
III.4. LES ALCALOIDES .....	7
III.5. RESUME DES TESTS PHYTOCHIMIQUES .....	7
IV. LA CHROMATOGRAPHIE .....	8
IV.1. GENERALITES SUR LA CHROMATOGRAPHIE .....	9
IV.2. CHROMATOGRAPHIE D'EXCLUSION-DIFFUSION .....	9
IV.3. CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE .....	10
V. LA SPECTROCOLORIMETRIE .....	10
V.1. LA REACTION DE COMPLEXATION DES IONS PHOSPHATES .....	11
V.2. LA SPECTROPHOTOMETRIE .....	11
VI. LA SPECTROMETRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE .....	12
VII. LA MINERALISATION .....	13
VII.1. INCINERATION A TEMPERATURE ELEVEE .....	13
VII.2. EXTRACTION ET DOSAGE DE L'AZOTE MINERAL .....	13
VII.3. POURCENTAGE EN AZOTE TOTAL .....	14
VIII. ACIDE ET BASE EN SOLUTION AQUEUSE .....	14
VIII.1. DEFINITION DES ACIDES ET DES BASES .....	14
VIII.2. pH D'UNE SOLUTION .....	14

---

IX. LES METHODES PHYSICO-CHIMIQUES .....	15
IX.1. DOSAGE pH-METRIQUE .....	15
IX.2. DOSAGE CONDUCTIMETRIQUE .....	17
TRAVAUX PERSONNELS .....	19
<i>Chapitre I : Recherche bibliographique</i> .....	20
I. MATERIEL VEGETAL .....	20
I.1. UTILISATION LOCALE .....	20
I. 2. ETUDES CHIMIQUES ANTERIEURES .....	20
II. FAMILLE DES LEGUMINEUSES .....	21
III. GENERALITES SUR LES PESTICIDES .....	21
IV. ROTENONE .....	21
V. LOIS DE L'EQUILIBRE SUR LES MINERAUX .....	22
<i>Chapitre II : Analyse des constituants organiques de la plante</i> .....	23
I. INTRODUCTION .....	23
II. METHODOLOGIE .....	23
II.1. PREPARATION DE LA MATIERE PREMIERE .....	23
II.2. EXTRACTIONS .....	23
II.3. CRIBLAGE PHYTOCHIMIQUE .....	24
II.4. CHROMATOGRAPHIE .....	24
III. RESULTATS .....	24
III.1. RESULTATS DES EXTRACTIONS .....	24
III.2. RESULTATS DES TESTS PHYTOCHIMIQUES .....	27
III.3. RESULTATS DES ANALYSES CHROMATOGRAPHIQUES .....	29
IV. CONCLUSION .....	38
<i>Chapitre III : Analyse des constituants minéraux de la plante</i> .....	40
I. INTRODUCTION .....	40
II. METHODOLOGIE .....	40
II.1. LA CALCINATION .....	40

II.2. PREPARATION DE LA SOLUTION POUR L'ANALYSE DU PHOSPHORE .....	40
II.3. LA MINERALISATION .....	41
III. RESULTATS .....	41
III.1. ANALYSE DU PHOSPHORE .....	41
III.2. ANALYSE DES CATIONS .....	43
III.3. DETERMINATION DU POURCENTAGE EN AZOTE .....	45
III.4. RECAPITULATION DES RESULTATS DE L'ANALYSE MINERALE .....	46
IV. CONCLUSION .....	47
<i>Chapitre IV : Etudes physico-chimiques de la plante</i> .....	48
I. INTRODUCTION .....	48
II. METHODOLOGIE .....	48
III. RESULTATS .....	48
III.1. CARACTERES ACIDO-BASIQUES DES ECHANTILLONS .....	48
III.2. ACTIONS DE NaOH SUR CHAQUE ECHANTILLON .....	52
IV. CONCLUSION .....	56
DISCUSSIONS .....	57
CONCLUSION GENERALE .....	60
PARTIE EXPERIMENTALE .....	62
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	63
ANNEXE .....	65

---

# INTRODUCTION GENERALE

A Madagascar, beaucoup de plantes sont utilisées comme pesticides naturels, pour éliminer ou réduire les dégâts occasionnés par les insectes ravageurs de cultures. Cependant cette pratique traditionnelle et empirique ne répond pas à un certain nombre de questionnements, tels que : pourquoi ces plantes agissent sur les insectes, quelle en est la substance active, a-t-elle des effets secondaires sur la santé et l'environnement, etc. Face à ces problématiques, il devient une nécessité de valoriser ces ressources naturelles dont leurs exploitations spécifiques permettent de garantir la conservation de la biodiversité, afin de réduire l'emploi des pesticides chimiques qui sont à la fois coûteux et néfastes à l'environnement.

Pour contribuer à réaliser ces projets, nous avons effectué une étude physico-chimique d'une plante du genre *Mundulea* (Leguminosae), possédant une vertu insecticide.

Le but de notre travail est de pouvoir expliquer, à l'aide des différentes analyses chimiques les phénomènes qui se passent lors de la conservation de la plante sous toutes ses formes (à l'état brut ou en solution), afin d'en tirer une idée d'amélioration des ses activités et de son usage en tant que pesticide naturel.

Nous nous proposons alors, dans ce travail de procéder à la mise en évidence des différents constituants chimiques et à l'étude physico-chimique de cette plante pour déterminer en perspective les matières actives à propriété insecticide. Pour cela différentes techniques et analyses ont été adoptées.

Dans un premier temps, nous énonçons les rappels théoriques des principes généraux des méthodes utilisées dans notre travail.

Dans un second temps, nous développons nos travaux personnels qui comprennent quatre chapitres :

- La recherche bibliographique.
- L'analyse des constituants organiques de la plante : les techniques de séparation, les tests phytochimiques et les séparations chromatographiques.
- L'analyse des constituants minéraux de la plante.
- L'étude physico-chimique des différents échantillons.

Dans un troisième temps, les résultats des analyses dans notre étude seront discutés avec les connaissances d'après la recherche bibliographique.

Ce mémoire s'achèvera par une conclusion générale et des perspectives.

---

## PARTIE THEORIQUE

Nous allons rappeler ici les principes généraux des méthodes utilisées au cours de notre travail. Ils ont été effectués afin de mieux comprendre les phénomènes qui se passent dans nos différentes analyses puis d'en tirer des interprétations appropriées.

## I. LES EXTRACTIONS

Les extractions permettent de séparer grossièrement les substances chimiques de la plante, à l'aide des différents solvants.

### I.1. L'EXTRACTION SOLIDE-LIQUIDE [7, 10, 12]

L'échantillon est à l'état solide. Ses entités chimiques subissent un phénomène de solvation par le solvant. A la fin de l'extraction, on procède à la filtration puis à l'évaporation complète du solvant pour obtenir l'extrait.

Le rendement de l'extraction est donné par la formule suivante :

$$\eta (\%) = \frac{m_f}{m_i} .100 \quad (1)$$

Où  $m_i$  : Masse initiale de l'échantillon à extraire (g).

$m_f$  : Masse finale de l'extrait après évaporation du solvant (g).

#### Différents types d'extractions solide-liquide

- La macération est la mise en contact prolongé à froid ou à chaud d'un échantillon dans un solvant.
- La décoction est une opération qui consiste à extraire les principes d'une substance végétale par contact plus ou moins prolongés avec un liquide bouillant.
- L'infusion est une opération qui consiste à verser l'eau bouillante sur l'échantillon.
- L'extraction au soxhlet est une opération qui permet d'extraire les parties solubles d'un soluté dans un solvant volatil, en utilisant le matériel appelé : « soxhlet ».

### I.2. L'EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE [11]

L'extraction liquide-liquide est une méthode de séparation qui utilise la différence de solubilité d'un soluté S dans deux solvants non miscibles A et B, dont A contient initialement S. Il y a alors un phénomène de partage des substances chimiques du soluté entre les deux solvants

non miscibles. A l'équilibre, l'enthalpie libre de S est la même dans les deux phases. Enfin les deux phases seront séparées par décantation.

## II. LA REACTION DE COMPLEXATION [18]

La réaction de complexation est une réaction chimique qui produit un complexe. Certaines réactions dans les tests phytochimiques ainsi que le dosage du phosphore de la plante sont basés sur ce type de réaction.

### II.1. STRUCTURE DU COMPLEXE

Un complexe  $MX_n$  peut généralement être considéré comme issu de l'union de ses constituants : d'une part un ion simple (ou hydraté) M, d'autre part les particules X (molécule neutre ou ion) fournissant les doublets nécessaires à la formation des liaisons de coordinence.

### II.2. EQUILIBRE DE LA REACTION DE COMPLEXATION

Soient M l'ion central, X le ligand et n le nombre de coordination. On a la réaction suivante :



La loi d'action des masses donne le coefficient de stabilité  $K_s$  du complexe.

$$K_s = \frac{[MX_n]}{[M][X]^n} \quad (2)$$

Avec  $[MX_n]$  : Concentration du complexe

$[M]$  : Concentration de l'ion central

$[X]$  : Concentration du ligand

## III. LES TESTS PHYTOCHIMIQUES

Les tests phytochimiques sont des caractérisations des principales familles chimiques des produits naturels dans un échantillon de plante, par des réactions chimiques entraînant des colorations ou des précipitations.

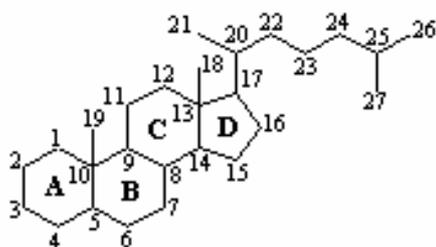
Nous allons rappeler quelques familles des substances naturelles analysées dans notre travail et leurs réactions caractéristiques.

### III.1. LES TRITERPENOÏDES ET STÉROÏDES [16, 26]

#### III.1.1. Structures chimiques

Les triterpénoïdes sont des composés formés de 6 unités isoprène ( $C_5H_8$ ). Ils peuvent avoir une structure aliphatique ou tétracyclique ou pentacyclique.

Les stéroïdes sont des triterpènes tétracycliques qui ont perdu au moins trois radicaux méthyles. En général, il s'agit des deux  $CH_3$  de C4 et celui de C8. Ils ont un squelette « perhydrocyclopentano-phénanthrène » avec une chaîne latérale fixée en C17. Le système de numérotation des stéroïdes est le suivant :

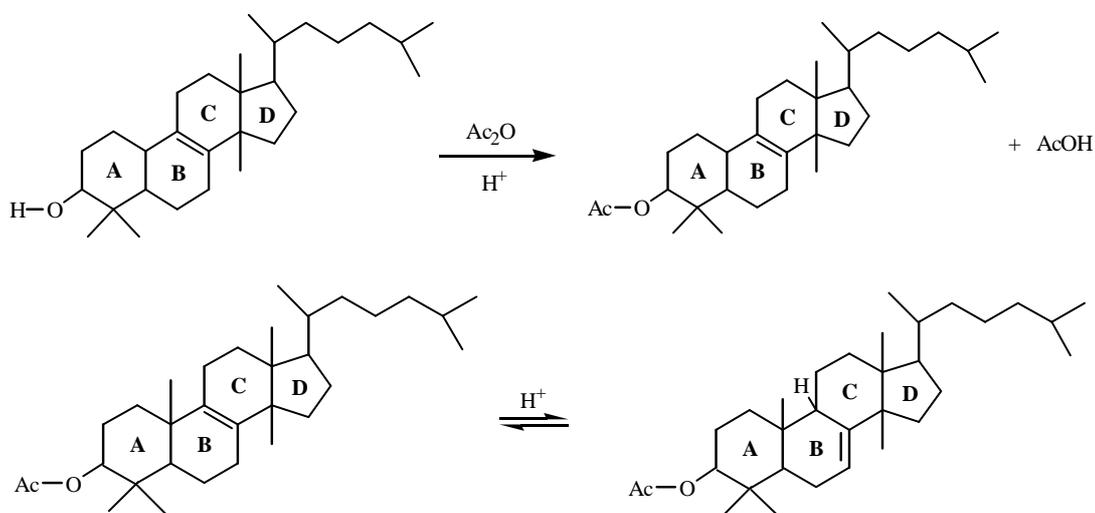


Il existe des stéroïdes particuliers tels que les stérols insaturés, les stéroïdes lactoniques et les glycosides cardiotoniques.

#### III.1.2. Tests des triterpénoïdes et des stéroïdes

Les triterpénoïdes et les stéroïdes sont décelés par le réactif de Liebermann-Burchard. Les réactions s'effectuent en deux étapes successives : acétylation du groupement hydroxyle généralement situé en C3 par l'anhydride acétique en présence d'un catalyseur acide, et isomérisation de la double liaison cyclopentano-phénanthrénique.

Prenons l'exemple des triterpènes de la série du lanostérol.





Familles chimiques	Tests et réactifs	Résultats attendus	Composés existants
<i>Stéroïdes et terpénoïdes</i>	<u>Test de Liebermann-Burchard</u> : Anhydride acétique +H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> conc.	Coloration pourpre Coloration violet-bleue vert	Triterpénoïdes Stéroïdes
	<u>Réactif de Salkowski</u> : H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> conc.	Anneau de séparation rouge	Stéroïls insaturés
	<u>Réactif de Badjet-Kedde</u> : Acide picrique	Coloration orange	Stéroïdes lactoniques
	<u>Réactif de Keller-Killiani</u> : FeCl <sub>3</sub> 10%+CH <sub>3</sub> COOH glacial	Anneau de séparation rouge pourpre	Glycosides cardiotoniques
<i>Flavonoïdes et Leucoanthocyanes</i>	<u>Test de Wilstater</u> : HCl conc + Tournure de magnésium	Coloration rouge  Coloration rouge à pourpre	Flavones  Flavonols
	<u>Test de Bate Smith</u> : HCl conc à chaud	Coloration rouge violacée	Leucoanthocyanes
	HCl conc à froid	Coloration rouge	Anthocyanes
<i>Saponines</i>	Eau+agitation énergique pendant 30s	Mousse persistante après 30mn	Saponines
<i>Tanins et polyphénols</i>	Gélatine 1% Gélatine 1% + NaCl 10%(v/v)	Précipitation Précipitation	Polyphénols Tanins
<i>Quinones</i>	- Eau + Benzène - NH <sub>4</sub> OH 50% dans la phase benzénique	Coloration rouge violacée	Quinones
<i>Polysaccharides</i>	Eau- Ethanol (3/1)	Précipitation	Polysaccharides
	Eau- Ethanol (3/1) + Liqueur de Fehling + chauffage	Précipitation rouge brique	Polysaccharides à sucres réducteurs
<i>Alcaloïdes</i>	<u>Réactif de Wagner</u> : I <sub>2</sub> /IK <u>Réactif de Mayer</u> : HgCl <sub>2</sub> /IK <u>Réactif de Dragendorff</u> : (NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> BI/IK	Précipitation ou floculation ou turbidité	Alcaloïdes

Tableau 1: Tests phytochimiques

#### IV. LA CHROMATOGRAPHIE

La chromatographie est une méthode qui permet de séparer, puis de détecter et d'identifier les constituants d'un échantillon. Leur séparation a lieu entre deux phases non miscibles appelées : « phase fixe » et « phase mobile » ou « éluant ».

## IV.1. GENERALITES SUR LA CHROMATOGRAPHIE [11, 17]

La séparation chromatographique résulte de l'affinité des constituants avec les deux phases. Il y a différents types de chromatographie : la chromatographie d'adsorption (C.P.G., C.C.M.); la chromatographie de partage (H.P.L.C., Chromatographie liquide de partage) ; la chromatographie par échange d'ions et la chromatographie d'exclusion-diffusion.

Le phénomène de la chromatographie se résume comme suit :

- Le mélange se répartit dans les deux phases jusqu'à l'établissement de l'équilibre qui dépend des propriétés chimiques du mélange.
- Le renouvellement continu de la phase mobile remet en cause cet équilibre et entraîne par une succession d'autres équilibres la migration des substances tout au long de la phase stationnaire.
- La séparation des différents composés provient du fait que chaque constituant migre avec sa propre vitesse.

## IV.2. CHROMATOGRAPHIE D'EXCLUSION-DIFFUSION [11]

### IV.2.1. Principe

La chromatographie d'exclusion-diffusion permet de séparer les constituants chimiques d'un mélange en fonction de leurs poids moléculaire. Dans cette chromatographie, la phase fixe est un gel et la phase mobile est un liquide.

Pendant l'élution, les molécules de dimensions inférieures au diamètre des mailles de réseaux peuvent s'introduire à l'intérieur des grains du gel, c'est la diffusion. Les autres molécules de dimension plus grande restent à l'extérieur des grains, c'est l'exclusion. L'éluant entraîne en premier lieu les grosses molécules, alors que les petites molécules qui doivent diffuser passent en dernier.

### IV.2.2. Coefficient de diffusion

Le coefficient de diffusion s'écrit :

$$K_d = \frac{C_s}{C_m} \quad (3)$$

Avec  $C_s$  : Concentration en substances dans la phase stationnaire

$C_m$  : Concentration en substances dans la phase mobile

- Si  $K_d = 0$  ;  $C_s = 0$  : toutes les molécules sont exclues.
- Si  $K_d = 1$  ;  $C_s = C_m$  : c'est le comportement idéal de l'exclusion-diffusion.

- Si  $K_d > 1$  : il existe d'autres facteurs influençant la chromatographie comme l'adsorption ou l'échange d'ions.

### IV.3. CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE [5, 14]

#### IV.3.1. Principe

La chromatographie sur couche mince est un procédé analytique qui permet de séparer et d'identifier les familles chimiques d'un mélange. Elle repose principalement sur des phénomènes d'adsorption. La phase mobile, placée initialement dans une cuve est un solvant.

Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front de solvant. Cette vitesse dépend d'une part des forces électrostatiques retenant le composant sur la phase fixe, et d'autre part de sa solubilité dans la phase mobile. Généralement, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires.

A la fin de la chromatographie, il est nécessaire de révéler les produits chimiques séparés à l'aide des méthodes de révélations.

#### IV.3.2. Rapport frontal

Le rapport frontal permet d'identifier les substances séparées. Elle est donnée par la formule suivante :

$$R_f = \frac{D_x}{D} \quad (4)$$

Avec  $D_x$  : Distance parcourue par la substance

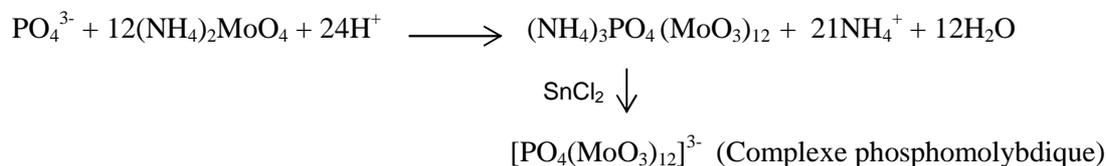
$D$  : Distance parcourue par le front du solvant

## V. LA SPECTROCOLORIMETRIE

La spectrophotométrie est la méthode utilisée pour déterminer la concentration en cations phosphore dans un échantillon. Cette méthode utilise la complexation des ions phosphates et la spectrophotométrie.

### V.1. LA REACTION DE COMPLEXATION DES IONS PHOSPHATES [23]

La réaction de complexation des ions phosphates est une réaction colorée. Elle est utilisée pour le dosage du phosphore dans la plante. En fait, les ions phosphates réagissent avec le molybdate d'ammonium en milieu acide et en présence de chlorure stanneux pour donner un complexe phosphomolybdique de coloration bleue. La réaction s'écrit :



### V.2. LA SPECTROPHOTOMETRIE [9, 12]

La spectrophotométrie est une méthode utilisée pour déterminer la concentration d'une espèce chimique dans une solution colorée.

Cette méthode est basée sur la mesure de l'intensité d'absorption d'un rayonnement électromagnétique de l'espèce chimique à doser. Les rayonnements les plus utilisés sont l'ultraviolet, la lumière visible et l'infrarouge qui se situent dans les domaines de longueurs d'onde respectives : 10 - 400 nm ; 400 - 750 nm et 0,75 - 50 μm.

#### V.2.1. Rappels sur le spectre d'absorption

Lorsque, à l'aide d'un système dispersif : prisme ou réseau, on décompose une lumière quelconque, on observe une suite continue ou discontinue de radiations, dont chacune possède une fréquence bien définie. Une telle radiation est dite monochromatique. Elle correspond à une transition bien définie entre les niveaux d'énergie :  $E_1$  de l'état fondamental donc la plus stable et  $E_2$  de l'état excité. Le quantum  $h\gamma$  absorbable correspond à la différence d'énergie entre les deux niveaux.

$$E_2 - E_1 = h\gamma \quad (5)$$

Avec  $h$  : Constante de Planck

$\gamma$  : Fréquence de la radiation

Un spectre d'absorption présente des raies ou des bandes sombres ou mêmes noires sur fond brillant.

#### V.2.2. Principe de la spectrophotométrie

Une substance colorée a une capacité plus ou moins grande à absorber certaine radiation lumineuse de longueur d'onde  $\lambda$ . Cette capacité est définie par l'absorbance  $A$  de la substance mesurée par le spectrophotomètre.

Dans un spectrophotomètre, une source de lumière blanche éclaire un système dispersif. Ce dernier est réglé afin de sélectionner une radiation lumineuse de longueur d'onde  $\lambda$ . Ensuite le faisceau de lumière sélectionné traverse une cuve contenant la solution à analyser. Le spectrophotomètre effectue alors à l'aide d'un dispositif électronique une comparaison entre les intensités lumineuses avant et après la traversée de la solution, puis affiche l'absorbance de la solution étudiée.

### V.2.3. Loi de Beer-Lambert

Cette loi exprime que la diminution de l'intensité lumineuse (donc du nombre de photons) d'une radiation monochromatique est proportionnelle au nombre de particules qui absorbent.

$$A = \log \frac{I_o}{I} = k.l.c. \quad (6)$$

Avec  $A$  : Absorbance ou densité optique

$I_o$  : Intensité du faisceau lumineux incident

$I$  : Intensité du faisceau lumineux émergent

$k$  : Coefficient d'extinction

$l$  : Epaisseur de la cuve ou chemin optique

$c$  : Concentration de l'élément dosé

## VI. LA SPECTROMETRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE [9, 20]

La spectrométrie d'absorption atomique permet de mesurer les concentrations en cations zinc, sodium, potassium, fer, magnésium et calcium dans le mélange à étudier.

Cette méthode est basée sur l'absorption de la radiation électromagnétique par l'atome libre à l'état fondamental ( $E_i = 0$ ). Ainsi ils peuvent passer à leurs différents états excités. Ces raies sont appelés raies de résonance.

Les photons absorbés sont caractéristiques des éléments absorbants, et leurs quantités sont proportionnelles au nombre d'atomes d'élément absorbant. La loi de Beer-Lambert permet de donner la concentration en élément analysé.

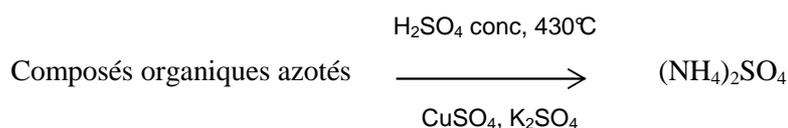
## VII. LA MINERALISATION

La minéralisation est une méthode qui permet de déterminer le pourcentage en azote total dans un échantillon.

## VII.1. INCINERATION A TEMPERATURE ELEVEE [12]

A température élevée l'azote organique dans la plante se transforme en azote minéral. Il y a donc rupture des liaisons chimiques, libération des molécules simples et transformation de l'azote organique en azote minéral.

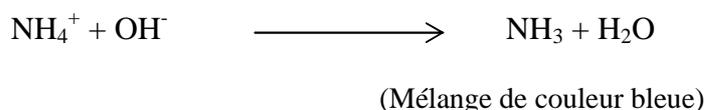
L'incinération ou calcination est précédée d'une attaque pour éviter des pertes. On peut utiliser le pouvoir destructeur et oxydant de  $H_2SO_4$  concentré, à l'ébullition, seul ou accompagné de catalyseur ( $CuSO_4$ ) et d'élévateur de température ( $K_2SO_4$ ). L'attaque type de ce genre est la méthode de KJELDAHL utilisée pour doser l'azote organique. Le processus de la transformation est le suivant :



Ainsi le degré d'oxydation de l'azote se réduit de 0 à -3 correspondant respectivement à l'azote organique et à l'azote ammoniacal  $NH_4^+$ .

## VII.2. EXTRACTION ET DOSAGE DE L'AZOTE MINERAL [1]

Dans un extracteur d'azote, l'azote minéral sous forme d'ammonium se transforme tout d'abord en ammoniac  $NH_3$  en présence de la soude concentrée suivant la réaction :



Puis l'ammoniac  $NH_3$  en phase vapeur est entraîné vers une solution d'acide borique de couleur rouge en présence d'indicateur coloré mixte (Rouge de méthyle + Vert de bromocrésol). La réaction acido-basique entre la solution d'ammoniaque  $NH_4OH$  et celle de l'acide borique s'écrit :



La solution obtenue se colore en vert et va être dosée par l'acide sulfurique. Ce dosage permet de ramener la couleur de la solution vers la couleur rouge initiale de l'acide borique suivant la réaction suivante :



### VII.3. POURCENTAGE EN AZOTE TOTAL

A l'équilibre, la quantité d'acide sulfurique utilisée est équivalente à la quantité d'ammoniaque ayant réagi avec l'acide borique suivant la relation :

$$N_a \cdot V_a = N_b \cdot V_b \quad (7)$$

$N_a$  : Normalité de l'acide sulfurique

$V_a$  : Volume de l'acide sulfurique

$N_b$  : Normalité de l'ammoniaque

$V_b$  : Volume de l'ammoniaque

Le pourcentage en azote total dans un échantillon est donné par la formule suivante :

$$\%Azote = \frac{7 \cdot N_a \cdot V_a}{p} \quad (8)$$

Où  $p$  est le poids (g) de l'échantillon et le nombre 7 provient de la masse d'un milliéquivalent-gramme d'azote qui est égale à 14 mg et du volume de la fiole utilisée (50 ml).

## VIII. ACIDE ET BASE EN SOLUTION AQUEUSE

### VIII.1. DEFINITION DES ACIDES ET DES BASES [8, 12]

Selon Brönsted, un acide est tout corps susceptible de céder un ou plusieurs protons  $\text{H}^+$  en solution aqueuse et une base est tout corps susceptible de fixer un ou plusieurs protons pour redonner un acide. Donc à tout acide correspond une base et inversement. La relation générale qui relie les deux est de la forme :



### VIII.2. pH D'UNE SOLUTION [8, 12]

Par définition le  $pH$  d'une solution aqueuse est la valeur du logarithme décimal de l'inverse de l'activité des ions  $\text{H}^+$ :

$$pH = -\log a_{\text{H}^+} \quad (9)$$

Il existe une relation entre l'activité et la concentration des ions dans la solution :

$$a_i = f_i \cdot C \quad (10)$$

Avec  $a_i$  : Activité ionique des ions i.

$f_i$  : Coefficient d'activité molaire des ions i. ( $0 < f_i < 1$ )

$C$  : Concentration molaire des ions i.

Lorsque la concentration est élevée, les interactions entre les ions ne sont plus négligeables, l'activité et la concentration pourront être sensiblement différentes.

Les ions ne sont réellement indépendants que dans une solution de dilution infinie : plus une solution est diluée, plus l'activité et la concentration des ions dans la solution sont voisines.

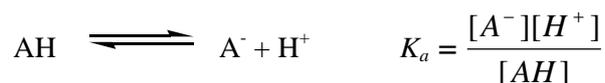
## IX. LES METHODES PHYSICO-CHIMIQUES

Les méthodes physico-chimiques permettent de connaître l'action d'un réactif sur l'échantillon à étudier dans le but d'envisager les entités chimiques ayant réagi. Mais elles permettent aussi d'expliquer les phénomènes de dégradation des substances chimiques d'un échantillon. Les méthodes que nous avons utilisées sont le dosage *pH*-métrique et le dosage conductimétrique.

### IX.1. DOSAGE PH-METRIQUE [12, 18]

Le dosage *pH*-métrique est une méthode qui permet d'apprécier le point d'équivalence acido-basique. Au cours du dosage le *pH* varie en fonction du volume du réactif. Dans notre étude nous allons nous intéresser à la neutralisation d'un acide faible par une base forte.

➤ Initialement, l'acide faible se dissocie partiellement en solution aqueuse selon la réaction :



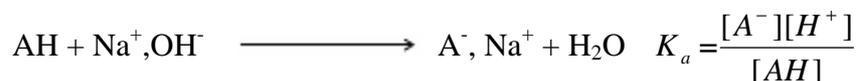
Puisque l'acide est faiblement dissocié, alors nous avons :  $[\text{AH}] = C_o$  et  $[\text{A}^-] = [\text{H}^+]$ , donc :

$$K_a = \frac{[\text{H}^+]^2}{C_o}$$

D'où :

$$pH = \frac{1}{2}(pK_a - \log C_o) \quad (11)$$

➤ Lorsqu'on ajoute de la soude, nous avons la réaction de neutralisation :



$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[AH]} \quad (12)$$

Avec  $[AH]$  : Concentration de l'acide restant

$[A^-]$  : Concentration du sel formé

- Au point de demi-neutralisation nous avons  $[AH] = [A^-]$ , donc  $pH = pK_a$ .
- Lorsqu'on continue d'ajouter la soude,  $[A^-]$  augmente,  $[AH]$  diminue et  $pH$  augmente.
- La neutralisation est totale lorsque  $[NaOH] = C_o$  : nous avons  $[A^-] = C_o$  et  $[AH] = 0$ . A partir de ce point, on considère une hydrolyse des ions  $A^-$  pour déterminer le  $pH$  de la solution.



D'après cette réaction :  $[AH] = [OH^-] = \frac{10^{-14}}{[H^+]}$  à  $25^\circ C \Rightarrow K_a = \frac{[A^-][H^+]^2}{10^{-14}}$

Or  $[A^-] = C_o$ , d'où :

$$pH = \frac{1}{2}(pK_a + \log C_o) \quad (13)$$

Pour apprécier le point d'équivalence acido-basique, il est préférable de tracer les deux courbes  $pH = f(V)$  et  $\frac{dpH}{dV} = f(V)$  sur un même repère comme représente la figure 1.

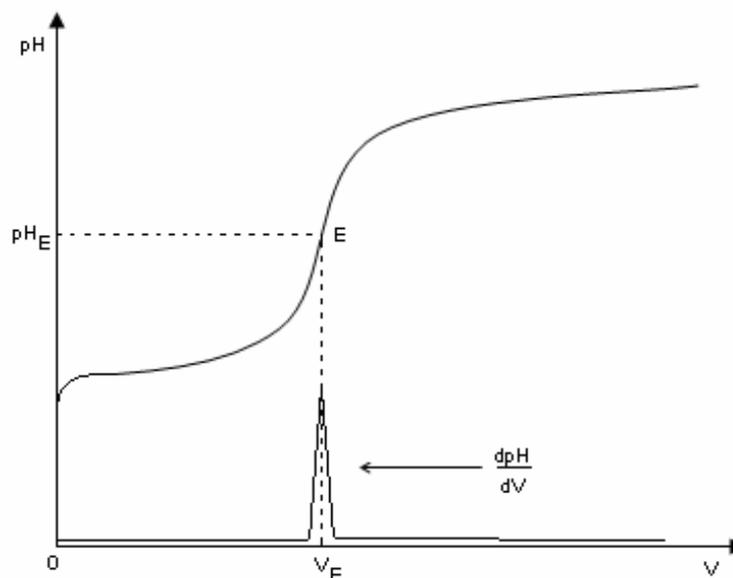


Figure 1 : Courbe de dosage pH-métrique d'un acide faible par une base forte

## IX.2. DOSAGE CONDUCTIMETRIQUE [4, 12, 18]

### IX.2.1. Rappel sur la conductivité

Une solution électrolyte peut conduire du courant électrique. La conductivité est déduite de la mesure de la résistance d'une colonne liquide de dimension déterminée donnée par la loi d'Ohm :

$$R = \rho \frac{l}{A} \quad (14)$$

Avec  $R$  : Résistance de la solution ( $\Omega$ )

$\rho$  : Résistivité ou résistance spécifique ( $\Omega \cdot \text{cm}$ )

$\frac{l}{A}$  : Constante spécifique de la cellule ( $\text{cm}^{-1}$ ) où  $l$  est sa longueur et  $A$  est sa section

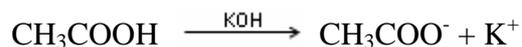
L'inverse de la résistance est appelé « conductance  $G$  » exprimée en S (Siemens) ou  $\Omega^{-1}$  et l'inverse de la résistivité est appelé « conductivité spécifique  $\gamma$  » exprimée en  $\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

$$\gamma = G \frac{l}{A} \quad (15)$$

### IX.2.2. Principe du dosage conductimétrique

Lorsqu'on ajoute dans une solution un réactif capable de réagir sur elle, on observe une variation de la conductance  $G$  :

Soit que le nombre total des ions varie, certains passent à l'état des molécules non dissociées (ou inversement).



Soit que le nombre total des ions reste constant, les ions de mobilité donnée soient remplacés par les ions de mobilité différente.

Prenons un exemple du dosage conductimétrique d'un acide faible par une base forte : dosage de l'acide acétique par la soude.



Initialement, la conductance est faible car l'acide acétique est peu dissocié en solution aqueuse. La conductance croît nécessairement car le nombre d'ions augmente. Après l'équivalence, elle croît encore plus dû à l'excès des ions  $\text{OH}^-$  plus mobiles (Figure 2).

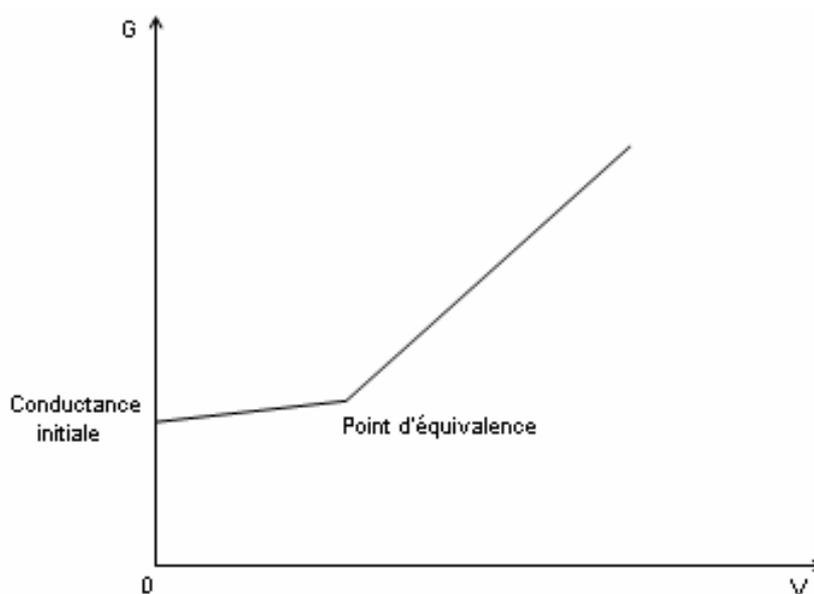


Figure 2 : Courbe de dosage conductimétrique d'un acide faible par une base forte

---

## TRAVAUX PERSONNELS

## Chapitre I : Recherche bibliographique

La recherche bibliographique a pour objectif de nous informer sur notre matériel végétal. Cela nous aidera à proposer une autre manière de conduire notre travail.

### I. MATERIEL VEGETAL

La plante que nous avons étudiée appartient à la famille des « Légumineuses ». Elle est du genre *Mundulea* et est endémique à Madagascar. Dans notre travail, nous allons la dénommer MC.

Cette plante a été récoltée dans la forêt d'Ambila-Lemaitso (Région Atsinanana). Mais on peut retrouver la même espèce à Sambirano Est (Région DIANA) et dans le Massif de Tsaratanàna (Région SOPHIA).

#### I.1. UTILISATION LOCALE <sup>[6]</sup>

Les feuilles et les tiges sont utilisées artisanalement comme poison de pêche et douées d'une propriété ichtyotoxique. Le mode de préparation de poison de pêche consiste à la dessiccation de la plante à l'air libre, à l'ombre sur des nattes. On retournera fréquemment la plante pour avoir un dessèchement homogène. La plante ainsi desséchée sera triturée et gardée dans des récipients hermétiques ; ou tout de suite utilisée et mise dans des sacs de jute, qu'on laisse toute une nuit dans l'eau de la mare à poissons à empoisonner.

#### I. 2. ETUDES CHIMIQUES ANTERIEURES <sup>[16, 21]</sup>

Le Centre National d'Application et Recherches Pharmaceutiques (C.N.A.R.P.) a déjà réalisé une étude sur la même plante, en se basant sur l'isolement et la détermination structurale des produits de l'extrait méthanolique. Ces produits sont tous cytotoxiques mais la roténolone et la roténone sont les plus actives.

RANDRIANARIVELO F.H. (2005) <sup>[16]</sup> a aussi travaillé sur une plante du même genre que la notre : *Mundulea sp.* Son étude a montré la présence des flavonoïdes, des glycosides cardiotoniques, des saponines dans cette plante. L'extrait éthanolique du *Mundulea sp* a une activité ichtyotoxique. Il a isolé et identifié la structure de l'inositolméthyléther.

A notre connaissance, l'analyse des constituants minéraux et l'étude physico-chimique de ce matériel végétal ne faisaient pas encore l'objet des études approfondies.

## II. FAMILLE DES LEGUMINEUSES [13]

La famille des légumineuses comprend plus de 630 genres répandus dans les deux hémisphères. Les légumineuses fournissent des fruits alimentaires, des fourrages, des matières gommeuses, tannants, astringentes, résineuses (baumes), odorantes, sucrées, oléagineuses, insecticides, toxiques (glucosides cyanogénétiques), purgatives et enfin de nombreux alcaloïdes utilisés en clinique humaine.

## III. GENERALITES SUR LES PESTICIDES [2]

Les pesticides sont des produits destinés à lutter contre les insectes ou les plantes nuisibles. Il y a plusieurs types de pesticides mais les plus connus sont : les insecticides, les herbicides et les fongicides.

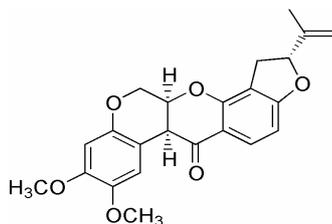
- Les herbicides sont destinés à éliminer les végétaux rentrant en concurrence avec les plantes en ralentissant leur croissance.

- Les fongicides permettent de combattre la prolifération des maladies des plantes en ralentissant leur croissance.

- Les insecticides sont utilisés pour la protection des plantes contre les insectes. Ils interviennent en éliminant ces derniers ou en empêchant leur reproduction.

## IV. ROTENONE [22]

La rotenone est une substance flavonoïdique, connue comme responsable de la vertu ichtyotoxique de la plante MC. Elle est soluble dans l'acétone, le trichloréthylène, le chloroforme, certains solvants organiques mais non dans l'eau sous sa forme purifiée.



Structure chimique de la Roténone

## V. LOIS DE L'ÉQUILIBRE SUR LES MINÉRAUX [19]

D'après ses expériences sur la toxicité des solutions ioniques envers les puces d'eau, le physiologiste américain nommé Jacques Loeb a tiré les lois d'équilibre sur les minéraux.

- Toutes les solutions d'un sel unique, par exemple le chlorure de sodium, sont toxiques.
- Toutes les solutions d'un mélange de sels à cations monovalents et toutes les solutions d'un mélange de sels à cations bivalents sont toxiques.
- Si à une de ces solutions toxiques, celle contenant les sels à cations monovalents par exemple, on ajoute un peu de solution de sels à cations bivalents, la toxicité est atténuée, et elle peut devenir nulle lorsque les différents sels du mélange se trouvent dans une proportion déterminée. Dans ce cas, la solution est équilibrée. Tout déséquilibre équivaut à une toxicité.

## Chapitre II : Analyse des constituants organiques de la plante

### I. INTRODUCTION

Ce chapitre a pour but non seulement de confirmer la présence des familles chimiques déjà trouvées par les études chimiques antérieures telle que celle du C.N.A.R.P., mais aussi d'essayer de les mettre en évidence à l'aide des différentes analyses chimiques.

Les méthodes que nous avons utilisées sont : les extractions solide-liquide de l'échantillon brut, les extractions liquide-liquide du macérat aqueux avec les solvants organiques, les tests phytochimiques et la séparation chromatographique des différents échantillons.

### II. METHODOLOGIE

#### II.1. PREPARATION DE LA MATIERE PREMIERE

La plante MC a été récoltée à Ambila-Lemaitso. Après son identification, elle a été séchée à l'air libre pour éviter l'altération des constituants chimiques de la plante. Puis, des feuilles séchées sont broyées, afin d'obtenir des meilleurs rendements des extractions solide-liquide de la plante avec des solvants.

#### II.2. EXTRACTIONS

L'utilisation traditionnelle de la plante MC consiste à macérer la plante brute dans l'eau de la mare pour empoisonner les poissons. Dans notre cas nous avons utilisé l'eau distillée.

Nous avons commencé ce travail par l'étude du macérat. Pour cela, 20 g de poudre de plante MC sont macérés dans 200 ml d'eau distillée pendant 48 heures. Ensuite, nous avons réalisé des extractions liquide-liquide du macérat par des solvants de polarité croissante : l'hexane et le chloroforme. Les pH de toutes les phases aqueuses ont été mesurés au pH-mètre tandis que les phases organiques sont évaporées dans un évaporateur rotatif, pour obtenir les extraits secs.

La séparation grossière des constituants de la plante est marquée par les extractions de la plante brute avec des solvants de polarité croissante en se servant du matériel appelé « soxhlet ».

Initialement, 50 g de poudre de plante sont utilisés. Les extraits sont obtenus après évaporation complète des solvants.

### II.3. CRIBLAGE PHYTOCHIMIQUE

Une fois que les différentes extractions ont été terminées, nous avons réalisé des tests phytochimiques de tous les échantillons. Ces tests sont propres à chacune des familles des substances chimiques. Leurs réactions caractéristiques ont été effectuées dans des tubes à essais.

### II.4. CHROMATOGRAPHIE

Nous avons analysé par chromatographie les extraits hexanique et chloroformique, en effectuant les techniques d'exclusion-diffusion sur une colonne de Sephadex LH 20 gonflé dans l'éthanol. L'échantillon a été tout d'abord solubilisé dans l'éthanol 91° avant d'être déposé au sommet de la colonne. Ensuite, les fractions chromatographiques de l'extrait hexanique sont chromatographiés sur une plaque de Silice dont le support est un verre et l'éluant est un mélange Hexane - Acétate d'éthyle (95 ; 5).

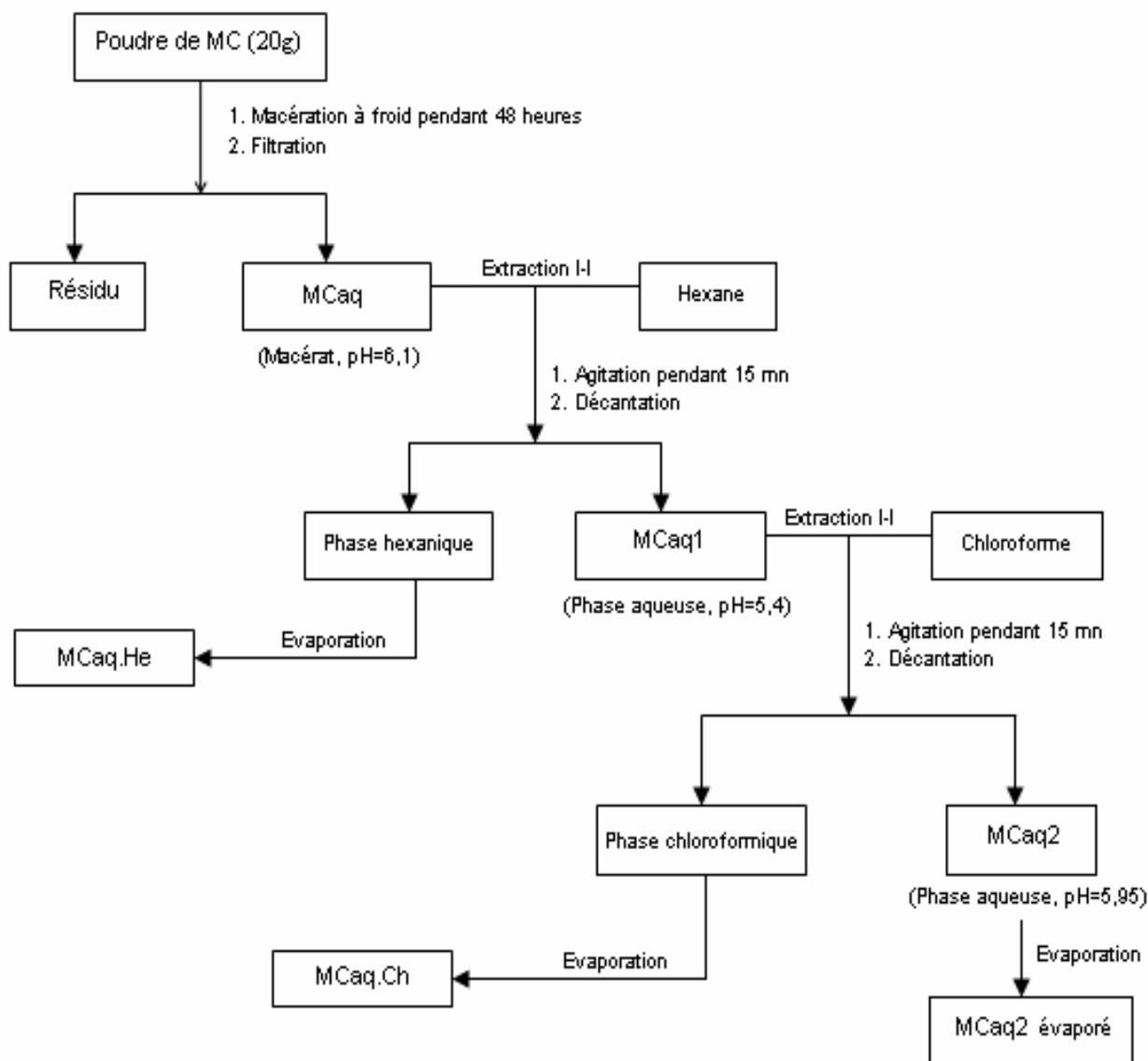
## III. RESULTATS

### III.1. RESULTATS DES EXTRACTIONS

Nous avons donc commencé les extractions par la macération suivie des extractions liquide-liquide. Nous avons aussi effectué des extractions solide-liquide de la plante brute par des solvants de polarité croissante.

#### III.1.1. Macération et extraction liquide-liquide

Les procédés d'extraction sont donnés par le schéma 1 et les résultats sont rassemblés dans le tableau 2.



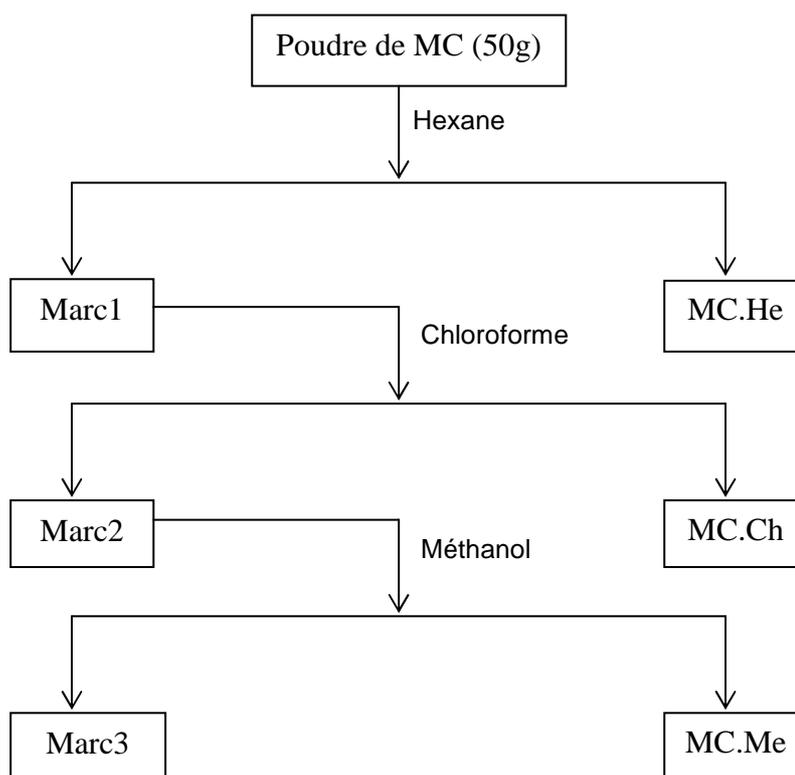
*Schéma 1 : Macération et extractions liquide-liquide à partir de la plante brute*

Extrait	Solvant	Volume du solvant	Durée d'extraction	Masse après évaporation	Rendement
<i>MCAq.He</i>	Hexane	50 ml (2 fois)	30 mn (2 fois)	0,03 g	0,15 %
<i>MCAq.Ch</i>	Chloroforme	50 ml (2 fois)	30 mn (2 fois)	0,04 g	0,20 %
<i>MCAq2</i>	Dernière phase aqueuse	-	-	2,02 g	10,10 %

*Tableau 2 : Résultats des extractions liquide-liquide de MCAq*

### III.1.2. Extractions solide-liquide

Le schéma 2 montre le procédé d'extraction et les résultats sont rassemblés dans le tableau 3.



*Schéma 2 : Extractions avec des solvants de polarité croissante*

Extrait	Solvant	Volume de solvant et durée d'extraction	Masse après évaporation	Rendement
MC.He	Hexane	400 ml pendant 4h 310 ml pendant 1h	2,51 g	5,02 %
MC.Ch	Chloroforme	350 ml pendant 3h 300 ml pendant 4h 200 ml pendant 1h	8,94 g	17,88 %
MC.Me	Méthanol	350 ml pendant 2h	4,69 g	9,38 %

*Tableau 3 : Résultats des extractions solide-liquide avec des solvants de polarité croissante*

### **Interprétations**

- Le pH du macérat MCAq est égal à 6,1. Ce pH acide indique la domination des substances à caractères acide faible dans la plante.

Puis le pH de la phase aqueuse MCAq1 après des extractions liquide-liquide de MCAq avec l'hexane devient 5,49. L'enlèvement des produits moins polaires favorise l'augmentation de l'acidité de la solution aqueuse.

Ensuite les extractions liquide-liquide de M<sub>Caq1</sub> avec le chloroforme conduit à une autre phase aqueuse notée M<sub>Caq2</sub> dont le pH est égal à 5,95. On observe donc la diminution de l'acidité de M<sub>Caq2</sub> par rapport à celle de M<sub>Caq1</sub>.

Les rendements des extractions liquide-liquide avec les solvants organiques sont très faibles : 0,15 % pour M<sub>Caq.He</sub> et 0,2 % pour M<sub>Caq.Ch</sub>. L'eau n'a donc extrait que de faible quantité de substances moins polaires.

- Les extractions solide-liquide de la plante brute avec des solvants de polarité croissante ont abouti aux résultats suivants : 5,02 % avec l'hexane, 17,88 % avec le chloroforme et 9,38 % avec le méthanol. La plante contient donc beaucoup de substances moyennement polaires. Par contre les substances moins polaires sont en faible quantité dans la feuille de la plante MC.

### III.2. RESULTATS DES TESTS PHYTOCHIMIQUES

Les résultats des tests phytochimiques de la plante brute MC et des extraits sont rassemblés dans le tableau 4.

Familles chimiques	Plante brute	Macérat	Extraits après des extractions liquide- liquide du macérat			Extraits après des extractions solide-liquide de la plante brute		
	MC	MCaq	MCaq.He	MCaq.Ch	MCaq2	MC.He	MC.Ch	MC.Me
Triterpénoïdes	++	+	++	+	-	+++	++	+
Stéroïdes	-	-	-	-	-	-	-	-
Stérols insaturés	++	+	-	++	-	++	++	+
Stéroïdes lactoniques	-	-	-	-	-	-	-	-
Glycosides cardiotoniques	-	-	-	-	-	-	-	-
Saponines	+	++	-	-	+	-	-	++
Flavonoïdes	++	+	-	+	-	-	+	+++
Leucoanthocyanes	-	-	-	-	-	-	-	-
Anthocyanes	-	-	-	-	-	-	-	-
Polyphénols	+	+	-	-	+	-	Trace	+
Tanins	++	+	-	-	+	-	-	+
Quinones	-	-	-	-	-	-	-	-
Polysaccharides à sucres réducteurs	+	+	++	+	+	+	+	+
Alcaloïdes	+	+	-	-	++	-	-	++

*Tableau 4 : Résultats des tests phytochimiques*

#### Remarque

- : Test négatif

Trace : Présence de famille chimique à l'état de trace

+ : Test positif

++ : Quantité appréciable de famille chimique

+++ : Abondance de famille chimique

#### Interprétations

- D'après les tests phytochimiques (Tableau 4), la plante contient des triterpénoïdes, des stérols insaturés, des saponines, des flavonoïdes, des polyphénols, des tanins, des polysaccharides à sucres réducteurs et des alcaloïdes.

Le macérat contient toutes les familles des substances détectées dans la matière première MC.

- En grande quantité dans les extraits hexaniques (MCaqHe et MC.He), les triterpénoïdes sont présents presque dans tous les extraits sauf dans la phase aqueuse restante : MCaq2.
- La plupart des flavonoïdes sont retrouvés dans les extraits polaires (MCaq et MC.Me) et dans les extraits moyennement polaires (MC.Ch et MCaqCh).
- Les polysaccharides à sucres réducteurs sont présents dans tous les extraits, mais en grande quantité dans l'extrait hexanique du macérat (MCaqHe).
- Les stérols insaturés sont abondants dans les extraits moyennement polaires (MC.Ch et MCaqCh).
- Les saponines, les tanins, les polyphénols et les alcaloïdes sont majoritaires dans les extraits plus polaires (MCaq, MCaq2 et MC.Me). Les solvants moins polaires ne les ont pas extraits sauf dans le cas de la trace de polyphénols dans l'extrait MC.Ch.

### III.3. RESULTATS DES ANALYSES CHROMATOGRAPHIQUES

#### III.3.1. Etude de l'extrait hexanique (MC.He)

##### III.3.1.1. Résultats de la chromatographie sur colonne de MC.He

Comme échantillon à chromatographier, nous avons utilisé une solution éthanolique de MC.He (2,83 g) dans une petite quantité d'éthanol. Nous avons déposé tout de suite cette solution au sommet de l'adsorbant. L'expérience a duré 8 heures. Chaque tube capteur d'éluat a un volume de 6 ml.

Nous avons recueilli 56 fractions éluat groupés en 3 grandes fractions : F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> et F<sub>3</sub>. Il y a une fraction qui reste au sommet de la colonne. Elle mesure 1,5 cm et pèse 0,91 g. Nous allons la noter : F<sub>4</sub>. Les résultats sont rassemblés dans le tableau 5.

Fraction	F <sub>1</sub>						F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>
Tube N°	0	1	2	3	4	5	6 à 14	15 à 56
Observation	Incolore	Jaune très clair	Jaune clair	Jaune	Jaune foncé	Jaune vert	Vert foncé avec dépôt	Jaune à jaune clair

*Tableau 5 : Résultats de la chromatographie sur colonne de l'extrait hexanique MC.He*

Le tableau 6 et la courbe de la figure 3 montrent les poids des fractions en fonction du numéro du tube.

Fraction	N° du tube	Poids (g)
F <sub>1</sub>	0	0,00
	1	0,02
	2	0,01
	3	0,02
	4	0,00
	5	0,04
F <sub>2</sub>	6	0,03
	7	0,01
	8	0,11
	9	1,05
	10	0.67
	11	0,12
	12	0,08
	13	0,05
F <sub>3</sub>	14	0,05
	15	0,02
	16	0,14
	17	0,02
	18	0,01
	19	0,01
	20	0,00
	21	0.17
	22	0,01
	23	0,01
	24	0,01
	25	0,00
	26	0,01
	27	0,01
28	0,01	
29	0,06	
30	0,01	

*Tableau 6 : Poids des éluats de l'extrait hexanique en fonction du numéro du tube*

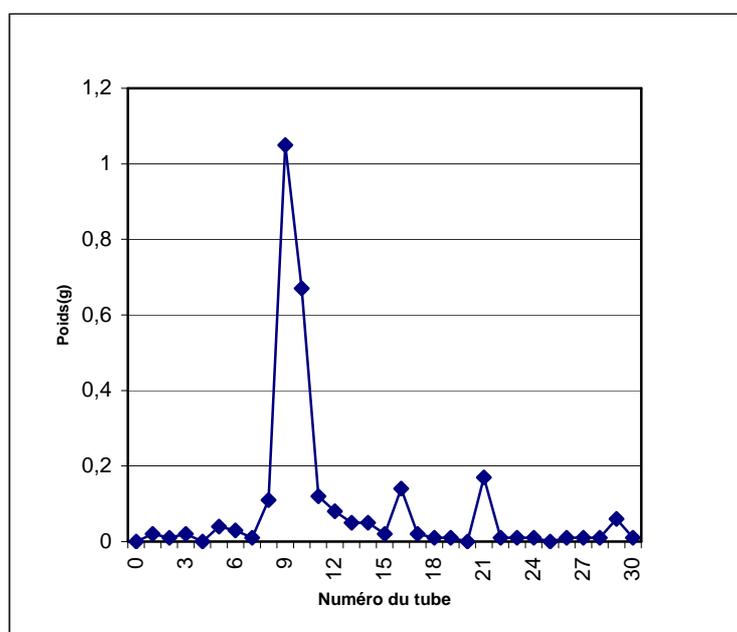


Figure 3 : Courbe de poids des éluats de l'extrait hexaniques en fonction du numéro du tube

### III.3.1.2. Test phytochimique des fractions d'éluats

Les fractions F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> et F<sub>4</sub> sont testés phytochimiquement, connaissant les familles chimiques des substances présentes dans l'extrait MC.He, qui sont : les triterpénoïdes, les stérols insaturés et les polysaccharides à sucres réducteurs.

Le tableau 7 résume les résultats et le tableau 8 donne les observations sur les tests des polysaccharides à sucres réducteurs.

Familles chimiques	Extrait hexanique	Fractions chromatographiques de l'extrait hexanique			
	MC.He	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>	F <sub>4</sub>
Triterpénoïdes	+++	+	+++	+	Trace
Stérols insaturés	++	+	+++	+	Trace
Polysaccharides à sucres réducteurs	+	-	++	-	-

Tableau 7 : Résultats des tests phytochimiques des fractions chromatographiques de l'extrait MC.He

	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>
Témoin	Bleu très clair	Jaune	Vert très clair
Après test	Bleu clair	Coloration vert et précipité rouge brique après 2 jours	Vert

Tableau 8 : Observations sur les tests de sucres réducteurs

### III.3.1.3. Analyse par C.C.M. des fractions d'éluats

Nous avons 5 échantillons à analyser :

**a** : Eluat N°21 (F<sub>3</sub>)

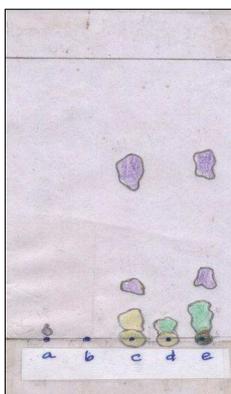
**b** : Eluat N°3 (F<sub>1</sub>)

**c** : Extrait MC.He

**d** : Eluat N°8 (F<sub>2</sub>) (partie surnageante)

**e** : Eluat N°9 (F<sub>2</sub>) (partie concentrée)

A la fin de la chromatographie, la distance parcourue par le front du solvant mesure 7 cm. Le chromatogramme est révélé par la lumière U.V. à 254 nm puis par la vanilline sulfurique à chaud. Les résultats sont montrés par les chromatogrammes suivants.



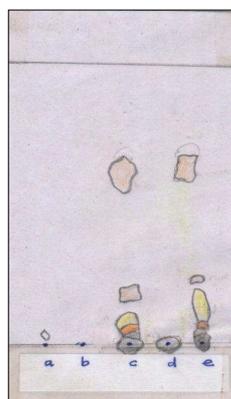
Chromatogramme N°1

Adsorbant: Silice

Support : Verre

Eluant : Hexane/Acétate d'éthyle (95 ; 5)

Révélateur : U.V. à 254nm



Chromatogramme N°2

Adsorbant: Silice

Support : Verre

Eluant : Hexane/Acétate d'éthyle (95 ; 5)

Révélateur : Vanilline sulfurique à chaud

Le tableau 9 récapitule ces résultats.

Echantillon	R <sub>f</sub>	U.V.	Vanilline sulfurique à chaud	Familles chimiques
<i>a</i> ou <i>F</i> <sub>3</sub>	0,028	Violet	Incolore	-
<i>b</i> ou <i>F</i> <sub>1</sub>		Invisible	Invisible	-
<i>c</i> ou <i>MC.He</i>	0,000	Jaune	Gris foncé	-
	0,028	Jaune	Gris	-
	0,057	Jaune	Orange	-
	0,085	Jaune	Jaune	-
	0,107	Violet	Mauve	Triterpénoïdes
	0,600	Violet	Mauve	Triterpénoïdes
<i>d</i> ou <i>F</i> <sub>2</sub> (partie surnageante)	0,000	Jaune	Gris foncé	-
	0,420	Vert	Incolore	-
<i>e</i> ou <i>F</i> <sub>2</sub> (partie concentrée)	0,000	Orange	Noir	-
	0,042	Vert	Gris	-
	0,064	Vert	Orange	-
	0,128	Vert	Jaune	-
	0,228	Violet	Mauve	Triterpénoïdes
	0,614	Violet	Mauve	Triterpénoïdes

*Tableau 9 : Résultats de la C.C.M. des échantillons a, b, c, d et e*

### **Interprétations**

- D'après le tableau 5, le tableau 6 et la figure 3, les fractions d'éluat sont classées en 3 catégories : *F*<sub>1</sub>, *F*<sub>2</sub> et *F*<sub>3</sub> auxquelles s'ajoute la fraction *F*<sub>4</sub>.
- La fraction *F*<sub>1</sub> est répartie dans les tubes numérotés de 0 à 5 dont la couleur varie de l'incolore au jaune vert. Ce sont des substances chimiques de poids moléculaire élevée et ne pouvant pas être retenues dans les mailles de l'adsorbant. Cette fraction contient de faibles quantités de triterpénoïdes et de stérols insaturés, et ne contient pas de polysaccharides à sucres réducteurs d'après le tableau 7.

Les substances chimiques dans les tubes numérotés de 6 à 14 constituent la fraction *F*<sub>2</sub>. Cette dernière est marquée par la coloration vert foncé et la présence de dépôt. Le pic de la figure 3 montre que la concentration en substances chimiques est maximale dans le tube N° 9. Elle est sûrement la plus riche en substances chimiques de *MC.He*. Cela est confirmé par les tests phytochimiques car cette fraction *F*<sub>2</sub> contient en grande quantité toutes les substances présentes dans *MC.He*.

La fraction *F*<sub>3</sub> est composée des tubes de numéros 15 à 56, dont la couleur varie du jaune au jaune clair. Cette fraction contient des substances de faible poids moléculaires. Elle contient seulement une faible quantité de triterpénoïdes et de stérols insaturés.

La fraction F<sub>4</sub> contient des substances qui ne diffusent pas en restant au dessus du gel. Il suffit de diminuer la polarité du système d'éluant pour éluer ce mélange. Cette fraction contient une trace de triterpénoïdes et de stérols insaturés.

- En ce qui concerne les résultats de la C.C.M. représentés par les chromatogrammes 1 et 2 et le tableau 9, il y a des substances qui ne migrent pas avec le système d'éluant pour les échantillons c, d et e. Ces substances sont évidemment plus polaires et leurs affinités pour le système hexane - acétate d'éthyle sont faibles.

L'échantillon a (F<sub>3</sub>) présente une seule tache au R<sub>f</sub> = 0,028. Cette tache est révélée en violet avec l'UV et est incolore avec la vanilline sulfurique à chaud. Cet échantillon est composé d'une petite quantité de triterpénoïdes.

On n'a rien constaté pour l'échantillon b (F<sub>1</sub>). Cela peut être dû à sa faible quantité de dépôt sur la ligne de départ.

Pour les échantillons c (MC.He) et e [F<sub>2</sub> (partie concentrée)], on constate les ressemblances des déplacements de leurs constituants et de leurs aspects après révélations. Les taches isolées aux R<sub>f</sub> = 0,107 et R<sub>f</sub> = 0,6 pour l'échantillon c et aux R<sub>f</sub> 0,228 et 0,614 pour l'échantillon e donnent la couleur violette avec l'UV et mauve avec la vanilline sulfurique. Ces produits sont probablement des triterpénoïdes car ce sont les substances les moins polaires de ces échantillons.

En comparant les deux chromatogrammes, les produits situés au R<sub>f</sub> = 0 de l'échantillon d [F<sub>2</sub> (partie surnageante)] sont retrouvés dans l'échantillon c (MC.He) après les deux types de révélateurs. On peut dire que ce sont des mêmes produits.

Pour l'échantillon d, la tache au R<sub>f</sub> = 0,042, révélée en vert avec l'UV ne se retrouve plus après révélation avec la vanilline sulfurique à chaud.

Les résultats de la C.C.M vérifient également la différence entre les deux parties (partie concentrée et partie surnageante) de la fraction F<sub>2</sub>. Mais elles ont chacune un point commun avec l'extrait MC.He (échantillon c).

### **III.3.2. Etude de l'extrait chloroformique (MC.Ch)**

#### **III.3.2.1. Résultats de la chromatographie sur colonne de MC.Ch**

3 g de l'extrait chloroformique sont mélangés avec une petite quantité d'éthanol, avant d'être déposés au sommet de la colonne chromatographique. Le volume de chaque fraction est toujours 6 ml. Comme dans le cas précédent, il y a encore une fraction qui reste au dessus du gel. Elle mesure 0,9 cm et pèse 0,75 g. Nous allons la noter : G<sub>6</sub>.

Le tableau 10 donne les résultats.

<b>Fraction</b>	<b>G<sub>1</sub></b>	<b>G<sub>2</sub></b>	<b>G<sub>3</sub></b>	<b>G<sub>4</sub></b>	<b>G<sub>5</sub></b>
<i>Tube N°</i>	100	101	102 à 111	112 à 118	119 à 130
<i>Observation</i>	Jaune	Vert marron	Vert noirâtre	Jaune	Jaune clair

*Tableau 10 : Résultats de la chromatographie sur colonne de l'extrait chloroformique MC.Ch*

Le tableau 11 et la figure 4 donnent les poids des fractions après évaporation en fonction du numéro du tube.

Fraction	N° du tube	Poids (g)
<b>G<sub>1</sub></b>	100	0,01
<b>G<sub>2</sub></b>	101	0,02
<b>G<sub>3</sub></b>	102	0,04
	103	0,09
	104	0,11
	105	0,1
	106	0,38
	107	0,36
	108	0,28
	109	0,26
	110	0,18
	111	0,15
<b>G<sub>4</sub></b>	112	0,02
	113	0,03
	114	0,04
	115	0,04
	116	0,02
	117	0,00
	118	0,00
<b>G<sub>5</sub></b>	119	0,09
	120	0,00
	121	0,00
	122	0,00
	123	0,00
	124	0,00
	125	0,00
	126	0,00
	127	0,03
	128	0,00
	129	0,00
	130	0,00

*Tableau 11 : Poids des fractions d' éluats de l' extrait chloroformique en fonction du numéro du tube*

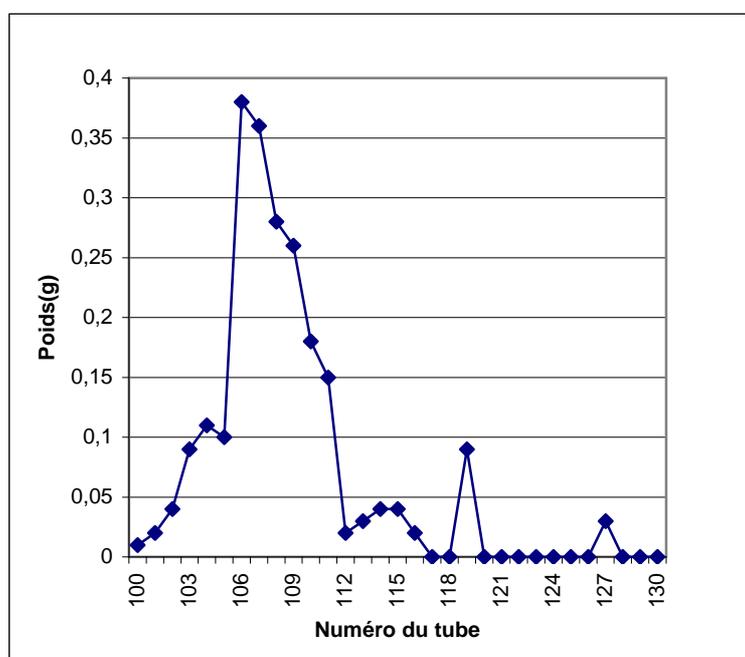


Figure 4 : Courbe de poids des éluats chloroformiques en fonction du numéro du tube

### III.3.2.2. Tests phytochimiques des fractions d'éluat

Les résultats des tests phytochimiques des fractions d'éluat de l'extrait chloroformique sont résumés dans le tableau 12.

Familles chimiques	Extrait chloroformique	Fractions chromatographiques de l'extrait chloroformique					
	MC.Ch	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	G <sub>3</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>5</sub>	G <sub>6</sub>
Triterpénoïdes	++	Trace	+	++	++	-	+
Stérols insaturés	++	-	+	++	++	+	-
Flavonoïdes	+	-	-	+	+	-	-
Polyphénols	Trace	-	-	+	Trace	-	-
Polysaccharides à sucres réducteurs	+	-	-	+	-	-	-

Tableau 12 : Résultats des tests phytochimiques des fractions chromatographiques de l'extrait MC.Ch

### Interprétations

- On peut distinguer les fractions par leurs couleurs et leurs poids selon les tableaux 10 et 11 et la figure 4.

La fraction  $G_1$  qui a une couleur jaune est contenue dans le tube N°100. Elle comporte les substances chimiques de poids moléculaires les plus élevés de l'extrait MC.Ch. Nous avons détecté une trace de triterpénoïdes dans cette fraction.

Le tube numéroté 101 contient la solution de couleur vert marron. Il s'agit de la fraction  $G_2$ . La quantité de substances augmente dans cette fraction en donnant des tests positifs de triterpénoïdes et de stérols insaturés.

Les tubes de numéros 102 à 111 constituent la fraction  $G_3$ . Sa couleur est vert noirâtre. Le pic de la figure 4 correspond aux produits du tube N°106 (P=0,38g). Ce sont les substances de poids moléculaires moyennes dans MC.Ch. Toutes les substances chimiques de l'extrait chloroformique MC.Ch sont retrouvées dans la fraction  $G_3$ .

La fraction  $G_4$  est représentée par les tubes numérotés de 112 à 118. Elles sont colorées en jaune. La concentration des substances est variable et est maximale (P=0,08g) à 118. Les fractions  $G_3$  et  $G_4$  sont différenciés seulement par la diminution de la quantité de polyphénols et l'inexistence des polysaccharides à sucres réducteurs dans la fraction  $G_4$ .

La couleur des éluats dans les tubes numérotés 119 à 130 est jaune clair. C'est la fraction  $G_5$  donnant un pic au tube N°127. Les substances qui s'y trouvent sont de faibles poids moléculaires, donc elles sont plus retenues que les autres. La fraction  $G_5$  contient seulement des stérols insaturés de faible poids moléculaire.

La fraction  $G_6$  n'est pas éluee et reste au dessus de l'adsorbant comme dans le cas de l'étude de l'extrait hexanique. Cela est dû toujours à la faible affinité de ces substances pour l'éthanol 91°. On n'a décelé que les triterpénoïdes dans cette fraction.

#### IV. CONCLUSION

La faible acidité du macérat de la plante (pH=6,1) pourrait contribuer à ses activités ichthyotoxique et insecticide. Les extractions liquide-liquide du macérat avec des solvants organiques entraînent la modification du pH de la phase aqueuse restante, même s'ils n'ont extrait que de faible quantité de produits de faible polarité.

Les tests phytochimiques ont permis de déceler la présence des flavonoïdes qui représentent les substances actives de la plante, d'après les études réalisées par le C.N.A.R.P. Nous avons retrouvé également d'autres familles chimiques comme les triterpénoïdes, les saponines, les alcaloïdes et les polysaccharides à sucres réducteurs.

Pour améliorer les résultats des analyses chromatographiques des échantillons, il est nécessaire de diminuer la polarité du système d'éluant pour la chromatographie d'exclusion-diffusion des extraits hexanique et chloroformique, et de l'augmenter pour les chromatographies sur couches minces des fractions chromatographiques de MC.He.

## Chapitre III : Analyse des constituants minéraux de la plante

### I . INTRODUCTION

Les éléments minéraux dans la plante pourraient participer à ses activités biologiques. D'où la nécessité de faire leur inventaire.

Dans ce chapitre, nous trouverons : l'analyse quantitative du phosphore ; de certains cations : potassium, sodium, magnésium, calcium, fer et zinc ainsi que celle de l'azote minéral.

### II . METHODOLOGIE

#### II.1. LA CALCINATION

##### II.1.1. Préparation de l'échantillon

1 g de poudre de plante est calciné dans un four à moufle à 500°C pendant 5 heures. La cendre obtenue est humidifiée avec quelques ml d'eau distillée et 2 ml d'acide chlorhydrique concentré. Le tout est évaporé sur une plaque chauffante, pendant 1 heure jusqu'à l'obtention d'un sel.

##### II.1.2. Dilution du sel

Le sel est dilué dans 5 ml d'acide nitrique 2 N et quelques ml d'eau distillée chaude. On filtre le mélange dans une fiole de 50 ml. Le mélange est ramené à 50 ml avec de l'eau distillée chaude. On refroidit le filtrat à la température ambiante et on obtient une solution mère S1 de concentration  $C$  (mg/l).

#### II.2. PREPARATION DE LA SOLUTION POUR L'ANALYSE DU PHOSPHORE

Dans un tube à essai, on mélange 1 ml de la solution diluée 10 fois de la solution S1, 6 ml d'eau distillée, 2 ml de molybdate d'ammonium 40 g/l et 1 ml de chlorure stanneux.

## II.3. LA MINERALISATION

### II.3.1. Préparation de l'échantillon

Dans un tube de digestion, on met 0,1 g de poudre de plante. Puis on y ajoute 10 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré, 3,5 g de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et 0,4 g de CuSO<sub>4</sub>. Le tout est placé dans un bloc de digestion à 430°C pendant 1 heure.

Après refroidissement, on ajoute de l'eau au contenu du tube, puis on agite l'ensemble. On transfère dans une fiole de 50 ml et on complète avec de l'eau. Soit S2 cette solution.

### II.3.2. Extraction de l'azote minéral

Dans un appareil d'entraînement à la vapeur, on met 10 ml de la solution S2 et 10 ml de soude 10 N. Ce mélange dégage de la vapeur d'ammoniac laquelle est entraînée vers une solution d'acide borique 2 %. Après 10 minutes, la solution ainsi obtenue est dosée par l'acide sulfurique 0,01 N.

## III. RESULTATS

### III.1. ANALYSE DU PHOSPHORE

L'échantillon à analyser est la solution S1 de dilution 1/10. Pour les autres solutions : décocté, infusé et macérat, le spectrophotomètre ne pouvait pas donner leurs absorbances à cause de leurs colorations intenses.

#### III.1.1. Etalonnage du spectrophotomètre

Pour évaluer la quantité du phosphore de la plante, le spectrophotomètre est réglé à 660 nm. Une solution de coloration blanche est mesurée en premier dans l'appareil, pour ramener à zéro l'absorbance des solvants. Elle est composée de 7 ml d'eau distillée, 2 ml de molybdate d'ammonium et 1 ml de chlorure stanneux.

Nous avons ensuite mesuré les absorbances des cinq solutions étalons, de colorations bleues selon leurs concentrations, dans des tubes à essais numérotées de 1 à 5, pour étalonner l'appareil. Enfin, nous avons mesuré l'absorbance de la solution S1 de dilution 1/10.

Le tableau 13 donne les absorbances des solutions témoins et de la solution S.

Numéro du tube	1	2	3	4	5	S1 (1/10)
Absorbance (mg/l)	0,020	0,067	0,104	0,137	0,178	0,050

Tableau 13 : Absorbances des solutions témoins numérotées 1 à 5 et de la solution S1 (1/10)

La figure 5 montre la droite d'étalonnage du spectrophotomètre.

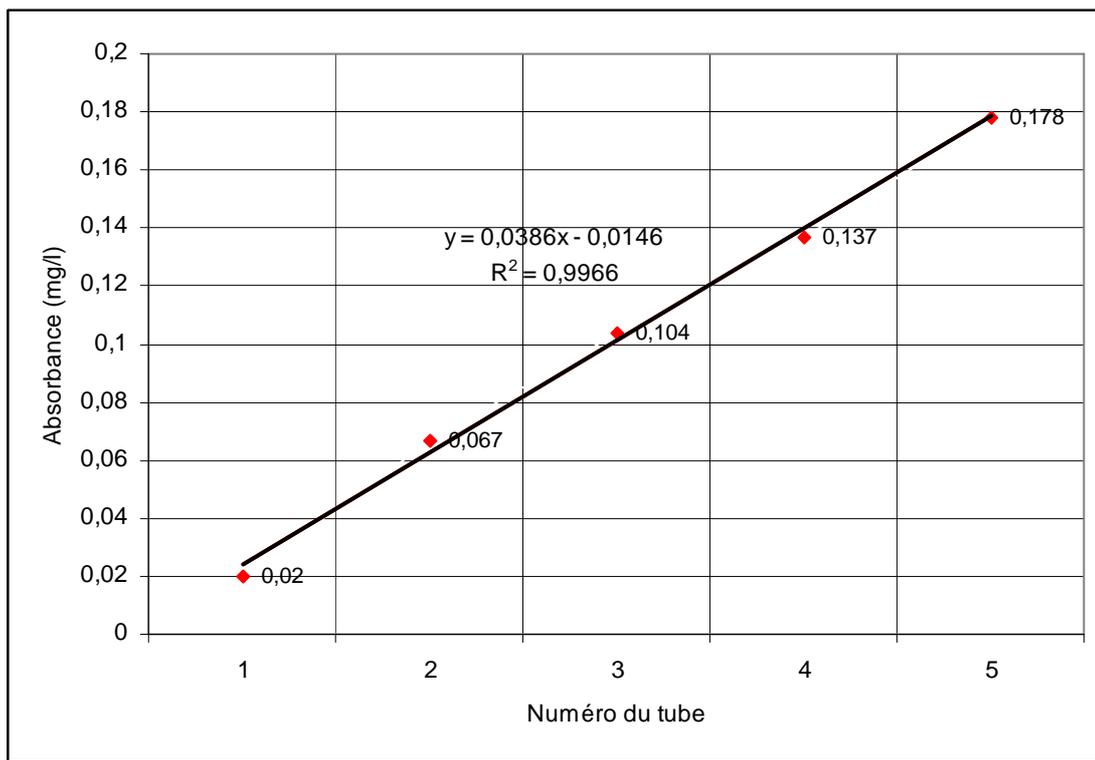


Figure 5 : Droite d'étalonnage du spectrophotomètre.

La linéarité de la courbe de l'absorption en fonction du numéro du tube indique le bon étalonnage du spectrophotomètre.

### III.1.2. Calcul du coefficient directeur $a$ par la méthode des moindres carrés

Le coefficient directeur d'une droite d'équation :  $y = ax + b$ , est déterminé à partir de la méthode des moindres carrés par la formule :

$$\alpha = \frac{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i y_i - \bar{x} \bar{y}}{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i^2 - \bar{x}^2} \quad (16)$$

Où  $n$  : Nombre des points donnés

$x_i$  : Abscisse au  $i^{\text{ème}}$  point de la droite

$y_i$  : Ordonnée au  $i^{\text{ème}}$  point de la droite

$\bar{x}$  : Moyenne des abscisses

$\bar{y}$  : Moyenne des ordonnées

D'après le calcul nous avons trouvé  $a = 0,0386$ .

### III.1.3. Calcul du pourcentage en phosphore dans la plante MC

L'absorbance  $A$  est fonction de la concentration  $c$  d'après la loi de Beer-Lambert :

$$A = \log \frac{I_0}{I} = k.l.c$$

L'absorbance de la solution S de dilution 1/10 est égale à 0,050 mg/l. La concentration du phosphore s'écrit alors :

$$c = \frac{50.f.A}{a} \quad (17)$$

Avec  $f$  : Facteur de dilution (dans ce cas  $f = 10$ )

$A$  : Absorbance de la solution (mg/l)

$a = k.l$  : Pente de la droite  $y = ax$

50 : Volume de la fiole utilisée (ml)

D'après le calcul, la concentration en phosphore vaut :  $c = 647,67$  ppm.

D'où le pourcentage en phosphore dans la feuille de la plante MC : 0,065 %.

### III.2. ANALYSE DES CATIONS

Les échantillons à analyser sont : MC, MCAq-m, MCAq-d et MCAq-i.

#### III.2.1. Concentrations en ppm et pourcentages des cations

Soit  $C$  (mg/l) la concentration des cations dans la solution S1 donnée par le spectromètre d'absorption atomique.

Dans 1000 ml de la solution, il y a  $C$  (mg) de soluté. Ce qui signifie que dans 50 ml de la solution, il y a  $50.10^{-3}C$  (mg) de soluté.

Donc 1 g de plante contient des solutés de concentration  $50.10^{-3}C$  mg/kg ou ppm. Alors dans 1000 g de plante, il y aura  $c = 50.C$  mg/kg ou ppm.

Pour les solutions aqueuses : MCAq-d (décocté), MCAq-i (infusé) et MCAq-m (macérat), nous avons préparé 1 g de poudre de plante dans 50 ml d'eau distillée.

Quelquefois, des dilutions ont été nécessaires pour que l'appareil puisse afficher l'absorbance de la solution étudiée. La concentration  $c$  dépend alors du facteur de dilution :

$$c = 50.f.C \quad (18)$$

Avec  $c$  : Concentration des cations (mg/kg ou ppm)

$f$  : Facteur de dilution

$C$  : Concentration des cations (mg/l)

50 : Volume de la fiole utilisée (ml)

La formule suivante donne le pourcentage en cations dans la plante :

$$X\% = \frac{c}{10^4} \quad (19)$$

### III.2.2. Résultats

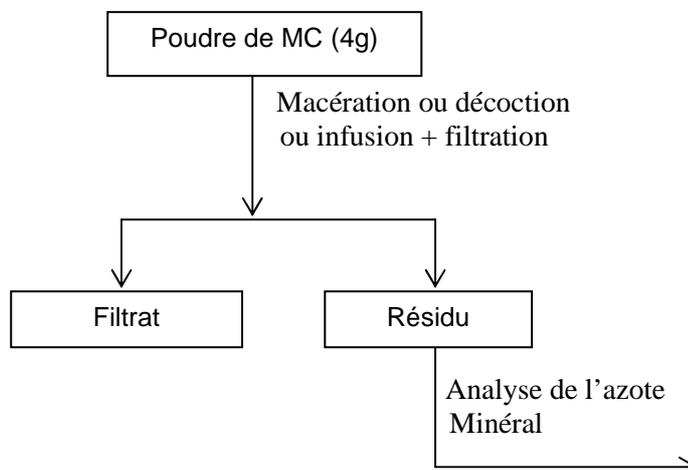
Les résultats des analyses des cations dans la plante MC sont exposés dans le tableau 1

		Zn <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	(Fe <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup> )	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>
MC	$C$ (mg/l)	0,55	1,52	2,05	5,14	0,73	2,92
	$f$	10	100	100	1	100	100
	$c$ (ppm)	275	7600	10250	257	3650	14600
	$X\%$	0,0275	0,76	1,0250	0,027	0,365	1,46
MCaq-d	$C$ (mg/l)	0,256	0,054	0,26	0,212	0,056	0,128
	$f$	1	1000	100	1	1000	1000
	$c$ (ppm)	12,8	2700	1300	10,6	2800	6400
	$X\%$	0,00128	0,27	0,13	0,00106	0,28	0,64
MCaq-i	$C$ (mg/l)	0,15	0,048	0,214	0,1	0,038	0,19
	$f$	10	1000	100	1	1000	1000
	$c$ (ppm)	75	2400	1070	5	1900	9500
	$X\%$	0,0075	0,24	0,107	0,0005	0,19	0,95
MCaq-m	$C$ (mg/l)	0,384	0,096	0,298	0,616	0,068	0,264
	$f$	1	1000	100	1	1000	1000
	$c$ (ppm)	19,2	4800	1490	30,8	3400	13200
	$X\%$	0,00192	0,48	0,149	0,00308	0,34	1,32

Tableau 14 : Résultats des analyses des cations

### III.3. DETERMINATION DU POURCENTAGE EN AZOTE

La plante brute MC ainsi que les résidus secs de la décoction, de l'infusion et de la macération sont soumis à la minéralisation. Le schéma 3 montre la préparation des résidus de la macération, de la décoction et de l'infusion.



*Schéma 3 : Préparation des résidus avant la minéralisation*

#### III.3.1. Pourcentage en azote total

La solution S2 obtenue à partir de  $p$  gramme de poudre d'échantillon calcinée a un volume de 50 ml. Une partie (10 ml) est utilisée pour l'extraction de l'azote. L'ammoniaque  $\text{NH}_4\text{OH}$  ( $N_b$ ,  $V_b$ ) est capté par l'acide borique 2 % et va être dosé par  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $N_a$ ,  $V_a$ ).

Le pourcentage en azote total est donné par la formule suivante.

$$\% \text{Azote} = \frac{7 \cdot N_a \cdot V_a}{p}$$

Avec  $N_a$ : normalité de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $N_a = 0,01 \text{ N}$ )

$V_a$ : volume de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  versé (ml)

$p$ : poids de l'échantillon (g)

#### III.3.2. Résultats

Le tableau 15 résume les résultats :

	MC	Rés.d	Rés.i	Rés.m
$V_a$ (ml)	0,9	0,6	0,6	0,8
$p$ (g)	0,1154	0,0984	0,1027	0,1139
%Azote	0,55	0,43	0,41	0,49

*Tableau 15 : Résultats des analyses de l'azote minéral*

Avec Rés.d : Résidu de la décoction  
 Rés.i : Résidu de l'infusion  
 Rés.m : Résidu de la macération

Les pourcentages en azote total dans les solutions MCAq-d, MCAq-i et MCAq-m sont donnés par la relation :

$$\% \text{Azote (MCAq-X)} = \% \text{Azote (MC)} - \% \text{Azote (Rés.X)} \quad (20)$$

Où X désigne d (décocté) ou i (infusé) ou m (macérat).

Le tableau 16 montre les pourcentages de l'azote total dans la plante MC et dans les solutions MCAq-d, MCAq-i et MCAq-m.

	MC	MCAq-d	MCAq-i	MCAq-m
%Azote	0,55	0,12	0,14	0,06

*Tableau 16 : Résultats des analyses de l'azote*

### III.4. RECAPITULATION DES RESULTATS DE L'ANALYSE MINERALE

Nous rassemblons dans le tableau 17 tous les pourcentages des éléments analysés dans les différents échantillons.

Echantillon	%Zn <sup>2+</sup>	%Mg <sup>2+</sup>	%Ca <sup>2+</sup>	%(Fe <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup> )	%Na <sup>+</sup>	%K <sup>+</sup>	%P	%Azote
MC	0,0275	0,76	1,0250	0,027	0,36	1,46	0,065	0,55
MCAq-d	0,00128	0,27	0,13	0,00106	0,28	0,64	-	0,12
MCAq-i	0,0075	0,24	0,107	0,0005	0,19	0,95	-	0,14
MCAq-m	0,00192	0,48	0,149	0,00308	0,34	1,32	-	0,06

*Tableau 17 : Pourcentages des éléments minéraux dans tous les échantillons*

#### Interprétations

- Les résultats des analyses des constituants minéraux ont montré que les éléments majeurs dans les feuilles de la plante MC sont le potassium : 1,46 %, puis le calcium : 1,0250 %. Tandis que le zinc, le fer et le phosphore sont les éléments mineurs, avec des pourcentages respectifs 0,0275 %, 0,027 % et 0,065 %.

Les feuilles de la plante MC contiennent aussi 0,76 % de magnésium, 0,55 % d'azote et 0,065 % de phosphore.

- À propos des analyses des trois types de solutions analysées, la macération est la méthode qui a extrait beaucoup plus de magnésium (0,48 %), de calcium (0,149 %), de fer (0,00308 %), de sodium (0,34 %) et de potassium (1,32 %).

L'infusion est la meilleure méthode d'extraction des éléments zinc (0,0075 %) et azote (0,14%).

#### IV. CONCLUSION

Les méthodes par absorption du rayonnement électromagnétique ont permis de doser les constituants minéraux même à état de trace. Les taux d'azote dans les échantillons sont déterminés grâce à la minéralisation et l'entraînement à la vapeur suivis du dosage acido-basique de l'ammoniaque par l'acide sulfurique.

Nous avons constaté également que la macération est la plus efficace des méthodes d'extraction utilisées, pour extraire la plupart des éléments minéraux.

## Chapitre IV : Etudes physico-chimiques de la plante

### I . INTRODUCTION

La méthode traditionnelle nous a inspiré à étudier primordialement le macérat aqueux de la plante MC.

Dans cette partie, nous trouverons les caractères acido-basiques de chaque échantillon. Mais nous nous sommes également intéressés aux dosages par pH-métrie et conductimétrie des solutions aqueuses issues de la plante. Ces études nous permettront de suivre la cinétique de dégradation des molécules dans ces solutions.

Ces études seront complétées par les études des macérats éthanoliques et des fractions chromatographiques de l'extrait hexanique et de l'extrait chloroformique.

### II . METHODOLOGIE

Une fois préparé le macérat ou le décocté, une partie est utilisée pour mesurer son pH journalier, tandis qu'une autre va subir des dosages acido-basiques et conductimétriques. Pour cela, une prise d'essai de 5 ml de la solution est titrée par la soude de normalité connue.

### III . RESULTATS

#### III.1. CARACTERES ACIDO-BASIQUES DES ECHANTILLONS

##### III.1.1. Caractères acido-basiques du macérat et du décocté

Nous avons à étudier trois échantillons : le macérat MCaq-m : solution 1 (29-01-07) et solution 2 (18-11-07) et le décocté MCaq-d (du 12-02-07).

Le tableau 18 et la figure 6 montrent les résultats des suivis journaliers du pH de MCaq-m et celui de MCaq-d.

Jour	1	2	3	4	5
pH de M <sub>Caq</sub> -m (solution 1)	6,1	5,63	5,4	5,6	5,92
pH de M <sub>Caq</sub> -m (solution 2)	6,32	-	-	-	-
pH de M <sub>Caq</sub> -d	6,8	6,52	6,15	6,25	6,15

Tableau 18 : pH de M<sub>Caq</sub>-m : solution 1 et solution 2 et de M<sub>Caq</sub>-d en fonction du jour

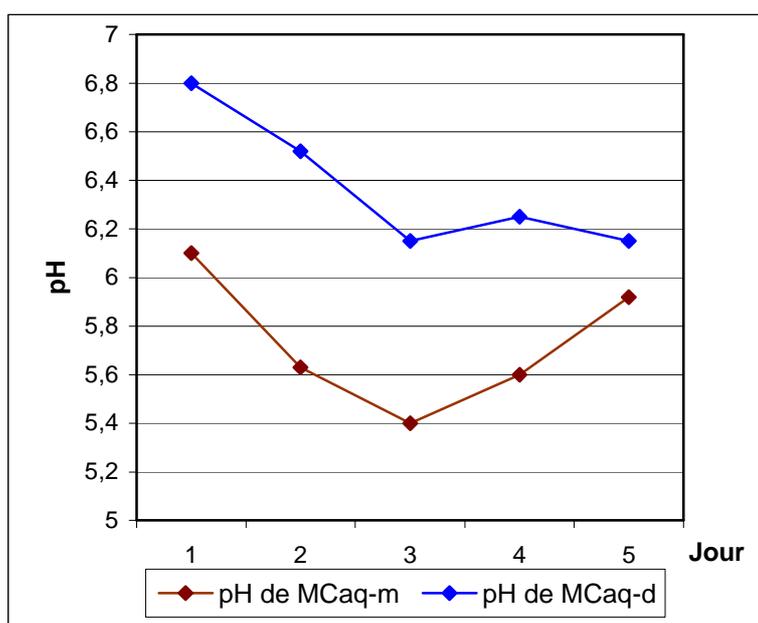


Figure 6 : Courbe de pH du macérat et du décocté en fonction du jour

### Interprétations

- D'après le tableau 18, les pH du décocté et du macérat sont inférieurs à 7. Le caractère acide domine dans les solutions aqueuses de la plante MC.

Le pH du décocté est toujours supérieur à celui du macérat pendant les cinq jours de l'étude. Les substances chimiques du décocté sont donc moins acides que celles du macérat.

En trois jours, le pH du macérat diminue de 6,1 à 5,4 puis augmente et atteint la valeur 5,92 au cinquième jour. Le pH du décocté diminue en général pendant cinq jours de 6,8 à 6,15.

- Les moisissures qui apparaissent sur M<sub>Caq</sub>-m et M<sub>Caq</sub>-d au quatrième jour marquent la dégradation des substances chimiques de ces solutions. A ce moment, le pH du macérat est 5,6 et tend à augmenter ; alors que celui du décocté est 6,25 et tend à diminuer.

- Le pH du macérat (solution 1) diminue après une journée de 6,1 à 5,63, tandis que le pH augmente jusqu'à 6,32 (pH de la solution 2) après 9 mois de stockage de la plante brute. En fonction du jour, le caractère acide du macérat de la plante augmente. Alors qu'en fonction de la durée de stockage, on constate la diminution de son acidité.

### III.1.2. Caractères acido-basiques des macérats éthanoliques

Les deux échantillons à étudier sont :

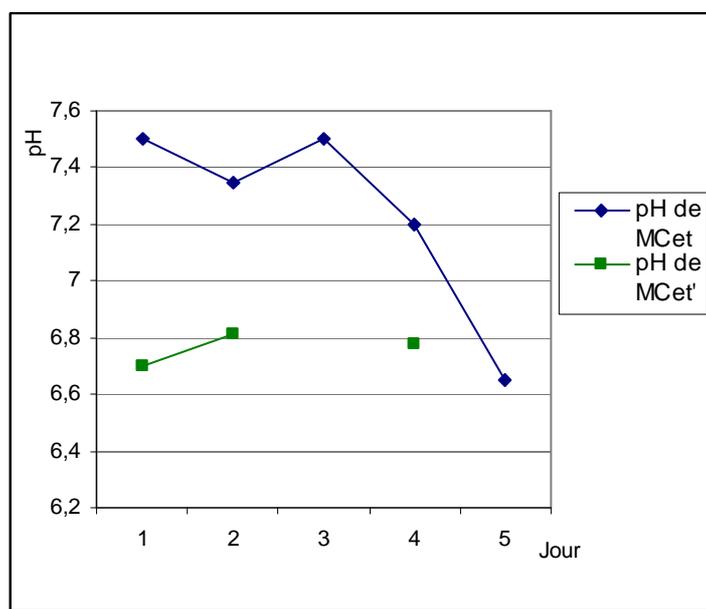
MCet : obtenu après macération éthanolique de la plante MC pendant 48 heures.

MCet' : obtenu après macération éthanolique avec agitation pendant 30 mn de la plante MC.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 19.

Jour	1	2	3	4	5
pH de MCet	7,5	7,35	7,5	7,2	6,65
pH de MCet'	6,7	6,81	-	6,78	-

*Tableau 19 : pH de MCet et de MCet' en fonction du jour*



*Figure 7 : Courbe de pH des macérats éthanoliques en fonction du jour*

### Interprétations

- Les pH des deux macérats éthanoliques MCet et MCet' sont très différents. Pendant les 4 premiers jours, le pH de MCet est toujours basique ( $\text{pH} > 7$ ), par contre celui de MCet' est toujours acide ( $\text{pH} < 7$ ). Alors les substances chimiques extraites par la macération

éthanolique pendant 48 heures sont plus basiques que celles extraites par la macération éthanolique avec agitation pendant 30 minutes.

- Le pH de MCet diminue généralement pendant 5 jours du 7,5 à 6,65. Donc les molécules de MCet tendent à se dégrader entre le quatrième et le cinquième jour.
- Le pH de la solution MCet' varie très peu pendant les jours de l'étude : 6,7 au premier, 6,81 au deuxième et 6,78 au quatrième jour. Nous n'avons pas pu mesurer son pH au troisième et au cinquième jour à cause de l'instabilité de l'aiguille du pH-mètre pendant la mesure.

### III.1.3. Caractères acido-basiques des fractions chromatographiques

Les fractions chromatographiques à étudier sont : les fractions de l'extrait hexanique F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> et F<sub>3</sub> et les fractions de l'extrait chloroformique G<sub>1</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>4</sub> et G<sub>5</sub>. Chaque fraction d'éluat bien sec est solubilisée dans 20 ml d'éthanol. Puis on a mesuré leurs pH en se référant au pH de l'éthanol.

Le tableau 20 rassemble toutes les valeurs de pH des fractions d'éluats.

	EtOH	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>3</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>5</sub>
pH	7,25	7,05	6,3	7,6	6,8	6,0	6,2	7,3

*Tableau 20 : pH de l'éthanol et des fractions d'éluats*

### Interprétations

- Le pH de l'éthanol est 7,25. Ce pH peu basique influe sur le pH de la solution éthanolique.
- Les pH des fractions F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> et F<sub>3</sub> (fractions de l'extrait hexanique) sont respectivement : 7,05 ; 6,3 et 7,6. Les molécules de faible polarité et de dimensions supérieures sont donc neutres (pH=7,05). Les molécules moins polaires et de tailles moyennes ont des pH d'un acide faible (pH=6,3). Le caractère faiblement basique domine dans les molécules moins polaires et de dimensions inférieures (pH=7,6).
- Les éluats de l'extrait chloroformique ont un caractère d'un acide faible. Le pH de la fraction G<sub>1</sub> est 6,8. La majorité des substances moyennement polaires et de dimensions élevées sont donc des acides faibles.

Les molécules de la fraction G<sub>3</sub> sont les plus acides car son pH est égal à 6,0.

Les molécules moyennement polaires et de petites tailles ( $G_4$ ) ont un pH égal à 6,2. Elles sont aussi plus acides.

- En général, les substances chimiques dans les fractions hexaniques sont plus basiques que celles présentes dans les fractions chloroformiques.

### III.2. ACTIONS DE NaOH SUR CHAQUE ECHANTILLON

#### III.2.1. Actions de NaOH sur les macérats aqueux

##### III.2.1.1. Calcul de l'acidité ou du pourcentage en $H_2SO_4$ p/p

Suivant la réaction :  $2NaOH + H_2SO_4 \longrightarrow Na_2SO_4 + 2H_2O$

1 mole de  $H_2SO_4$  correspond à 2 moles de NaOH. Si  $V_e$  est le volume de la soude de normalité  $N$  pour atteindre le point d'équivalence, le nombre de mole de la soude sera :

$$\frac{N.V_e}{1000}$$

Le nombre de mole de  $H_2SO_4$  est donc :

$$\frac{N.V_e}{2000}$$

Et sa masse correspondant est :

$$\frac{98.N.V_e}{2000}$$

Si nous avons utilisé  $m$  gramme de plante pour préparer la solution, alors  $\frac{98.N.V_e}{2000}$  gramme de  $H_2SO_4$  correspond à  $m$  gramme.

D' où l'acidité ou le pourcentage en  $H_2SO_4$  (p/p) de la solution.

$$\% H_2SO_4 \text{ (p/p)} = \frac{4,9.N.V_e}{m} \quad (21)$$

##### III.2.1.2. Résultats des calculs des acidités

Les valeurs et les courbes de pH de MCAq-m en fonction du volume de la soude sont données par le tableau 26 et la figure 8. Les résultats des calculs de l'acidité de MCAq-m sont consignés dans le tableau 21.

	Jour	Masse m (g)	Normalité de NaOH	V <sub>e</sub>	% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (p/p)
MCAq-m (solution 1)	1 <sup>er</sup>	20	0,020	1,500	0,007
	2 <sup>e</sup>	20	0,020	1,800	0,009
	3 <sup>e</sup>	20	0,020	1,800	0,009
	4 <sup>e</sup>	20	0,020	2,100	0,010

*Tableau 21 : Pourcentage en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (p/p) ou acidité de MCAq-m du 1<sup>er</sup> au 4<sup>ème</sup> jour*

### Interprétations

- Les courbes de titrages pH-métrique du macérat du premier au quatrième jour (Annexe 2, Figure 8), par la soude présentent chacune un seul grand palier compris entre 0,9 et 2,7 ml. Les molécules responsables de l'acidité du macérat sont des monoacides faibles.
- L'acidité du macérat varie pendant quatre jours, d'après le tableau 21. Du premier au deuxième jour, elle augmente de 0,007 % à 0,009 %. Puis elle ne varie pas au troisième jour. Ensuite, la valeur de ce pourcentage augmente au quatrième jour jusqu'à 0,010 %. De ce fait l'acidité du macérat du 1<sup>er</sup> jour est la plus faible par rapport à celles du macérat du deuxième au quatrième jour. Cela vérifie son pH (pH=6,1) plus élevé par rapport aux pH des autres.

Le macérat est plus acide au quatrième jour. Ce phénomène coïncide avec l'apparition des moisissures sur cette solution à ce jour.

#### III.2.1.3. Action de NaOH sur MCAq-m (solution 1 du 1<sup>er</sup> et du 2<sup>ème</sup> jour et solution 2)

Les tableaux 27 et 28 et les figures 9 et 10 (Annexe 2) montrent les actions de NaOH sur MCAq-m. Les résultats sont résumés dans le tableau 22.

Solution	Date	pH initial	Gx10 <sup>4</sup> initial	A l'équivalence		
				V <sub>NaOH</sub> (ml)	pH	Gx10 <sup>4</sup>
Solution 1 (1 <sup>er</sup> jour)	29-01-07	6,1	10,101	1,5	8,05	9,174
Solution 1 (2 <sup>ème</sup> jour)	30-01-07	5,53	11,834	1,8	7,78	10,183
Solution 2	18-11-07	6,32	8,333	1,2	8,6	7,463

*Tableau 22 : Résultats des actions de NaOH sur MCAq-m (solution 1) du 1<sup>er</sup> et du 2<sup>ème</sup> jour et de MCAq-m (solution 2)*

### Interprétations

- Les variations des trois courbes de dosage pH-métrique de MCAq-m (solution 1) du 1<sup>er</sup> et du 2<sup>ème</sup> jour et de MCAq-m (solution 2) en fonction du volume de la soude (Annexe 2, Figure 9) ont la forme d'une courbe de dosage acido-basique. D'après le tableau 22, leurs points de neutralisation sont : (1,5 ; 8,05) pour le dosage de la solution 1 du 1<sup>er</sup> jour, (1,8 ; 7,78) pour le dosage de la solution 1 du 2<sup>ème</sup> jour et (1,2 ; 8,6) pour la solution 2.
- Contrairement aux valeurs de leurs pH initiaux, c'est la solution la plus acide (solution 1 du 2<sup>ème</sup> jour) qui est la plus conductrice ( $G=11,834.10^{-4} \Omega^{-1}$ ), donc cette solution est la plus riche en substances électrolytes. Les conductances initiales des deux autres solutions sont :  $10,101.10^{-4} \Omega^{-1}$  pour la solution 1 du 1<sup>er</sup> jour et  $8,333.10^{-4} \Omega^{-1}$  pour la solution 2.

Lors des dosages des trois solutions, des ions H<sup>+</sup> et/ou d'autres cations sont remplacés par les ions Na<sup>+</sup> de mobilité inférieure apportés par le réactif. Alors, leurs conductances diminuent après ajouts d'une certaine quantité de la soude. Leurs valeurs à l'équivalence correspondant aux équivalences acido-basiques sont consignées dans le tableau 22 :  $9,174.10^{-4} \Omega^{-1}$  pour la solution 1 du 1<sup>er</sup> jour,  $10,183.10^{-4} \Omega^{-1}$  pour la solution 1 du 2<sup>ème</sup> jour et  $7,463.10^{-4} \Omega^{-1}$  pour la solution 2.

Après les points d'équivalences, chaque courbe des trois solutions a sa propre variation. Cela pourrait être dû à la différence entre les quantités des éléments minéraux présents dans ces solutions qui peuvent réagir avec le réactif.

Pour la solution 1 du 1<sup>er</sup> jour, sa conductance remonte de  $9,174.10^{-4} \Omega^{-1}$  à  $9,302.10^{-4} \Omega^{-1}$  entre 1,5 et 2,1 ml ; puis diminue jusqu'à  $8,929.10^{-4} \Omega^{-1}$  correspondant à 4,2 ml, et ensuite elle se stabilise jusqu'au point : (7,5 ;  $8,850.10^{-4}$ ).

Pour la solution 1 du 2<sup>ème</sup> jour, la conductance diminue légèrement après l'équivalence de :  $10,183.10^{-4} \Omega^{-1}$  à  $9,009.10^{-4} \Omega^{-1}$  entre 1,8 et 5,1 ml. Puis elle se stabilise entre les points : (5,1 ;  $9,009.10^{-4}$ ) et (7,8 ;  $9,009.10^{-4}$ ).

Concernant la conductance de la solution 2, elle diminue également après l'équivalence de  $7,463.10^{-4} \Omega^{-1}$  à  $7,042.10^{-4} \Omega^{-1}$  due à d'autres réactions favorisant sa diminution. Puis elle est presque constante entre (1,5 ;  $7,042.10^{-4}$ ) et (3 ;  $6,944.10^{-4}$ ).

Les dernières parties des courbes de dosages conductimétriques présentent chacune une augmentation sans cesse des conductances en fonction du volume de la soude. Ce phénomène marque la fin des réactions due aux excès des ions  $\text{OH}^-$  de mobilité élevée dans la solution.

### III.2.2. Actions de NaOH éthanolique sur les fractions hexaniques

Les actions de NaOH éthanolique sur les fractions hexaniques sont représentées par le tableau 31 et la figure 13. Les résultats sont résumés dans le tableau 23.

Solution éthanolique	pH initial	A l'équivalence	
		V <sub>NaOH</sub> (ml)	pH
<i>Ethanol</i>	7,25	-	-
<i>F<sub>1</sub> N3</i>	7,05	-	-
<i>F<sub>2</sub> N9</i>	6,03	0,3	11,41
<i>F<sub>3</sub> N21</i>	7,6	-	-

*Tableau 23 : Analyse des courbes de l'action de NaOH 0,01N éthanolique sur les fractions F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> et F<sub>3</sub>*

#### Interprétations

- Sur la figure 13 (Annexe 2), c'est seulement dans le dosage pH-métrique de F<sub>2</sub> qu'on constate l'allure d'un dosage d'un acide faible par une base forte, pour lequel le point d'équivalence est (0,5 ; 11,41). Cela est encore vérifié par son pH initial égal à 6,03 (pH d'un acide faible).
- Avec les autres solutions : EtOH, F<sub>1</sub> et F<sub>3</sub>, les courbes de dosages acido-basiques présentent des allures sous forme logarithmique et qui ne révèlent que leurs caractères basiques.

#### IV. CONCLUSION

Ces études ont montré que les molécules du macérat aqueux de la plante MC ont un caractère acide faible qui augmente avec le temps. Nous avons pu constater également de légères influences du stockage de la matière première, sur les constantes physico-chimiques mesurées : pH et conductance.

Le macérat aqueux est plus acide au quatrième jour correspondant à l'apparition des moisissures de cet échantillon.

Les molécules de MCet (obtenu après macération éthanolique de la plante MC) pendant 48 heures sont moins acides que celles de MCet' (obtenu après macération éthanolique avec agitation pendant 30 mn) de la plante MC.

Les études physico-chimiques des fractions chromatographiques ont montré que les substances chimiques dans les fractions hexaniques sont plus basiques que celles présentes dans les fractions chloroformiques.

---

## DISCUSSIONS

Rappelons que dans cette recherche, nous tentons de faire l'inventaire des constituants chimiques (organiques et minéraux) de la plante MC et d'étudier la physico-chimie de cette plante et de ses solutions aqueuses.

Comme nous l'avons déjà mentionné à plusieurs reprises, la méthode traditionnelle utilise le macérat aqueux de la plante MC pour intoxiquer les poissons. D'autres part, les résultats des analyses du C.N.A.R.P. ont montré l'activité cytotoxique de la roténone et de la roténolone qui sont des flavonoïdes isolés à partir de l'extrait méthanolique de cette même plante.

Dans notre travail, nous avons également retrouvé grâce aux tests phytochimiques la famille des flavonoïdes dans les échantillons suivants : la plante brute, le macérat aqueux, l'extrait chloroformique et encore dans l'extrait méthanolique. Les tests préliminaires ont montré les vertus insecticides de la plante brute et du macérat aqueux. Ces substances chimiques cytotoxiques sont probablement les mêmes substances chimiques responsables des activités ichtyotoxique et insecticides de la plante.

Pourtant il faut tenir compte que d'après les tests phytochimiques, cette plante contient d'autres substances chimiques biologiquement actives telles que les saponines, ainsi que les métabolites secondaires tels que les composés polyphénoliques, les alcaloïdes et les triterpénoïdes.

De plus, il ressort du tableau 25, Annexe 1 que la polarité du méthanol (6,8), utilisé par le C.N.A.R.P. est inférieure à celle de l'eau (9) utilisé fréquemment dans notre travail ; alors il peut y avoir des différences sur les substances chimiques extraites par ces deux solvants ; le méthanol peut extraire plus de substances organiques moins polaires, tandis que l'eau est capable de solubiliser les substances plus polaires et encore les éléments minéraux.

En ce qui concerne les éléments minéraux, l'activité toxique du macérat aqueux pourrait également provenir de leur présence, puisque le macérat en contient d'après les résultats des analyses. Les éléments minéraux analysés sont des oligo-éléments, mais à part de ces éléments, peut être que la plante renferme d'autres éléments toxiques tels que : l'arsenic, le cadmium, le plomb, le mercure, le nickel, etc.

Comme nous l'avons mentionné dans la recherche bibliographique, les lois de déséquilibres sur les minéraux, qui sont basés sur les taux des cations monovalents bivalents, nous conduit à analyser les résultats des analyses des cations sur le décocté, l'infusé et surtout le macérat aqueux. Pour vérifier cela, les résultats des analyses de la toxicité des solutions aqueuses de la plante MC sont exposés au tableau 24.

	% Zn <sup>2+</sup>	% Mg <sup>2+</sup>	% Ca <sup>2+</sup>	% Na <sup>+</sup>	% K <sup>+</sup>	A (%)	B (%)	C (%)
<i>MCaq-d</i>	0,00128	0,27	0,13	0,28	0,64	0,92	0,40	0,52
<i>MCaq-i</i>	0,0075	0,24	0,107	0,19	0,95	1,14	0,35	0,78
<i>MCaq-m</i>	0,00192	0,48	0,149	0,34	1,32	1,66	0,63	1,03

*Tableau 24 : Analyse de la toxicité des solutions aqueuses de la plante MC.*

Avec A (%) est la somme des pourcentages des cations monovalents analysés.

$$A (\%) = Na^+ (\%) + K^+ (\%)$$

B (%) est la somme des pourcentages des cations bivalents analysés.

$$B (\%) = Zn^{2+} (\%) + Mg^{2+} (\%) + Ca^{2+} (\%)$$

C (%) est la différence entre taux de cations monovalents et bivalents :

$$C (\%) = A (\%) - B (\%)$$

D'après le tableau 24, on voit clairement que l'analyse de la toxicité des solutions aqueuses de la plante MC, fournit des données qui sont spécifiques à nos préoccupations. Il démontre que les différences entre les taux de cations monovalents et ceux des cations bivalents analysés sont importantes : 0,52 % pour le décocté, 0,78 % pour l'infusé et 1,03 % pour le macérat. Le macérat a la plus grande différence entre taux de cations monovalents et bivalents : 1,03 %. Il s'en suit que sa toxicité pourrait en être dûe.

A propos des résultats de l'étude physico-chimique de la plante MC, la variation du pH (6,1 -6,32) du macérat (solution 1) et de celui préparé après 9 mois (solution 2) nous permettent de dire qu'un stockage à sec relativement long influe sur les propriétés physico-chimiques de notre matériel végétal.

Plusieurs facteurs encore peuvent modifier les constituants chimiques et les propriétés physico-chimiques de la plante tels que la saison de récolte, la nature et les éléments chimiques du sol où se trouve la plante, les modes de préparations, etc. D'où l'importance en perspective des recherches scientifiques afin de mieux utiliser la plante.

---

## CONCLUSION GENERALE

Ce travail a été réalisé pour éclaircir scientifiquement les modifications des caractères physico-chimiques de la plante MC au cours du temps, afin de proposer un mode d'emploi sans risque de rencontrer des effets secondaires qui pourraient détruire la biodiversité.

La première partie de notre travail a été consacrée à l'analyse des constituants organiques de la plante. Les méthodes d'extractions ont conduit à différents extraits, dont les tests phytochimiques ont révélé la présence des familles des substances chimiques supposées responsables des activités ichtyotoxique et insecticide de la plante comme les alcaloïdes, les triterpénoïdes et les composés polyphénoliques. Les séparations par chromatographie d'exclusion-diffusion des extraits hexaniques et chloroformiques issus de l'extraction solide-liquide ont été utilisées, les fractions obtenues ont subi des tests phytochimiques et ont été analysés par chromatographie sur couche mince. L'extrait hexanique contient, surtout dans une de ses fractions chromatographiques des triterpénoïdes, des stérols insaturés et des polysaccharides à sucres réducteurs. Dans l'extrait chloroformique, on a décelé la présence, entre autres, des flavonols et des polyphénols.

Dans la deuxième partie du travail, nous avons pu évaluer les taux des éléments calcium, zinc, potassium, sodium, fer, magnésium et phosphore dans la plante et de ses extraits aqueux, à l'aide des méthodes basées sur l'absorption de la radiation électromagnétique. L'azote minéral a été analysé grâce à la minéralisation et à l'entraînement à la vapeur.

Les études physico-chimiques menées au cours de ce travail nous ont permis de suivre les variations des caractères physico-chimiques des solutions aqueuses de la plante MC et en particulier du macérat en fonction du temps et en fonction de la conservation de la plante brute. Dans cette même partie, des essais d'études physico-chimiques des fractions chromatographiques ont été effectués.

Au terme de ce travail, il convient de retenir que l'utilisation de la plante en tant que pesticide naturel, nécessite largement des recherches scientifiques, afin non seulement de trouver ses principes actifs, mais aussi de trouver son mode d'emploi. En perspective, nous nous proposons de procéder à des caractérisations et des isollements plus affinés des molécules de la plante pour confirmer les propriétés insecticides sur les tests biologiques. L'aboutissement serait de mieux gérer l'utilisation de la biodiversité et optimiser les vertus des molécules actives extraites de cette biodiversité sans nuire à sa conservation.

### Matériels techniques

Plusieurs matériels techniques ont été utilisés pour mener ce travail dont :

- Balance électronique type ACCULAB V-200 pour mesurer les poids des échantillons.
- Bocal hermétiquement fermé pour garder les macérats.
- Ampoule à décanter pour réaliser les extractions liquide-liquide.
- Soxhlet pour réaliser les extractions solide-liquide avec des solvants pous polaires.
- Evaporateur rotatif pour effectuer les évaporations.
- Tubes à essais pour réaliser les tests phytochimiques.
- Colonne chromatographique de diamètre 4 cm, remplie de gel de Sephadex LH 20 gonflé dans l'éthanol pour la chromatographie sur colonne des fractions hexaniques et chloroformiques.
- Plaque de Silice pour réaliser la chromatographie sur couche mince des fractions hexaniques.
- Four type BLUE M ELECTRIC COMPANY, LAB-HEAT, BOX TYPE MUFFLE FURNACE, SOLID STATE VARI-WATT POWER LEVEL CONTROL pour effectuer les calcinations.
- Spectromètre d'absorption atomique type PERKIN ELMER 1100 B pour la détermination des pourcentages en cations dans les échantillons.
- Spectrophotomètre type SECOMAN S. 250 pour la détermination des pourcentages en phosphore dans la plante.
- Bloc de digestion type Gerhardt Kjeldatherm pour effectuer la minéralisation.
- Appareil d'entraînement à la vapeur pour effectuer les extractions de l'azote minéral de la plante.
- Burette graduée dans le but de doser les solutions (macérats et décocté).
- pH-mètre type E 300 B pour mesurer les valeurs des pH des solutions.
- pH-mètre-millivoltmètre type U9N pour mesurer les valeurs des pH et des potentiels électrochimiques des solutions.
- Conductimètre TACUSSEL électronique pour mesurer les valeurs des résistances des solutions.

- [1] ANDRIAMALALA, H.V., (2005),  
*Contribution à l'étude physico-chimique d'une plante médicinale dénommée Aef*,  
Mémoire de D.E.A., Chimie physique, Faculté des Sciences, Université  
d'Antananarivo, p. 23, 40-46
- [2] ARNAUD, P., (1993),  
*Cours de chimie organique*, 15<sup>ème</sup> édition entièrement refondue et illustrée en couleurs,  
DUNOD, p.265
- [3] BECKMAN Instruments France,  
*Introduction à la C.L.H.P.*, p. 16
- [4] CHARLOT, G., (1984),  
*Chimie analytique quantitative*, Tome 1, Méthode chimique et physico-chimique,  
MASSON, p. 311
- [5] DEFRANCESCHI, M.  
*144 manipulations de chimie générale et minérale*, ellipses, p. 31-32, 113-116
- [6] DU PUY, D.J., LABAT, J.N., RABEVOHITRA, R., VILLIERS, J.F., BOSSER, J. &  
MOAT, J.,  
*The Leguminosae of Madagascar*, p. 419-420
- [7] DUVAL, C., DUVAL, R., (1978),  
*Dictionnaire de la Chimie et de ses applications*, 3<sup>ème</sup> édition, p. 324, 581, 658
- [8] GUERNET, M., HAMON, M., (1990),  
*Abrégé de chimie analytique*, Tome 1, Chimie des solutions, 2<sup>ème</sup> édition, MASSON, p.  
2, 17-18
- [9] HAMON, M., PELLERIN, F., GUERNET, M., MAHUZIER, G., (1990),  
*Abrégé de chimie analytique*, Tome 3, Méthodes spectrales et analyse organique, 2<sup>ème</sup>  
édition, MASSON, p. 6-50

- [10] LAURENCE, G., (1975),  
*Problèmes résolus de génie chimique*, Editions eyrolles, p.245
- [11] MAHUZIER, G., HAMON, M., (1990),  
*Abrégé de chimie analytique*, Tome 2, Méthodes de séparation, 2<sup>ème</sup> édition, MASSON,  
p. 5-6, 193
- [12] PERICARD, A.,  
*Chimie analytique*, INA, p. 361, 394, 397.
- [13] PERNET, R., MEYER, G., (1957),  
*Pharmacopée de Madagascar*, Publications de recherche scientifique Tananarive-  
Tsimbazaza, p. 74
- [14] RANDEPATH, K., (1971),  
*Chromatographie sur couche mince*, 2<sup>ème</sup> édition revue augmenté, Gauthier Villars,  
p.5-6
- [15] RANDRIAMANANTSOA, L., (2003),  
*Contribution à l'étude physico-chimique de l'Euphorbia-Orthoclada*, Mémoire de  
D.E.A, Chimie physique, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, p. 13-20
- [16] RANDRIANARIVELO, F. H., (2005),  
*Contribution à l'étude chimique de Mundulea sp (Leguminoseae) à activité  
antiparasitaire des animaux marins*, Mémoire de D.E.A., Produits naturels, Faculté des  
Sciences, Université d'Antananarivo, p. 15, 48
- [17] SALGAROLO, P., (1990),  
*Pratique des manipulations de chimie*, p. 55
- [18] SOUCHAY, P., (1967),  
*Chimie physique*, Thermodynamique chimique, 3<sup>ème</sup> édition, MASSON, p. 300-302,  
340-342, 406

- [19] <http://bioassendi.ifrance.com/mineraux.htm>
- [20] <http://www.emse.fr/fr/transfert/spin/formation/ressources/sam96/fichierspdf/specatom.pdf>
- [21] <http://www.galenicom.com/zh/medine/article/15043430>
- [22] <http://www.google.com/url?sa=t&source=web&ct=res&cd=8&url=http%3A%2F%2Fwww.lesjardinsdeceres.net%2Fforum%2Fuploads.php%3Ffile%3DRot%25E9none%252C%2520poison%2520bio.doc&ei=HNU8SYGrAZXM0gXB3Pi1BQ&usg=AFQjCNHjxfbTK33ShGZB86Q6NTzGaZxVrg&sig2=AQoHYi7hnMJuYYTOT7nqtA>
- [23] [http://www.google.com/url?sa=t&source=web&ct=res&cd=18&url=http%3A%2F%2Fwww.unige.ch%2Fsciences%2Fchiam%2Fwilliams%2Ftp%2FPharmacie%2F09\\_Colorimetrie.pdf&ei=595uSYOKonw0QXL5ZW8Cg&usg=AFQjCNGbHoaB4aSFopHp1DL41crR6WkDag&sig2=0YLa7QQ3s0DTq\\_80rZzUKw](http://www.google.com/url?sa=t&source=web&ct=res&cd=18&url=http%3A%2F%2Fwww.unige.ch%2Fsciences%2Fchiam%2Fwilliams%2Ftp%2FPharmacie%2F09_Colorimetrie.pdf&ei=595uSYOKonw0QXL5ZW8Cg&usg=AFQjCNGbHoaB4aSFopHp1DL41crR6WkDag&sig2=0YLa7QQ3s0DTq_80rZzUKw)
- [24] <http://www.refer.mg/cours/yr/pages/m12.html>
- [25] <http://www.refer.mg/cours/yr/pages/m13.html>
- [26] <http://www.refer.mg/cours/yr/pages/m14.html>

---

## ANNEXE

**Annexe 1 : Polarités des solvants** <sup>[3]</sup>

<b>Solvant</b>	<b>Polarité</b>
Iso-octane	-0,4
n-Hexane	0
Tétrachlorure de carbone	1,7
Triéthylamine	1,8
Isopropylether	2,2
Toluène	2,3
Chlorobenzène	2,7
Benzène	3
Chlorure de méthylène	3,4
Chlorure d'éthylène	3,7
n-propanol	4,1
THF	4,2
i-propanol	4,3
Acétate d'éthyle	4,3
Chloroforme	4,4
Méthyl éthyl cétone	4,5
Nitrobenzène	4,5
Dioxane	4,8
Ethanol	5,2
Ethylène glycol	5,4
Acétone	5,4
Acide acétique	6,2
Acétonitrile	6,2
DMF	6,4
DMSO	6,5
Méthanol	6,6
Eau	9

*Tableau 25 : Polarité des solvants organiques*

**Annexe 2 : Résultats des analyses physico-chimiques de la plante MC**

V(NaOH)	pH (1 <sup>er</sup> j)	dpH/dV (1 <sup>er</sup> j)	pH(2 <sup>e</sup> j)	dpH/dV (2 <sup>e</sup> j)	pH (3 <sup>e</sup> j)	dpH/dV (3 <sup>e</sup> j)	pH (4 <sup>e</sup> j)	dpH/dV (4 <sup>e</sup> j)
0	6,1		5,53		5,4		5,6	
0,3	6,15	0,17	5,75	0,73	5,6	0,67	5,73	0,43
0,6	6,5	1,17	5,9	0,5	5,75	0,5	5,82	0,3
0,9	6,8	1	6,2	1	6	0,83	6,05	0,77
1,2	7,4	2	6,54	1,13	6,45	1,5	6,3	0,83
1,5	8,05	2,17	7,1	1,87	6,75	1	6,75	1,5
1,8	8,6	1,83	7,78	2,27	7,45	2,33	7,15	1,33
2,1	9,1	1,67	8,35	1,9	7,9	1,5	7,85	2,33
2,4	9,45	1,17	8,8	1,5	8,6	2,33	8,34	1,63
2,7	9,72	0,9	9,2	1,33	8,95	1,17	8,8	1,53
3	9,81	0,3	9,35	0,5	9,2	0,83	9,1	1
3,3	10,1	0,97	9,62	0,9	9,4	0,67	9,35	0,83
3,6	10,24	0,47	9,8	0,6	9,65	0,83	9,55	0,67
3,9	10,35	0,37	9,95	0,5	9,8	0,5	9,74	0,63
4,2	10,6	0,83	10,12	0,57	9,94	0,47	9,9	0,53
4,5	10,65	0,17	10,3	0,6	10,1	0,53	10	0,33
4,8	10,84	0,63	10,4	0,33	10,25	0,5	10,15	0,5
5,1	10,95	0,37	10,5	0,33	10,3	0,17	10,3	0,5
5,4	11,15	0,67	10,75	0,83	10,5	0,67	10,45	0,5
5,7	11,34	0,63	10,8	0,17	10,6	0,33	10,65	0,67
6	11,41	0,23	11,05	0,83	10,7	0,33	10,7	0,17
6,3	11,55	0,47	11,15	0,33	10,85	0,5	10,85	0,5
6,6	11,7	0,5	11,2	0,17	11	0,5	11,45	2
6,9	11,71	0,03	11,3	0,33	11,05	0,17	11,05	-1,33
7,2	11,84	0,43	11,38	0,27	11,2	0,5	11,15	0,33
7,5	11,86	0,07	11,5	0,4	11,3	0,33	11,25	0,33
7,8	11,88	0,07	11,5	0	11,4	0,33	11,34	0,3
8,1	11,94	0,2	11,6	0,33	11,45	0,17	11,42	0,27
8,4	12	0,2	11,6	0	11,46	0,03	11,45	0,1
8,7	12,01	0,03	11,6	0	11,5	0,13	11,5	0,17
9	11,85	-0,53	11,63	0,1	11,55	0,17	11,54	0,13
9,3	11,93	0,27	11,65	0,07	11,58	0,1	11,54	0
9,6	12	0,23	11,73	0,27	11,6	0,07	11,6	0,2
10	12,1	0,25	11,75	0,05	11,62	0,05	11,58	-0,05
10,3	12,2	0,33	11,75	0	11,65	0,1	11,6	0,07
10,6	12,3	0,33	11,75	0	11,7	0,17	11,65	0,17
10,9	12,35	0,17	11,75	0	11,7	0	11,65	0
11,2	12,35	0	11,85	0,33	11,75	0,17	11,7	0,17
11,5	12,35	0	11,9	0,17	11,85	0,33	11,72	0,07
11,8	12,35	0	11,95	0,17	11,85	0	11,78	0,2
12,1	12,35	0	12	0,17	11,85	0	11,82	0,13

*Tableau 26: Dosage pH-métrique de M<sub>Caq-m</sub> du 1<sup>er</sup> au 4<sup>e</sup> jour en fonction de NaOH (0,02N)*

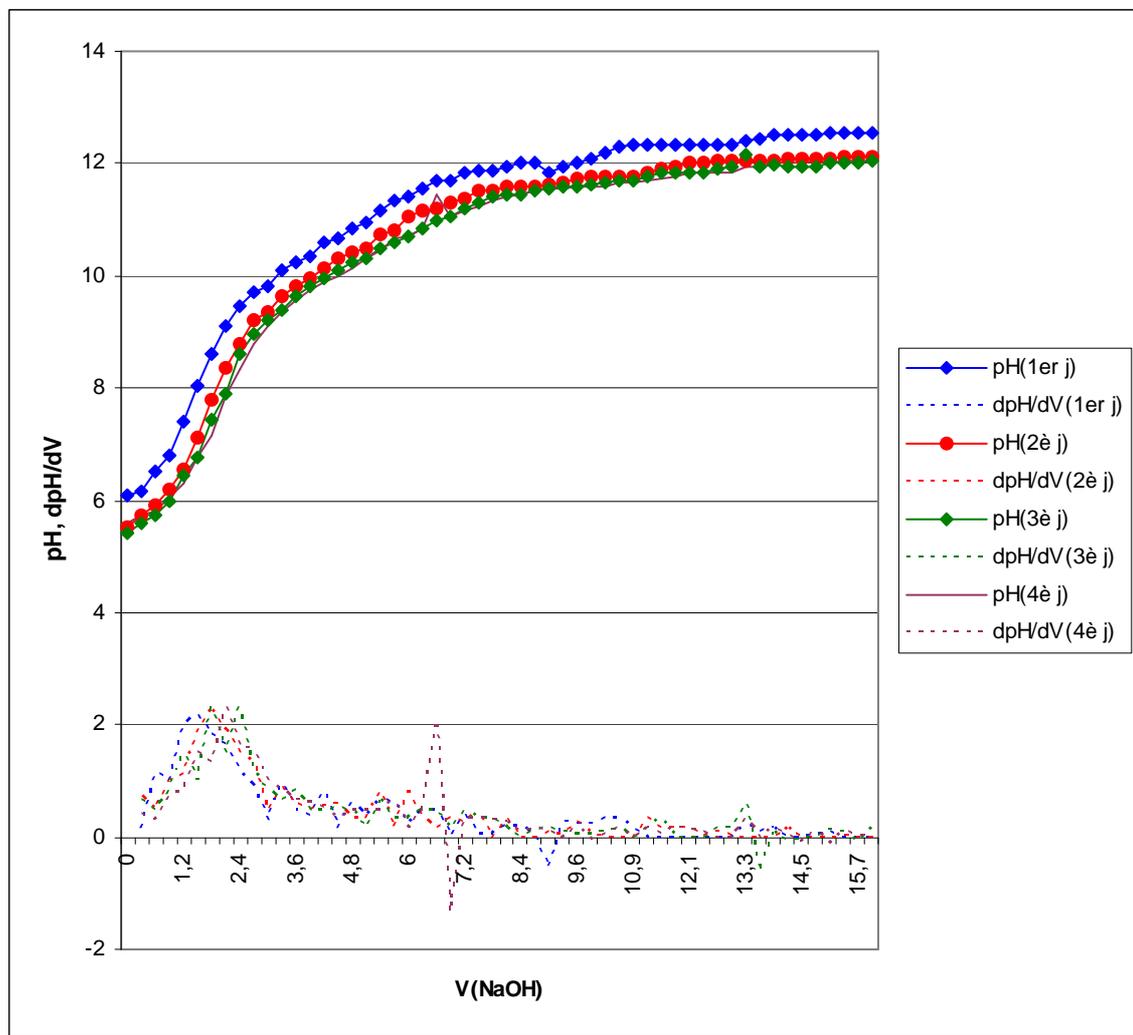
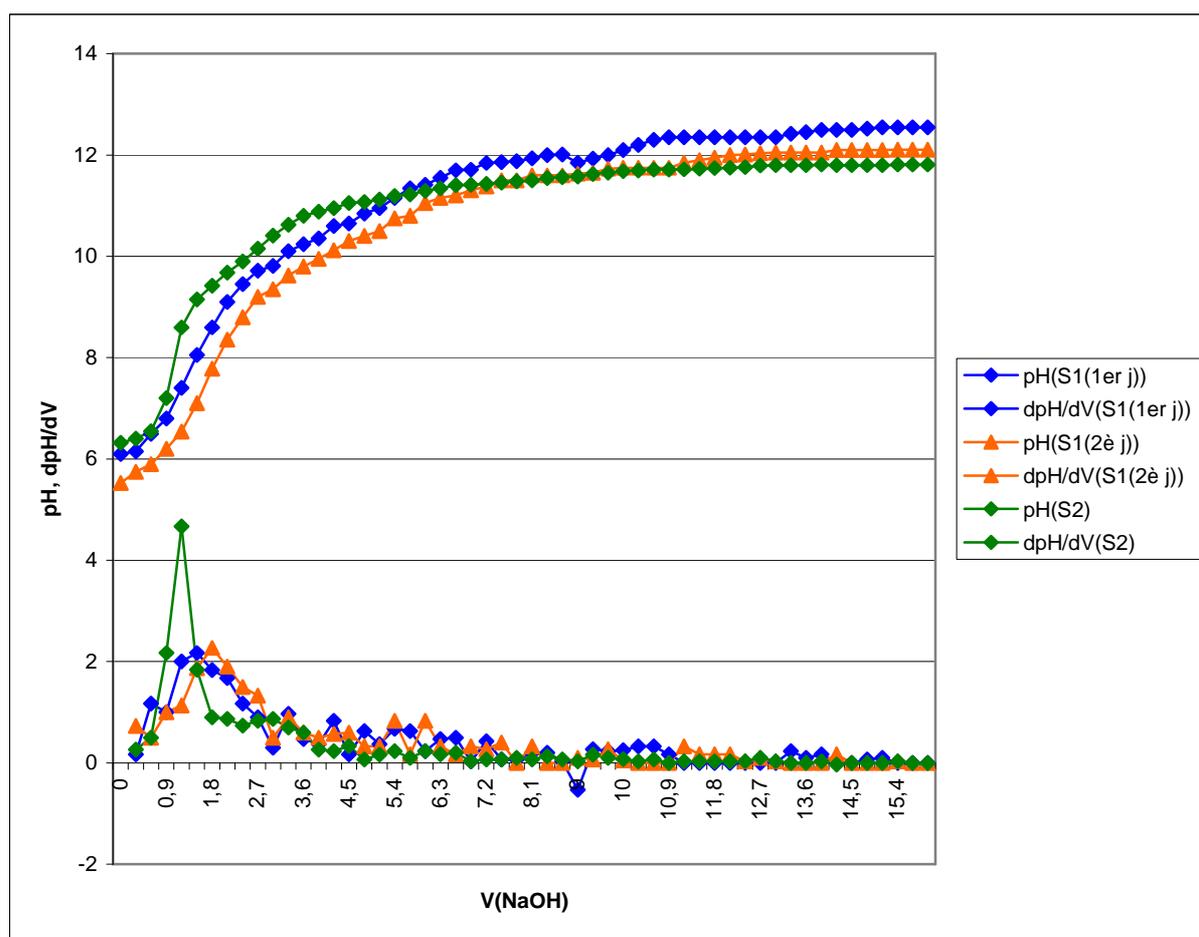


Figure 8 : Courbes de dosages pH-métriques de MCaq-m du 1<sup>er</sup> au 4<sup>e</sup> jour par NaOH (0,02N)

V(NaOH)	pH (S1(1 <sup>er</sup> j))	dpH/dV (S1(1 <sup>er</sup> j))	pH (S1(2 <sup>e</sup> j))	dpH/dV (S1 (2 <sup>e</sup> j))	pH (S2)	dpH/dV (S2)
0	6,1		5,53		6,32	
0,3	6,15	0,17	5,75	0,73	6,4	0,267
0,6	6,5	1,17	5,9	0,5	6,55	0,500
0,9	6,8	1	6,2	1	7,2	2,167
1,2	7,4	2	6,54	1,13	8,6	4,667
1,5	8,05	2,17	7,1	1,87	9,15	1,833
1,8	8,6	1,83	7,78	2,27	9,42	0,900
2,1	9,1	1,67	8,35	1,9	9,68	0,867
2,4	9,45	1,17	8,8	1,5	9,9	0,733
2,7	9,72	0,9	9,2	1,33	10,15	0,833
3	9,81	0,3	9,35	0,5	10,41	0,867
3,3	10,1	0,97	9,62	0,9	10,62	0,700
3,6	10,24	0,47	9,8	0,6	10,8	0,600
3,9	10,35	0,37	9,95	0,5	10,88	0,267
4,2	10,6	0,83	10,12	0,57	10,95	0,233
4,5	10,65	0,17	10,3	0,6	11,05	0,333
4,8	10,84	0,63	10,4	0,33	11,07	0,067
5,1	10,95	0,37	10,5	0,33	11,12	0,167
5,4	11,15	0,67	10,75	0,83	11,19	0,233
5,7	11,34	0,63	10,8	0,17	11,22	0,100
6	11,41	0,23	11,05	0,83	11,29	0,233
6,3	11,55	0,47	11,15	0,33	11,34	0,167
6,6	11,7	0,5	11,2	0,17	11,4	0,200
6,9	11,71	0,03	11,3	0,33	11,41	0,033
7,2	11,84	0,43	11,38	0,27	11,43	0,067
7,5	11,86	0,07	11,5	0,4	11,45	0,067
7,8	11,88	0,07	11,5	0	11,48	0,100
8,1	11,94	0,2	11,6	0,33	11,5	0,067
8,4	12	0,2	11,6	0	11,54	0,133
8,7	12,01	0,03	11,6	0	11,56	0,067
9	11,85	-0,53	11,63	0,1	11,57	0,033
9,3	11,93	0,27	11,65	0,07	11,62	0,167
9,6	12	0,23	11,73	0,27	11,65	0,100
10	12,1	0,25	11,75	0,05	11,68	0,075
10,3	12,2	0,33	11,75	0	11,69	0,033
10,6	12,3	0,33	11,75	0	11,71	0,067
10,9	12,35	0,17	11,75	0	11,71	0,000
11,2	12,35	0	11,85	0,33	11,72	0,033
11,5	12,35	0	11,9	0,17	11,73	0,033
11,8	12,35	0	11,95	0,17	11,74	0,033
12,1	12,35	0	12	0,17	11,75	0,033
12,4	12,35	0	12,01	0,03	11,76	0,033
12,7	12,35	0	12,04	0,1	11,79	0,100
13	12,35	0	12,05	0,03	11,8	0,033

Tableau 27: Dosages pH-métriques de M<sub>Caq</sub>-m (solution 1) du 1<sup>er</sup> et du 2<sup>ème</sup> jour et de M<sub>Caq</sub>-m (solution 2) par de NaOH (0,02N)



*Figure 9 : Courbes de dosages pH-métriques de MCAq-m (solution 1) du 1<sup>er</sup> et du 2<sup>ème</sup> jour et de MCAq-m (solution 2) par de NaOH (0,02N)*

V (NaOH)	R (S1(1er j))	G*10 <sup>4</sup> (S1 (1er j))	R (S1(2è j))	G*10 <sup>4</sup> (S1(2è j))	R (S2)	G*10 <sup>4</sup> (S2)
0	990	10,101	845	11,834	1200	8,333
0,3	1040	9,615	910	10,989	1180	8,475
0,6	1050	9,524	923	10,834	1220	8,197
0,9	1060	9,434	940	10,638	1220	8,197
1,2	1090	9,174	950	10,526	1340	7,463
1,5	1090	9,174	961	10,406	1420	7,042
1,8	1080	9,259	982	10,183	1420	7,042
2,1	1075	9,302	1000	10,000	1420	7,042
2,4	1090	9,174	1000	10,000	1420	7,042
2,7	1090	9,174	1020	9,804	1440	6,944
3	1090	9,174	1040	9,615	1440	6,944
3,3	1100	9,091	1045	9,569	1400	7,143
3,6	1110	9,009	1060	9,434	1380	7,246
3,9	1110	9,009	1070	9,346	1350	7,407
4,2	1120	8,929	1080	9,259	1360	7,353
4,5	1124	8,897	1085	9,217	1320	7,576
4,8	1124	8,897	1095	9,132	1320	7,576
5,1	1122	8,913	1110	9,009	1320	7,576
5,4	1123	8,905	1095	9,132	1260	7,937
5,7	1125	8,889	1110	9,009	1240	8,065
6	1125	8,889	1110	9,009	1220	8,197
6,3	1125	8,889	1110	9,009	1200	8,333
6,6	1125	8,889	1112	8,993	1180	8,475
6,9	1124	8,897	1110	9,009	1170	8,547
7,2	1124	8,897	1110	9,009	1140	8,772
7,5	1124	8,897	1090	9,174	1130	8,850
7,8	1118	8,945	1110	9,009	1120	8,929
8,1	1110	9,009	1090	9,174	1110	9,009
8,4	1095	9,132	1090	9,174	1090	9,174
8,7	1090	9,174	1090	9,174	1080	9,259
9	1078	9,276	1078	9,276	1060	9,434
9,3	1070	9,346	1075	9,302	1070	9,346
9,6	1055	9,479	1070	9,346	1040	9,615
10	1049	9,533	1060	9,434	1050	9,524
10,3	1049	9,533	1055	9,479	1030	9,709
10,6	1035	9,662	1040	9,615	1020	9,804
10,9	1025	9,756	1025	9,756	1040	9,615
11,2	1023	9,775	1020	9,804	1010	9,901
11,5	1005	9,950	1017	9,833	1000	10,000
11,8	1000	10,000	1010	9,901	990	10,101
12,1	990	10,101	1010	9,901	980	10,204
12,4	980	10,204	998	10,020	980	10,204
12,7	975	10,256	995	10,050	970	10,309
13	964	10,373	975	10,256	1000	10,000

Tableau 28 : Dosages conductimétriques de M<sub>Caq</sub>-m (solution 1) du 1<sup>er</sup> et du 2<sup>ème</sup> jour par NaOH (0,02N)

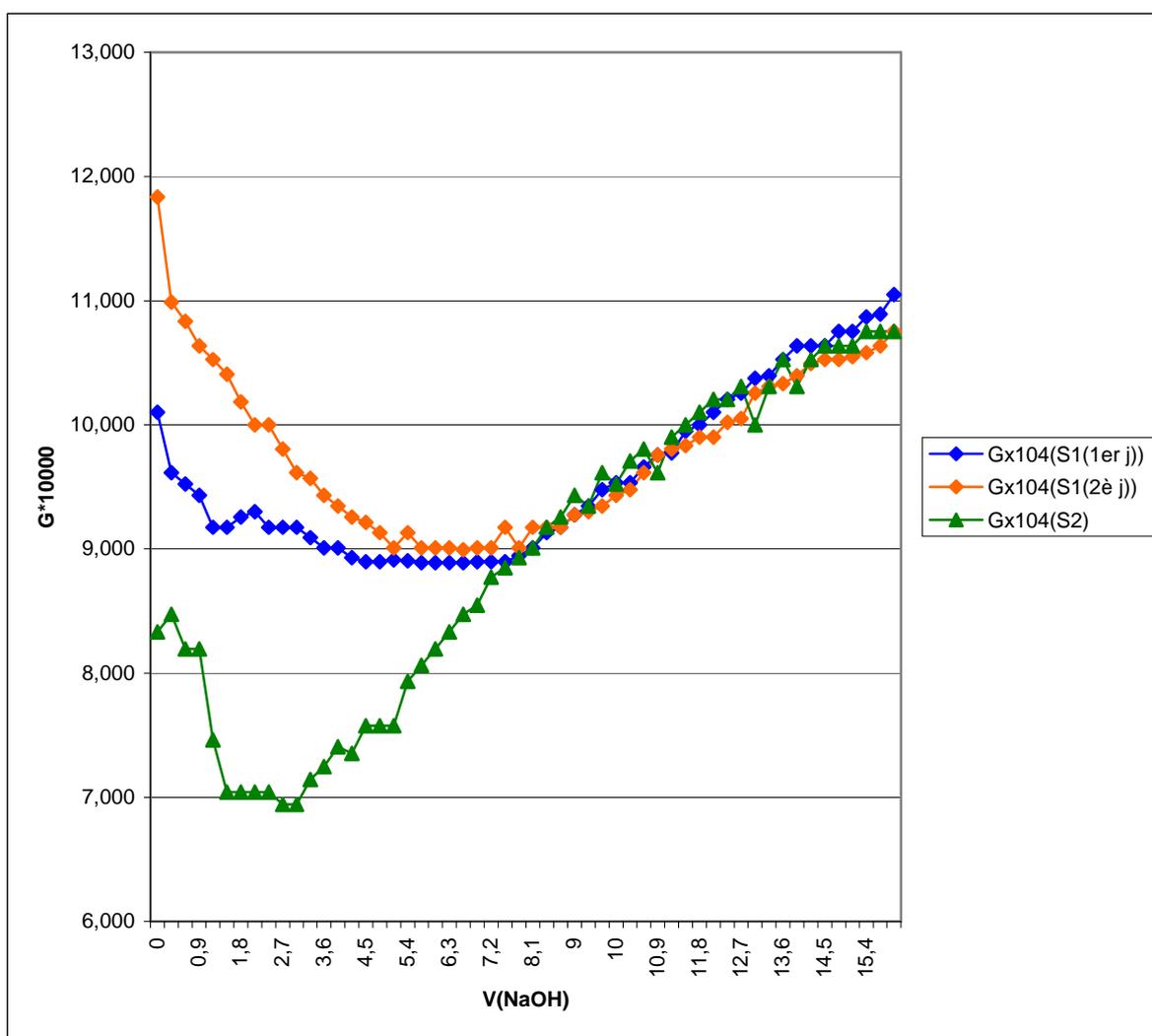


Figure 10 : Courbes de dosages conductimétriques de MCaq-m (solution 1) du 1<sup>er</sup> et du 2<sup>ème</sup> jour et de MCaq-m (solution 2) en fonction de V (NaOH) (0,02N)

V(NaOH)	R(1er j)	G*10 <sup>5</sup> (1er j)	R(2è j)	G*10 <sup>5</sup> (2è j)	R(3è j)	G*10 <sup>5</sup> (3è j)	R(4è j)	G*10 <sup>5</sup> (4è j)
0	990	10,101	845	11,834	870	11,494	980	10,204
0,3	1040	9,615	910	10,989	890	11,236	980	10,204
0,6	1050	9,524	923	10,834	910	10,989	985	10,152
0,9	1060	9,434	940	10,638	925	10,811	990	10,101
1,2	1090	9,174	950	10,526	945	10,582	1005	9,950
1,5	1090	9,174	961	10,406	950	10,526	1015	9,852
1,8	1080	9,259	982	10,183	960	10,417	1025	9,756
2,1	1075	9,302	1000	10,000	970	10,309	1030	9,709
2,4	1090	9,174	1000	10,000	980	10,204	1040	9,615
2,7	1090	9,174	1020	9,804	1010	9,901	1050	9,524
3	1090	9,174	1040	9,615	1010	9,901	1050	9,524
3,3	1100	9,091	1045	9,569	1020	9,804	1065	9,390
3,6	1110	9,009	1060	9,434	1025	9,756	1065	9,390
3,9	1110	9,009	1070	9,346	1030	9,709	1074	9,311
4,2	1120	8,929	1080	9,259	1040	9,615	1075	9,302
4,5	1124	8,897	1085	9,217	1110	9,009	1085	9,217
4,8	1124	8,897	1095	9,132	1160	8,621	1097	9,116
5,1	1122	8,913	1110	9,009	1065	9,390	1110	9,009
5,4	1123	8,905	1095	9,132	1075	9,302	1105	9,050
5,7	1125	8,889	1110	9,009	1075	9,302	1105	9,050
6	1125	8,889	1110	9,009	1078	9,276	1110	9,009
6,3	1125	8,889	1110	9,009	1075	9,302	1114	8,977
6,6	1125	8,889	1112	8,993	1075	9,302	1110	9,009
6,9	1124	8,897	1110	9,009	1075	9,302	1110	9,009
7,2	1124	8,897	1110	9,009	1075	9,302	1110	9,009
7,5	1124	8,897	1090	9,174	1075	9,302	1110	9,009
7,8	1118	8,945	1110	9,009	1070	9,346	1105	9,050
8,1	1110	9,009	1090	9,174	1075	9,302	1105	9,050
8,4	1095	9,132	1090	9,174	1075	9,302	1110	9,009
8,7	1090	9,174	1090	9,174	1060	9,434	1096	9,124
9	1078	9,276	1078	9,276	1055	9,479	1090	9,174
9,3	1070	9,346	1075	9,302	1055	9,479	1090	9,174
9,6	1055	9,479	1070	9,346	1050	9,524	1078	9,276
10	1049	9,533	1060	9,434	1040	9,615	1070	9,346
10,3	1049	9,533	1055	9,479	1035	9,662	1075	9,302
10,6	1035	9,662	1040	9,615	1027	9,737	1065	9,390
10,9	1025	9,756	1025	9,756	1026	9,747	1060	9,434
11,2	1023	9,775	1020	9,804	1020	9,804	1050	9,524
11,5	1005	9,950	1017	9,833	1018	9,823	1050	9,524
11,8	1000	10,000	1010	9,901	1010	9,901	1038	9,634
12,1	990	10,101	1010	9,901	1010	9,901	1028	9,728
12,4	980	10,204	998	10,020	990	10,101	1025	9,756
12,7	975	10,256	995	10,050	980	10,204	1020	9,804
13	964	10,373	975	10,256	970	10,309	1020	9,804

Tableau 29: Dosages conductimétriques de M<sub>Caq</sub>-m (solution 1) du 1<sup>er</sup> au 4<sup>ème</sup> jour par NaOH (0,02N)

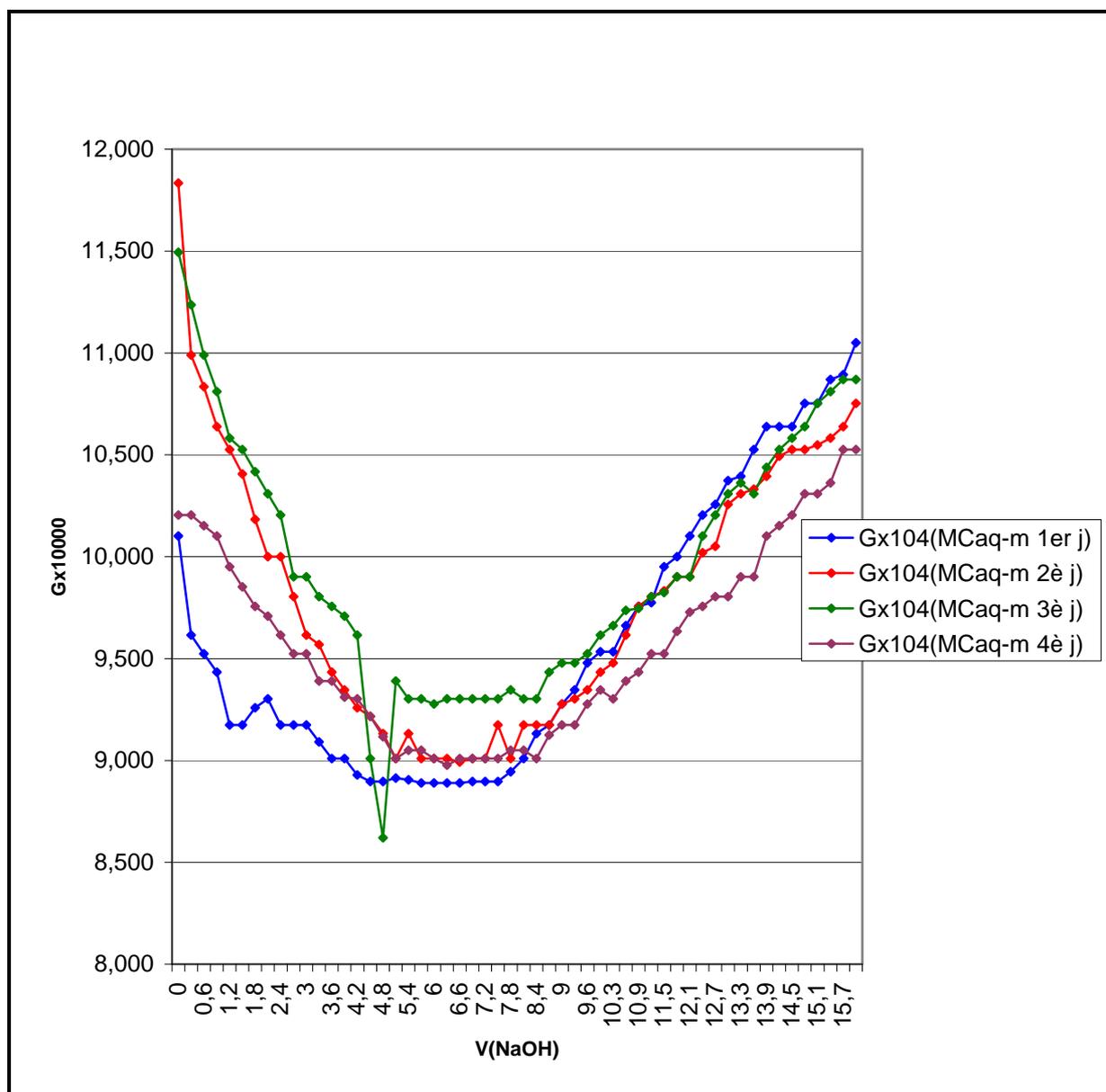


Figure 11 : Courbes de dosages conductimétriques de MCAq-m (solution 1) du 1<sup>er</sup> au 4<sup>ème</sup> jour par NaOH (0,02N).

V(NaOH)	E(en mV) (1 <sup>er</sup> jour)	E (en mV) (2 <sup>e</sup> jour)	E (en mV) (3 <sup>e</sup> jour)	E (en mV) (4 <sup>e</sup> jour)
0	155	78	90	78
0,3	158	68	80	70
0,6	138	60	70	67
0,9	110	45	55	55
1,2	70	25	35	38
1,5	48	-8	13	14
1,8	-99	-44	-25	-15
2,1	-125	-74	-55	-50
2,4	-142	-105	-93	-81
2,7	-155	-125	-115	-105
3	-168	-145	-130	-124
3,3	-180	-152	-140	-140
3,6	-190	-162	-152	-150
3,9	-195	-170	-161	-160
4,2	-202	-180	-170	-167
4,5	-210	-190	-180	-175
4,8	-220	-195	-185	-183
5,1	-231	-213	-190	-191
5,4	-240	-215	-200	-200
5,7	-252	-230	-208	-206
6	-257	-235	-215	-215
6,3	-263	-249	-245	-224
6,6	-270	-241	-230	-255
6,9	-275	-248	-238	-232
7,2	-278	-252	-240	-242
7,5	-281	-258	-240	-245
7,8	-282	-258	-262	-250
8,1	-283	-261	-255	-255
8,4	-290	-263	-255	-255
8,7	-291	-265	-260	-260
9	-280	-266	-262	-262
9,3	-285	-269	-263	-262
9,6	-290	-272	-263	-265
10	-295	-275	-265	-265
10,3	-300	-274	-270	-265
10,6	-302	-275	-275	-270
10,9	-304	-275	-272	-272
11,2	-303	-280	-272	-272
11,5	-303	-282	-278	-273
11,8	-305	-285	-279	-275
12,1	-306	-288	-280	-276
12,4	-306	-289	-282	-280
12,7	-307	-290	-283	-282
13	-308	-291	-285	-282

Tableau 30: Dosages potentiométriques de M<sub>Caq</sub>-m du 1<sup>er</sup> au 4<sup>e</sup> jour par NaOH (0,02N)

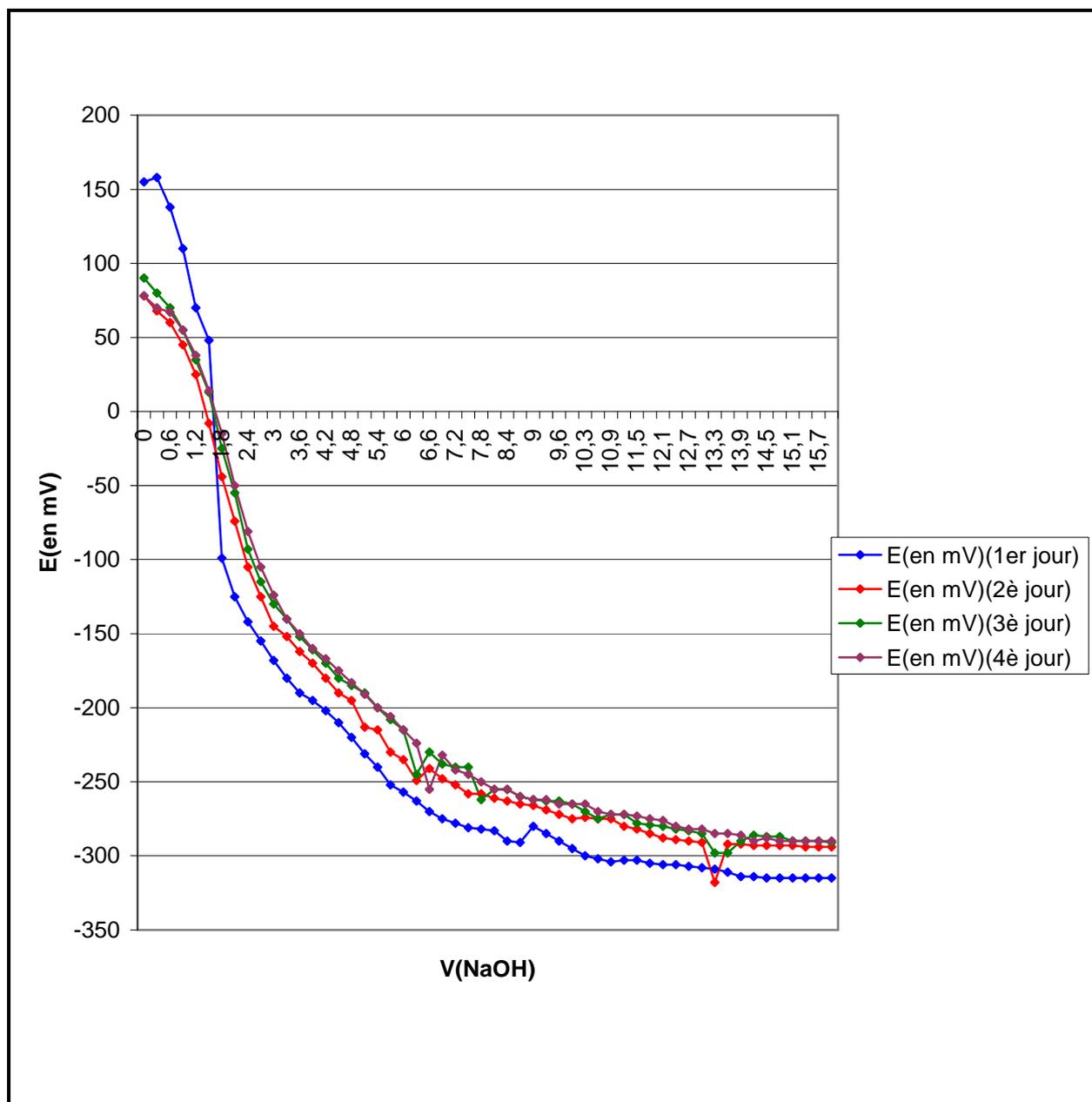
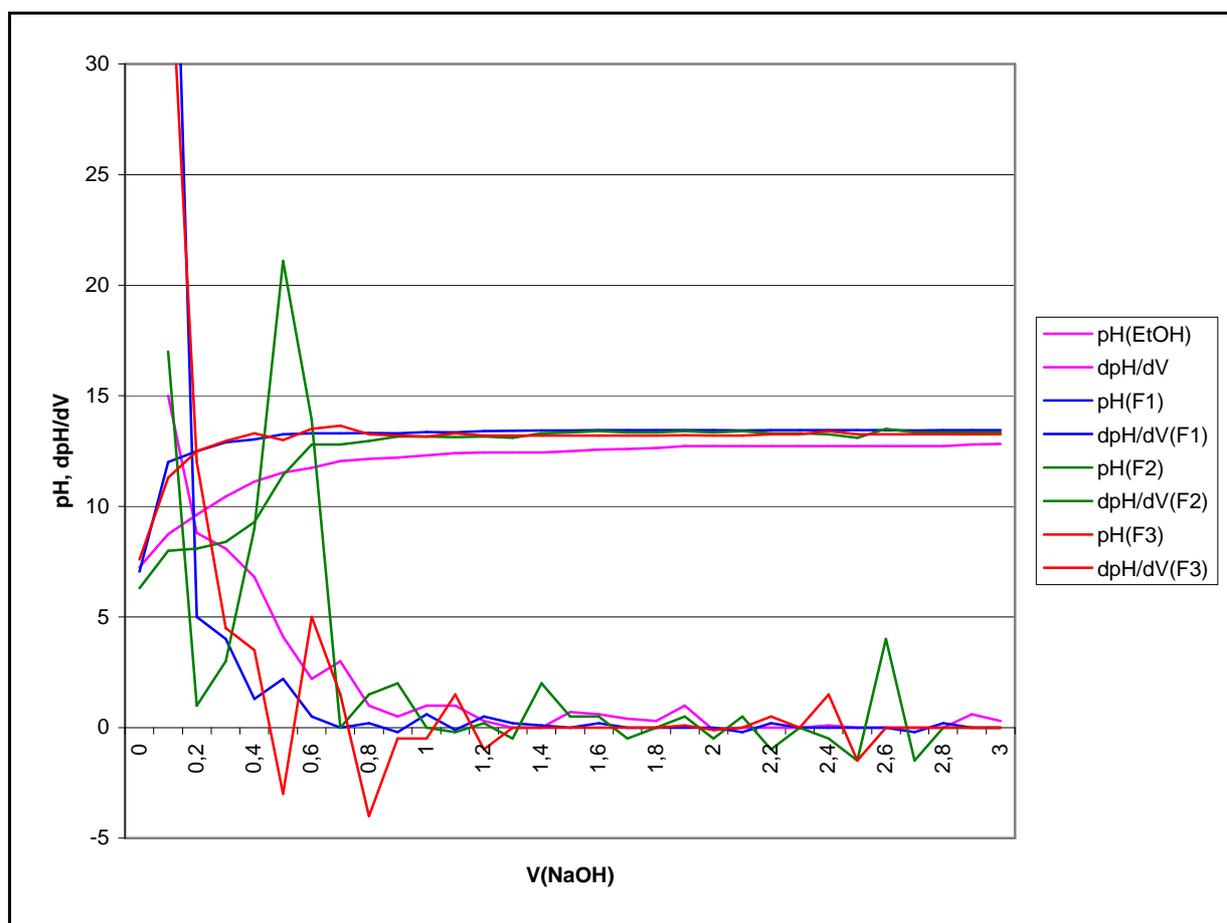


Figure 12 : Courbes de dosages potentiométriques de MCaq-m du 1<sup>er</sup> au 4<sup>e</sup> jour par NaOH (0,02N)

V(NaOH)	pH (EtOH)	dpH/dV	pH (F1)	dpH/dV(F1)	pH (F2)	dpH/dV(F2)	pH (F3)	dpH/dV(F3)
0	7,25		7,05		6,3		7,6	
0,1	8,75	15	12	49,5	8	17	11,3	37
0,2	9,63	8,8	12,5	5	8,1	1	12,5	12
0,3	10,44	8,1	12,9	4	8,4	3	12,95	4,5
0,4	11,12	6,8	13,03	1,3	9,3	9	13,3	3,5
0,5	11,53	4,1	13,25	2,2	11,41	21,1	13	-3
0,6	11,75	2,2	13,3	0,5	12,8	13,9	13,5	5
0,7	12,05	3	13,3	0	12,8	0	13,65	1,5
0,8	12,15	1	13,32	0,2	12,95	1,5	13,25	-4
0,9	12,2	0,5	13,3	-0,2	13,15	2	13,2	-0,5
1	12,3	1	13,36	0,6	13,15	0	13,15	-0,5
1,1	12,4	1	13,35	-0,1	13,13	-0,2	13,3	1,5
1,2	12,43	0,3	13,4	0,5	13,15	0,2	13,2	-1
1,3	12,43	0	13,42	0,2	13,1	-0,5	13,2	0
1,4	12,43	0	13,43	0,1	13,3	2	13,2	0
1,5	12,5	0,7	13,43	0	13,35	0,5	13,2	0
1,6	12,56	0,6	13,45	0,2	13,4	0,5	13,2	0
1,7	12,6	0,4	13,45	0	13,35	-0,5	13,2	0
1,8	12,63	0,3	13,45	0	13,35	0	13,2	0
1,9	12,73	1	13,45	0	13,4	0,5	13,21	0,1
2	12,72	-0,1	13,45	0	13,35	-0,5	13,2	-0,1
2,1	12,72	0	13,43	-0,2	13,4	0,5	13,2	0
2,2	12,72	0	13,45	0,2	13,3	-1	13,25	0,5
2,3	12,72	0	13,45	0	13,3	0	13,25	0
2,4	12,73	0,1	13,45	0	13,25	-0,5	13,4	1,5
2,5	12,73	0	13,45	0	13,1	-1,5	13,25	-1,5
2,6	12,73	0	13,45	0	13,5	4	13,25	0
2,7	12,73	0	13,43	-0,2	13,35	-1,5	13,25	0
2,8	12,73	0	13,45	0,2	13,35	0	13,25	0
2,9	12,79	0,6	13,45	0	13,35	0	13,25	0
3	12,82	0,3	13,45	0	13,35	0	13,25	0

*Tableau 31 : Dosages pH-métriques des fractions F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> et F<sub>3</sub> par NaOH (0,01 N) éthanolique*



*Figure 13* : Courbes de dosages pH-métriques des fractions  $F_1$ ,  $F_2$  et  $F_3$  par NaOH (0,01 N) éthanolique

V(NaOH)	R(F <sub>1</sub> )	G*10 <sup>5</sup> (F <sub>1</sub> )	R(F <sub>2</sub> )	G*10 <sup>5</sup> (F <sub>2</sub> )	R(F <sub>3</sub> )	G*10 <sup>5</sup> (F <sub>3</sub> )
0						
0,1			52000	0,192	59000	0,169
0,2			31000	0,323		
0,3	94000	0,106	22100	0,452	37500	0,267
0,4	66500	0,150	15000	0,667	12100	0,826
0,5	46000	0,217	11500	0,870	26400	0,379
0,6	39000	0,256	9500	1,053	7550	1,325
0,7	32500	0,308	7200	1,389	6650	1,504
0,8	28500	0,351	6600	1,515	6800	1,471
0,9	25100	0,398	6000	1,667	6300	1,587
1	21700	0,461	5300	1,887	6250	1,600
1,1	21100	0,474	10500	0,952	5640	1,773
1,2	20700	0,483	6200	1,613	5450	1,835
1,3	18600	0,538	7500	1,333	4950	2,020
1,4	18900	0,529	5100	1,961	4740	2,110
1,5	18000	0,556	5750	1,739	4610	2,169
1,6	17100	0,585	4850	2,062	4420	2,262
1,7	16500	0,606	4860	2,058	4250	2,353
1,8	16000	0,625	4600	2,174	4210	2,375
1,9	16000	0,625	4580	2,183	4070	2,457
2	15800	0,633	4520	2,212	3850	2,597
2,1	15500	0,645	4480	2,232	3700	2,703
2,2	15000	0,667	5050	1,980	3570	2,801
2,3	12000	0,833	4840	2,066	3510	2,849
2,4	12000	0,833	4760	2,101	3380	2,959
2,5	11800	0,847	4400	2,273	3950	2,532
2,6	11500	0,870	3700	2,703	3210	3,115
2,7	11100	0,901	4100	2,439	3150	3,175
2,8	10900	0,917	4150	2,410	3080	3,247
2,9	10400	0,962	4050	2,469	3040	3,289
3	10000	1,000	4030	2,481	2950	3,390
3,1			3950	2,532		
3,2			3900	2,564		
3,3			3870	2,584		

*Tableau 32 : Dosages conductimétriques des fractions F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> et F<sub>3</sub> par NaOH (0,01N) éthanolique*

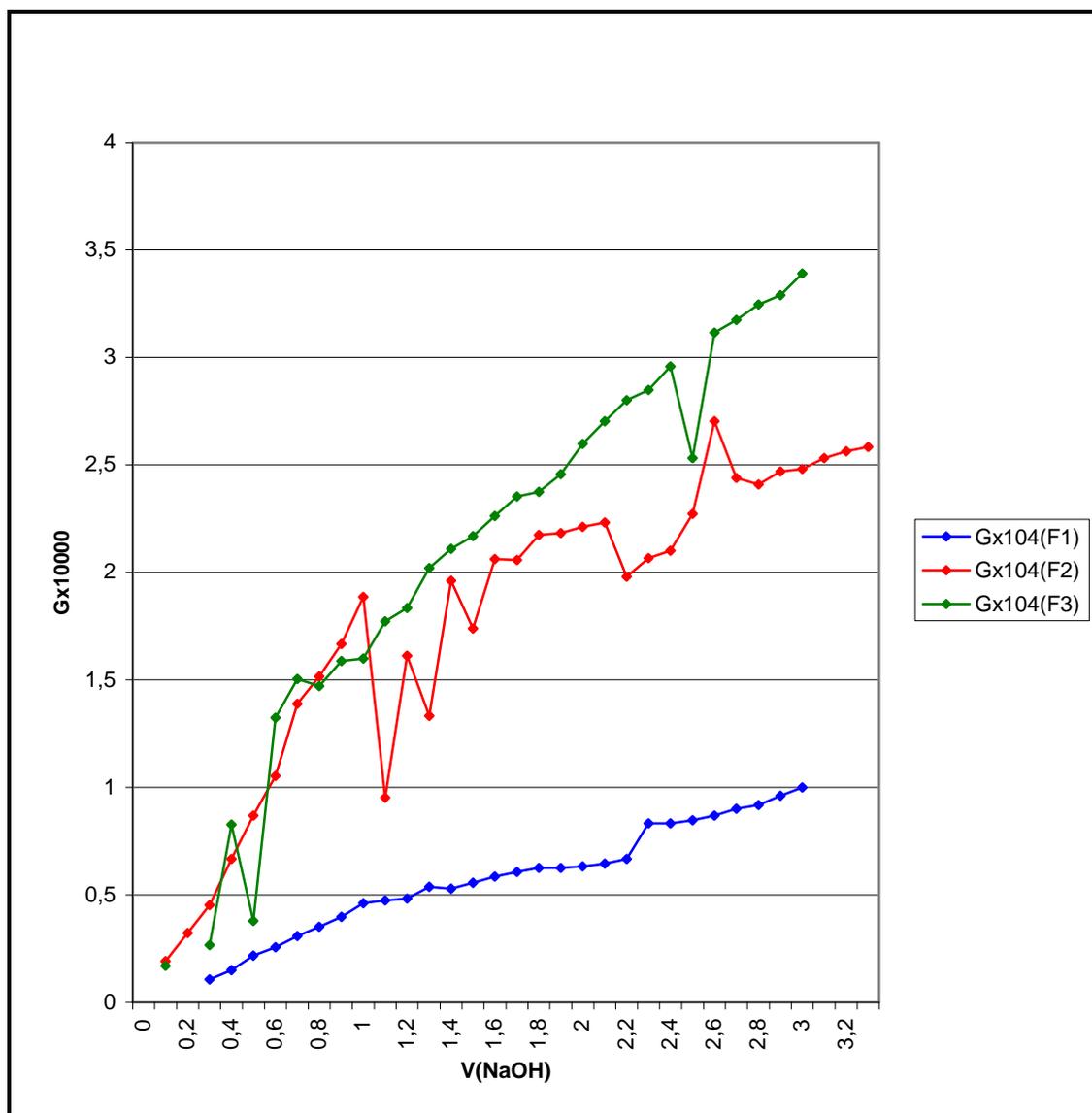
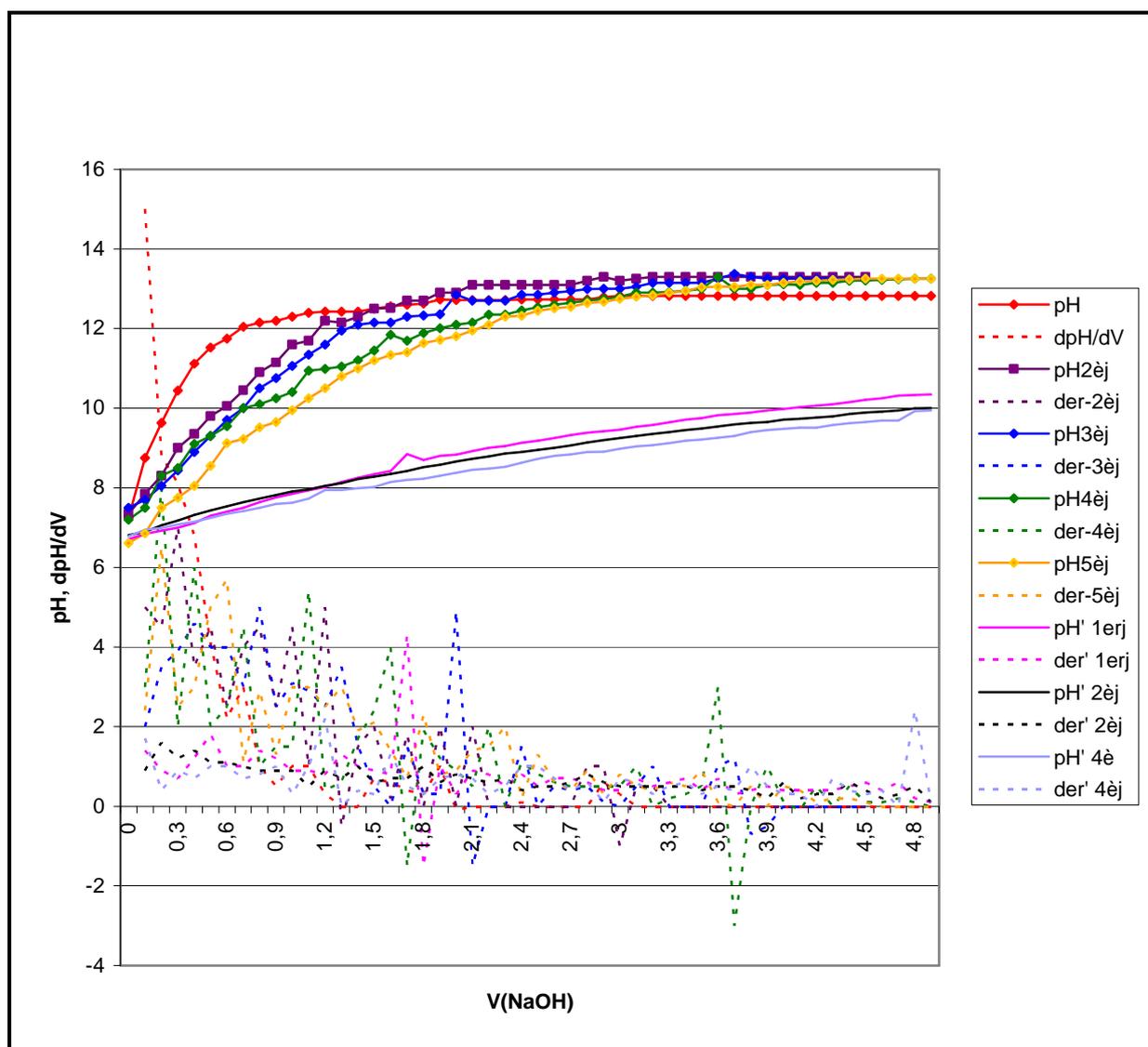


Figure 14 : Courbes de dosages conductimétriques des fractions F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> et F<sub>3</sub> par NaOH (0,01N) éthanolique

V	pH	dpH/dV	pH2 <sup>éj</sup>	der-2 <sup>éj</sup>	pH3 <sup>éj</sup>	der-3 <sup>éj</sup>	pH4 <sup>éj</sup>	der-4 <sup>éj</sup>	pH5 <sup>éj</sup>	der-5 <sup>éj</sup>	pH'1 <sup>erj</sup>	der'1 <sup>erj</sup>	pH'2 <sup>éj</sup>	der'2 <sup>éj</sup>	pH'4 <sup>é</sup>	der'4 <sup>éj</sup>
0	7,25		7,35		7,5		7,2		6,61		6,7		6,8		6,8	
0,1	8,75	15	7,85	5	7,7	2	7,5	3	6,85	2,4	6,84	1,4	6,9	0,9	7	1,7
0,2	9,63	8,8	8,3	4,5	8,1	3,5	8,3	8	7,5	6,5	6,93	0,9	7,1	1,6	7	0,4
0,3	10,4	8,1	9	7	8,4	3,9	8,5	2	7,75	2,5	7	0,7	7,2	1,2	7,1	0,9
0,4	11,1	6,8	9,35	3,5	8,9	4,6	9,1	6	8,05	3	7,12	1,2	7,3	1,4	7,2	0,7
0,5	11,5	4,1	9,8	4,5	9,3	4	9,3	2	8,55	5	7,3	1,8	7,4	1,1	7,3	1
0,6	11,8	2,2	10,1	2,5	9,7	4	9,55	2,5	9,12	5,7	7,4	1	7,5	1,1	7,4	1
0,7	12,1	3	10,5	4	10	3	10	4,5	9,23	1,1	7,5	1	7,6	1	7,4	0,7
0,8	12,2	1	10,9	4,5	11	5	10,1	1	9,52	2,9	7,64	1,4	7,7	0,9	7,5	0,8
0,9	12,2	0,5	11,2	2,5	11	2,5	10,3	1,5	9,65	1,3	7,76	1,2	7,8	0,9	7,6	1
1	12,3	1	11,6	4,5	11	3,1	10,4	1,5	9,95	3	7,85	0,9	7,9	0,9	7,6	0,3
1,1	12,4	1	11,7	1	11	2,9	10,9	5,4	10,3	3	7,94	0,9	8	0,5	7,7	1
1,2	12,4	0,3	12,2	5	12	2,5	11	0,4	10,5	2,5	8,02	0,8	8,1	0,9	8	2,2
1,3	12,4	0	12,2	-0	12	3,5	11	0,6	10,8	3	8,15	1,3	8,1	0,7	8	0
1,4	12,4	0	12,3	1,5	12	1,5	11,2	1,7	11	1,9	8,25	1	8,2	1	8	0,4
1,5	12,5	0,7	12,5	2	12	0,5	11,5	2,4	11,2	2,1	8,34	0,9	8,3	0,6	8	0,3
1,6	12,6	0,6	12,5	0,2	12	0	11,9	4	11,3	1,4	8,42	0,8	8,4	0,7	8,2	1,3
1,7	12,6	0,4	12,7	1,8	12	1,5	11,7	-1,5	11,4	0,7	8,85	4,3	8,4	0,7	8,2	0,5
1,8	12,6	0,3	12,7	0	12	0,3	11,9	1,9	11,6	2,3	8,7	-1,5	8,5	1	8,2	0,3
1,9	12,7	1	12,9	2	12	0,3	12	1,2	11,7	0,8	8,8	1	8,6	0,6	8,3	0,7
2	12,7	-0,1	12,9	0	13	4,9	12,1	0,9	11,8	0,9	8,83	0,3	8,7	0,8	8,4	0,8
2,1	12,7	0	13,1	2	13	-1,5	12,2	0,5	12	1,4	8,92	0,9	8,7	0,7	8,5	0,7
2,2	12,7	0	13,1	0	13	0	12,4	2	12,1	1,5	9	0,8	8,8	0,6	8,5	0,3
2,3	12,7	0	13,1	0	13	0	12,4	0	12,3	2	9,05	0,5	8,9	0,7	8,5	0,5
2,4	12,7	0,1	13,1	0	13	1,5	12,5	1,1	12,3	0,2	9,13	0,8	8,9	0,4	8,6	1
2,5	12,7	0	13,1	0	13	0	12,5	0,8	12,5	1,3	9,18	0,5	9	0,5	8,7	1
2,6	12,7	0	13,1	0	13	0,5	12,6	0,6	12,5	0,6	9,25	0,7	9	0,5	8,8	0,7
2,7	12,7	0	13,1	0	13	0,4	12,7	0,5	12,6	0,4	9,32	0,7	9,1	0,6	8,8	0,4
2,8	12,7	0	13,2	1	13	0,5	12,7	0,5	12,6	0,9	9,38	0,6	9,1	0,8	8,9	0,6
2,9	12,8	0,6	13,3	1	13	0,1	12,8	0,5	12,7	0,3	9,42	0,4	9,2	0,6	8,9	0,1
3	12,8	0,3	13,2	-1	13	0	12,8	0,5	12,8	0,8	9,46	0,4	9,3	0,5	9	0,7
3,1	12,8	0	13,3	0,5	13	0,5	12,9	1	12,8	0,5	9,53	0,7	9,3	0,5	9	0,6
3,2	12,8	0	13,3	0,5	13	1	12,9	0	12,8	0,4	9,58	0,5	9,4	0,5	9,1	0,3
3,3	12,8	0	13,3	0	13	0	12,9	0,2	12,9	0,6	9,64	0,6	9,4	0,5	9,1	0,5
3,4	12,8	0	13,3	0	13	0	13	0,3	13	0,5	9,71	0,7	9,5	0,5	9,2	0,6
3,5	12,8	0	13,3	0	13	0	13	0,5	13	0,9	9,75	0,4	9,5	0,4	9,2	0,3
3,6	12,8	0	13,3	0	13	1	13,3	3	13,1	0,1	9,82	0,7	9,5	0,5	9,3	0,5
3,7	12,8	0	13,3	0	13	1,2	13	-3	13,1	0	9,85	0,3	9,6	0,5	9,3	0,4
3,8	12,8	0	13,3	0	13	-0,7	13	0	13,1	0,5	9,89	0,4	9,6	0,4	9,4	1
3,9	12,8	0	13,3	0	13	-0,5	13,1	1	13,1	0	9,94	0,5	9,7	0,2	9,5	0,5
4	12,8	0	13,3	0	13	0	13,1	0,1	13,2	0,5	9,98	0,4	9,7	0,6	9,5	0,3
4,1	12,8	0	13,3	0	13	0	13,1	-0,1	13,2	0,4	10	0,4	9,7	0,2	9,5	0,3
4,2	12,8	0	13,3	0	13	0	13,2	0,5	13,2	0,1	10,1	0,4	9,8	0,3	9,5	0
4,3	12,8	0	13,3	0	13	0	13,2	0	13,2	0,2	10,1	0,4	9,8	0,3	9,6	0,7
4,4	12,8	0	13,3	0	13	0	13,2	0,5	13,2	0,2	10,2	0,5	9,9	0,6	9,6	0,4

Tableau 33: Dosages pH-métriques de l'éthanol, de MCet du 2<sup>e</sup> au 5<sup>e</sup> jour et de MCet' du 1<sup>er</sup>, du 2<sup>e</sup> et du 4<sup>e</sup> jour par NaOH (0,01N) éthanolique



*Figure 15* : Courbes de dosages pH-métriques de l'éthanol, de MCet du 2<sup>e</sup> au 5<sup>e</sup> jour, de MCet' du 1<sup>er</sup>, du 2<sup>e</sup> et du 4<sup>e</sup> jour par NaOH (0,01N) éthanolique

V (NaOH)	pH (G <sub>1</sub> )	dpH/dV(G <sub>1</sub> )	pH (G <sub>2</sub> )	dpH/dV(G <sub>2</sub> )	pH (G <sub>3</sub> )	dpH/dV(G <sub>3</sub> )	pH (G <sub>4</sub> )	dpH/dV(G <sub>4</sub> )
0	6,8		6		6,2		7,3	
0,1	8,4	16	6,35	3,5	6	-2	9,1	18
0,2	9,1	7	6,75	4	6,95	9,5	10,9	18
0,3	9,85	7,5	7,05	3	8	10,5	11,7	8
0,4	10	1,5	7,2	1,5	8,6	6	12	3
0,5	10,8	8	7,4	2	9,05	4,5	12,3	3
0,6	11,5	7	7,51	1,1	9,3	2,5	12,7	4
0,7	11,75	2,5	7,6	0,9	9,65	3,5	12,6	-1
0,8	11,85	1	7,8	2	9,85	2	12,6	0
0,9	12,2	3,5	8	2	10,3	4,5	12,6	0
1	12,38	1,8	8,1	1	10,6	3		
1,1	12,4	0,2	8,3	2	10,9	3		
1,2	12,57	1,7	8,12	-1,8	11,15	2,5		
1,3	12,7	1,3	8,25	1,3	11,5	3,5		
1,4	12,8	1	8,2	-0,5				
1,5	12,8	0	8,25	0,5				
1,6	12,9	1	8,4	1,5				
1,7	12,92	0,2	8,5	1				
1,8	12,92	0	8,63	1,3				
1,9	13	0,8	8,8	1,7				
2	13,05	0,5	9,4	6				
2,1	13,1	0,5	8,9	-5				
2,2	13,05	-0,5	8,91	0,1				
2,3	13	-0,5	9,89	9,8				
2,4	13,15	1,5	8,96	-9,3				
2,5	13,25	1	9,05	0,9				
2,6			9,1	0,5				
2,7			9,15	0,5				
2,8			9,21	0,6				
2,9			9,27	0,6				
3			9,35	0,8				
3,1			9,5	1,5				
3,2			9,55	0,5				
3,3			9,8	2,5				
3,4			9,65	-1,5				
3,5			9,78	1,3				
3,6			9,79	0,1				
3,7			9,83	0,4				
3,8			9,91	0,8				
3,9			9,94	0,3				
4			10,05	1,1				

*Tableau 34: Dosage pH-métrique des fractions G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub> et G<sub>4</sub> par NaOH (0,01N) éthanolique*

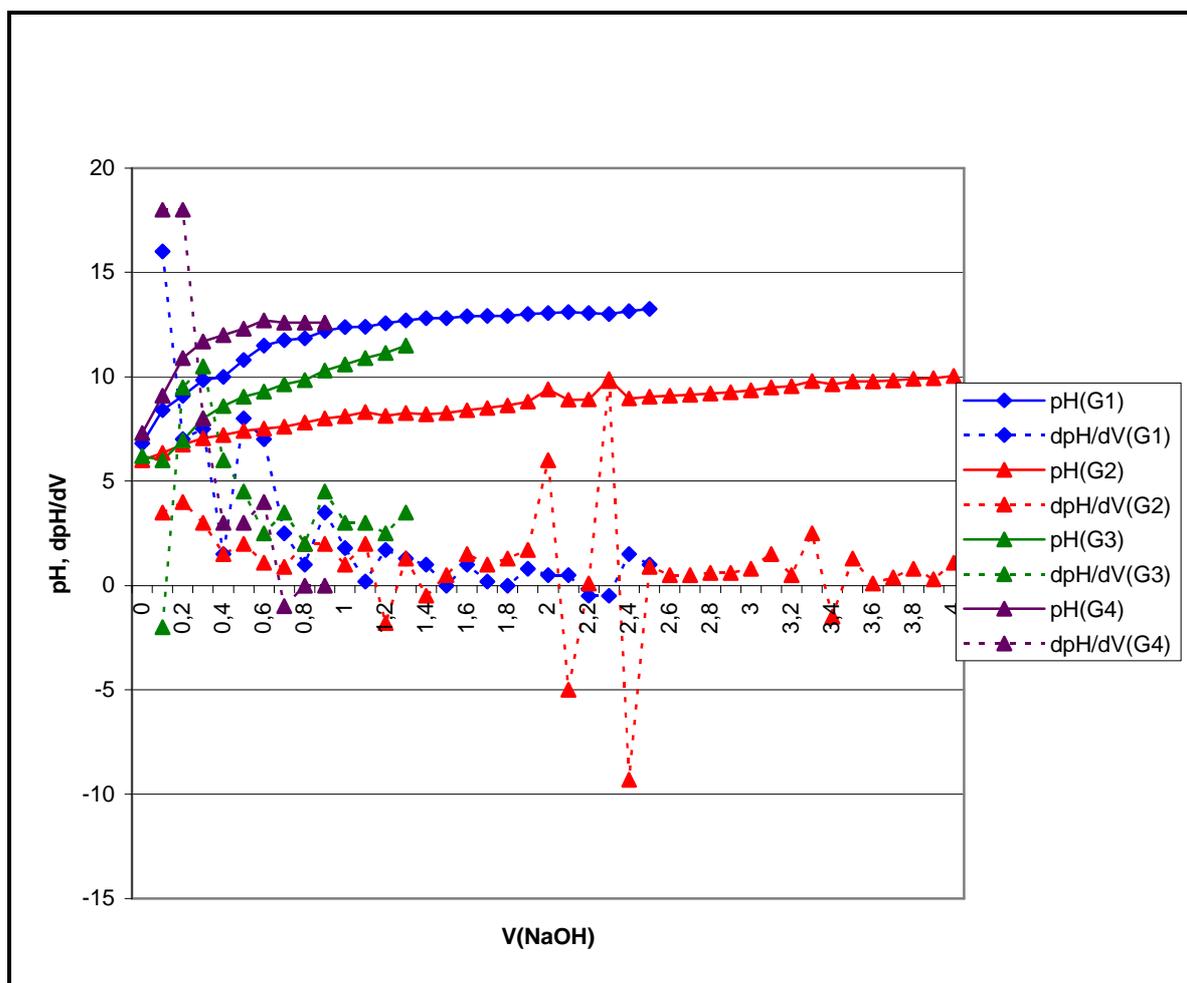


Figure 16 : Courbes des dosages pH-métrique des éluats  $G_1$ ,  $G_2$ ,  $G_3$  et  $G_4$  par NaOH (0,01N) éthanolique

V (NaOH)	R (G <sub>1</sub> )	Gx10 <sup>5</sup> (G <sub>1</sub> )	R (G <sub>2</sub> )	Gx10 <sup>5</sup> (G <sub>2</sub> )	R (G <sub>3</sub> )	Gx10 <sup>5</sup> (G <sub>3</sub> )	R (G <sub>4</sub> )	Gx10 <sup>5</sup> (G <sub>4</sub> )
0			640000	0,156				
0,1	534000	0,187	320000	0,313			500000	0,200
0,2	355000	0,282	140000	0,714	147500	0,6780	240000	0,417
0,3	340000	0,294	180000	0,556	80000	1,2500	165000	0,606
0,4	245000	0,408	115000	0,870	55000	1,8182	130000	0,769
0,5	209000	0,478	94000	1,064	50500	1,9802	41000	2,439
0,6	52000	1,923	28700	3,484	43500	2,2989	31000	3,226
0,7	39000	2,564	27000	3,704	35000	2,8571	27000	3,704
0,8	37500	2,667	24000	4,167	30000	3,3333	21000	4,762
0,9	30500	3,279	23200	4,310	26000	3,8462	19000	5,263
1	28000	3,571	20800	4,808	34500	2,8986		
1,1	30500	3,279	18500	5,405	31500	3,1746		
1,2	21200	4,717	18200	5,495	46000	2,1739		
1,3	20000	5,000	17000	5,882	20000	5,0000		
1,4	16500	6,061	16400	6,098				
1,5	16300	6,135	16300	6,135				
1,6	15200	6,579	14500	6,897				
1,7	14500	6,897	35000	2,857				
1,8	14200	7,042	36500	2,740				
1,9	13500	7,407	12300	8,130				
2	13000	7,692	12120	8,251				
2,1	12300	8,130	11650	8,584				
2,2	13500	7,407	17000	5,882				
2,3	18000	5,556	19750	5,063				
2,4	11100	9,009	17500	5,714				
2,5	10600	9,434	19500	5,128				
2,6			37200	2,688				
2,7			40000	2,500				
2,8			36000	2,778				
2,9			37500	2,667				
3			30900	3,236				
3,1			38000	2,632				
3,2			29300	3,413				
3,3			29500	3,390				
3,4			29000	3,448				
3,5			27200	3,676				
3,6			32600	3,067				
3,7			32400	3,086				
3,8			32000	3,125				
3,9			31600	3,165				
4			32600	3,067				

Tableau 35: Dosages conductimétriques des fractions G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub> et G<sub>4</sub> NaOH (0,01N) éthanolique

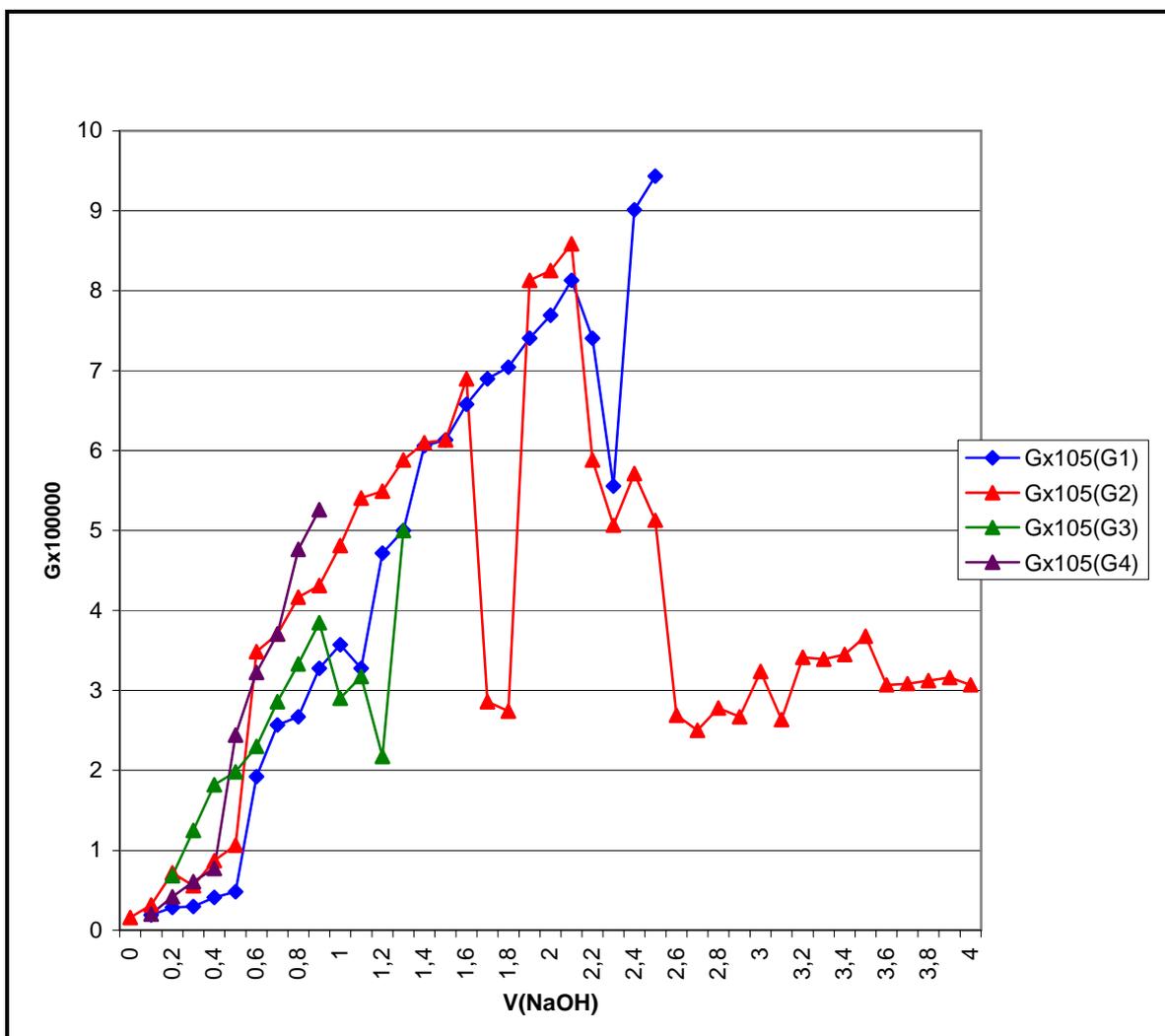


Figure 17 : Courbe de dosages conductimétriques des fractions  $G_1$ ,  $G_2$ ,  $G_3$  et  $G_4$   $NaOH$  (0,01N) éthanolique



Nom : RASOLOFONIRINA  
Prénom : Haritiana  
Adresse : Lot IV Y 347 J Anosipatrana Antananarivo 101  
E-mail : [ras.haritiana@gmail.com](mailto:ras.haritiana@gmail.com)  
Titre : Contribution à l'étude physico-chimique d'une plante du genre *Mundulea*  
(Leguminosae)

## **RESUME**

L'objectif de ce travail est double : d'une part, l'inventaire des constituants chimiques de la plante MC, d'autre part l'étude physico-chimique des extraits aqueux.

La détermination des constituants organiques de la plante comprend des extractions à partir de la plante brute, des tests phytochimiques des différents échantillons et des séparations chromatographiques des extraits hexaniques et chloroformiques.

L'analyse des constituants minéraux de la plante et de ses solutions aqueuses nous a permis de déterminer le taux de phosphore par spectrophotométrie, d'estimer les taux de certains éléments minéraux (cations) par spectrométrie d'absorption atomique, d'évaluer la quantité d'azote en utilisant la méthode de Kjeldahl.

L'étude physico-chimique des extraits aqueux : macérat et/ou décocté vise à étudier la cinétique de leur dégradation ainsi que l'influence du stockage sur les caractères acido-basiques de la plante brute et du macérat.

**Mots clés** : ichthyotoxique, insecticide, macération, absorption, étude physico-chimique

## **ABSTRACT**

This work has twofold objective: in one hand, the inventory of chemical constituents within the plant MC, and in the other hand, the physico-chemical study of aqueous extracts.

The determination of organic constituents of the plant was carried out using crude plant extraction, phytochemical testing of different samples and chromatographic separation of hexane and chloroform extracts.

The analysis of inorganic constituents of the plant and its aqueous solutions allowed us to determine the phosphorus content by spectrophotometry, to give an estimate of the ratio of some inorganic elements (cations) by atomic absorption spectrometry, and to assess the nitrogen ratio using the Kjeldahl method.

The aim of the physico-chemical study of the macerated-plant aqueous extracts and/or decocted-plant extracts: are the kinetic of their degradation and the storage influence the acido-basic character of the crude plant and the macerate.

**Keywords**: ichthyotoxic, insecticid, maceration, absorption, physico-chemical study

**Rapporteur** : Madame RANDRIAMBOLA Lygie, Professeur titulaire