

COMPOSITION POLYPHENOLIQUES ET ACTIVITES ANTIOXYDANTES D'EXTRAITS AQUEUX D'HIBISCUS SABDARIFFA, CARAPA PROCERA, ET DELONIX REGIA, OBTENUS PAR PROCÉDES MEMBRANAIRES A L'ECHELLE PILOTE.

Mots clés : Anthocyanes - membranes - antioxydants - colorants - extraction - concentration
 Doctorant : Félix ADJE, enseignant-chercheur, INP-HB, Yamoussoukro, RCI
 Directeur de Thèse : Yves LOZANO, Dr., HDR
 CIRAD, UMR CIRAD-16 - GPEB
 Génie des Procédés et Elaboration des Bioproduits
 TA B-64 / 16 - 73, rue Jean-François BRETON
 34398 MONTPELLIER Cedex 5 FRANCE
 Tél. : +(33) 4 67 61 44 47
 Fax : +(33) 4 67 61 65 37
 E-mail: yves.lozano@cirad.fr
 http://www.cirad.fr ; http://www.gdp.univ-montp2.fr/gpab/

En Côte d'Ivoire et dans les pays limitrophes, diverses variétés végétales produisent dans diverses parties végétatives des composés polyphénoliques de couleur rouge, notamment dans les pétales de fleurs d'*Hibiscus sabdariffa*, et de *Delonix regia* (Flamboyant) et dans les feuilles de *Carapa procera*. Ces substrats végétaux font partie de la biodiversité de ces pays africains qui est généralement utilisée pour la fabrication locale d'extraits aqueux aux vertus traditionnellement connues comme curatives ou préventives ou qui sont utilisés comme ingrédients cosmétiques ou comme compléments alimentaires.

Des procédés couplés d'extraction-concentration en phase aqueuse, incluant les techniques séparatives membranaires - TSM, sont mis en œuvre à l'échelle pilote pour optimiser les conditions de fabrication de concentrés d'actifs hydrosolubles (polyphénols) dont on a analysé la composition et caractérisé les structures moléculaires des constituants.

Divers milieux d'extraction à base d'eau acidifiée avec divers acides (citrique et sulfurique, 0,01N) ont été testés lors de macérations de ces substrats végétaux, séchés localement dans les conditions traditionnelles villageoises. Les essais préliminaires ont été conduits à l'échelle laboratoire et les meilleures conditions ont été reproduites par extrapolation à l'échelle pilote à des volumes de milieu d'extraction de 300L pour des ratios R=substrat (Kg)/milieu (L) de 1/25 à 1/250.

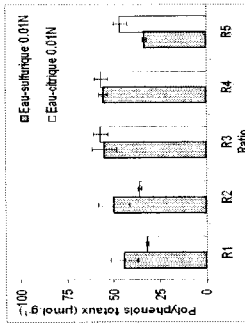


Fig 1 : Optimisation des conditions d'extraction par diffusion de fleurs de Delonix

Sur la base de la teneur en polyphénols totaux extraits (fig1), le ratio R3=1/100 et l'eau acidifiée avec H₂SO₄ 0,01N se sont révélées les conditions optimales pour l'extraction par macération à froid des 3 substrats végétaux. Des aides technologiques comme l'agitation du milieu, l'hydrolyse enzymatique des parois cellulaires et l'application des ultrasons (US) ont été appliquées pendant cette phase de macération aqueuse.

Divers modes d'extraction ont été testés (fig 2) sans et avec acidification (H₂SO₄ 0,01N). Alors que par diffusion on atteint le plateau de concentration en polyphénols extraits après plusieurs heures (1 nuit), les aides technologiques mécaniques (agitation ou US) réduisent ce temps d'extraction optimale à 1h. De plus, les concentrations en polyphénols obtenues en fin d'extraction assistée sont plus élevées que celles obtenues par simple macération (fig 2 : macération=27 contre US=40 µmol.g⁻¹)

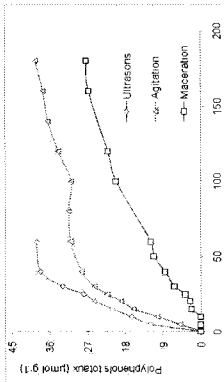


Fig 2 : Extraction assistée par Ultrasons, substrat Delonix, eau/H₂SO₄ 0,01N

L'extraction assistée par US montre que l'extrait sec diffuse du substrat vers le milieu aqueux pendant la première heure, selon une cinétique d'ordre 1 (Ln(A)-kt), conforme à la première loi de Fick garantissant la diffusion :

$$A = \frac{C_0 - C_t}{C_0 - C_\infty} = \sum_{n=1}^{\infty} a \exp(-kt)$$

L'enzymage par diverses préparations celluloliques commerciales pendant la macération ne donne pas des concentrations en polyphénols notablement plus élevées que sans enzymage, sauf pour les flavonoïdes extraits de Carapa (+15%).

| Extraction (R=1/100) | Hibiscus | | Delonix | | Carapa | |
|------------------------------------|----------------|----------------|---------|----|--------|-----|
| | A ¹ | F ² | A | F | A | F |
| Macération | 53 | 57 | 20 | 33 | 4,7 | 58 |
| Décoction | 48 | 58 | 22 | 40 | 5,5 | 60 |
| Infusion | 51 | 65 | 19 | 31 | 5,8 | 69 |
| Macération/H ⁺ | - | - | - | 20 | 27 | 6,1 |
| Décoction/H ⁺ | - | - | - | 19 | 36 | 6,2 |
| Macération avec enzymage (R=5/100) | | | | | | |
| Lafase | 53 | 57 | 14 | 33 | 5,8 | 92 |
| Optizym | 46 | 52 | 11 | 30 | 4,9 | 88 |
| Fitrozym | 53 | 53 | 13 | 32 | 5,1 | 87 |

Tab 1 : Concentrations en anthocyanes (A) et flavonoïdes (F) dans les extraits (3h sans agitation) issus de 3 substrats végétaux, (1) en mg.L⁻¹ d'extrait (A en cyanidine équivalent, F en acide rosmarinique équivalent)

Les extraits obtenus par extraction assistée par US sont successivement traités en pilote de microfiltration tangentielle (MFT, membrane céramique P 19-60, 0,5µm, S=0,3m²) puis concentrés par Osmose inverse (OI, membrane polymère SW30, S=2m²) dans les conditions optimisées de pression transmembranaire, de vitesse tangentielle et à température ambiante. Les flux s'établissent rapidement (20min) à leur régime stationnaire, de 250L.h⁻¹.m⁻²bar pour la MFT et de 19 L.h⁻¹.m⁻²bar pour l'OI.

Les concentrés obtenus contiennent 10 fois plus d'extrait sec que le macérat selon le facteur de réduction volumique permis par l'OI. Le taux de concentration de chacun des composés polyphénoliques, dosés par HPLC, indique que le que le procédé couplé permet une concentration de l'extrait aqueux sans perte des constituants polyphénoliques extraits par l'eau. De plus, ces extraits ne renferment plus la charge bactérienne, souvent élevée, qui caractérise le macérat aqueux initial.

Les compositions en polyphénols de chacun des extraits d'*Hibiscus*, de *Delonix* et de *Carapa* obtenus en fabrication à l'échelle pilote sont déterminées par analyses HPLC-DAD, HPLC-MS et RMN. Les anthocyanes, les flavonoïdes et les acides-phénols dans les extraits concentrés de *Delonix* ont été caractérisés (tab 2).

| A | cyanidine-glucoside ² | 45 |
|----|--------------------------------------|-----|
| F | quercétine-rutinoside ² | 168 |
| | quercétine-robinoboside ² | tr. |
| | quercétine - rutinoside | 786 |
| | quercétine -galactoside ² | 39 |
| | quercétine-glucoside | 331 |
| | kaempférol-rutinoside ² | 135 |
| | quercétine | Tr. |
| A- | acide gallique | 414 |
| P1 | acide protocatéchique | 178 |

Tab 2: Composition des extraits concentrés de *Delonix* fabriqués par le procédé. (1) en mg.L⁻¹ de concentré, A=Anthocyanes en cyanidine équivalent, F=flavonoïdes en quercétine eq. A-P=acides-phénols en ac. gallique eq., (2) identifié pour la première fois.

Les activités antioxydantes (AAO) sont aussi mesurées par des techniques chimiques complémentaires (ABTS et DPPH). Pour *Delonix*, les extraits concentrés par OI présentent des AAO (TEAC) 12 fois plus élevées que les extraits MFT (fig3).

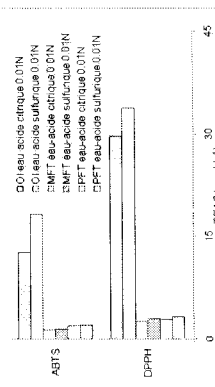


Fig 3 : AAO des extraits pilote de Delonix

CONCLUSION

L'objectif de cette thèse est d'étudier la composition en anthocyanes et autres polyphénols actifs de végétaux endémiques de Côte d'Ivoire utilisés traditionnellement par les

communautés rurales. Un procédé couplé d'extraction-concentration incluant des techniques séparatives membranaires, et assisté par des ultrasons, a été développé pour fabriquer des extraits concentrés d'actifs hydrosolubles de ces plantes. Sur la base de la caractérisation des molécules extraites (structure-activité-stabilité), la production de ces extraits par le procédé a été optimisée. Les caractéristiques de ces extraits (couleur, AAO) ont été déterminées. Ces extraits ont été soumis à l'appréciation de communautés locales préparant de tels extraits de façon artisanale pour des usages traditionnels divers comme préparations médicinales, cosmétiques et compléments alimentaires. Les résultats de ces recherches doctorales ont permis de lancer un nouveau projet de développement durable. Ce projet a financé l'acquisition de ce matériel technologique installé sur site en Côte d'Ivoire pour fabriquer localement ce type de produits, avec des retombées socio-économiques, notamment en termes de créations d'emplois ruraux et d'activité économique locale.