



Institut National Polytechnique

Félix HOUPHOUËT-BOIGNY



N° 049/2019

THÈSE UNIQUE DE DOCTORAT

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE

FELIX HOUPHOUËT-BOIGNY

EN SCIENCES DES PROCÉDÉS CHIMIQUES, ALIMENTAIRES ET
ENVIRONNEMENTAUX

Spécialité : **Chimie Organique et des Substances naturelles**

Présentée par :

SEKA Ossey Clovis

Ingénieur en Génie Chimique

EXTRACTION ET CARACTÉRISATION DE CIRES VÉGÉTALES A PARTIR DE DEUX VÉGÉTAUX DE LA BIOMASSE IVOIRIENNE : *Borassus aethiopum* Mart. (Arecaceae) et *Mangifera indica* Linn. (Anacardiaceae)

Soutenue le 20 Décembre 2019, devant le jury composé de :

M. YAO Kouassi Benjamin (Professeur Titulaire, INP-HB/Yamoussoukro)	Président
M. TONZIBO Zanahi Félix (Professeur Titulaire, UFHB/Abidjan)	Rapporteur
M. BEDI Sahouo Gustave (Professeur Titulaire, ENS/Abidjan)	Rapporteur
Mme LOUDNI Lynda Épouse EKOU (Maître de Conférences, UNA/Abidjan)	Examineur
M. SORO Yaya (Maître de Conférences, INP-HB/Yamoussoukro)	Directeur de thèse



Institut National Polytechnique

Félix HOUPHOUËT-BOIGNY

EDP
École Doctorale Polytechnique

THÈSE UNIQUE DE DOCTORAT

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE

FELIX HOUPHOUËT-BOIGNY

**EN SCIENCES DES PROCÉDÉS CHIMIQUES, ALIMENTAIRES ET
ENVIRONNEMENTAUX**

Spécialité : **Chimie Organique et des Substances naturelles**

Présentée par :

SEKA Ossey Clovis

Ingénieur en Génie Chimique

EXTRACTION ET CARACTÉRISATION DE CIRES VÉGÉTALES A PARTIR DE DEUX VÉGÉTAUX DE LA BIOMASSE IVOIRIENNE : *Borassus aethiopum* Mart. (Arecaceae) et *Mangifera indica* Linn. (Anacardiaceae)

Soutenue le 20 Décembre 2019, devant le jury composé de :

M. YAO Kouassi Benjamin (Professeur Titulaire, INP-HB/Yamoussoukro)	Président
M. TONZIBO Zanahi Félix (Professeur Titulaire, UFHB/Abidjan)	Rapporteur
M. BEDI Sahouo Gustave (Professeur Titulaire, ENS/Abidjan)	Rapporteur
Mme LOUDNI Lynda Épouse EKOU (Maître de Conférences, UNA/Abidjan)	Examineur
M. SORO Yaya (Maître de Conférences, INP-HB/Yamoussoukro)	Directeur de thèse

DÉDICACE

« Le génie ne peut donner qu'une riche matière aux produits des beaux-arts, mais le travail de cette matière et la forme exigent un talent formé par l'école. » ⁽¹⁾

A ma mère chérie et à la mémoire de mes défunts pères (mon géniteur et mon père adoptif) qui m'ont toujours encouragé sur la voie de l'école.

« S'il y a un amour pur et exempt du mélange de nos autres passions, c'est celui qui est caché au fond du cœur, et que nous ignorons nous-mêmes » ⁽²⁾

A tous les membres de ma famille et à mes amis (es), pour le soutien inconditionnel qu'ils m'ont témoigné durant tout mon cursus scolaire.

(1)-Emmanuel Kant, « Critique de la faculté de juger »

(2)-Duc de la Rochefoucauld, « Maximes »

REMERCIEMENTS

Le présent mémoire de thèse sanctionnant la fin de mes travaux de recherche au sein du Laboratoire des Procédés Industriels de synthèse, de l'Environnement et des Énergies nouvelles (LAPISEN) de l'Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY (INPHB) de Yamoussoukro, n'aurait pu voir le jour sans l'appui, les conseils avisés et le soutien moral permanent de plusieurs personnes à qui je témoigne ma sincère reconnaissance. Ainsi, j'adresse mes vives gratitudeux aux personnes suivantes :

- Monsieur **KOFFI N'Guessan**, Directeur Général de l'Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY (INPHB), pour la contribution de l'Institut qu'il dirige à ma formation ;
- Monsieur **YAO Kouassi Benjamin**, Directeur de l'École Doctorale, et Directeur du LAPISEN pour m'avoir permis de m'intégrer parfaitement au sein de l'équipe des doctorants et pour les différentes formations enrichissantes dont j'ai bénéficié ;
- Monsieur **ADIMA Amissa Augustin**, Directeur du Département Génie Chimique et Agro-alimentaire (GCAA) pour l'accompagnement du département qu'il dirige dans la réalisation de nos travaux de recherche.

C'est aussi le lieu de témoigner ma reconnaissance à toute l'équipe dirigeante de l'École Doctorale Polytechnique ainsi qu'à celle de l'INPHB, qui durant la réalisation de mes travaux de recherches n'ont ménagé aucun effort pour me permettre d'effectuer des communications au niveau national et international, et même des formations linguistiques notamment des séjours linguistiques au Ghana.

Je remercie particulièrement Monsieur **SORO Yaya** (Maître de Conférences), Directeur de cette thèse, pour avoir dirigé cette thèse et avoir facilité mon insertion au sein de l'équipe de "Chimie de l'eau et des substances naturelles" du LAPISEN. Il a activement participé à la réalisation de ce travail. Au-delà de son rôle de Directeur, le temps qu'il m'a consacré, ses critiques pertinentes et son esprit de synthèse ont été des éléments déterminants dans la réalisation de cette thèse. Ses conseils, sa rigueur, sa simplicité, son humilité et surtout son amour du travail bien fait, m'ont particulièrement marqué au cours de mes travaux. Il n'a ménagé aucun effort pour me suivre, me donner des orientations et m'assister. Je lui rends un vibrant hommage.

Mes remerciements vont également à l'ensemble des membres de mon comité de thèse (Professeur **BOA David**, Docteur **ADIMA Amissa Augustin**, Docteur **SIAKA Sorho**, Docteur **SORO Yaya**) qui ont su me faire profiter de toutes leurs compétences et savoirs lors de mes communications, dans le but de m'aider au mieux dans la conduite de mes travaux. Leurs conseils avisés, leur disponibilité, ainsi que nos discussions enrichissantes au cours de ces trois années, m'ont été d'une aide très appréciable.

Je tiens à adresser de façon particulière mes vives gratitudeux aux membres du Jury de cette thèse :

À Monsieur **YAO Kouassi Benjamin**, Professeur Titulaire de l'INPHB, Directeur de l'École Doctorale Polytechnique, et Directeur du Laboratoire des Procédés Industriels de synthèse, de l'Environnement et des Énergies nouvelles (LAPISEN) pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse.

À Monsieur **TONZIBO Zanahi Félix**, Professeur Titulaire de l'Université Félix Houphouët Boigny (UFHB), pour sa disponibilité et sa contribution scientifique dans l'instruction de cette thèse. Malgré ces multiples occupations, il n'a pas hésité à me faire profiter de son savoir scientifique dans le domaine et a accordé une attention très particulière dans l'instruction de cette thèse.

À Monsieur **BEDI Sahouo Gustave**, Professeur Titulaire de l'École Normale Supérieure (ENS), pour l'attention particulière et le temps qu'il a consacré dans l'instruction de cette thèse. Je lui suis infiniment reconnaissant pour les recommandations scientifiques très avisés et les orientations qu'il m'a données.

À Madame **LOUDNI Lynda épouse EKOU**, Maître de conférences de l'Université Nangui Abrogoua (UNA), pour avoir accepté d'examiner et juger ce travail et pour ses remarques très pertinentes.

Mes vifs remerciements vont également à l'endroit de tous les enseignants de département GCAA pour leur contribution à ma formation, ainsi qu'aux doctorants et aux jeunes docteurs (en particulier Docteur **KONÉ Kouwelton** et Docteur **KOUASSI Appiah Kouadio Esaïe**) pour leur soutien inconditionnel durant mes travaux.

Que toutes les personnes dont les noms ne figurent pas ici et qui ont contribué à ma formation et en particulier à la réalisation de ce document, trouvent ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

AVANT-PROPOS

La recherche scientifique peut être définie comme étant l'ensemble des actions entreprises en vue de produire et de développer les connaissances scientifiques (dictionnaire Wikipédia). Ces actions présupposent l'observation méthodique d'un phénomène ou la mise en place méthodique d'expérimentations aboutissant à des conclusions logiques permettant de fournir au monde scientifique une connaissance dans un domaine précis.

La thèse de doctorat scientifique s'inscrit dans le vaste domaine de la recherche scientifique. Elle est le couronnement de nombreuses années d'études et de recherche portant sur un sujet original de façon à mettre en évidence la capacité du doctorant à mener à bien une recherche, grâce à sa capacité d'analyse et à sa rigueur scientifique. Aussi, la thèse est une si périlleuse aventure qui, si on n'y prend garde, peut facilement vous dévorer plusieurs années de votre vie. Elle apparaît avant tout comme un diplôme philosophique qui contient en plus de la sagesse et de la connaissance, l'honnêteté avec laquelle a été menée une étude de recherche.

Mon objectif dans ces travaux était d'apporter à la communauté scientifique ma contribution à la connaissance relativement au domaine des cires végétales. Aussi, n'ai-je pas la prétention d'avoir traité toutes les questions relatives à mon sujet de recherche. D'autres devront prendre l'ascension là où je me serai arrêté. Divers chemin existe pour parvenir à Rome, dit-on, ainsi j'ose espérer que le chemin tortueux et pleins d'embuches que j'ai suivi dans ma démarche n'aura pas été le moins bon. Par ailleurs, si toutefois ce chemin sinueux l'était, il serait toujours utile dans la mesure où il permettrait aux futurs chercheurs d'éviter les difficultés par lesquels je serais passé, eux connaissant mieux leur existence, grâce à mon travail.

Pour ma part, je m'estime fier d'avoir été capable de produire une telle œuvre pour lequel je l'espère, mérite qu'on m'attribue le diplôme de PhD (Philosophy Doctorate) car l'essence de la philosophie ne réside-t-elle dans l'analyse rationnelle et méthodique d'un fait, d'une observation afin d'en tirer une conclusion logique utile à la société ? Enfin, Je n'ai pas la prétention d'avoir lu toute la littérature concernant le thème principal de mon sujet qu'est « les cires végétales », mais j'ai au moins la conviction d'avoir abordé tous les aspects essentiels afférents à ce sujet. Aussi, j'espère pour le moins, avoir apporté ma pierre à l'édifice de la connaissance et de l'information scientifique dans le domaine des cires.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	I
REMERCIEMENTS.....	II
AVANT-PROPOS.....	IV
LISTE DES FIGURES.....	XIII
LISTE DES TABLEAUX.....	XV
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS.....	XVI
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
INFORMATIONS PRÉLIMINAIRES SUR LE PROJET DE THÈSE.....	3
PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	7
CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS SUR LES CIRES.....	8
I- CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES DES CIRES.....	8
II- APPROCHE DÉFINITIONNELLE DU MOT "CIRE".....	8
III- CLASSIFICATION DES CIRES.....	10
III.1- Cires synthétiques ou artificielles.....	10
III.2- Cires naturelles.....	11
III.2.1- Cires minérales.....	12
III.2.2- Cires organiques.....	12
III.2.2.1- Cires animales.....	12
III.2.2.2- Cires végétales.....	14
IV- DIFFÉRENTES CIRES VÉGÉTALES.....	17
IV.1- Cires de céréales.....	17
IV.2- Autres cires végétales d'importance industrielle.....	17
IV.2.1- Cire de Carnauba.....	17
IV.2.2- Cire de Candelilla.....	18
IV.2.3- Cire d'Ouricouri.....	18

IV.2.4- Cire de Jojoba.....	18
IV.2.5- Cire de canne à sucre	19
IV.2.6- Cire de son de riz	19
V- COMPOSITION DES CIRES VÉGÉTALES	20
V.1- Hydrocarbures	21
V.2- Esters	21
V.3- Acides gras.....	22
V.4- Alcools	22
V.5- Cétones	23
V.6- Aldéhydes	23
V.7- Autres composés mineurs	23
VI- DOMAINES D'APPLICATION DES CIRES.....	23
CHAPITRE II : PLANS D'EXPÉRIENCES ET OPTIMISATION.....	25
I- CONTEXTE D'OPTIMISATION.....	25
II- PLANS D'EXPÉRIENCES	25
II.1- Présentation générale	25
II.2- Principe	26
II.3- Intérêt des plans d'expériences.....	26
II.4- Quelques définitions	27
II.5- Description de quelques plans d'expériences.....	28
II.5.1- Plan factoriel complet à deux niveaux 2^k (plan de 1 ^{er} degré)	28
II.5.2- Plans factoriels fractionnaires à deux niveaux 2^{k-q} (Goupy, 2006)	29
II.5.3- Plan de Taguchi.....	30
II.5.4- Plan de Plackett et Burman.....	30
II.5.5- Plan centrale composite	31
III- OPTIMISATION	31
III.1- Définition	31

III.2- Méthode de simplex	32
III.3- Algorithme génétique	32
CHAPITRE III : TECHNIQUES D'EXTRACTION ET DE CARACTÉRISATION DES CIRES	33
I- TECHNIQUES D'EXTRACTION DES CIRES.....	33
I.1- Techniques d'extraction au solvant	33
I.1.1- Extraction par macération	33
I.1.2- Extraction par chauffage à reflux	34
I.1.3- Extraction au Soxhlet.....	34
I.1.4- Extraction FexIKA®	35
I.1.5- Extraction accélérée par solvant.....	36
I.1.6- Extraction par Micro-onde assistée	37
I.1.7- Extraction à l'eau bouillante	37
I.2- Technique d'extraction sans solvant	37
I.2.1- Cryo-extraction des cires à partir de l'azote liquide.....	37
I.2.2- Extraction assistée par ultrason.....	37
I.2.3- Extraction au dioxyde de carbone supercritique	38
II- TECHNIQUES D'ANALYSES DES CIRES.....	39
II.1- Chromatographie sur Couche Mince	39
II.2- Chromatographie sur Couche Mince à Haute Performance.....	40
II.3- Spectroscopie infrarouge FT-IR.....	40
II.4- Spectrophotométrie UV-Visible	41
CHAPITRE IV : PLANTES DE L'ETUDE	45
I- <i>BORASSUS AETHIOPUM</i> Mart.	45
I.1- Introduction	45
I.2- Taxonomie	45
I.3- Description botanique	45

I.4- Usage de <i>Borassus aethiopum</i> Mart.....	47
II- <i>MANGIFERA INDICA</i> Linn.	48
II.1- Introduction	48
II.2- Taxonomie.....	48
II.3- Description botanique	49
II.4- Usage de la mangue	50
II.5- Composition chimique de la pulpe, de la pelure et du noyau de mangue.....	50
DEUXIÈME PARTIE : MATÉRIEL ET MÉTHODES	51
CHAPITRE I : MATÉRIEL	52
I- MATÉRIEL VÉGÉTAL	52
I.1- Origine et choix du matériel végétal	52
I.2- Récoltes, séchages et conservations des échantillons	53
I.2.1- Feuilles de Rônier.....	53
I.2.2- Peaux de Mangue	53
I.2.3- Amandes de mangue.....	54
I.2.4- Beurres de Karité.....	54
II- MATÉRIEL TECHNIQUE DE LABORATOIRE	55
II.1- Matériel d'extraction.....	55
II.2- Autre matériel de laboratoire.....	55
III- RÉACTIFS ET PRODUITS CHIMIQUES	57
IV- MATÉRIEL INFORMATIQUE	57
CHAPITRE II : MÉTHODES	58
I- BIBLIOMÉTRIE	58
II- TAUX D'HUMIDITÉ DES ÉCHANTILLONS	58
III- PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS ET EXTRACTION DES CIRES	59
III.1- Préparation des échantillons	59
III.1.1- Broyage et tamisage	59

III.1.2- Conservation des échantillons broyés	60
III.2- Extraction des cires	60
III.2.1- Extraction par macération	61
III.2.2- Extraction par chauffage à reflux.....	61
III.2.3- Extraction par la méthode Soxhlet.....	61
III.2.4- Cinétique d'extraction des cires.....	62
III.3- Purification des cires et détermination de la sélectivité des solvants.....	62
IV- MODÉLISATION ET OPTIMISATION DU RENDEMENT	
D'EXTRACTION	62
IV.1- Criblage de facteurs et modélisation	62
IV.1.1- Définition de la réponse	62
IV.1.2- Définition des facteurs	63
IV.1.3- Définition du domaine expérimental	63
IV.1.4- Construction de la matrice d'expériences	63
IV.1.5- Elaboration du modèle par régression linéaire multiple	65
IV.2- Analyse de la qualité du modèle	65
IV.2.1- Analyse des Résidus	65
IV.2.2- Analyse de la variance du modèle	66
IV.3- Optimisation du modèle	66
V- MÉTHODES DE CARACTÉRISATION DES CIRES.....	67
V.1- Caractéristiques organoleptiques des cires	67
V.2- Paramètres physico-chimiques.....	67
V.2.1- Point de fusion	67
V.2.2- Indice de réfraction (NF T60-212, 1984).....	68
V.2.3- Indice d'acide (Norme AOAC, 2000).....	68
V.2.4- Indice d'iode (Norme AOAC 2000)	68
V.2.5- Indice de saponification (Norme AOAC 2000).....	69

V.3- Spectroscopie infra-rouge	69
V.4- Spectrophotométrie UV-visible	69
V.5- Microscopie Electronique à Balayage	70
V.6- Chromatographie sur Couche Mince	70
V.7- Chromatographie sur Couche Mince à Haute Performance	71
V.8- Profil en acides gras des cires	72
V.9- Profil en hydrocarbures des cires	72
V.10- Détermination des points de fusion de mélanges cire-beurre	73
TROISIÈME PARTIE : RÉSULTATS ET DISCUSSION	74
CHAPITRE I : BIBLIOMÉTRIE	75
I- THÉMATIQUE DES CIRES VÉGÉTALES	75
I.1- Nombre de publications en fonction des années.....	75
I.2- Nombre de publications en fonction des auteurs	76
I.3- Proportion des publications en fonction des domaines de publication	77
II- THÉMATIQUE de <i>Borassus aethiopum</i>	78
II.1- Nombre de publications en fonction des années	78
II.2- Nombre de publications en fonction des auteurs.....	79
II.3- Proportion des publications en fonction des domaines de publications	80
II.4- Proportion des publications en fonction du type de documents.....	81
III- THÉMATIQUE de <i>Mangifera indica</i>	81
III.1- Nombre de publications en fonction des années	81
III.2- Nombre de publications en fonction des auteurs	82
III.3- Proportion des publications en fonction des domaines de publications	83
III.4- Proportion des publications en fonction du type de documents.....	84
IV- CONCLUSION PARTIELLE.....	84

CHAPITRE II : RENDEMENTS ET CINÉTIQUE D'EXTRACTION DES CIRES	85
I- RENDEMENTS D'EXTRACTION	85
I.1- Influence de la méthode d'extraction sur le rendement	85
I.2- Influence du solvant sur le rendement d'extraction	86
I.3- Analyse de la sélectivité des solvants	88
I.4- Influence de la granulométrie sur les rendements d'extraction	89
II- CINÉTIQUE D'EXTRACTION	91
III- CONCLUSION PARTIELLE	93
CHAPITRE III : MODÉLISATION ET OPTIMISATION DES RENDEMENTS D'EXTRACTION	94
I- MODÉLISATION DES RENDEMENTS D'EXTRACTION	94
I.1- Résultats	94
I.2- Discussion	95
I.2.1- Au niveau de <i>Borassus aethiopum</i>	95
I.2.2- Au niveau de <i>Mangifera indica</i>	95
II- VÉRIFICATION DE LA QUALITÉ DU MODÈLE	96
II.1- Analyse des résidus	96
II.2- Analyse de la variance	97
II.3- Analyse de l'adéquation des modèles	98
III- OPTIMISATION DU RENDEMENT D'EXTRACTION	99
IV- VALIDATION DES MODÈLES À PARTIR D'EXPÉRIENCES	100
V- CONCLUSION PARTIELLE	101
CHAPITRE IV : CARACTÉRISATION CHIMIQUE DES CIRES	102
I- CARACTÉRISTIQUES ORGANOLEPTIQUES ET PHYSICO-CHIMIQUES	102
I.1- Caractéristiques organoleptiques des cires	102
I.2- Paramètres physico-chimiques des cires extraites	103
II- CARACTÉRISATION PAR MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE À BALAYAGE	106

II.1- Contexte	106
II.2- Microscopie Electronique à Balayage de la cire de feuilles de Rônier	106
II.2.1- Ultrastructure de la face abaxiale de la feuille	106
II.2.2- Ultrastructure de la face adaxiale de la feuille	108
II.3- Microscopie Électronique à Balayage de la cire de peaux de Mangue	110
III- COMPOSITION CHIMIQUE DES CIRES	113
III.1- Analyse par spectroscopie infrarouge	113
III.2- Analyse par spectrophotométrie UV-Visible.....	115
III.3- Analyse en Chromatographie sur Couche Mince et en Chromatographie sur Couche Mince à Haute Performance	116
III.3.1- Chromatographie sur Couche Mince	116
III.3.2- Chromatographie sur Couche Mince à Haute Performance des cires.....	117
III.4- Profil en hydrocarbures des cires	121
III.5- Profil en acides gras.....	123
IV- APPLICATION DES CIRES DANS LA CONSERVATION DES BEURRES..	124
IV.1- Contexte.....	124
IV.2- Points de fusion de mélanges cires-beurres	124
V- CONCLUSION PARTIELLE	127
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	128
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	131
ANNEXES	148

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Classification des cires selon leur origine	10
Figure 2 : Illustration d'une MEB de la cuticule d'un fruit	15
Figure 3 : Schéma de la coupe transversale de la partie supérieure de l'épiderme d'un végétal (Jeffree, 1986).....	15
Figure 4 : Montage du chauffage à reflux.....	34
Figure 5 : Montage d'extraction au Soxhlet	35
Figure 6 : Dispositif d'analyse en HPTLC.....	40
Figure 7 : Spectre FT-IR de la cire brute d'abeille	41
Figure 8 : Schéma de principe du spectrophotomètre UV-visible mono faisceau	42
Figure 9 : Spectre UV-visible de la cire brute de canne à sucre.....	43
Figure 10 : Micrographie de cires végétales au MEB.....	43
Figure 11 : Photographie de <i>Borassus aethiopum</i>	46
Figure 12 : Photographie de <i>Mangifera indica</i> et son fruit.....	50
Figure 13 : Feuilles fraîches (a) et sèches de Rônier (b).....	53
Figure 14 : Mangues fraîches (a) et peaux de Mangue séchées (b) de variété Adams	54
Figure 15 : Noyau (a) et amande (b) séchés de mangue	54
Figure 16 : Photographie du matériel d'extraction	55
Figure 17 : Feuilles de Rônier concassées et broyées.....	60
Figure 18 : Peaux de Mangue séchées et broyées	60
Figure 19 : Nombre de publications par année sur la thématique des cires végétales.....	75
Figure 20 : Proportions de publications sur les différentes classes de cires	76
Figure 21 : Nombre de publications en fonction des auteurs	77
Figure 22 : Pourcentage des publications en fonction des domaines de publications	77
Figure 23 : Pourcentage des publications en fonction du type de document	78
Figure 24 : Nombre de publications par année sur la thématique de <i>Borassus aethiopum</i>	79
Figure 25 : Nombre de publications en fonction des auteurs	80
Figure 26 : Pourcentage des publications en fonction des domaines	80
Figure 27 : Pourcentage des publications en fonction du type de document	81
Figure 28 : Nombre de publications par année sur la thématique de <i>Mangifera indica</i>	82
Figure 29 : Nombre de publications en fonction des auteurs	83
Figure 30 : Pourcentage des publications en fonction des domaines de publications	83
Figure 31 : Pourcentage des publications en fonction du type de documents.....	84

Figure 32 : Rendements d'extraction en fonction de la méthode d'extraction	85
Figure 33 : Rendement d'extraction en fonction du solvant utilisé.....	87
Figure 34 : Sélectivité de trois différents solvants d'extraction.....	89
Figure 35 : Influence de la taille des particules sur le rendement d'extraction.....	90
Figure 36 : Cinétique d'extraction de la cire de feuilles de Rônier et de peaux de mangue	91
Figure 37 : Diagramme des résidus en fonction des valeurs prévues du rendement en cire de <i>Borassus aethiopum</i> (a) et de <i>Mangifera indica</i> (b).....	97
Figure 38 : Photographies des cires extraites après élimination du solvant et séchage	102
Figure 39 : Ultrastructure de la face abaxiale de la feuille de <i>Borassus aethiopum</i>	107
Figure 40 : Microstructures observées sur la face abaxiale de la feuille de <i>Borassus aethiopum</i>	107
Figure 41 : Ultrastructure de la face adaxiale de la feuille de <i>Borassus aethiopum</i>	108
Figure 42 : Micromorphologie des structures présentes sur la face adaxiale de la feuille de <i>Borassus aethiopum</i>	109
Figure 43 : Ultrastructure de la face externe la peau du fruit de <i>Mangifera indica</i> (a) : <u>échelle</u> : 200 µm / (b) : <u>échelle</u> :100 µm	111
Figure 44 : Microstructure de la face externe la peau du fruit de <i>Mangifera indica</i>	112
Figure 45 : Spectre Infrarouge de la cire de feuilles de Rônier.....	114
Figure 46 : Spectre Infrarouge de la cire de peaux de Mangue.....	114
Figure 47 : Spectres UV-Visible des cires extraites	116
Figure 48 : Analyse CCM des cires	117
Figure 49 : Analyse HPTLC de la cire de feuilles de Rônier à 350,450 et 550 nm	118
Figure 50 : Analyse HPTLC de la cire de peaux de Mangue à 350, 450 et 550 nm	118
Figure 51 : Chromatogramme HPTLC de la cire de feuilles de Rônier.....	119
Figure 52 : Chromatogramme HPTLC de la cire de peaux de Mangue	120
Figure 53 : Chromatogramme au GC-FID du profil en hydrocarbures de la cire de feuilles de Rônier.....	121
Figure 54 : Chromatogramme au GC-FID du profil en hydrocarbures de la cire de peaux de Mangue.....	121
Figure 55 : Evolution des points de fusion de mélange cire-beurre en fonction du % de cire.....	125

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Points de fusion et constituants principaux de quelques cires naturelles	11
Tableau 2: Familles des composés usuelles présents dans les cires cuticulaires	21
Tableau 3 : Expériences pour un plan factoriel 2^3	29
Tableau 4 : Exemple de matrice d'expériences de Plackett et Burman pour 7 facteurs	31
Tableau 5 : Matériel et appareils utilisés	56
Tableau 6: Liste des produits chimiques utilisés	57
Tableau 7 : Codage et niveaux des facteurs	63
Tableau 8 : Établissement de la matrice de Plackett et Burman	64
Tableau 9 : Matrice d'expérimentation.....	65
Tableau 10 : Analyse de la variance d'un modèle.....	66
Tableau 11 : Conditions d'analyse des acides gras en GC-FID.....	72
Tableau 12 : Conditions d'analyse des hydrocarbures en GC-FID.....	73
Tableau 13 : Rendement brut d'extraction et fraction soluble au DCM et à l'eau en fonction des solvants d'extraction.....	88
Tableau 14 : Test statistique effectué sur la cinétique d'extraction.....	92
Tableau 15 : Résultats des essais du plan d'expériences	94
Tableau 16 : Analyse statistique des résultats expérimentaux avec <i>Borassus aethiopum</i> ..	95
Tableau 17: Analyse statistique des résultats expérimentaux avec <i>Mangifera indica</i>	96
Tableau 18 : Analyse de la variance du modèle avec <i>Borassus aethiopum</i>	97
Tableau 19 : Analyse de la variance du modèle avec <i>Mangifera indica</i>	98
Tableau 20 : Coefficients de détermination obtenus avec les données de <i>Borassus</i> <i>aethiopum</i> et <i>Mangifera indica</i>	98
Tableau 21 : Valeurs expérimentales et prédites des rendements d'extraction.....	100
Tableau 22 : Caractéristiques organoleptiques des cires extraites	102
Tableau 23 : Paramètres physico-chimiques des cires étudiées.....	104
Tableau 24 : Valeurs spectrales des empreintes HPTLC de composés présents dans la cire de feuilles de Rônier	119
Tableau 25 : Valeurs spectrales des empreintes HPTLC de composés présents dans la cire de peaux de Mangue	120
Tableau 26 : Profil en hydrocarbures des cires extraites	122
Tableau 27 : Composition en acides gras de la cire de feuilles de Rônier et de peaux de Mangue.....	123

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

°C	Degré Celsius
AG :	Acide Gras
AGI :	Acide Gras Insaturé
AGS	Acide Gras Saturé
AGTLC	Acides Gras à Très Longue Chaîne
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ASE	Accelerated Solvent Extraction (Extraction accélérée par solvant)
ATG	Analyse thermogravimétrique
Cal.	Calculé
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
dp	diamètre des particules
DCM	Dichlorométhane
DSC	Differential Scanning Calorimetry (Calorimétrie à Balayage Différentiel)
Exp.	Expérimental
FT-IR	Spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier
GC-FID	Gas Chromatography-Flamme ionisation detector (Chromatographie en phase gazeuse couplée à un Détecteur à ionisation de flamme)
GC-MS	Gas Chromatography-Mass spectrometry (Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse)
HPTLC	High Performance Thin Layer Chromatography (Chromatographie sur Couche Mince à Haute Performance)
INPHB	Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT Boigny
IR	InfraRouge
ISO	International Organization for Standardization (Organisation internationale de normalisation)
MEB	Microscope (ie) à Balayage Électronique
NF	Normes Française
nm	Nanomètre
ODD	Objectifs du développement durable
PAR	Rayonnement photos-synthétiquement actif
PCC	Plan Central Composite
PFC	Plans Factoriels Complets
PFF	Plans Factoriels Fractionnaires
PTFE	Polytétra- fluoroéthylène
R&D	Recherche et développement
Rf	Référence ou rapport frontale
RM IM	Immobilized lipase from <i>Rhizomucor miehei</i>
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
TBME	Tertio-butyl methylEther
TMSH	Triméthyl hydroxyde de sulfonium
UV	Ultraviolet
v/m :	Ratio volume sur masse

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Depuis quelques années, on note un regain d'intérêt pour le remplacement des dérivés pétrochimiques par des ressources renouvelables en raison du sombre spectacle écologique imposé par l'activité pétrolière. En effet, le pétrole et ses dérivés ont largement contribué à la pollution de notre planète induisant des conséquences néfastes telles que l'effet de serre à l'origine du réchauffement climatique. Ce constat a conduit la communauté scientifique à se pencher sur la question des impacts environnementaux du pétrole et de ses dérivés sur le devenir de la planète. Les enjeux suscités exigent des solutions qui devront répondre aux objectifs du développement durable pour ne pas compromettre l'avenir des générations futures.

Par ailleurs, parmi les nombreux produits issus du pétrole, on compte les cires qui sont des substances lipidiques incontournables dans de nombreuses industries telles que celles du cirage, du cosmétique, de la pharmacie et des matériaux de revêtement.

Les cires issues du pétrole constituent aujourd'hui plus de 85% des cires existant sur le marché. Ainsi, le marché mondial des cires demeure fortement tributaire des cires dérivées du pétrole. Toutefois, cette source traditionnelle de cire qu'est le pétrole, est associée à de nombreux problèmes d'ordre écologique et économique dont, les soucis d'ordre environnemental liés au pétrole, la pénurie croissante des hydrocarbures, ainsi que la grande variabilité des coûts du pétrole. Aussi, dans la perspective générale du développement durable axé sur la chimie verte (voir les 12 principes de base de la chimie verte en annexe 1), des solutions plus durables et respectueuses de l'environnement doivent être proposées pour faire face à ces problèmes, notamment le retour aux ressources renouvelables.

Dans ce contexte, l'utilisation de ressources végétales se présente comme une alternative adéquate à cette source traditionnelle de cire qu'est le pétrole. L'on trouve en effet dans la littérature, une grande variété d'agro-ressources ou de déchets agricoles à moindre coût, contenant des quantités de cires non négligeables, et qui peuvent constituer de nouvelles sources de cires naturelles à fort potentiel et industriellement valorisables.

Par ailleurs, les investigations menées au cours de nos recherches ont permis d'identifier dans la biomasse ivoirienne deux plantes qui pourraient contenir des quantités de cire non négligeables. Ce sont *Mangifera indica* Mart. (Arecaceae) et *Borassus aethiopum* Linn. (Anacardiaceae). Ainsi, dans ce travail une évaluation du potentiel en cires de ces deux

ressources végétales est réalisée en étudiant leurs paramètres d'extraction ainsi que leurs compositions chimiques.

Il s'agit plus spécifiquement d'extraire des cires à partir des peaux de Mangue et des feuilles de Rônier, de déterminer les paramètres physiques et chimiques de ces cires ainsi que leurs composants majeurs à l'aide de méthodes telles que la spectroscopie infrarouge (IR), la spectrophotométrie UV-Visible, la Chromatographie sur Couche Mince (CCM), la Chromatographie sur Couche Mince à Haute Performance (HPTLC), la Chromatographie en phase gazeuse couplé au détecteur de flamme à ionisation (GC-FID), et la Microscopie Électronique à Balayage (MEB).

Les travaux présentés dans ce mémoire s'inscrivent dans la valorisation des sous-produits agricoles. Le mémoire s'articule autour de trois grandes parties. La première partie constituée de trois chapitres, est consacrée à une revue bibliographique en rapport avec le sujet. Elle regroupe les résultats essentiels de la littérature sur les cires végétales et leurs applications. La deuxième partie constituée de deux chapitres, est consacrée à la présentation du matériel et des méthodes utilisés dans le cadre de cette étude. Enfin, dans la troisième partie, les résultats des travaux sont analysés et discutés.

INFORMATIONS PRÉLIMINAIRES SUR LE PROJET DE THÈSE

(Contexte, problématique, questions de recherches, objectifs)

PRÉSENTATION DU SUJET

Ce travail intitulé « extraction et caractérisation de cires végétales à partir de deux végétaux de la biomasse ivoirienne : *Borassus aethiopum* Mart. et *Mangifera indica* Linn. », est une contribution à la valorisation des sous-produits agricoles en bioproduits. Il s'inscrit dans le contexte général des Objectifs du Développement Durable (ODD) en se basant sur les concepts de la chimie verte (**annexe 1**). Ce travail intègre les domaines de recherche de l'Agrochimie, de la Chimie organique et de la Chimie des substances naturelles. Ces domaines sont en interaction dans ce travail avec ceux de la Lipochimie, du Cosmétique, du Développement durable, et de l'Environnement.

CONTEXTE ET OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

Les économies industrielles actuelles dépendent fortement du pétrole brut pour les produits énergétiques et chimiques. Ainsi, avec l'épuisement du pétrole brut à un rythme croissant et une demande mondiale accrue, une politique de développement durable s'impose à tous (États, industries, public) (**Aleklett et al., 2010**).

Pour atteindre ce développement, une législation de plus en plus stricte est imposée aux industries, aux États, les obligeant à passer à des procédés alternatifs et à minimiser les déchets afin de lutter contre les changements climatiques (**Van Dam et al., 2005**). Dès lors, une économie verte dans laquelle les produits industriels sont à base de ressources « bio », doit être développée pour remplacer les produits existants à base de pétrole.

Le secteur des cires est fortement tributaire des produits dérivés du pétrole, qui constituent plus de 85 % du marché des cires. Toutefois, la pénurie croissante des hydrocarbures, et les soucis environnementaux liés aux hydrocarbures, ainsi que la grande variabilité des coûts du pétrole, ont favorisé une perte de part de marché de ces cires. Dès lors, il s'impose une alternative à ce type de cires par la nécessité de trouver de nouvelles sources de cires d'origine naturelle. En effet, selon **Clark and Deswarte (2008)**, pour parvenir à un développement durable, il est important d'évaluer et d'identifier les ressources naturelles en quantité suffisante et facilement disponibles.

Ainsi, depuis ces dernières décennies, de nombreuses études se sont penchées vers les agro-ressources qui constituent une source abondante et peu coûteuse de cires végétales et

qui sont des sources potentielles de cires naturelles de grande valeur pour de nombreux produits industriels.

Par ailleurs, selon les tendances récentes du marché, et en particulier dans le secteur du cosmétique, il est constaté une grande préférence de consommation pour les produits issus de ressource naturelles au détriment des cires issues du pétrole et la suppression des ingrédients issus des ressources animales en raison de la disparition de certaines espèces animales. Il se présente ainsi une opportunité de développer le marché des cires végétales étant donné que le lancement de bioproduits cosmétiques serait largement accepté, et la matière première disponible, renouvelable et à moindre coût.

Dans ce contexte, les feuilles de Rônier et les fruits du Manguier se présentent comme des ressources végétales intéressantes. En effet, le Rônier présente des caractéristiques botaniques proches du célèbre palmier brésilien Carnauba surnommée « reine des cires » en raison de la quantité de cire extraite à partir des feuilles de ce palmier. Quant au Manguier, il produit des fruits dont la pulpe entre dans la fabrication de nombreux produits alimentaires, alors que la peau demeure un déchet agricole qu'il convient de valoriser. En outre, d'énormes pertes post-récoltes sont enregistrées à cause du manque de techniques de conservation ou de transformation des mangues sur les lieux ou à proximité des lieux de production.

BUT ET ENJEU DE L'ÉTUDE

Le but de la présente étude est de valoriser des déchets d'agro-ressources de la biomasse ivoirienne par la mise au point de procédés d'obtention de cires végétales. L'enjeu étant la réduction de la pauvreté.

QUESTIONS DE RECHERCHE

La présente étude s'est appuyée sur la problématique dégagée par les questions de recherches suivantes :

- Comment soutenir le secteur des cires fortement tributaires des cires dérivées du pétrole ?
- Existe-t-il dans la biomasse ivoirienne des sources intéressantes de cires végétales ?
- Les rendements d'extraction de ces cires sont-ils significatifs ?
- Peut-on améliorer les rendements d'extraction de ces cires ?
- Quels sont les paramètres physico-chimiques de ces cires potentielles ?
- Quelle est la composition chimique de ces cires ?

PROBLÉMATIQUE

La problématique est de savoir comment obtenir de nouvelles cires pouvant substituer les cires dérivées du pétrole, et en adéquation avec les exigences écologiques et environnementales de plus en plus strictes.

OBJECTIFS DU PROJET

L'objectif principal de cette étude est d'extraire et de caractériser des cires naturelles à partir de deux végétaux issus de la biomasse ivoirienne que sont *Borassus aethiopum* et *Mangifera indica*.

Pour atteindre cet objectif, les objectifs spécifiques suivants ont été définis :

- Vérifier l'hypothèse d'obtention de nouvelles cires végétales à partir d'organes de végétaux ivoiriens potentiellement riches en cires (*Borassus aethiopum* et *Mangifera indica*)
- Extraire ces cires végétales à partir de diverses méthodes et comparer les rendements ;
- Optimiser le rendement d'extraction des cires par la mise au point d'un plan d'expériences ;
- Déterminer les paramètres physico-chimiques des cires obtenues ;
- Déterminer la composition chimique des cires obtenues.

HYPOTHÈSES

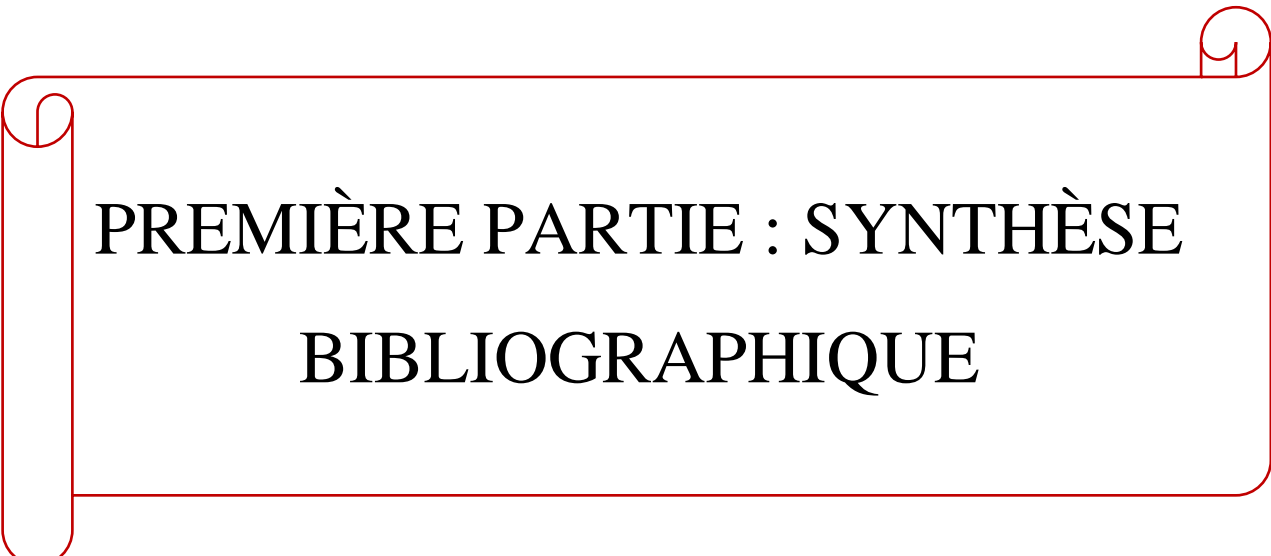
Notre travail se base sur les hypothèses suivantes :

- La peau de Mangue et les feuilles de Rônier contiennent des cires ;
- Les cires peuvent être extraites à partir de plusieurs méthodes ;
- Les rendements des cires extraites sont non négligeables comparés à ceux d'autres cires végétales connues ;
- Les caractéristiques et la composition des cires obtenues sont proches de celles de cires issues d'autres substances naturelles et largement commercialisées.

ORIGINALITÉ

L'originalité de ce travail réside essentiellement dans le fait d'avoir étudié la possibilité d'obtenir des cires à partir des feuilles de *Borassus aethiopum* et des fruits de *Mangifera indica*. Ce travail n'a à ce jour à notre connaissance, jamais été revendiqué. Il présente des résultats originaux quant à la l'application de techniques chromatographiques et spectrométriques telles que la Chromatographie sur Couche Mince, la Chromatographie sur

Couche Mince à Haute Performance, la Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier, la Spectrophotométrie UV-Visible, ainsi que la Microscopie Électronique à Balayage, dans l'identification des composés présents dans les cires issues de ces deux agro-ressources.



**PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE**

CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS SUR LES CIRES

Ce chapitre a pour but de décrire de façon générale l'état des connaissances sur les cires, leurs modes d'obtention, leurs compositions chimiques et leurs champs d'application.

I- CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES DES CIRES

La quasi-totalité des cires sont solides à la température ambiante (jusqu'à 40°C). En raison de la longueur de leurs chaînes carbonées pouvant atteindre jusqu'à 50 atomes de carbones (C₅₀) (Sin, 2012), les cires possèdent un caractère hydrophobe qui leur permettent de former une barrière efficace contre l'humidité.

Ces substances sont solubles dans les solvants organiques tels que l'hexane, le chloroforme et l'éther de pétrole. Elles sont constituées de composés majoritairement aliphatiques, et les cires possèdent une résistance à l'oxydation plus élevée que les autres substances extraites de matières végétales et animales telles que les beurres et les graisses.

Les teneurs en cire de la plupart des végétaux sont relativement très faibles. La plupart des cires sont extraites avec des rendements de l'ordre de 2% à 5%. Il existe toutefois une *cire liquide* extraite des amandes d'un végétal appelé Jojoba (*Simmondsia chinensis*), dont le rendement varie de 25 à 40% (Yermanos et al., 1977).

II- APPROCHE DÉFINITIONNELLE DU MOT "CIRE"

Le mot "cire" provient du terme anglo-saxon "wax" qui tire sa source du vieil anglais « weax » faisant littéralement référence au « nid d'abeille ». Ainsi, le terme « cire » a longtemps été associé à la cire d'abeille. Cela a conduit à définir parfois une cire comme toute substance ayant des propriétés proches de la cire d'abeille (Warth, 1956). Cette cire est donc la référence historique des cires.

À ce jour, il n'existe pas de définition généralement acceptée pour le terme « cire ». Toutes les tentatives visant à formuler une définition précise, complète et scientifiquement vérifiable de la cire, doivent tenir compte du grand nombre de produits ayant les propriétés typiques de la cire d'abeille et de la complexité chimique des types individuels (Krendlinger et al., 2015). Au terme « cire », peuvent donc être associées plusieurs définitions telles que mentionnées par dans la littérature, et cela en fonction des domaines et des contextes dans lesquels ce terme est employé.

Les biochimistes associent au terme « cires » la couche mince de lipides qui recouvrent la surface des feuilles et fruits des plantes ou constituent un revêtement de surface pour les insectes et au niveau de la peau des animaux. Selon **Guilloton et Quintard (2002)**, les cires sont des mélanges de lipides servant à limiter les pertes hydriques au niveau des différents organes des végétaux. Pour **Kolattukudy (1976) et Phukan (2016)** le mot « cire » désigne le mélange de lipides apolaires à longue chaîne formant un revêtement protecteur (cutine dans la cuticule) sur les feuilles et les fruits des plantes, mais également chez les animaux (cire d'abeilles, lipides cuticulaires d'insectes, spermaceti de baleine, cire de laine de mouton, lipides de la peau, glandes uropygiales d'oiseaux, graisse de crustacés planctoniques), les algues, les champignons et les bactéries.

Chimiquement, les cires sont définies comme un mélange d'esters à longues chaînes constitués d'acides gras estérifiant des alcools à longues chaînes, le plus souvent saturés (**Warth, 1956 ; Hamilton, 1995; Papadaki et al., 2017**). En réalité, ces esters encore appelés cérides ou ester cireux ont été identifiés de façon majoritaire au sein de nombreuses cires naturelles telles que les cires d'abeille, de Carnauba, la cire Lanoline et de Jojoba (**Hamilton, 1995; Jacob, 1999; Sin, 2012**). Cela a conduit de nombreux chercheurs à réaliser des réactions de synthèse à partir d'acides gras et d'alcools gras. Les résultats obtenus montrent que ces cérides possèdent entièrement des propriétés cireuses. D'où aujourd'hui, l'origine de la grande confusion qui est faite entre le mot « céride » (wax ester en anglais) et le mot « cire » (wax).

La définition académique définissant les cires comme « des esters d'acides carboxyliques et d'alcools, à longues chaînes carbonées » n'est plus utile car elle s'applique assez bien seulement à certaines cires classiques, telles que la cire d'abeille. D'autres cires (cire de Candelilla et cires de pétrole) constituées majoritairement d'alcane n'entrent pas dans cette définition. Aujourd'hui, au sens chimique, une définition plus large, prenant en compte les cires constituées majoritairement d'alcane, est proposée pour le terme « cire ». Ce dernier est défini comme un mélange de substances lipidiques apolaires constitués de composés à longues chaînes carbonées (**Sin, 2012 ; Phukan, 2016 ; Lusas et al., 2017**) leur conférant une plus grande stabilité comparativement aux huiles et aux beurres (**Rossow, 2008**). De nos jours, les définitions physiques et techniques sont celles qui sont préférées, car elles englobent les caractéristiques générales de la majorité des cires. Ainsi, les cires peuvent être définies comme un mélange moléculaire complexe de composés insolubles dans l'eau, solides à température ambiante, caractérisées par un point de fusion pouvant varier de 40 à 100°C (**Hamilton, 1995 ; Bastien, 2011**).

III- CLASSIFICATION DES CIRES

Les cires peuvent être classées de diverses manières, selon leurs compositions, leurs origines ou leurs propriétés physico-chimiques. Selon leurs provenances, les cires peuvent être, réparties en deux grands groupes : les cires naturelles et les cires synthétiques. Les cires naturelles peuvent également être subdivisées en deux sous-groupes dont les cires minérales généralement de source fossile et les cires organiques synthétisées par des organismes vivants tels que les plantes, les animaux et insectes (Lecomte, 2009; Séka et al., 2018). C'est dans ce dernier groupe qu'on retrouve les cires animales telles que la cire d'abeille, la cire de laine ou lanoline et les cires végétales dont l'un des représentants les plus connus est la cire de carnauba. La **figure 1** résume la classification des cires en fonction de leur origine. **Krendlinger et al. (2015)** proposent une classification plus complète des cires, donnée en **annexe 2**.

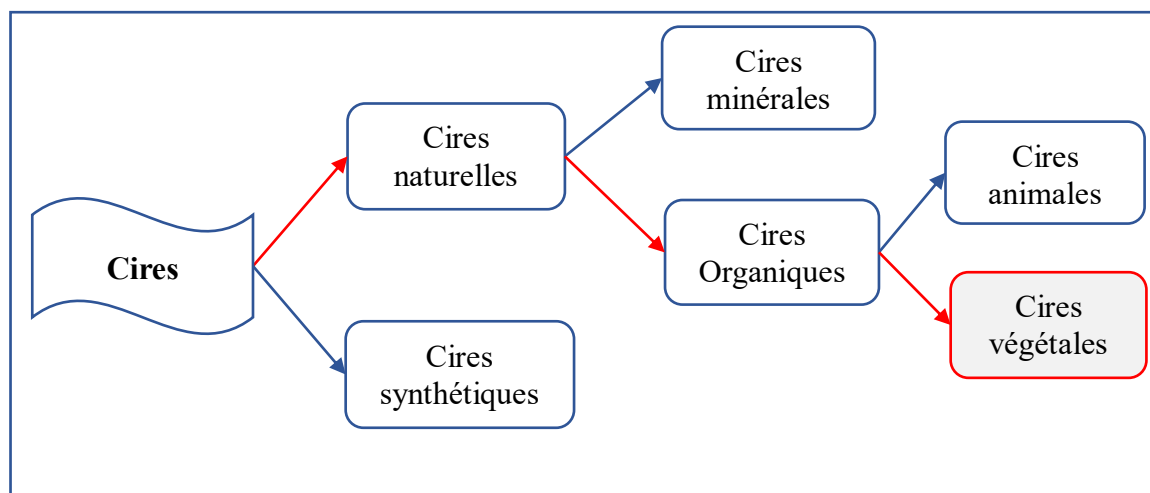


Figure 1 : Classification des cires selon leur origine

III.1- Cires synthétiques ou artificielles

Ce sont les cires obtenues par synthèse chimique. En effet, dans l'impossibilité de satisfaire la demande mondiale en cires naturelles (leur quantité étant limitée et leur disponibilité variable), des cires artificielles sont souvent produites par réaction de synthèse *via* des catalyseurs enzymatiques (Hallberg et al., 1999) ou chimiques (Aracil et al., 1992) à partir d'alcools à longues chaînes et d'acides gras. Ainsi, des cires ont été synthétisées à partir d'huile de palme par transestérification enzymatique avec de l'alcool oléique en utilisant du Lipozyme RM IM comme catalyseur (Keng et al., 2009).

Les points de fusion des cires synthétiques varient entre 60 et 75°C, d'où leur utilisation pour conférer de la rigidité aux rouges à lèvres et pour modifier leur cristallinité.

Ces cires sont généralement produites pour des applications cosmétiques. En fonction de la longueur de la chaîne et de la structure des deux composés de départ, ces esters présenteront différentes propriétés physiques et types d'émollience.

III.2- Cires naturelles

Les cires naturelles sont des cires de source fossile ou synthétisées par les organismes vivants. Elles sont nombreuses et inégalement réparties dans la nature. On les classe en deux sous-groupes que sont les cires minérales et les cires organiques. Ces cires sont caractérisées par des températures de fusion généralement supérieures à 50°C et ont des compositions différentes (**Tableau 1**).

Tableau 1: Points de fusion et constituants principaux de quelques cires naturelles

Type de cire	Cires	Point de fusion (°C)	Constituants principaux
Cires animales	Abeille	64	Palmitate de Myricyle
	Insectes de Chine	82-84	Lignocerate de céryle isoheptacosanoate d'isoheptacosyle
	Shellac	81-82	Lignocerate de céryle Cérotate de céryle
	Spermaceti	42-50	Palmitate de cétyle
	Lanoline	36-42	Esters d'estolidique et cholestérol
Cires végétales	Carnauba	80-85	Esters d'hydroxyacides C26-C36 et d'alcools C26-C30
	Candellila	70-80	Hydrocarbures en C26-C30
	Jojoba	11-12	Eicosanoate de docosenyle
	Ouricouri	79-85	Cérotate de myricyle et hydroxycérotate
	Canne à sucre	79-81	Palmitate de Myricyle Palmitate de stigmastéryle
Cire minérale	Cire de Montan	86	Esters d'acide C28-C30 et d'alcools tricontanyl
	Cire microcristaline (pétrole)	71-88	Hydrocarbures (de masse moléculaire 490-800)
	Cire paraffine (Pétrole)	54-57	Hydrocarbures de masse moléculaire (350-420)

Source : (Lusas et al., 2017)

III.2.1- Cires minérales

Les minérales sont généralement de source fossile. Au nombre de ces cires, on peut citer l'ozocérite, extraite du lignite qui est une roche combustible provenant de la décomposition incomplète des débris végétaux, et les paraffines issues du raffinage du pétrole brut et qui sont constituées exclusivement d'hydrocarbures linéaires ou ramifiés. Dans ce groupe de cire, l'on dénombre également les cires montaniques, qui sont de véritables cires fossilisées (Lecomte, 2009 ; Krendlinger et al., 2015).

III.2.2- Cires organiques

Les cires organiques sont des cires synthétisées par des organismes vivants tels que les plantes, les animaux et les insectes.

III.2.2.1- Cires animales

Les cires animales, aussi nombreuses que variées, sont présentes au niveau de la fourrure, de la peau, des plumes et sur l'exosquelette de nombreux insectes (Bastien, 2011). Les cires constituent un film au-dessus de la cuticule de ces organes et jouent un rôle de contrôle hydrique. Des quantités relativement importantes de cires sont secrétées par certains insectes tels que les abeilles, les pucerons et les cochenilles. Ces cires sont secrétées par des glandes spécifiques constituées de plusieurs cellules situées à la surface de l'abdomen. Elles interviennent dans la construction des ruches et jouent un rôle de protection contre les prédateurs et les conditions climatiques (Tulloch, 1970).

a- Cire d'abeille

La cire d'abeille, un des représentants les plus emblématiques des cires animales, est l'un des produits les plus économiquement viables en raison de ses excellentes propriétés physiques. Elle est synthétisée à partir de sécrétion abdominale des abeilles qui l'utilisent pour la construction de leur ruche (Lakshmi, 2010). Les abeilles l'utilisent pour bâtir les alvéoles qui constituent le support des produits de la ruche tels que le miel et le pollen. Sa densité est de 0,95 et son point de fusion est autour de 65°C. Elle est constituée principalement de différentes molécules lipophiles dont 65 à 80 % d'esters (le palmitate et le palmitoleate, d'alcools à longues chaînes allant de C30 à C32). Elle comprend également 10 à 15 % d'alcanes, 12% d'acides gras, de diols, et d'hydroacides (Gaël, 2013; Hamilton, 1995). Cette composition la rend saponifiable et émulsifiable (Jiménez et al., 2004).

Son utilisation remonte depuis l'antiquité (4200 ans avant J-C) et sa présence a été détectée dans les images des murs, des caves et dans la tombe des momies égyptiennes (**Langlois, 2010 ; Bastien, 2011**). Aujourd'hui, cette cire est utilisée comme crème médicinale dans des entreprises pharmaceutiques, comme matériau de modelage, comme composant pour les encres, les matériaux de revêtement (peinture, vernis), les cirages, et les bougies. Elle est également utilisée pour sceller les confitures et les gelées dans les industries de produits alimentaires. Toutefois, la chute drastique des colonies d'abeilles a fait chuter la disponibilité des cires d'abeilles sur le marché international, ce qui n'a pas été sans répercussion sur le prix (**Yao and Wang, 2012 ; Gaël, 2013**).

b- Cire de chine ou Cire d'insectes de chine

Cette cire, encore appelée cire de cochenille, est une cire blanche dure excrétée par des insectes appelés *Ceroplastes ceriferus* (anciennement *Coccus ceriferus*) ou des insectes apparentés *Ericerus pela*, qu'on retrouve en Chine et parfois en Inde (**Li, 1985; Ward, 2008**). Ces insectes déposent leurs cires sur les feuilles et les branches de frênes chinois (*Fraxinus chinensis*) à partir desquels les cires sont récoltées. La cire est grattée, nettoyée à l'eau chaude et coulée dans des moules. Elle est constituée principalement de cérotate de céryle ($C_{25}H_{51}COOC_{26}H_{53}$) et d'autres esters d'une longueur de chaîne carbonée allant de C48 à C60 ainsi que d'autres composés mineurs tels que les acides gras libres, les alcools et les hydrocarbures (**Faurot-Bouchet and Michel, 1964**). La cire purifiée est utilisée dans la fabrication des bougies et des cirages.

c- Cire de Shellac

Cette cire encore appelée « cire de laque ou gomme laque » provient de l'insecte-laque (*Tachardia lacca* ou *Kerria Lacca*) de la famille des Coccidae (**Warth, 1956 ; Farag, 2010**) qui vit sur divers arbres et arbustes hôtes (*Croton lacciferus*, *Butea monosperma*, *Zizyphus mauritiana* et *Schleichera oleosa*.) en Inde, en Thaïlande et dans le sud-est de l'Asie (**Farag, 2010**). Elle est constituée en grande partie d'esters (70-82 %) dont le laccéroate de laccéryle ou le cerotate de céryle ($C_{63}H_{126}O_2$), d'acides gras (1-4 %), d'alcools gras libres (8-14 %) et d'hydrocarbures (1-6 %) (**Warth, 1956 ; Lusas et al., 2017**).

Cette cire possède également de nombreuses applications en pharmacie et cosmétique. Elle est souvent utilisée dans l'industrie du vernis, et pour l'enrobage de fruit dans l'optique de les protéger (**Thai, 2000**). Sous sa forme brute, elle contient de l'acide laccaïque, un colorant soluble dans l'eau en solution alcaline, et utilisé comme colorant rouge dans les aliments et pour la teinture de fibres naturelles, comme la laine et la soie (**Rossmann, 2009**).

Elle est aussi utilisée dans les crayons à dessiner et les rouges à lèvres, ainsi que dans les cirages et les vernis pour meubles. Elle également utilisée en substitution à la cire de Carnauba dans certaines applications en raison de ses propriétés similaires à celle-ci.

d- Cire de blanc de baleine ou spermaceti

Le spermaceti est une cire blanche dure issue de la cavité de la tête du cachalot (*Physeter macrocephalus*) (Regert and Rolando, 2002 ; Papadaki et al., 2017).

Son point de fusion est compris entre 40 et 50°C. Elle a été utilisée pour la première fois dans le domaine pharmaceutique, cosmétique et parfois pour ramollir la cire d'abeille (Ward, 2008). Toutefois, depuis les législations de 1971 sur la capture des baleines, cette cire n'est plus produite ni vendue (Nieschlag et al., 1977). Depuis lors, elle est remplacée par des cires minérales ou végétales ayant des propriétés proches, ou encore par le spermaceti synthétique obtenu à partir du palmitate de cétyle et de mélange de lipides provenant du Jojoba (*Simmondsia chinensis*).

e- Cire de laine ou Lanoline

C'est une substance sécrétée par les glandes sébacées du mouton et obtenue à partir de la laine brute après lavage alcalin ou au détergent. Elle est constituée de 48-59 % d'esters aliphatiques (palmitate de cétyle essentiellement), de 32-35 % d'esters de stérols et d'alcools triterpéniques, de 6-20 % d'alcools libres, de 4-5 % de triterpènes et de stérols (Cholestérol et Lanostérol) (Jacob, 1999). Son point de fusion varie entre 35 et 42°C. Elle possède des propriétés émoullientes qui sont idéales comme ingrédient cosmétique de crèmes pour la peau (Clark, 1999).

La Lanoline est utilisée depuis l'antiquité en cosmétique et dermatologie, et plus récemment dans l'industrie des encres, des lubrifiants et des tissus de vêtement. La composition chimique des principales cires animales est donnée dans l'**annexe 3**.

La présente étude étant relative à l'étude de cires végétales, un accent particulier sera mis dans la description générale de ces cires.

III.2.2.2- Cires végétales

Les cires végétales, encore appelées cires cuticulaires, sont généralement produites et localisées à la surface des parties aériennes des plantes dont les fleurs, les feuilles et les fruits (Kolattukudy, 1976 ; Hamilton, 1995).

L'ultrastructure de ces organes indique que ces cires sont situées en général au niveau des cuticules, couches minces hydrophobes qui recouvrent la surface externe des tissus des plantes terrestres (**Figure 2**).

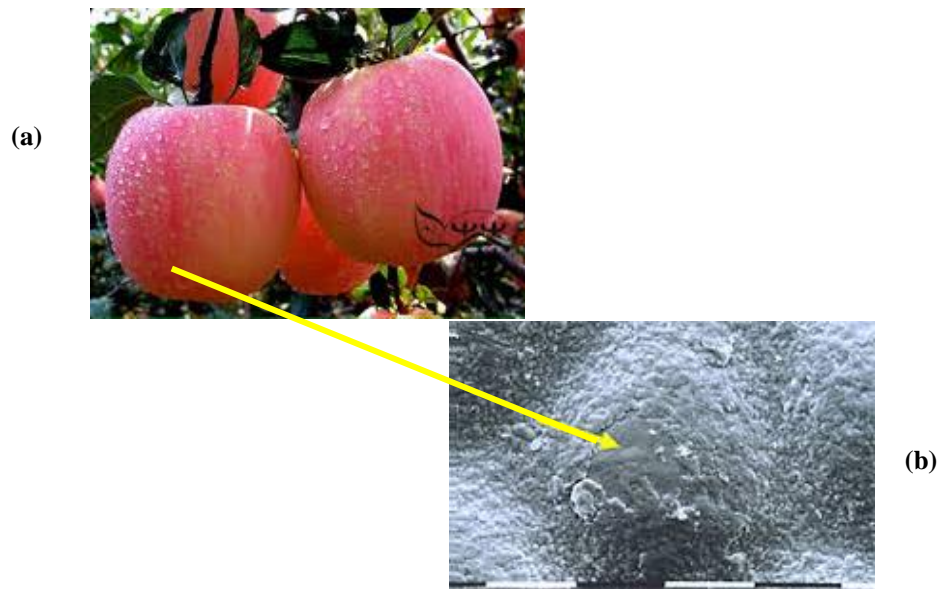


Figure 2: Illustration d'une MEB de la cuticule d'un fruit

(a) *Syzygium jambos* ; (b) surface cuticulaire au MEB

Elle est en effet constituée d'un polymère imperméable appelé cutine et de cires cuticulaires situées soit à l'intérieur de la cutine (cires intracuticulaires), ou à la surface de la cutine (cires épicuticulaires) (**Baker, 1982; Cutler et al., 1982; Holloway, 1982, 1994 ; Halinski and Szafrank, 2006**) comme indiqué par la **figure 3**.

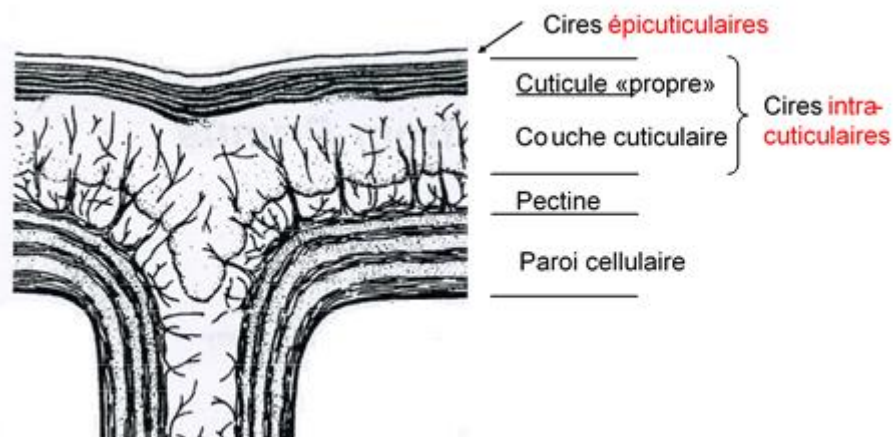


Figure 3: Schéma de la coupe transversale de la partie supérieure de l'épiderme d'un végétal (Jeffree, 1986)

Elle constitue en effet l'une des barrières végétales les plus importantes, car elle joue un rôle d'interface entre les tissus végétaux et l'environnement de la plante (**Riederer and Müller, 2008 ; Heredia-Guerrero et al., 2014**).

Elle assure diverses fonctions physiologiques et écologiques au niveau de la plante (Shepherd and Wynne Griffiths, 2006).

Le rôle principal assigné à la cuticule est celui du contrôle hydrique au niveau de la plante, en empêchant celle-ci d'absorber de l'eau du milieu extérieur, ou d'en perdre (Riederer and Schreiber, 2001). La cuticule possède également des fonctions secondaires comme celle de protéger la plante contre les agressions environnementales telles que les radiations UV (Krauss et al., 1997; Solovchenko and Merzlyak, 2003 ; Pfündel et al., 2006), les hausses de températures, la sécheresse et contre les menaces d'origine bactérienne ou fongique (Carver and Gurr, 2008). Par ailleurs, la présence de la cire épicuticulaire permet à la plante d'éliminer les dépôts de poussière, de pollen ou encore de polluants (Barthlott et al., 1998) et protège la plante contre l'humidité pendant les périodes de conservation. Enfin, de nombreux éléments mettent en évidence le rôle essentiel joué par la cuticule dans les interactions plante-insecte (Eigenbrode and Espelie, 1995 ; Eigenbrode, 1996 ; Müller, 2006).

La couche cuticulaire des plantes est fournie par la cutine, un polyester insoluble spécifique à la plante, composé d'acides hydroxy et époxy gras en C16 et C18 et de glycérol (Heredia, 2003). La matrice de la cutine est encastrée et recouverte de cires cuticulaires facilement extractibles par des solvants organiques (Jetter et al., 2008). La biosynthèse des cires cuticulaires implique l'allongement d'acyl-CoAs gras saturés en C16 et C18, en précurseurs de cires d'acides gras à très longue chaîne (AGTLC) possédant entre 24 et 34 carbones et leur modification ultérieure par la voie formant un alcane (décarbonylation) ou un alcool (réduction de l'acyle). La voie des alcanes conduit à la synthèse d'aldéhydes, d'alcanes, d'alcools secondaires et de cétones, tandis que la voie d'alcool donne des alcools primaires et des esters de cire (Kunst et al., 2008).

Les cires végétales épicuticulaires sont les cires localisées à la surface de la cuticule des organes de plantes et y forment au-dessus un film amorphe (Barthlott et al., 1998). Ce sont des mélanges complexes de composés aliphatiques et cycliques avec divers groupes fonctionnels et abondances dans différentes espèces de plantes (Walton, 1990).

Les cires intracuticulaires quant à elles, sont présentes au niveau de la cutine ou cuticule propre et de la couche cuticulaire de l'épiderme des végétaux comme l'indique le schéma de la **figure 3**.

IV- DIFFÉRENTES CIRES VÉGÉTALES

IV.1- Cires de céréales

Ces dernières années, de nombreuses cires végétales ont été extraites à partir de déchets agricoles disponibles en grande quantité, tels que le son de riz, la paille de blé, d'avoine et de Sorgho (**Hwang et al., 2002; Sin, 2012 ; Pham, 2018**). En effet, pour chaque tonne de céréales produite dans le monde, environ 1,5 tonne de paille est produite en tant que sous-produit agricole. Cela donne une production mondiale de 1000 millions de tonnes de céréales par an et environ 1500 millions de tonnes de paille de céréales (**Stacey, 1976 ; Sin, 2012**). La Chine est le principal contributeur à cette énorme quantité de paille, ce pays pouvant produire plus de 700 millions de tonnes de paille de céréales par an (**Stacey, 1976**). Des cires cuticulaires ont également été extraites des feuilles de tubercules tels que la patate (**Halinski and Szafranek, 2006**).

IV.2- Autres cires végétales d'importance industrielle

IV.2.1- Cire de Carnauba

La cire de Carnauba encore surnommée « reine des cires végétales » est extraite à partir des feuilles d'un palmier brésilien appelé Carnauba (*Copernicia prunifera/cerifera*). Ce palmier peut atteindre une hauteur de 20 m, et une durée de vie allant jusqu'à 200 ans. La cire est obtenue par battage des feuilles, après qu'elles aient été coupées et séchées. Cette opération conduit à l'obtention d'une quantité de poudre que l'on traite pour obtenir la cire. Environ 5 à 8% de cire peut être récupérée en fonction de la taille de la feuille, de l'âge et des conditions de croissance (**Warth, 1956**). La couleur de la cire brute obtenue varie du jaune brun, gris-vert ou gris brun, en fonction des conditions climatiques au cours de la période de végétation et de l'âge de la feuille. Avec son point de fusion particulièrement élevé (78-85°C), cette cire est connue comme faisant partie des cires naturelles les plus dures (**Sin, 2012**). À la température ambiante, la cire a une odeur faiblement aromatique et une odeur caractéristique de foin (semblable à la coumarine) à l'état fondu (**Krendlinger et al., 2015**).

La cire de Carnauba est utilisée principalement en mélange avec la cire d'abeille et d'autres cires pour faire divers produits de cirage pour chaussure, certains produits de polissage de plancher et de meubles, mais aussi dans des applications cosmétiques (rouge à lèvres, crèmes), dans le domaine agro-industriel (enrobage brillant de bonbon, de chewing-gums, et de fruit), et enfin dans l'industrie papetière (la plus grande application aux Etats-Unis).

IV.2.2- Cire de Candelilla

La cire de Candelilla est obtenue à partir de feuilles de Candelilla (*Euphorbia antisyphilitica*), un arbuste présent dans les régions semi-désertiques des États-Unis, du Mexique et de certaines régions d'Amérique centrale et d'Amérique du Sud (**Aguilar et al., 2012**). C'est un mélange complexe composé d'hydrocarbures, d'esters, de lactones, d'alcools et d'acides gras.

La cire forme un système de protection au-dessus des feuilles de la plante pour réduire les pertes excessives d'eau. Pendant la saison des pluies, les dépôts de cires sur la surface de la tige sont minimales car il n'est pas nécessaire de dessécher la plante (**Rojas-Molina et al., 2013**). La cire est extraite en chauffant la plante dans de l'eau bouillante avec une solution d'acide sulfurique à 1% qui est ajoutée pour améliorer la récupération de la cire et réduire la formation de mousse (**Hamilton, 1995**). La couche cireuse située au-dessus de la couche aqueuse est enlevée, filtrée et chauffée doucement pour éliminer l'eau en excès. Son point de fusion est de 67-79°C.

La cire de Candelilla est utilisée principalement en mélange avec d'autres cires pour les durcir sans augmenter leur point de fusion. Cette cire est également utilisée dans les produits cosmétiques (baumes à lèvres et barres de lotion), dans les produits pharmaceutiques et dans les produits alimentaires pour améliorer la stabilité et la texture en remplacement de la cire d'abeille (**Aguilar et al., 2012**).

IV.2.3- Cire d'Ouricouri

La cire d'Ouricouri, également connue sous le nom d'Ouricuri ou uricury, est extraite de la face inférieure des feuilles d'un grand palmier d'origine brésilienne appelé Ouricouri (*Syagros coronata*, *Cocos coronata*) (**Warth, 1956**) et est très proche de la cire de Carnauba en termes de propriétés physiques avec un point de fusion autour de 82°C. Son utilisation a beaucoup chuté actuellement du fait de la faible disponibilité du matériel végétal duquel elle est extraite (**Krendlinger et al., 2015**).

IV.2.4- Cire de Jojoba

La cire de Jojoba est extraite à partir de graines oléagineuses d'un arbre appelé *Jojoba* (*Simmondsia chinensis*, *Euphorbiaceae*). Cet arbre est aujourd'hui cultivé au Mexique, en Arizona et en Californie. Sa culture a également été expérimentée en Afrique, en Israël, en Australie et en Chine. Cette cire est particulièrement spéciale en son genre du fait de son état physique liquide avec un point de fusion de 7°C environ (**Warth, 1956**).

Elle est constituée presque exclusivement d'esters d'alcools et d'acides gras à longues chaînes (plus de 97%), d'alcools libres (environ 1,1%), d'acides gras libres (1%) et de stérols (**Krendlinger et al., 2015**).

Contrairement à la plupart des huiles, la cire de Jojoba est très résistante à l'oxydation et est utilisée en cosmétique pour la fabrication de crème de peau, d'huiles antisolaires, de champoings et de savons. Elle est étudiée pour son application dans certains domaines comme agent de contrôle de mousse et additif alimentaire.

IV.2.5- Cire de canne à sucre

La cire de canne à sucre est sous forme de dépôt poudreux, jaune pâle à jaune foncé, sur les tiges de canne à sucre (en particulier dans les nœuds épaissis) en quantités de 0,1-0,25 % en fonction du poids de la canne à sucre, dépendant du pays d'origine de sa culture (**Krendlinger et al., 2015**). Elle est généralement extraite de la bagasse (**Warth, 1956**) formée lors de la transformation de la canne à sucre en utilisant comme solvant d'extraction des alcools, du disulfure de carbone, du tétrachlorure de carbone, ou des hydrocarbures aromatiques et aliphatiques (**Paturau, 1989; Yadav, 2014**).

La cire de canne à sucre brute peut être utilisée pour le lustrage de chaussures, de voitures et de sols, pour le nettoyage du cuir, comme additif pour les adhésifs, pour le traitement des métaux, comme agent de démoulage, et comme lubrifiant pour l'industrie des plastiques et des cosmétiques. Elle peut être également utilisée pour des applications « sombres », par exemple dans l'industrie du bitume, pour la construction de routes, en tant qu'agent d'imprégnation pour pièces humides et en tant que cirage pour chaussures noires (**Krendlinger et al., 2015**).

IV.2.6- Cire de son de riz

Le traitement du riz libère de nombreux sous-produits dont les sons de riz. L'huile extraite à partir de sons de riz contient des quantités non négligeables en cire dont le point de fusion varie entre 74 et 79°C (**Kim and Godber, 2014**). Les composants principaux de la cire de son de riz sont des cérides qui représentent 93 à 94% de la cire (**Vali et al., 2005**).

Cette cire est utilisée surtout comme constituant pour l'enrobage de produits chocolatés et dans la fabrication de rouge à lèvres. Les pommades préparées à base de cette cire présentent une meilleure diffusibilité que celles préparées avec les bases standards (**Sabale et al., 2009**). En outre, la Food and Drug Administration (FDA) autorise l'ajout direct de la cire de son de riz dans les aliments.

Il existe nombreuses autres cires végétales décrites dans la littérature mais dont l'importance est mineure en terme de production industrielle ou du fait qu'elles ne soient pas encore industriellement utilisables. Certaines d'entre elles ont un intérêt purement académique. Ce sont en l'occurrence les cires de Lin, de Raphia, d'Esparto, de Luzerne, de Bambou, de Chanvre, de Liège, d'Avocat, de Coton, de Thé, de Café, de Lauriers roses, de Fleurs et de Palmiers.

V-COMPOSITION DES CIRES VÉGÉTALES

Les cires végétales sont un enchevêtrement complexe de composés organiques majoritairement aliphatiques qui diffèrent dans le nombre, l'abondance relative et la distribution de chaque classe de constituants. Ces composés aliphatiques se présentent sous forme de chaînes saturées, variant de 20 à 34 atomes de carbones, dérivées d'acides gras à très longues chaînes (**Jetter and Kunst, 2008**). Les cires cuticulaires peuvent inclure des composés cycliques et aromatiques tels que des triterpénoïdes, des alcaloïdes, des phénylpropanoïdes et des flavonoïdes. La spécificité des cires cuticulaires entre les espèces végétales repose sur la composition des classes de composés chimiques et la distribution des longueurs de chaînes carbonées (**Jetter et al., 2008**). Cette diversité s'établit au cours de la biosynthèse des cires au sein des cellules épidermiques, à travers deux voies métaboliques: l'élongation des précurseurs d'acides gras et leur transformation en composés cireux par le greffage de groupes fonctionnels (**Kunst et al., 2008**).

Les principales classes de composés aliphatiques présentes dans les cires végétales cuticulaires sont les alcanes, les aldéhydes, alcools primaires, les acides gras et les esters. Des composés avec des groupes fonctionnels secondaires (cétones, alcools secondaires, diols) apparaissent dans les cires de certaines espèces sous forme d'isomères ou avec des longueurs de chaînes carbonées similaires (**Jetter and Kunst, 2008**). Les composés constitutifs des cires diffèrent par leur composition chimique de ceux des tissus internes et des organelles cellulaires d'une même plante (**Dominguez and Heredia, 1998**).

La composition des cires varie considérablement en fonction de la source végétale, des espèces, de l'âge de la plante, de la position géographique et même en fonction des méthodes utilisées pour leur extraction. On note également des différences dans la composition au sein d'une plante en fonction de l'organe utilisé (feuilles, fleurs, amande, ou fruits).

Le **tableau 2** donne les composés majeurs fréquemment rencontrés dans les cires végétales (**Heredia, 2003; Sin, 2012; Heredia-Guerrero et al., 2014; Yadav et al., 2014**).

Tableau 2: Familles des composés usuelles des cires cuticulaires

Familles de Composés	Formules chimiques	Longueurs de chaînes	Homologues majeurs
<i>Acides gras</i>	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$	$\text{C}_{16}-\text{C}_{32}$	$\text{C}_{24}, \text{C}_{26}, \text{C}_{28}$
<i>Aldéhydes</i>	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{CHO}$	$\text{C}_{22}-\text{C}_{32}$	$\text{C}_{26}, \text{C}_{28}, \text{C}_{30}$
<i>Alcools primaires</i>	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2\text{OH}$	$\text{C}_{22}-\text{C}_{32}$	$\text{C}_{26}, \text{C}_{28}, \text{C}_{30}$
<i>Alcanes</i>	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$	$\text{C}_{21}-\text{C}_{35}$	$\text{C}_{29}, \text{C}_{31}$
<i>Alcools secondaires</i>	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{CHOH}-$ $(\text{CH}_2)_m-\text{CH}_3$	$\text{C}_{23}-\text{C}_{33}$	$\text{C}_{29}, \text{C}_{31}$
<i>Esters</i>	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{COO}-$ $(\text{CH}_2)_m-\text{CH}_3$	$\text{C}_{36}-\text{C}_{70}$	$\text{C}_{40}, \text{C}_{42}, \text{C}_{44}$

Source: (*Sin, 2012*)

V.1- Hydrocarbures

Les hydrocarbures que l'on retrouve dans les cires végétales sont principalement des n-alcanes, et des alcanes et alcènes à chaînes ramifiées. Les n-alcanes représentent en général plus de 50% des hydrocarbures (**Eglinton et al., 1962**) et ils existent principalement en chaînes carbonées impaires ($\text{C}_{27}, \text{C}_{29}, \text{C}_{31}$ et C_{33}). La cire de Candelilla se distingue nettement des autres cires commerciales car elle contient une proportion particulièrement élevée d'hydrocarbures (**Sin, 2012**). Les alcènes dans les cires végétales ont tendance à être mono-insaturés avec la double liaison en position 1 (**Herbin and Robins, 1969**).

En raison de leurs longues chaînes carbonées, les hydrocarbures présents dans les cires végétales sont très hydrophobes et peuvent être isolés et utilisés en remplacement des cires paraffiniques présentes dans de nombreuses applications (**Srivastava and Handoo, 1993**).

V.2- Esters

Les esters de cires encore appelés cérides, constituent une autre classe quasi-omniprésente de composés pouvant exister jusqu'à 80% au sein des cires végétales. Toutefois, les cires d'abeille, de carnauba et de Lanoline contiennent en composition au moins 80% de cérides (**Tulloch, 1971 ; Kolattukudy, 1976; Sin, 2012**). Ce sont des esters à longues chaînes carbonées, dérivés d'acides gras et d'alcools de longueur de chaîne égale ou supérieure à 12 atomes de carbone (**Blomquist et al., 1980; Al-Arafi and Salimon, 2012; Lusas et al., 2017**). Ils représentent l'un des groupes de molécules les plus importantes dans les cires végétales, et leur confèrent de nombreuses applications (**Gunawan et al., 2005**).

Les mono-esters en sont les plus courants et sont généralement composés d'acides saturés à longues chaînes (C12 - C30) et d'alcools (C20 - C32) (**Audisio et al., 1987**). Mais on trouve également des esters insaturés dont la ou les doubles liaisons proviennent habituellement de l'acide. Les cériques présentent des caractéristiques biologiques intéressantes telles que la réduction du cholestérol chez l'homme (**Christie, 2012**).

V.3- Acides gras

La plupart des acides gras $C_nH_{2n}O_2$, rencontrés dans les cires végétales ont un poids moléculaire élevé et sont donc de consistance cireuse. Les plus connus commercialement sont les acides laurique, myristique, palmitique, stéarique, arachidique et béhénique (**Warth, 1956**). Bien que les acides de teneur en carbone encore plus élevée soient encore plus cireux, ils ne sont toutefois pas facilement isolables pour des usages industriels.

On retrouve les acides gras dans les cires végétales sous formes libres et/ou combinées. Ils sont le plus souvent linéaires, généralement sous forme de chaînes saturées paires et ont un nombre de carbone allant de C16 à C34 (**Wilkinson and Cummins, 1981**). Ils sont assez dominants chez certaines plantes où on peut trouver jusqu'à 40% d'acides gras libres (**Bianchi et al., 1978**).

V.4- Alcools

Dans les cires végétales, on retrouve souvent les alcools primaires et les alcools secondaires à longues chaînes carbonées appelés polycosanols. Les alcools primaires pouvant représenter jusqu'à 60% de la cire totale sont courants et ces molécules sont généralement à chaînes linéaires de longueurs allant de C20 à C34. Dans les céréales, et particulièrement dans le blé, un seul alcool primaire a tendance à être prédominant (l'hexacosanol (C26) ou l'octacosanol (C28)) (**Giese, 1975; Bianchi et al., 1982; Irmak et al., 2006**). Des alcools secondaires sont également identifiés chez les plantes, mais ils sont principalement de numéros de chaînes impairs et le groupe hydroxyle est généralement en 10^{ème} ou 15^{ème} position dans une chaîne alkyle en C29 et en 9^{ème} ou 16^{ème} position dans une chaîne en C31 (**Kolattukudy et al., 1973; Mladenova et al., 1977**).

Il existe également des alcools gras libres rencontrés au sein des cires végétales qui sont généralement des n-alcanols avec des longueurs de chaînes de 20 à 30 atomes de carbone. L'identification de ces alcools dans les cires de blé a été abondamment rapportée dans la littérature (**Tulloch and Hoffman, 1971 ; Bianchi and Corbellini, 1977**).

V.5- Cétones

Les cétones identifiées au sein des cires végétales sont majoritairement les β -dicétones qui peuvent être présents en tant que constituant majeur des cires jusqu'à 70 % dans certaines espèces végétales. Environ 10 à 50 % des β -dicétones ont été signalés dans des céréales telles que le blé, l'orge et l'avoine (**Tulloch, 1976**).

V.6- Aldéhydes

Des aldéhydes ont également été identifiés dans de nombreuses cires végétales (**Kunst and Samuels, 2003**). Ce sont des composés intermédiaires entre les précurseurs des alcools et des acides gras.

V.7- Autres composés mineurs

Les composés que l'on retrouve de façon mineure dans les cires végétales sont les composés cycliques qui se composent principalement de stérols et de triterpénoïdes. Les stérols végétaux, également appelés phytostérols, sont des groupes tétracycliques de molécules trouvés dans les plantes et les plus courants sont le stigmastérol, le β -sitostérol et le campestérol (**Jiang and Wang, 2005**). Les plantes peuvent contenir jusqu'à 3 mg de stérols par gramme de poids sec (**Schaller, 2004**). Les stérols dans les plantes ont tendance à être des constituants de la membrane avec comme fonctions principales la régulation de sa fluidité et la perméabilité à l'eau (**Demel and De Kruffy, 1976**).

Les triterpénoïdes sont des composés pentacycliques et existent souvent comme des alcools triterpéniques, des cétones et des acides. Les plus courants sont les amyrynes, les ursanes, les lupanes et les oléaux (**Ohmoto et al., 1970 ; Akihisa et al., 1996**).

Le motif et l'abondance des différentes classes de composés des cires végétales dépendent de l'expression génétique par la voie de la biosynthèse et des influences environnementales (**Giese, 1975; Millar and Kunst, 1997**).

VI- DOMAINES D'APPLICATION DES CIRES

Les cires, qu'elles soient naturelles ou synthétiques, possèdent des applications très variées en fonction de leurs origines, leur propriétés physico-chimiques, et leurs compositions.

En outre, les cires possèdent certaines propriétés particulièrement intéressantes telles que la malléabilité, la plasticité et le caractère filmogène.

Grâce à ces propriétés intrinsèques liées à la variabilité de leurs compositions, les cires trouvent de nombreuses applications dans divers domaines tels que ceux des industries pharmaceutiques (boules Quies de protection auditive, pilules, suppositoires, onguents, savons, liniments, thériaque, moules dentaires, élément de chirurgie ostéo-articulaire), cosmétiques (fabrication de pommades diverses, crèmes, savons, cérats, crayons, rouges à lèvres), des bougies, du cirage (pour l'entretien des cuirs), des matériaux de revêtement, et agro-alimentaires (fabrication d'emballages pour fromages et certains fruits, enrobage de certains bonbons pour les rendre brillants, agent de consistance pour les chewing-gums) (**Hamilton, 1995; Lecomte, 2009; Yao et al., 2013**). Elles peuvent être utilisées seules ou associées à des corps gras comme le beurre de cacao, la Lanoline, la Vaseline et les Parrafines. Leur non toxicité, leurs bonnes propriétés liposolubles et excellent comportement au mouillage aux interfaces les rendent très spéciales pour être utilisées dans les formulations cosmétiques (nettoyantes, conditionneuses et hydratantes.) (**Peter, 2001**). Elles sont également utilisées comme lubrifiants, produits de cirage, plastifiants, produits de lustrage, adhésifs et colorants (**Al-Arafi and Salimon, 2012**) comme additifs pour l'amélioration de la résistance à la corrosion de certains matériaux (**Marrion, 2004**).

CHAPITRE II : PLANS D'EXPÉRIENCES ET OPTIMISATION

Ce chapitre s'attachera à décrire brièvement l'outil chimiométrique des plans d'expériences et les méthodes d'optimisation.

I- CONTEXTE D'OPTIMISATION

Le marché global des cires est actuellement très favorable aux cires d'origines végétales eu égard aux nombreux problèmes environnementaux associées à l'obtention des cires d'origine pétrolière. En effet, les nouveaux procédés et technologies de raffinage du pétrole, largement développés dans les pays occidentaux à la fin des années 1990 ne génèrent plus de paraffines. Ainsi, la production des cires d'origine pétrolière a chuté de 30 % aux Etats-Unis, et de 15 % en Europe depuis 1998 (**Lecomte, 2009**).

De ce fait, l'amélioration du rendement d'extraction des cires végétales devient une nécessité. L'application des techniques statistiques telles que les plans d'expériences rend cette amélioration de plus en plus possible. Ces méthodes qui permettent l'expérimentation dans un nombre minimal d'expériences (**Goupy, 2006**) donnent aussi la possibilité d'optimiser les conditions opératoires afin d'avoir les résultats souhaités.

En somme, les plans d'expériences et l'optimisation sont des outils fondamentaux basés sur les statistiques et utilisés pour examiner différents types de problèmes qui se posent en recherche et développement ainsi qu'en production.

II- PLANS D'EXPÉRIENCES

II.1- Présentation générale

L'un des objectifs majeurs des plans d'expériences en recherche est la compréhension des phénomènes naturels car ces plans aident beaucoup aussi bien dans sa reproduction pour des buts utiles de la vie que pour la résolution de problèmes spécifiques ou encore pour une meilleure compréhension de notre environnement (**Koné, 2018**).

Un plan d'expériences peut se définir comme un outil statistique permettant d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles. Il s'agit plus concrètement d'une suite d'essais rigoureusement organisés afin de déterminer avec un minimum d'essais et un maximum de précision, l'influence respective de différents paramètres de conception ou de fabrication d'un produit (**Goupy, 2001**). Ainsi, ils mettent en évidence les relations qui peuvent exister entre une variable dépendante (appelé réponse) et des facteurs (appelés paramètres) influençant cette réponse. Ces relations sont étudiées de

sorte à faire varier tous les facteurs et à apprécier l'effet de ces variations sur la réponse. Cette méthodologie peut aussi mettre en évidence interactions éventuelles entre les facteurs (Cochran and Cox, 1992; Kra et al., 2006).

II.2- Principe

Les plans d'expériences consistent à faire varier simultanément les niveaux d'un ou de plusieurs facteurs (qui sont des variables discrètes ou continues) à chaque essai. Ceci va permettre d'une part, de diminuer fortement le nombre d'expériences à réaliser tout en augmentant le nombre de facteurs étudiés et d'autre part, à détecter les interactions entre les facteurs et à déterminer le réglage dit optimal de ces facteurs par rapport à une réponse (Feinberg, 1996). L'ensemble des conditions expérimentales imposées à des facteurs est souvent appelé le plan d'expérimentation. La structure mathématique formelle dont le plan d'expérimentation est une application dans le monde réel est appelé matrices d'expériences (Goupy, 2006).

II.3- Intérêt des plans d'expériences

Les plans d'expériences sont applicables à de nombreuses disciplines telles que la Recherche et développement et à la plupart des industries surtout dans les contextes où l'on recherche le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt, Y , et des variables, X_i . Ainsi l'on pourrait faire recours aux plans d'expériences si l'on s'intéresse à une fonction du type : $Y = f(X_i)$. Ils sont couramment utilisés dans les domaines industriels (Tinsson, 2010).

Il existe de nombreux plans d'expériences pouvant être adaptés à tous les cas rencontrés par un expérimentateur. Mais ils peuvent essentiellement être divisés en deux groupes (Cochran and Cox, 1992) : les plans de premier degré et ceux du second degré. Les plans de premier degré sont composés de plans dont l'hypothèse principale est la linéarité qui existe entre la réponse et chaque facteur. Par conséquent, seuls deux points (ou deux niveaux) sont suffisants pour établir la relation entre ces deux types de variables (c'est-à-dire réponse et facteurs). Dans ce groupe de plan, on peut citer les plans factoriels complets (PFC) et les plans factoriels fractionnaires (PFF). Les plans de second degré sont des plans où l'hypothèse de linéarité n'est plus respectée. Les plans de ce type sont le plan central composite dont les matrices composites permettent d'estimer les coefficients du modèle polynômial de second degré.

L'utilisation des plans d'expériences vise à :

- déterminer des facteurs clés dans la conception d'un nouveau produit ou d'un nouveau procédé ;

- optimiser des réglages d'un procédé de fabrication ou d'un appareil de mesure ;
- prédire par modélisation le comportement d'un procédé.

Ainsi, les plans d'expériences s'inscrivent dans une démarche générale d'amélioration de la qualité. Le succès de la démarche originale des plans d'expériences réside dans la possibilité d'aboutir aux résultats escomptés et de les interpréter avec un effort minimal sur le plan expérimental. La minimisation du nombre d'expériences à effectuer pour une étude donnée permet un gain en temps et un gain financier.

II.4- Quelques définitions

Dans la méthodologie des plans d'expériences, certaines notions importantes interviennent. Ce sont la réponse, les facteurs, le domaine expérimental, la planification d'expériences et analyses de données ainsi que la signification des effets des facteurs.

La réponse est la grandeur d'intérêt à mesurer à chaque essai. On qualifie également de réponse, la grandeur qui est observée à chaque expérience réalisée. Elle ne peut être modifiée que de manière indirecte en faisant varier les variables.

On qualifie de facteur toute variable, obligatoirement contrôlable, susceptible d'influer sur la réponse observée (**Tinsson, 2010**). Lorsqu'un facteur varie, on dit qu'il change de niveau. La connaissance de l'ensemble de tous les niveaux utilisés pour chaque facteur est nécessaire pour la réalisation des expériences.

Il existe deux types de facteurs (**Feinberg, 1996**) :

- les facteurs quantitatifs qui sont exprimés à l'aide de valeurs numériques (pression, températures, durée) ;
- les facteurs qualitatifs qui ne sont pas exprimés à l'aide de valeurs numériques (couleur, type de matériau, sexe).

On appelle domaine expérimentale tout sous-ensemble dans lequel il est possible de réaliser les expériences. Il présente la réunion des domaines de variation de chaque facteur.

La planification d'expériences consiste à imposer aux facteurs des variations particulières, dans l'objectif d'obtenir des réponses diverses et à en déduire les relations entre facteurs (entrées) et réponses (sorties). L'expérimentateur établit ainsi une relation de cause à effet entre certains paramètres et les réponses qui caractérisent les résultats du phénomène (**Philippe T, 2008**). Pour la mise en œuvre des plans d'expériences, deux grandes étapes sont indispensables. Il s'agit en amont, de la planification des expériences, et en aval, de l'analyse des données.

Pour la signification des effets de facteurs, Il s'agit de savoir si les coefficients du modèle (facteurs et interactions) sont significativement différents de zéro. En effet, des valeurs mathématiques voisines de zéro peuvent être la conséquence de la dispersion expérimentale autour d'une valeur moyenne nulle. Un test de Student est réalisé pour vérifier la signification de ces effets en comparant la valeur de p-value (probabilité qu'un coefficient soit négligeable) avec le seuil de risque 5%.

Il existe différents plans d'expériences qui peuvent être adaptés aux divers cas rencontrés par un expérimentateur dont les plus classiques sont les plans :

- factoriels complets à deux niveaux ;
- factoriels fractionnaires à deux niveaux et les autres plans à deux niveaux ;
- à plusieurs niveaux ;
- pour surfaces de réponse ;
- de mélanges.

II.5- Description de quelques plans d'expériences

II.5.1- Plan factoriel complet à deux niveaux 2^k (plan de 1^{er} degré)

Les Plans Factoriels Complets (PFC) à 2 niveaux 2^k correspondent à un domaine d'application privilégié par la linéarité entre les facteurs et leurs réponses (**Perrin and Scharff, 1993**). Ils sont caractérisés par un nombre de facteurs réduit à un minimum avec des possibilités de diverses interactions. Cela conduit à une faible probabilité d'existence de termes du second degré dans le modèle (**Benjamin et al., 2001**).

Une matrice factorielle complète, notée 2^k , est obtenue en formant toutes les combinaisons de deux niveaux souvent appelées modalités ou états, codés arbitrairement -1 (niveau inférieur) et +1 (niveau supérieur) de chacun des k facteurs. Le nombre total d'expérience N est 2^k . Un plan factoriel complet 2^k nécessite toutes les combinaisons de deux versions de chacune des k variables. Les essais comprenant la conception expérimentale sont commodément présentés dans l'une ou l'autre des deux notations comme illustré dans le **tableau 3** pour les huit essais comprenant un plan factoriel 2^3 (**Box and Hunter, 1961**).

Tableau 3 : Expériences pour un plan factoriel 2^3

Numéro d'expériences	Notation 1	Notation 2
	Variables ABC	Variables 123
1	1	- - -
2	a	+ - -
3	b	- + -
4	c	- - +
5	ab	+ + -
6	ac	+ - +
7	bc	- + +
8	abc	+ + +

Dans la notation 1, les variables sont identifiées par des lettres majuscules, et leurs deux versions par la présence ou l'absence de la lettre minuscule correspondante. Lorsque toutes les variables sont à leur niveau "bas" ou version, un "1" est utilisé. Dans la notation 2, les variables sont identifiées par des nombres et les deux versions de chaque variable par un signe moins et plus, ou par (-1) et (+1). Pour un factoriel 2^k , la matrice de conception contient k colonnes et $N = 2^k$ lignes. Il y a une colonne pour chacune des variables k, et chaque ligne donne la combinaison de versions pour chaque cycle (**Box and Hunter, 1961**).

II.5.2- Plans factoriels fractionnaires à deux niveaux 2^{k-q} (Goupy, 2006)

Les plans factoriels fractionnaires (PFF) sont des plans factoriels qui permettent d'étudier tous les facteurs mais dont le nombre d'essais est réduit par rapport aux plans factoriels complets.

Un plan factoriel fractionnaire à 2 fois moins, ou 4 fois moins ou 2^q fois moins d'essais que le factoriel complet correspondant. A la fin d'un plan factoriel fractionnaire, on a un système de n équations à p coefficients inconnus avec p plus grand que n. On ne sait pas résoudre un tel système. Comme on ne peut pas augmenter le nombre d'équations, il faut diminuer le nombre d'inconnues. On y arrive en utilisant un artifice : on regroupe les coefficients de telle manière qu'il y ait n inconnues. On résout donc un système de n équations à n groupes de coefficients. On appelle ces groupes de coefficients, des contrastes ou des aliases et on dit que les coefficients sont aliasées dans les contrastes.

Pour k facteurs prenant deux niveaux, le plan complet est noté 2^k . Le plan fractionnaire, moitié du plan complet possède $1/2 \times 2^k$ ou 2^{k-1} essais. On peut ainsi donner une signification

à chaque caractère de cette notation : Le k signifie qu'il y a k facteurs étudiés. Le 2 signifie que chaque facteur prend deux niveaux. Le 1 signifie que le nombre d'essais du plan a été divisé par 2¹. Ainsi, un plan 2⁵⁻² permet d'étudier cinq facteurs prenant chacun deux niveaux en 8 essais. Le plan complet a été divisé par 2² = 4. Un plan 2^{k-q} permet d'étudier k facteurs prenant chacun deux niveaux. Le plan complet a été divisé par 2^q.

II.5.3- Plan de Taguchi

La méthode de Taguchi est une approche visant à enrichir les méthodes de plans d'expériences en apportant une amélioration considérable aux plans factoriels complets et fractionnaires. Ce plan est basé sur la mise en place d'une table orthogonale appelée « tables de Taguchi » (**Pillet, 1994**). Les Tables de Taguchi sont des plans de Plackett et Burman dans lesquels on a remplacé +1 par 1 et -1 par 2. Les noms des plans ont également été traduits. Le plan 2³ est la Table L8 et le plan 2⁴ est la Table L16. Le plan de 12 essais, appelé « Table L12 », est un plan de Plackett et Burman (**Goupy, 2006**).

L'objectif visé dans ce plan est de simplifier le protocole expérimental afin de mettre en évidence les effets de facteurs sur la réponse. Ainsi, la méthode de Taguchi se distingue par une réduction importante du nombre d'essais, tout en gardant une bonne précision. Elle place le modèle comme un élément clef de la stratégie des plans d'expériences. C'est un plan très utile dans le domaine de la qualité. Il vise à combiner un ensemble de techniques pour obtenir des améliorations rapides de la qualité et des coûts de production.

II.5.4- Plan de Plackett et Burman

L'une des particularités du plan de Plackett et Burman est qu'il permet d'étudier un grand nombre de facteurs en peu d'essais. Leur hypothèse est que l'ensemble des interactions entre facteurs est négligeable face aux effets des facteurs. Les matrices de Plackett et Burman ou d'Hadamard sont des matrices d'expériences dont les niveaux de chaque facteur ne prennent que deux états distincts, notés généralement -1 et +1 (ou même - et +). Le nombre d'expériences N qui le compose est toujours un multiple de 4 (**Perrin and Scharff, 1993**).

Les matrices d'Hadamard constituent l'une des méthodes les plus utilisées pour rechercher les facteurs influents dans un domaine donné, c'est le criblage de facteurs. Elles permettent de calculer les 'poids' relatifs des facteurs étudiés sur la réponse mesurée. Ces matrices sont utilisées pour séparer les facteurs suivant leur influence sur la réponse. Ce qui conduit à distinguer les facteurs importants, moyens, ou négligeables selon les résultats quantitatifs obtenus (**Perrin and Scharff, 1993**). Les matrices d'Hadamard permettent de calculer les effets de k facteurs, avec $k \leq N-1$ où N est le nombre d'expériences.

Les matrices de calcul des plans de Plackett et Burman sont des matrices d'Hadamard. C'est-à-dire des matrices ayant 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36 lignes et plus. Elles permettent donc des expérimentations ayant un nombre d'essais intermédiaire de celui des plans factoriels qui, eux, ont seulement 2^k lignes (4, 8, 16, 32, ainsi de suite). Le modèle mathématique est un modèle ne tenant pas compte des interactions entre les facteurs (**Plackett and Burman, 1946**). Le modèle expérimental implique que chaque combinaison de niveaux pour n'importe quelle paire de facteurs apparaît le même nombre de fois, pendant toutes les expériences (**Tableau 3**).

Tableau 4 : Exemple de matrice d'expériences de Plackett et Burman pour 7 facteurs

	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7
1	+	-	+	-	+	+	-
2	-	+	-	+	-	+	+
3	+	-	+	-	+	-	+
4	+	+	-	+	-	+	-
5	-	+	+	-	+	-	+
6	+	-	+	+	-	+	-
7	-	+	-	+	+	-	+
8	-	-	-	-	-	-	-

II.5.5- Plan centrale composite

Le plan d'expériences le plus classiquement employé pour l'étude des modèles de second degré est le Plan Central Composite noté PCC. Il permet une bonne étude quantitative des réponses. Il permet également, de déterminer des qualités optimales quant à la prévision de la réponse calculée en tout point du domaine (**Box et al., 1978**). Les matrices composites permettent d'estimer les coefficients d'un modèle mathématique polynomial du second degré. Le modèle mathématique qui ressort en général de ces matrices est le suivant : $Y = b_0 + \sum b_i X_i + \sum b_{ij} X_i X_j + \sum b_i X_i^2$.

III- OPTIMISATION

III.1- Définition

L'optimisation a pour but de modéliser, d'analyser et de résoudre analytiquement ou numériquement les problèmes relatifs à la minimisation ou à la maximisation d'une fonction sur un ensemble donné (**Candiotti et al., 2014**). Plackett et Burman définissent l'optimisation

comme la recherche des valeurs de facteurs qui donnent en fonction du but recherché, la meilleure valeur possible de la réponse (**Plackett and Burman, 1946**). Elle consiste à trouver les conditions expérimentales correspondant à un optimum de la réponse étudiée. Elle doit également permettre d'affirmer, avec un risque d'erreur raisonnable, qu'il n'existe pas d'autres conditions conduisant à une meilleure valeur de la réponse dans le domaine exploré (**Perrin and Scharff, 1993**). Dans le cas d'un modèle mathématique, il est possible de trouver les conditions optimales en utilisant des représentations simultanées en deux et trois dimensions des courbes iso-réponses (données par les logiciels statistiques spécifiques). Le complément solveur d'Excel peut également être utilisé pour la détermination des conditions optimales.

Il existe de nombreuses méthodes d'optimisation qui sont liés à la fonction à optimiser. Ici la méthode de simplex et l'algorithme génétique seront présentés en raison de la récurrence de leur utilisation et de leur relative simplicité.

III.2- Méthode de simplex

En optimisation mathématique, l'algorithme simplex de Dantzig ou méthode simplex est un algorithme très utilisé pour la programmation linéaire. Le nom de l'algorithme est dérivé du concept d'un simplex et a été suggéré par T.S. Motzkin (**Murty, 1983**). En réalité, la méthode ne fait pas réellement usage des simplex, mais une interprétation de celle-ci est qu'elle fonctionne sur des cônes simplex, et ceux-ci deviennent un simplex avec une contrainte additionnelle (**Stone and Tovey, 1991**). Les cônes simplex en question sont les voisinages des sommets d'un objet géométrique appelé polytope. La forme de ce polytope est définie par les contraintes appliquées à la fonction « objectif » (**Ficken, 2015**).

III.3- Algorithme génétique

L'Algorithme génétique est surtout utilisé en informatique et en recherche opérationnelle. C'est une métaheuristique inspirée par le processus de sélection naturelle qui appartient à la plus grande classe des algorithmes évolutionnaires (**Whitley, 1994**). Les algorithmes génétiques sont couramment utilisés pour générer des solutions de haute qualité aux problèmes d'optimisation et de recherche en s'appuyant sur des opérateurs bio-inspirés tels que la mutation, le croisement et la sélection (**Cerf, 1994; Renders, 1994**). Dans un algorithme génétique, une population de solutions candidates (appelées individus, créatures ou phénotypes) à un problème d'optimisation évolue vers de meilleures solutions. Chaque solution candidate a un ensemble de propriétés (ses chromosomes ou son génotype) qui peuvent être mutées et modifiées.

CHAPITRE III : TECHNIQUES D'EXTRACTION ET DE CARACTÉRISATION DES CIRES

Ce chapitre vise à décrire les techniques conventionnelles utilisées pour l'extraction et la caractérisation des cires végétales.

I- TECHNIQUES D'EXTRACTION DES CIRES

Comme dans le cas de l'extraction des huiles, il existe deux types de techniques d'extraction des cires : les techniques d'extraction sans solvant et les techniques d'extraction au solvant qui sont les plus répandues.

Il existe également des techniques d'extraction dites à froid et des extractions à chaud. Les extractions à froid sont relativement simples à mettre en œuvre, et ne nécessitent pas de source de chaleur. Cependant de nombreux travaux ont montré que le facteur chaleur est un facteur essentiel dans l'extraction de la plupart des lipides car la chaleur favorise l'extraction d'un maximum de composés avec des rendements intéressants. Ce qui privilégie les techniques d'extraction à chaud dans l'extraction des cires végétales.

I.1- Techniques d'extraction au solvant

Dans la littérature, de nombreuses techniques d'extraction utilisant des solvants ont été mises en œuvre pour extraire les cires végétales. De façon générale, les cires sont solubles dans les solvants aromatiques (benzène), le chloroforme, les éthers (éther diéthylique), les alcanes (n-hexane, cyclohexane, n-heptane), les esters (acétate d'éthyle), les cétones (acétone) et les alcools (éthanol, méthanol, isopropanol) (Sin, 2012).

Pour extraire la fraction lipidique neutre des substances oléagineuses et des aliments, on utilise des solvants organiques capables d'extraire les acides gras libres, les mono, di et triglycérides, ainsi que certains composants plus polaires tels que les phospholipides et les glycolipides.

I.1.1- Extraction par macération

La macération est un procédé d'extraction solide-liquide discontinu qui consiste à laisser séjourner la substance solide dans un solvant à température ambiante, durant une certaine durée pour en extraire les constituants solubles. Elle a l'avantage de ne pas détruire certains composés mineurs des cires, tels que les composés volatils. Cette technique est très utilisée par les botanistes pour l'extraction des cires.

I.1.2- Extraction par chauffage à reflux

Le chauffage à reflux est une technique d'extraction par solvant permettant de réaliser une transformation chimique à la température d'ébullition du mélange réactionnel, ce qui rend l'extraction plus rapide. Par chauffage, on maintient le mélange à ébullition et on condense les vapeurs émises grâce à un réfrigérant (**figure 4**). Le liquide résultant retourne ainsi dans le ballon, évitant toute perte de matière. Elle a été utilisée par certains auteurs pour l'extraction des cires végétales issues du sorgho et du blé (**Lochte-Watson and Weller, 1999; Hwang et al., 2002; Pham et al., 2018**). Les solvants généralement utilisés sont l'hexane, le chloroforme et l'ether de petrole.

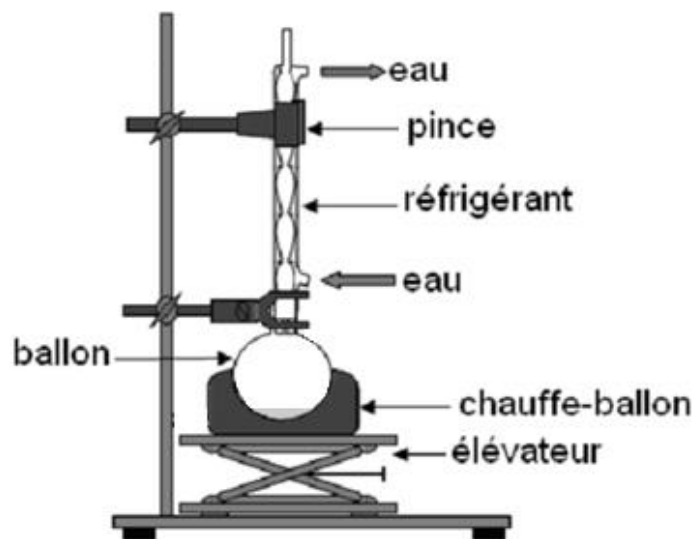


Figure 4 : Montage du chauffage à reflux

I.1.3- Extraction au Soxhlet

Un grand nombre de méthodes d'extraction des cires a été développé et décrit à des échelles de laboratoire. Ces méthodes sont aussi diverses et variées que les méthodes d'extraction des lipides en général. Parmi elles, la technique d'extraction au Soxhlet est l'une des plus couramment utilisée, dans lequel des solvants organiques sont utilisés pour solubiliser les lipides à partir de matériaux solides. A l'instar de tous les lipides, les cires sont des composés hydrophobes et sont habituellement extraits par l'hexane, le benzène, le chloroforme, l'éther de pétrole et l'acétone (**Hwang et al., 2002**). Jusqu'à présent, l'appareil Soxhlet est largement utilisé dans les laboratoires à l'échelle mondiale et est devenu la méthode standard et de référence pour la plupart des analyses de cires entrant dans les aliments, l'hexane étant utilisé comme solvant. L'extraction au Soxhlet sert de référence pour évaluer les résultats d'autres méthodes solide-liquide.

Elle permet généralement d'avoir les meilleurs rendements parmi les techniques classiques (**Luque de Castro et al.,1998**). L'utilisation de différents solvants donne lieu à des extraits ayant différentes compositions (**Zarnowski & Suzuki, 2004**).

L'échantillon prétraité est introduit dans une cartouche poreuse en cellulose qui est ensuite placée dans l'extracteur Soxhlet, comme le montre la **figure 5**. Au cours de l'extraction, le solvant est chauffé à son point d'ébullition et l'extracteur Soxhlet est ensuite rempli lentement avec un solvant condensé. Lorsque le solvant atteint le siphon top, l'extracteur Soxhlet rempli se vide dans le réservoir de solvant directement en dessous. Au cours de ce processus, le solvant extrait transporte l'extrait de matériaux. Ce cycle est répété en continu jusqu'à ce que le chauffage soit arrêté.

Cependant, la méthode présente plusieurs inconvénients tels que l'utilisation d'un temps relativement long, des solvants dangereux et inflammables et surtout des résidus dangereux restant dans les produits finaux. Afin de réduire le temps d'extraction, on a introduit des méthodes dérivées de Soxhlet telles que le Soxhlet intégrée ou assistée par micro-ondes et le Soxtec.

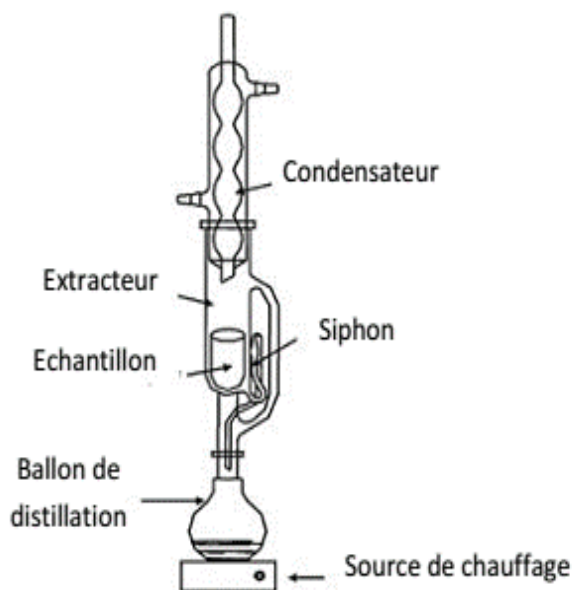


Figure 5 : Montage d'extraction au Soxhlet

I.1.4- Extraction FexIKA®

L'extraction FexIKA® est conçue pour remédier aux principaux inconvénients du Soxhlet tels que le volume élevé du solvant utilisé et le temps d'extraction prolongé (**Sin, 2012**). C'est un extracteur solide-liquide qui est basé sur le principe d'extraction du lit fluidisé dans le but de la conception pour réduire le volume de solvant et le temps d'extraction.

L'échantillon est chargé dans l'extracteur où la vapeur de solvant pénètre dans le filtre (**annexe 4**). Il imprègne l'échantillon et entre en contact avec le doigt de refroidissement. Le solvant condensé reste dans le tube d'extraction tandis que le niveau de solvant dans le récipient de base est continuellement réduit lorsque le chauffage se déroule. Cela permet une surveillance électronique en ligne des changements de température et des contrôles de rétroaction sur l'ensemble du processus. Lorsque le chauffage est éteint après un temps réglé, l'eau de refroidissement pénètre dans l'appareil pour refroidir le système. Le refroidissement et la condensation induits créent un vide et la pression différentielle résultante tirent le solvant avec l'extrait à travers le filtre et dans le récipient de base. Ce processus peut être répété en continu.

I.1.5- Extraction accélérée par solvant

L'Extraction accélérée par solvant (ASE) est une technique d'extraction commune conçue pour extraire à une température et à une pression élevées afin de réduire l'utilisation de solvant et de minimiser le temps d'extraction. Cette technique permet d'effectuer des extractions de solvant à la même température avec une pression élevée. Avec cette technique, la consommation de solvants peut être réduite de 90%, ce qui la rend moins coûteuse et plus respectueuse de l'environnement (**Sin, 2012**). Il s'agit d'un extracteur multi-cellules automatisé qui le rend idéal pour les extractions séquentielles et l'extraction d'un grand nombre d'échantillons (**annexe 5**).

L'extraction assistée par ultrasons est une méthode alternative pour l'extraction solide-liquide. Il est très similaire à l'extraction au Soxhlet avec l'aide d'ultrasons pour l'amélioration de la solubilité des solutés dans les solvants. L'avantage est que le temps d'extraction est raccourci par cette amélioration, et l'échographie peut aider à la perturbation cellulaire si l'on utilise un échantillon biologique qui pourrait permettre une meilleure pénétration du solvant dans l'échantillon.

Toutes les techniques décrites précédemment dépendent du chauffage conventionnel, mais l'extraction assistée par micro-ondes est un processus d'extraction efficace sans chauffage conventionnel. L'extraction peut être effectuée sous pression avec une température interne contrôlée. Cette technologie de pointe possède un temps d'extraction plus court et utilise moins de solvant par rapport à l'extraction traditionnelle au Soxhlet.

I.1.6- Extraction par Micro-onde assistée

Ce procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale ou non (**annexe 6**), broyée au préalable en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes pour l'extraction des composés polaires (le méthanol) ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les microondes pour l'extraction de composés apolaires (l'hexane). L'ensemble est chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement. Cette technique est beaucoup plus efficace qu'une méthode conventionnelle et permet de réduire le temps d'extraction et donc les dépenses en énergie.

La principale différence avec le Soxhlet est d'équiper le système Soxhlet avec un micro-ondes et /ou un dispositif de chauffage tel que décrit par **Virost et al., (2007)**, mais le principe du processus d'extraction reste similaire.

I.1.7- Extraction à l'eau bouillante

Certaines études ont montré qu'il est possible d'extraire de la cire à partir de l'eau bouillante. En effet, de la cire est traditionnellement extraite des baies *Myrica Cordifolia* en les faisant bouillir avec de l'eau. La cire flottante est ensuite enlevée par écumage. Le processus d'ébullition est réalisé pendant environ quatre heures pour extraire toute la cire du matériel végétal. La cire chaude est filtrée et recueillie dans des récipients séparés, puis refroidie à température ambiante jusqu'à solidification (**Schoeman, 2015**). Certaines cires telles que la cire de Carnauba et de Raphia sont également extraites en faisant bouillir la poudre obtenue par battage des feuilles dans de l'eau. On ajoute de l'acide sulfurique à l'eau, en quantité ne dépassant pas 5%, car il en résulte une cire de couleur plus claire avec un rendement plus élevé (**Warth, 1956**).

I.2- Technique d'extraction sans solvant

I.2.1- Cryo-extraction des cires à partir de l'azote liquide

Des études ont montré que l'azote liquide peut être utilisé pour extraire les cires présentes à la surface d'organes de plantes tels que les fruits, les feuilles et même des céréales (**Ketata et al., 2013; Diakité, 2018; Pham et al., 2018**) en les immergeant dans l'azote liquide. L'azote liquide n'est pas toxique et peut être éliminé du produit très facilement par simple évaporation.

I.2.2- Extraction assistée par ultrason

L'extraction par sonication est une méthode simple, efficace et peu coûteuse qui utilise des ondes sonores à une fréquence supérieure à 20 kHz. Les effets mécaniques des ultrasons

induisent une plus grande pénétration du solvant dans les matrices végétales et améliorent le transfert de matière. Ainsi, l'application des ultrasons accélère l'extraction à partir de sources végétales et dans certains cas permet aussi d'augmenter les rendements (**Vinatoru, 2001 ; Vilku et al., 2008 ; Poux et al., 2010**). Elle est considérée comme l'une des techniques d'extraction les plus simples car il est facile de la réaliser avec les équipements de laboratoire commun (bains à ultrasons).

I.2.3- Extraction au dioxyde de carbone supercritique

L'extraction au dioxyde de carbone (CO₂) supercritique a récemment été largement utilisée pour l'extraction de cires à partir de la biomasse pour de nombreuses raisons. En effet, en raison des préoccupations environnementales croissantes sur les solvants organiques traditionnellement utilisés pour l'extraction des cires tels que l'hexane et le dichlorométhane, des recherches approfondies ont été menées sur l'utilisation de solvants ou méthodes alternatifs plus verts (**Fox, 2009; Kerton and Marriott, 2013**). Ainsi, le CO₂ supercritique a été proposé comme méthode d'extraction « verte » pour l'extraction des cires (**Deswarte et al., 2006 ; Athukorala et al., 2009; Emily Sin, 2012**).

Le principe d'extraction répond à la capacité unique d'une substance à se diffuser à travers des solides comme un gaz et à dissoudre la cire présente dans le matériel végétal comme un liquide. Le dioxyde de carbone et l'eau sont les deux substances couramment utilisées pour extraire respectivement les composés hydrophobes et hydrophiles. Avec les propriétés distinctes de la faible viscosité et de la forte diffusivité du CO₂, elle pénètre plus rapidement dans le matériel solide poreux et rend le transfert de masse plus facile (**Sahena et al., 2009**). De plus, grâce à la facilité de modifier les propriétés des fluides supercritiques, par des changements mineurs de température ou de pression, l'extraction peut être sélective relativement aux composés recherchés (**Rombaut, 2013**). Les méthodes d'extraction aux fluides supercritiques utilisant du CO₂ ont été utilisées pour extraire de nombreuses cires (**Lang and Wai, 2001; Athukorala and Mazza, 2010 ; Sin, 2012**). **Emily Sin (2012)** dans ses travaux a comparé le rendement d'extraction ainsi que la composition des extraits obtenues à partir de cette technique aux techniques utilisant les solvants organiques traditionnels.

II- TECHNIQUES D'ANALYSES DES CIRES

II.1- Chromatographie sur Couche Mince

La chromatographie est une méthode physique de séparation de mélanges en leurs constituants. La Chromatographie sur Couche Mince (CCM) est effectuée surtout en vue de l'analyse d'un mélange. C'est une technique dont le principe est connu depuis plus de 100 ans (**Beyerinck, 1889**). Le succès de la CCM comme méthode de séparation analytique ultra-efficace, repose sur de nombreuses propriétés. Elle permet notamment :

- d'analyser un grand nombre d'échantillons en très peu de temps et elle est appropriée aux « screening tests » ;
- d'appliquer les résultats à la HPLC et à la flash-chromatographie ;
- de sauvegarder l'information de séparation à long terme (la plaque se conserve pour longtemps).

Cette technique est basée sur les différences d'affinités d'un ou de plusieurs composés à l'égard de deux phases (l'une stationnaire et l'autre mobile). La phase stationnaire solide est fixée sur une plaque (généralement en verre ou en aluminium), et la phase mobile liquide, nommée éluant, est un solvant ou un mélange de solvants. On dépose sur la phase fixe une petite quantité du mélange à séparer (l'échantillon) et l'on met cette phase au contact de la phase mobile. L'échantillon est entraîné par capillarité, par la phase mobile au travers de la phase stationnaire qui a tendance à retenir plus ou moins les composés de l'échantillon à l'aide de différentes interactions. C'est le phénomène d'élution, qui permet la séparation des constituants du mélange à analyser. L'échantillon est adsorbé puis désorbé sur la phase stationnaire, ou il est plus ou moins soluble dans la phase mobile. Chaque constituant migre d'une certaine hauteur, caractéristique de la substance, que l'on appelle rapport frontal ou référence frontale (R_f) dont l'expression est donnée par la relation (1) :

$$R_f = \frac{\text{hauteur de la tache}}{\text{hauteur du front du solvant}} \quad (1)$$

Chaque tache correspond à un constituant et on l'identifie par comparaison du R_f avec un témoin (une même substance migre à la même hauteur dans des conditions opératoires identiques d'où même valeur de R_f). Ainsi, la difficulté dans cette technique d'analyse est de trouver le bon éluant susceptible de séparer au mieux le mélange à analyser. En ce qui concerne les mélanges de lipides tels que les cires végétales, divers solvants ou mélanges de solvants ont été expérimentés. Ceux qui se sont révélés les plus efficaces dans la séparation de mélanges cireux sont ceux qui combinent, l'éther diéthylique, l'hexane et l'acide acétique.

II.2- Chromatographie sur Couche Mince à Haute Performance

La Chromatographie sur Couche Mince à Haute Performance (HPTLC) est une forme améliorée de la Chromatographie sur Couche Mince (CCM). En effet, certaines améliorations ont été apportées à la méthode de base de la couche mince en vue d'automatiser les différentes étapes (**figure 6**), d'augmenter la résolution obtenue et de permettre une mesure quantitative plus précise (**Morlock et al., 2010**). Aujourd'hui, grâce au perfectionnement de l'instrumentalisation et à l'automatisation de la technique de séparation, la HPTLC a gagné du terrain en tant que méthode de séparation analytique (**Kilz, 1992**).

La HPTLC est une nouvelle approche de détermination analytique de substances naturelles (**Nicoletti et al., 2012**). Elle est très utilisée dans les analyses qualitatives et quantitatives (**Stahl, 1956**). Avec le développement de couches pré-revêtues modernes et l'introduction d'équipements partiellement ou totalement automatisés, des analyses quantitatives très précises sont maintenant possibles avec la HPTLC (**Hahn-Deinstrop, 2007**). Les chromatogrammes sont générés sur l'ordinateur de l'appareil. La multitude de types des phases mobiles et fixes donne une abondance de combinaison possible rendant la technique personnalisable aux mélanges complexes d'extraits de plantes.



Figure 6: Dispositif d'analyse en HPTLC

II.3- Spectroscopie infrarouge FT-IR

La Spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier ou Spectroscopie IR-TF (FT-IR en anglais) est une technique d'analyse permettant d'obtenir le spectre d'absorption d'un échantillon solide, liquide ou gazeux. C'est une méthode d'analyse à caractère non destructeur qui mesure la quantité de lumière absorbée par un échantillon en fonction de la longueur d'onde émise par un faisceau infrarouge. Elle peut être couplée à différentes techniques d'analyses telles que l'Analyse Thermogravimétrique (ATG), la Résonance Nucléaire Magnétique (RMN ou encore les méthodes chromatographiques.

La caractérisation des cuticules de plantes par spectroscopies IR a fourni des informations importantes sur la nature des groupes fonctionnels présents dans la matrice des cuticules et sur le rôle structural, l'interaction et la disposition macromoléculaire de leurs composants (**Ramirez et al., 1992; Villena et al., 2000; Heredia-Guerrero et al., 2014**). Un exemple de spectre IR de cire brute d'abeille est donné par la **figure 7** (**Svečnjak et al., 2015**).

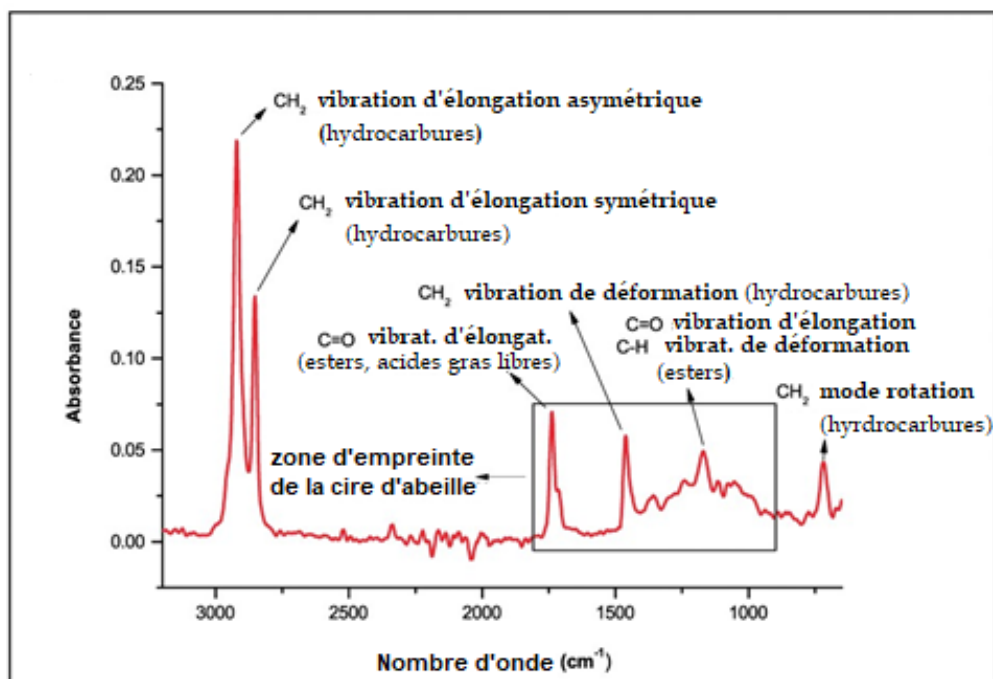


Figure 7: Spectre FT-IR de la cire brute d'abeille

II.4- Spectrophotométrie UV-Visible

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Plus cette espèce est concentrée, plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalité énoncées par la loi de Beer-Lambert. La densité optique des solutions est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de l'espèce chimique à étudier. Le principe de la méthode est décrit dans le paragraphe suivant.

Lorsqu'une lumière d'intensité I_0 passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s). L'intensité I de la lumière transmise est donc inférieure à I_0 . On définit l'absorbance de la solution par la formule de la relation (2) :

$$A = \log_{10}\left(\frac{I_0}{I}\right) \quad (2)$$

On parle aussi de transmittance définie par la relation $T = \left(\frac{I}{I_0}\right)$ c'est-à-dire $A = -\log T$. L'absorbance est une valeur positive sans unité et est d'autant plus grande que l'intensité transmise est faible. Le principe de fonctionnement du spectrophotomètre UV-visible est donné par **la figure 8**.

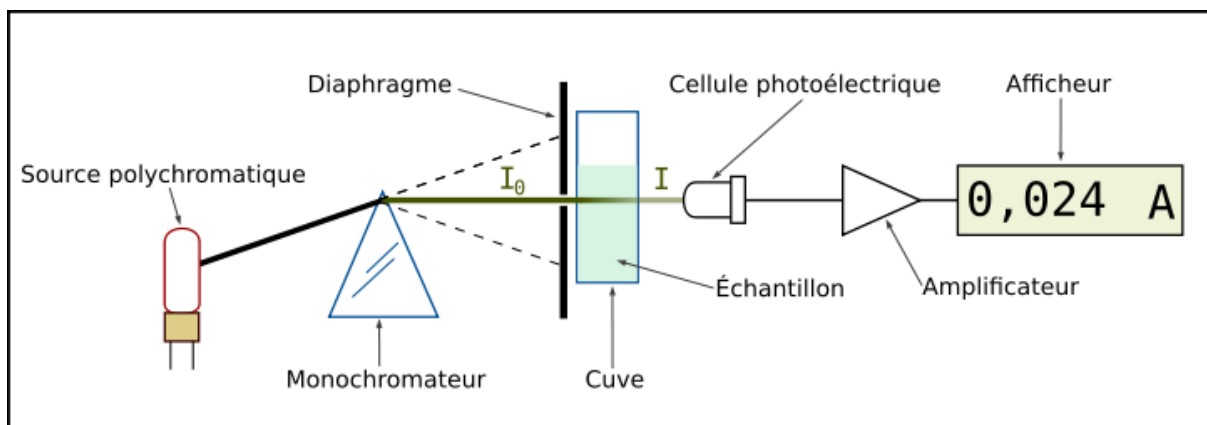


Figure 8 : Schéma de principe du spectrophotomètre UV-visible mono faisceau

Un spectrophotomètre est composé de trois éléments principaux :

- **un émetteur** constitué d'une lampe qui produit le rayonnement lumineux et d'un monochromateur qui « filtre » la lumière pour ne laisser passer qu'une lumière monochromatique. Il y a généralement deux lampes : une lampe à hydrogène ou à deutérium dont le spectre va de 120 nm à 400 nm et une lampe à filament de tungstène ou à vapeur d'halogène dont le spectre va de 350 nm à 900 nm.
- **un analyseur** composé d'un système qui permet de transformer un signal lumineux en un signal électrique, lui-même converti en valeur numérique lue sur le cadran de mesure ;
- **une cellule d'analyse** qui permet d'intercaler les échantillons à étudier sur le trajet du faisceau lumineux.

La spectrophotométrie UV-visible a été utilisée par **Inarkar and Lele (2012)** et **Athukorala et al. (2009)** pour identifier des composés présents respectivement dans des cires de canne à sucre et de lin, absorbant à des longueurs d'ondes données. La courbe de la **figure 9** illustre les résultats obtenus par **Inarkar and Lele (2012)**.

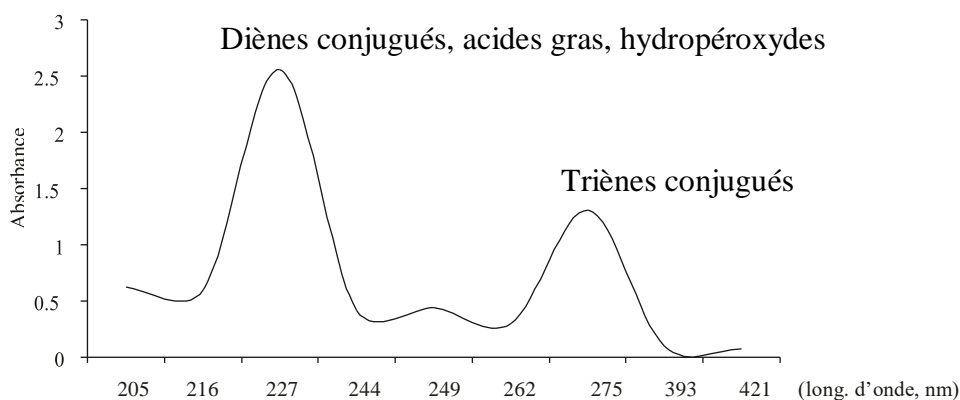


Figure 9 : Spectre UV-visible de la cire brute de canne à sucre

II.5- Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

Le Microscopie Électronique à Balayage (MEB) est l'un des instruments les plus polyvalents disponibles pour l'examen et l'analyse de la morphologie de la microstructure et pour les caractérisations de la composition chimique (Zhou et al., 2006). La figure 10 indique des micrographies de cires végétales observés sur la cuticule de plantes à partir d'une MEB (Barthlott et al., 1998) .

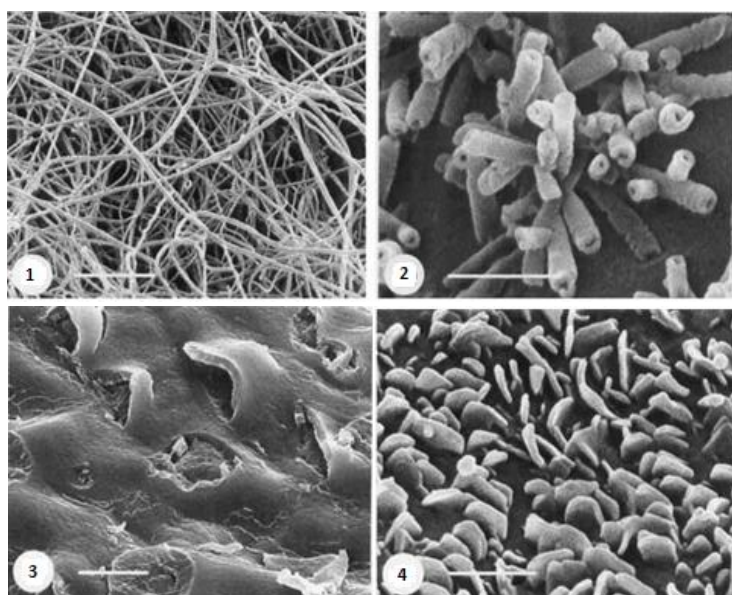


Figure 10 : Micrographie de cires végétales au MEB

- 1 : forme cristalloïde en filaments issue de *Drosera Burmani*. Ech : 2 μ m
- 2 : forme cristalloïde en tubules issue de *Lonicera korolkovii*. Ech : 1 μ m
- 3 : forme cristalloïde en film cireux issue de *Hydrocotyle bonariensis* Ech : 10 μ m
- 4 : forme cristalloïde en plaquettes issue de *Habropetalum dawei*. Ech : 1 μ m.

La MEB est une technique de microscopie basée sur le principe d'interactions-électrons matière. Un faisceau d'électrons balaie la surface de l'échantillon à analyser qui en réponse, réémet certaines particules. Différents détecteurs permettent d'analyser ces particules et de reconstruire une image de la surface. Les Microscopes Electroniques à Balayage actuels permettent d'atteindre de grandes résolutions (jusqu'à 2 nm).

CHAPITRE IV : PLANTES DE L'ETUDE

Ce chapitre a pour objectif de décrire les plantes utilisées dans cette étude en déterminant leurs taxonomies, leurs caractéristiques botaniques et les usages usuels qui en sont faits.

I- *BORASSUS AETHIOPUM* Mart.

I.1- Introduction

Les palmiers occupaient jusqu'en 2001 le troisième rang mondial des espèces végétales (Béreau, 2001). On en recense environ 3000 dans le monde, même si les deux espèces de palmiers, les plus connues du grand public demeurent le palmier africain (*Elaeis guineensis*) et le cocotier (*Cocos nucifera*). Il existe cependant dans la biomasse ivoirienne et plus généralement en Afrique, un autre type de palmier qui semble s'imposer de par sa taille et son aspect. Il s'agit du Rônier (*Borassus aethiopum* Mart.). Dans la zone de savane en Côte d'Ivoire, *Borassus aethiopum* est l'espèce de palmier dominante (Mollet, 1999).

I.2- Taxonomie

Le Rônier fait partie de la famille des Arecaceae qui comporte en grande partie des espèces tropicales comme le palmier à huile (*Elaeis guineensis*) et le cocotier (*Cocos nucifera*). Sa classification taxonomique est la suivante :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Arecales

Famille : Arecaceae

Genre : *Borassus*

Espèce : *aethiopum*

Nom scientifique : *Borassus aethiopum* Mart.

Nom usuel : Rônier

I.3- Description botanique

Borassus aethiopum (Figure 11) fait partie des palmiers les plus répandus et les plus emblématiques de l'Afrique tropicale. Il en existe deux espèces essentiellement dont l'une en Asie (*Borassus flabellifer*) et l'autre en Afrique (*Borassus aethiopum*) (Giffard, 1967).

Il est de loin le plus grand des palmiers africains car bien qu'il mesure en général entre 7 et 20 m de haut, il peut parfois atteindre une taille de 30 m. Quant à ses feuilles, elles se présentent sous forme d'éventails découpés en segments lancéolés ensiformes sur environ la moitié de leur longueur (**Bellouard, 1950**). Elles sont de couleur vert sombre et peuvent devenir vert jaune quelque fois. Les arbres matures possèdent entre 10 et 40 feuilles arrangées en trois rangées spirales. Les pétioles des feuilles sont concaves au-dessus et convexes en dessous (**Sanon and Sacande, 2007**). La floraison et la maturation des fruits ne dépendent pas des saisons. Les sols doivent être de préférence sableux ou argilo-sableux, la plupart du temps d'origine alluviale ou éolienne. Il n'est pas nécessaire qu'ils soient riches en substances nutritives.



Figure 11 : Photographie de Borassus aethiopum

Le genre *Borassus aethiopum* africain a été décrit pour la première fois par Von Martius en 1838 (**Bayton, 2007**). Cependant, cet auteur a décrit seulement une seule espèce pour le genre *Borassus* existant aussi bien en Afrique qu'en Asie. Ce n'est qu'en 1934 que l'éminent botaniste BECCARI spécialiste de la systématique des palmiers, a publié une monographie du genre, dans lequel il a reconnu *Borassus aethiopum* et *Borassus flabellifer* en tant qu'espèce séparée et distincte (**Chevalier and Dubois, 1938**). Le Rônier africain (*Borassus aethiopum* Mart.) se distingue du Rônier asiatique (*Borassus flabellifer* L.) par la présence à 6-10 m de hauteur d'un élargissement important du stipe d'environ 3 à 4 m de longueur, à la suite duquel le stipe reprend approximativement le diamètre qu'il avait en dessous du

« ventre ». Ce dernier paraît jouer un très grand rôle dans la régularité, la quantité et la qualité de la sève débitée (**Portères, 1964**).

I.4- Usage de *Borassus aethiopum* Mart.

Les palmiers constituent une source importante de différents produits qui jouent un rôle déterminant pour la subsistance dans les zones rurales de la plupart des pays en développement. Le champ d'application des produits issus de l'exploitation des palmiers s'étend des produits alimentaires jusqu'aux matières premières pour l'industrie locale ou/et externe, en passant par des produits sanitaires locaux, des matériaux de travail et de construction, et des combustibles (**Blanc-Pamard, 1979; Rugalema et al., 1994; Sullivan et al., 1995**). La sève des palmiers est un produit non ligneux qui est recueilli dans le monde entier par les populations locales des régions tropicales et subtropicales (**Essiamah, 1983**). Ainsi, la sève du Rônier est à la base de l'élaboration d'autres produits tels que le sucre, le vinaigre et des boissons alcoolisées comme le vin de palme (**Portères, 1964; Tuley, 1965; Adams, 1982; Profizi, 1988**).

Toutes les parties du Rônier sont utilisées. Le stipe qui résiste très bien aux conditions météorologiques, aux termites et aux champignons est souvent utilisé comme piliers de construction d'habitations, de hangars, de magasins, de ponts (pilots et tabliers) et d'appontements (pilots) (**Portères, 1964**). À partir des fibres on fabrique des filets pour la pêche. Les feuilles servent à la confection de balais, de corbeilles, de clôtures, de meubles légers et de toitures. Les feuilles adultes sont employées comme abris-parasols ou abris-parapluies (voyages, toitures, travaux divers, dépôts de produits ou marchandises, protection de pépinières ou de jeunes plants). Les jeunes feuilles, une fois dépliée, sont utilisées en jupe pour diverses festivités et cérémonies religieuses.

La coque des noyaux est parfois utilisée par les forgerons pour obtenir un charbon de bois. La pulpe et les graines sont utilisées comme aliments, de même que les radicules, les pousses et le bourgeon terminal. Les cendres de la fleur mâle sont utilisées comme « sel » et constituent la matière première pour différentes substances médicales. Les noix de fruits, les parties foliaires diverses et le rachis des inflorescences mâles et femelles desséchés puis incinérés, donnent des cendres très riches en Potassium. Ces dernières après traitement permettent d'obtenir le carbonate de potasse nécessaire aux travaux de teinturerie locale ou de préparation de la potasse hydratée utilisée en savonnerie (savon noir). La tête du Palmier-

Rônier est recherchée pour en tirer la partie tendre terminale constituée par les très jeunes feuilles en développement, qui sont employées comme aliment (cru ou bouilli).

En Côte d'Ivoire, un site de référence où l'on trouve la plus grande population de Rôniers, a été identifié dans la réserve naturelle de LAMTO situé dans la région de l'Agnéby-Tiassa, département de Toumodi Taabo (**Mollet, 1999**). Cet emplacement a été bien préservé de l'exploitation humaine depuis sa mise sous protection il y a 50 ans. Il y subsiste par conséquent un peuplement encore intact de Rôniers.

II-MANGIFERA INDICA Linn.

II.1- Introduction

Le manguiier (*Mangifera indica* Linn.), aujourd'hui très apprécié en Afrique de l'Ouest pour ses fruits et son ombrage, est pourtant d'introduction récente en Afrique. Il a été signalé pour la première fois en Afrique de l'Ouest, et plus précisément au Sénégal en 1824. Historiquement, le manguiier est originaire d'Asie, précisément de la région Indo-birmane, où il serait cultivé depuis 4 000 ans (**De Candolle, 1885**). Il a été diffusé à partir de l'Inde vers l'Est, en direction d'autres contrées comme la Malaisie, vers le Sud-Est de l'Asie, et vers l'Ouest. Les Arabes l'ont ensuite propagé dans les comptoirs de la côte Est de l'Afrique. Le manguiier a été introduit en Europe au XVIIIe siècle par les Anglais. Les Espagnols et les Portugais l'introduiront en Amérique à la même époque. Aujourd'hui, il est cultivé dans plus de 90 pays tropicaux et sous-tropicaux.

II.2- Taxonomie

Mangifera indica Linn. fait partie de la famille des Anacardiaceae qui comporte en grande partie des espèces tropicales comme l'Anacardier et le Pistachier (**Bompard, 2009**).

La position systématique du manguiier se présente comme suit :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Monocotylédones

Ordre : Sapindales

Famille : Anacardiaceae

Genre : Mangifera

Espèce : indica

Nom scientifique : *Mangifera indica* Linn.

Nom usuel : Manguier

II.3- Description botanique

Le manguier (**figure 12-a**) est une plante pérenne qui peut vivre plusieurs centaines d'années et peut atteindre une hauteur de 30 m ou plus (**Ram and Litz, 2009; Saúco et al., 2014**). Les feuilles sont simples, alternées et sont arrangées en spirales (**Goguey, 1996**). La forme des feuilles est lancéolée, oblongue, ovale et varie beaucoup en fonction du cultivar. Les fleurs sont portées par des inflorescences pyramidales qui apparaissent en position terminale sur les pousses végétatives et qui sont irrégulièrement ramifiées et où chaque ramification possède une fleur terminale. L'inflorescence peut mesurer jusqu'à 30 cm de long (**Ram and Litz, 2009**) et sa forme est plus ou moins compacte en fonction de l'élongation des entre-noeuds qui est un paramètre dépendant du cultivar. Une fleur apparaît toujours à la fin de l'inflorescence, ce qui fait d'elle un organe éphémère qui disparaît de la structure de l'arbre après quelques semaines à quelques mois (**Elevitch, 2006**). Des températures comprises entre 24 et 30°C sont optimales pour le développement de l'arbre et la croissance des fruits (**Djioua, 2010**).

Le fruit du manguier (**figure 12-b**) est une drupe dont la forme, la masse et la taille varient beaucoup en fonction du cultivar. Il présente une peau lisse et mince de nuances diverses. Sa coloration nuancée varie du vert ou rouge lorsque le fruit n'a pas encore atteint la maturité et du jaune à l'orange lorsque le fruit est à mûr (**Djioua, 2010**). Le fruit peut mesurer de 2,5 à 30 cm de long. La mangue est un fruit climactérique, c'est-à-dire que sa maturation est dépendante de l'éthylène.

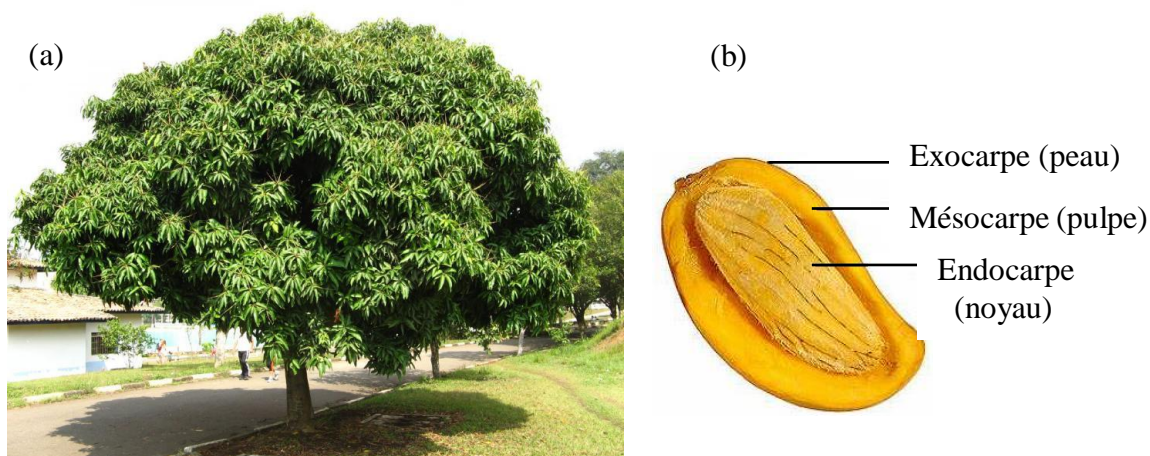


Figure 12 : Photographie de *Mangifera indica* et son fruit

(a) Arbre de *Mangifera indica* ; (b) fruit de *Mangifera indica*

II.4- Usage de la mangue

La mangue est peut-être l'unique fruit qui soit utilisée à des fins de consommations à différents stades physiologiques jusqu'à ce qu'elle parvienne à maturité complète. La mangue verte est utilisée dans la fabrication de cari, de pickles, de conserve et de gelées. On peut également l'utiliser pour faire du beurre de mangue (**Rossow, 2008 ; Beylot, 2012; Nasution et al., 2015**).

La pulpe de mangue est utilisée dans l'industrie alimentaire pour la fabrication de jus et concentrés de fruits, obtenus après pressage/réduction. La coloration jaune orangée de la pulpe du fruit mûre est due à la présence de caroténoïdes, dont le principal est le β -carotène. A côté de ces usages courants du fruit, les racines, les feuilles, et l'écorce sont très souvent utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de certaines maladies.

II.5- Composition chimique de la pulpe, de la pelure et du noyau de mangue

La pulpe orangée et juteuse de la mangue comporte de nombreux constituants chimiques qui s'avèrent très utiles pour la santé de l'homme. Ainsi sa couleur jaune orangée est certainement liée à la présence de pigments caroténoïdes. Les principaux caroténoïdes de la mangue sont le bêta-carotène et la violaxanthine (**Mercadante and Rodriguez-Amaya, 1998; Chen et al., 2004**). Ces pigments confèrent une couleur rouge orangé aux aliments qui en contiennent en grande quantité. Le bêta-carotène est un précurseur important de la vitamine A dans l'organisme. Il représente en fonction de la variété de la mangue, 20% à presque 100% des caroténoïdes totaux (**Ribeiro et al., 2007**). Toutefois, le stade de murissement influence grandement les quantités des caroténoïdes (**Mercadante and Rodriguez-Amaya, 1998**). Elle contient également une quantité élevée de fibres dont la moitié est constituée de fibres solubles et de la vitamine C. (**Mahattanatawee et al., 2006**).

La pelure de mangue représente environ 25% du poids du fruit et le noyau environ 20%. Au lieu d'être jetées, ces parties pourraient avoir des propriétés intéressantes pour l'industrie alimentaire. En effet, la pelure de la mangue contient des composés phénoliques importants et peut être utilisée comme antioxydant naturel (**Berardini et al., 2005b**). Elle est également reconnue comme une source importante de pectines (**Berardini et al., 2005a**). Le noyau, quant à lui, posséderait aussi des propriétés antioxydantes. Il constitue de plus une source de beurre comestible, d'amidon et de farine (**Berardini et al., 2005a**).



DEUXIÈME PARTIE :
MATÉRIEL ET MÉTHODES

CHAPITRE I : MATÉRIEL

Ce chapitre présente l'ensemble du matériel utilisé dans le cadre de ce travail à savoir le matériel végétal, le matériel d'extraction et l'appareillage pour la caractérisation des cires végétales étudiées. De plus, les réactifs utilisés et le matériel informatique y sont présentés.

I- MATÉRIEL VÉGÉTAL

I.1- Origine et choix du matériel végétal

L'étude a été menée sur deux espèces végétales provenant de la biomasse ivoirienne : *Borassus aethiopum* Mart. encore appelée Rônier et *Mangifera Indica* Linn. appelée manguier. Les organes de plantes utilisés ont été sélectionnés sur les parties aériennes de ces plantes à savoir respectivement les feuilles et les fruits (**figure 13 et 14**).

Borassus aethiopum Mart. a été sélectionné du fait de sa proximité botanique avec le célèbre palmier brésilien le Carnauba (*Copernicia Cerifera*) encore appelé Reine des cires. Quant à *Mangifera indica* Linn., il a été retenu dans l'optique de valoriser les peaux du fruit de cet arbre, souvent considérées comme un déchet agricole peu utile, les cires étant généralement présentes à la surface des fruits, des feuilles et des fleurs des plantes.

Borassus aethiopum Mart. a fait l'objet de diverses études, mais aucune à notre connaissance n'a abordé la possibilité d'obtenir des cires à partir de cette ressource végétale. Les travaux présentés ici consistent en l'extraction de cires à partir des feuilles de cette plante et à la caractérisation des cires obtenues.

Mangifera indica Linn. a fait l'objet de nombreuses études phytochimiques. Mais aucune ne fait mention de la possibilité d'obtenir des cires à partir de la peau des fruits de cette plante. Il s'agira dans la présente étude d'extraire les cires de la peau des fruits, et les beurres des amandes, de les caractériser en vue de leur valorisation.

Les noix de Karité (*Vitellaria paradoxa*) et les amandes de noyaux de mangues ont également été utilisées pour extraire les beurres. Ces derniers ont été utilisés en mélange avec les cires afin d'étudier l'influence de ces derniers sur les points de fusion des beurres.

I.2- Récoltes, séchages et conservations des échantillons

I.2.1- Feuilles de Rônier

Des échantillons de feuilles sèches de Rônier (**figure 13**) ont été collectées de façon aléatoire à divers points de la flore locale du site de l'Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY (INPHB) situé à Yamoussoukro (6°53'04.7'' Nord et 5°13'54.9'' Ouest) au centre de la Côte d'Ivoire. Les feuilles ont été identifiées par M. Amani N'Guessan, botaniste au sein dudit institut.

Après leur collecte, les feuilles ont été triées, débarrassées des impuretés (feuilles non saines affectés par des bactéries ou fongicides) et de leurs pédoncules, ainsi que des fragments de tiges inutiles, puis conservées au laboratoire afin d'être utilisées pour les manipulations ultérieures.

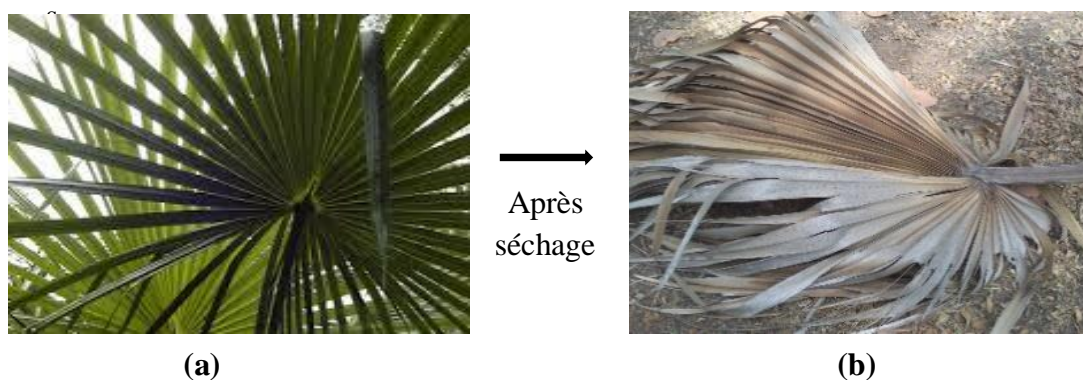


Figure 13 : Feuilles fraîches (a) et sèches de Rônier (b)

I.2.2- Peaux de Mangue

Les échantillons de mangue de la variété fibreuse *Adams* (**figure 14**) ont été récoltés de façon aléatoire à partir de plusieurs points de la flore locale du site de l'INPHB à Yamoussoukro (6°53'04.7''Nord et 5°13'54.9''Ouest) au centre de la Côte d'Ivoire en début de saison pluvieuse, puis emmenés au laboratoire. La variété de mangues utilisée est la variété *Adams* en raison de son abondance en Côte d'Ivoire et de la non valorisation industrielle. Les plantes ont été identifiées par M. Amani N'Guessan, botaniste au sein dudit institut.

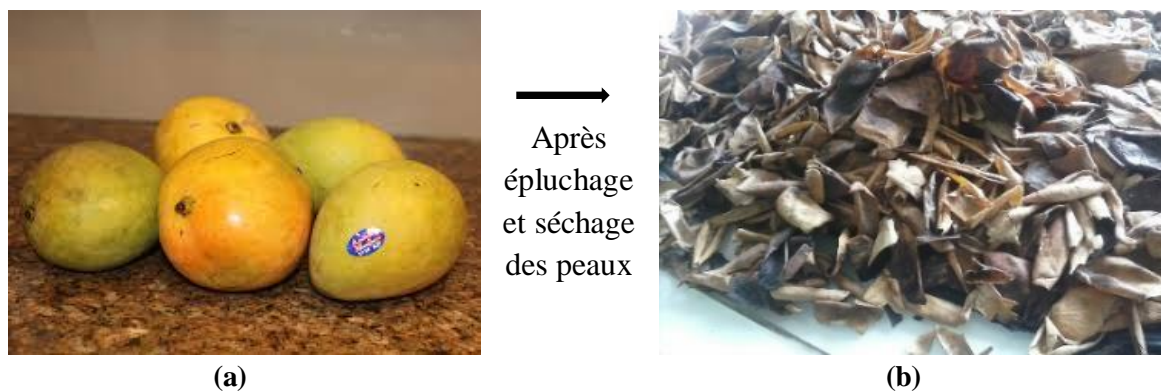


Figure 14 : *Mangues fraîches (a) et peaux de Mangue séchées (b) de variété Adams*

Après lavage à l'eau, les fruits ont été méticuleusement épluchés pour être débarrassés de leurs peaux. Les peaux ont ensuite été débarrassées de leurs parties pulpeuses (partie interne liée à la pulpe) par raclage à l'aide d'un couteau, puis séchées pendant deux semaines au soleil (30 à 34°C) et conservées à 40°C à l'étuve pour les analyses ultérieures.

I.2.3- Amandes de mangue

Les amandes de mangues ont été extraites des noyaux (**figure 15**), séchées au soleil pendant deux semaines (30 à 34°C) et conservées à 40°C à l'étuve pour les analyses ultérieures.

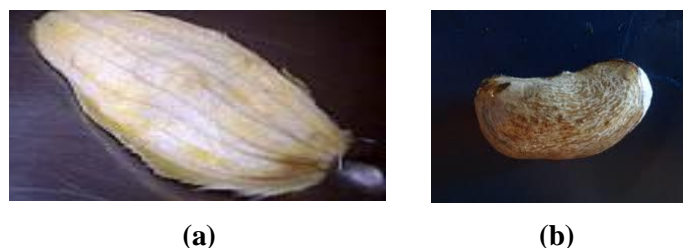


Figure 15: *Noyau (a) et amande (b) séchés de mangue*

I.2.4- Beurres de Karité

Le Beurre de Karité a été acheté chez des femmes productrices de Beurres de Karité à Tongon, village situé à Korhogo (Chef lieu du district des Savanes et de la région du Poro) au nord de la Côte d'Ivoire. Il a été conservé à 4°C au réfrigérateur pour les usages ultérieurs.

II-MATÉRIEL TECHNIQUE DE LABORATOIRE

II.1- Matériel d'extraction

L'extraction des cires a été réalisée en utilisant trois différents dispositifs d'extraction (**figure 16**) :

- un montage Soxhlet constitué d'un extracteur Soxhlet, d'un réfrigérant, d'un ballon à fond rond et d'un chauffe-ballon ;
- un dispositif de chauffage à reflux constitué d'un ballon à fond rond, d'un réfrigérant, et d'un chauffe-ballon ;
- un dispositif de macération constitué d'un erlenmeyer et d'un agitateur magnétique.

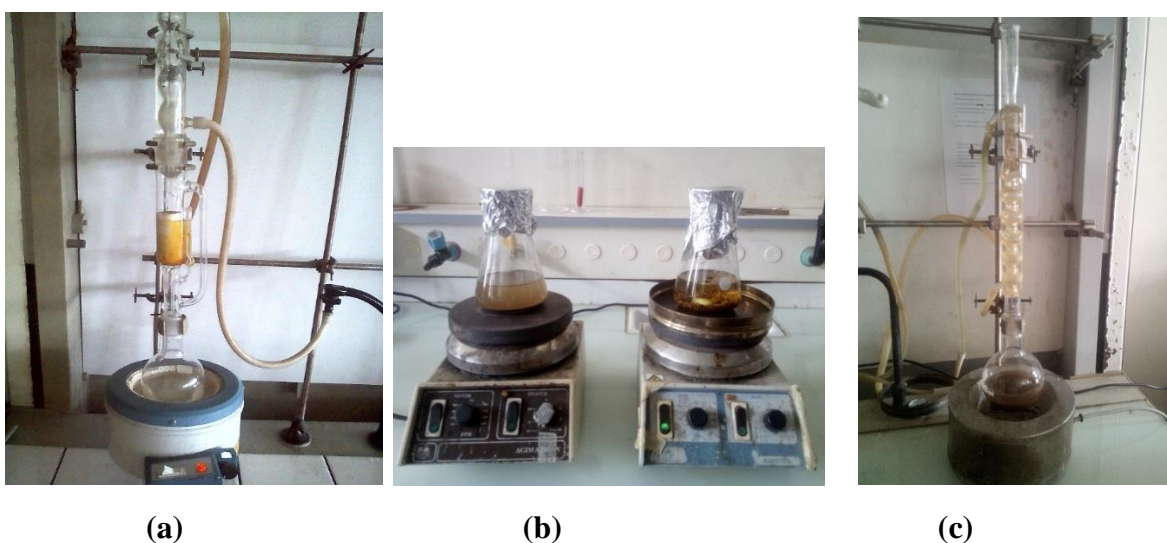


Figure 16 : Photographie du matériel d'extraction

(a : dispositif Soxhlet ; b : dispositif de macération ; c : dispositif de chauffage à reflux ;)

II.2- Autre matériel de laboratoire

Le matériel et appareillage de laboratoire utilisé dans cette étude, en dehors de la verrerie standard, est consigné dans le **tableau 5**.

Tableau 5 : Matériel et appareils utilisés

Matériel	Marques	Origines	Utilisations
Matériel standard			
Broyeur électrique	Moulinex	Espagne	Broyage des échantillons
Balance de précision	Scout Pro OHAUS	USA	Pesée des échantillons
Étuve	Memmert	Allemagne	Séchage des échantillons
pH-mètre	HANNA	Roumanie	Mesure de pH
Évaporateur rotatif	IKA RV 10	Allemagne	Élimination des solvants
Agitateur magnétique	AGIMATIC-N	Japon	Agitation au cours d'extraction
Plaques CCM en aluminium recouvertes de gel de silice	Machery-Nagel	Allemagne	Séparation des composés
Chauffe-ballon	Electrothermal™	France	Chauffage des ballons
Vortex	Reamix	Taiwan	Homogénéisation des mélanges
Tamis : (0,5mm ; 1 mm ; 2 mn ; 2,5 mm)	Controlab	France	Tamissage des broyats
Appareils d'analyse			
Appareil de point de fusion Büchi B545	Büchi	Inde	Mesure de point de de fusion
Spectrophotomètre	JASCO V-530	Japon	Caractérisation des cires
Spectromètre Infrarouge	Perkin Elmer Spectrum BX	USA	Réalisation des Spectres IR des cires
Microscope électronique à Balyage	ZEISS-supra 40 vp/gemini	USA	Micrographie des cires
GC-FID	GC Control - Agilent 6850	USA	Caractérisation des cires
Dispositif HPTLC Scanneur CCM Plaques CCM en verre	Camag Merck	Suisse	Identification quantitative des cires

III- RÉACTIFS ET PRODUITS CHIMIQUES

Plusieurs produits chimiques ont été utilisés pour l'extraction ou l'analyse des cires végétales. Les solvants utilisés pour les analyses CPG et HPTLC sont de grade HPLC. Les caractéristiques de ces produits sont présentées dans le **tableau 6**.

Tableau 6 : Liste des produits chimiques utilisés

Désignation	Pureté (%)	Origine (fabricant)	Pays
Solvants			
n-Hexane	97	PANREAC	Espagne
Ethanol	99	CARLO ERBA	France
Acétate d'éthyle	99,5	CEMICAL REAGENT	Chine
Dichlorométhane (DCM)	99,8	PROLABO	France
Chloroforme	99,2	PROLABO	France
Ether diéthylique	96	MERCK	Allemagne
Autres réactifs et produits			
Acide Chlorhydrique	37	MERCK	Allemagne
Carbonate de Calcium	99	PROLABO	France
Réactifs de Wijs	99	PROLABO	France
Thiosulfate de sodium pentahydraté	99	MERCK	Allemagne
Hydroxyde de sodium	99	SIGMA	USA
Iodure de potassium	99	MERCK	Allemagne
Acide acétique	99,5	MERCK	Allemagne
n-Hexane	97	PANREAC	Espagne
Acide sulfurique	96	PANREAC	Espagne

IV- MATÉRIEL INFORMATIQUE

Le traitement des données statistiques a été réalisé avec la suite Excel du logiciel Microsoft Office 2013 et le logiciel NemrodW. Les graphiques ont été réalisés avec la suite Excel.

CHAPITRE II : MÉTHODES

Le but de ce chapitre est de décrire les méthodes de la bibliométrie ainsi que celles utilisées pour l'extraction des cires ainsi que la détermination de la composition des cires. Les techniques d'extraction, les méthodes d'analyse des cires extraites sont présentées ainsi que les différents protocoles expérimentaux utilisés pour la caractérisation des produits étudiés. De plus, la méthode conduisant à l'optimisation du rendement d'extraction a été décrite.

I- BIBLIOMÉTRIE

La bibliométrie peut être définie comme « l'application des mathématiques et des méthodes statistiques aux livres, articles et autres moyens de communication » (**Pritchard, 1969**). C'est un ensemble de techniques s'appuyant sur l'analyse des publications scientifiques pour mesurer la production de connaissances nouvelles. Les bases de la bibliométrie se sont véritablement développées à partir des années 1950, lorsque des chercheurs ont pu établir des statistiques sur la science à partir de bases de données bibliographiques recensant les publications scientifiques (livres, articles et communications écrites) du monde entier. Elle est devenue aujourd'hui un outil indispensable pour comprendre l'intérêt d'une thématique dans le cadre de travaux de recherche et notamment ceux des thèses de doctorants.

Dans la présente étude, la bibliométrie a été réalisée avec trois thématiques (cires végétales, *Borassus aethiopum* Mart. et *Mangifera indica* Linn.) essentiellement à l'aide de la plate-forme internet SCIFINDER qui enregistre toutes les formes de publication traitant d'une thématique donnée. Les données relatives aux nombres de publication par auteur, par année, par type de document ou par domaines de publication ont été exportées vers la suite Excel du logiciel Microsoft Office Word, à partir de ce site. Ensuite un traitement statistique des données a été effectué par la réalisation de digrammes en bâtons et de diagrammes circulaires.

II-TAUX D'HUMIDITÉ DES ÉCHANTILLONS

Le taux d'humidité des échantillons a été déterminé avant chaque extraction pour s'assurer qu'il soit inférieur à 10%, une limite recommandée, au-delà de laquelle les rendements d'extraction sont parfois influencés (**Sin, 2012**). C'est le cas surtout des extractions de lipides, ces derniers n'étant pas miscibles avec l'eau.

Le taux d'humidité de chaque échantillon est déterminé suivant la norme AFNOR NF V 03-921. Sa détermination consiste à mettre 10 g de chaque échantillon dans un petit récipient en aluminium et l'introduire dans une étuve portée à une température de $103 \pm 1^\circ\text{C}$. L'échantillon séché jusqu'à ce que sa masse reste constante (masse atteinte lorsque, au cours des opérations de séchage, la différence entre deux pesées successives de l'échantillon refroidi, à 4h d'intervalle, ne dépasse pas 0,1 % (m/m) par rapport à la dernière masse déterminée). L'échantillon est refroidi dans un dessiccateur avant chaque pesée. L'humidité des échantillons est déterminée en utilisant la relation (3).

$$\text{Humidité (\%)} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100 \quad (3)$$

m_1 : masse de la prise d'essai + récipient avant séchage (en g)

m_2 : masse de l'échantillon + récipient après séchage (en g)

m_0 : masse du récipient vide (en g)

III- PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS ET EXTRACTION DES CIRES

III.1- Préparation des échantillons

III.1.1- Broyage et tamisage

Les différents échantillons de feuilles de Rônier et de peaux de Mangue ont été broyés puis tamisés à diverses granulométries variant de 2 mm à 0,5 mm, à l'aide d'un broyeur de type Moulinex. En ce qui concerne les feuilles de Rônier, elles ont préalablement été concassées manuellement avant d'être broyées (**figure 17**). Les échantillons de peaux de Mangue séchées ont été directement broyés (**figure 18**). Le broyage du matériel végétal permet en effet d'augmenter la surface de contact solvant-échantillon, et favorise une meilleure infiltration du solvant au sein du matériel végétal. Cela a pour conséquence principale d'augmenter le rendement de l'extraction solide-liquide.

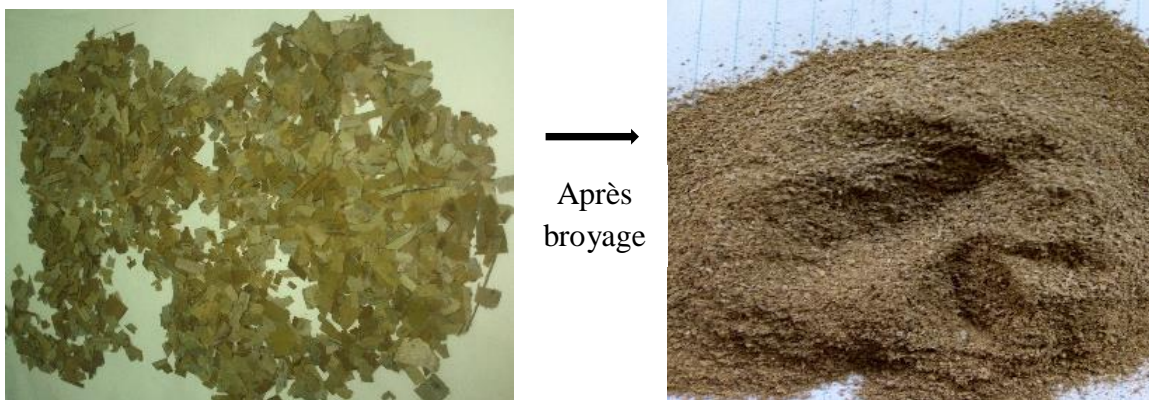


Figure 17 : Feuilles de Rônier concassées et broyées



Figure 18 : Peaux de Mangue séchées et broyées

III.1.2- Conservation des échantillons broyés

Pour éviter les réactions de dégradation, les échantillons broyés de peaux de Mangue et de feuilles de Rônier ont été conservés dans des bocaux fermés et conservés à 4°C au réfrigérateur pour les extractions ultérieures.

III.2- Extraction des cires

Avant toute extraction, le séchage du matériel végétal broyé est effectué dans l'étuve durant 24 h à 40°C dans le but de compléter le séchage. Le taux d'humidité est ensuite vérifié pour s'assurer qu'il soit inférieur à 10%. Les cires ont été extraites à partir d'organes de plantes (feuilles et peaux de fruits) complètement développées et saines à l'aide de trois techniques d'extraction que sont la macération, le chauffage à reflux et la méthode au Soxhlet. Les rendements d'extraction ont été déterminés par la formule de la relation (4).

$$\text{Rendement brut d'extraction (\%)} = \frac{\text{masse de l'extrait cireux}}{\text{masse de la biomasse utilisée}} \times 100 \quad (4)$$

III.2.1- Extraction par macération

Une masse de 15 à 20 g de matière végétale broyée a été introduite dans un erlenmeyer, puis macérée sous agitation dans 400 mL d'hexane pendant 24 h sous agitation. Le mélange est ensuite laissé au repos pour une décantation de 15 mn puis filtré à l'aide d'un papier filtre Watman. Une deuxième filtration est effectuée, sous vide à l'aide d'un filtre en verre fritté pour éliminer les impuretés solubles. Cette opération est répétée trois fois jusqu'à épuisement du matériel végétal. Les filtrats obtenus sont mélangés et l'ensemble du filtrat est alors introduit dans un ballon. Le solvant est éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif et les traces d'hexane sont éliminées à l'étuve à 70°C pendant 5h. L'extrait cireux est enfin refroidi et pesé jusqu'à ce que la masse reste constante.

III.2.2- Extraction par chauffage à reflux

Cette extraction a été réalisée selon la méthode décrite par Hwang *et al.* (2002) avec de légères modifications. Une masse de 15 à 30 g de matière végétale broyée a été introduite dans un ballon. 400 mL d'hexane ont été ajoutés puis le tout chauffé à reflux pendant 1 h sous agitation. Le mélange est ensuite laissé au repos pour une décantation de 15 mn puis filtré à l'aide d'un papier filtre Watman. Une deuxième filtration est effectuée, sous vide à l'aide d'un filtre en verre fritté pour éliminer les impuretés solubles. Cette opération est répétée trois fois jusqu'à épuisement du matériel végétal. Les filtrats obtenus sont mélangés et l'ensemble du filtrat est alors introduit dans un ballon. Le solvant est éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les traces d'hexane sont éliminées à l'étuve à 70°C pendant 5h. L'extrait cireux est enfin refroidi et pesé jusqu'à ce que la masse reste constante.

III.2.3- Extraction par la méthode Soxhlet

Cette extraction a été réalisée suivant la méthode décrite par Athukorala et Mazza (2010) avec de légères modifications. Une masse de 15 à 30 g de matière végétale broyée a été introduite dans un extracteur Soxhlet avec 400 mL de Solvant (hexane, acétate d'éthyle, éthanol) pour une durée d'extraction de 1 à 7 h selon le test recherché. Après refroidissement, le solvant est éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif et les traces d'hexane sont éliminées à l'étuve à 70°C pendant 5h. L'extrait cireux est refroidi et pesé jusqu'à ce que la masse reste constante.

III.2.4- Cinétique d'extraction des cires

La cinétique des extractions des cires de feuilles de Rônier et de peaux de Mangue a été réalisée par la méthode d'extraction au Soxhlet avec le n-hexane comme solvant d'extraction. Elle a été déterminée en notant les rendements d'extraction obtenus à diverses durées d'extraction variant de 1 h à 7 h.

III.3- Purification des cires et détermination de la sélectivité des solvants

Après que l'hexane, l'acétate d'éthyle et l'éthanol aient été utilisés pour l'extraction des cires, leur sélectivité a été évaluée en utilisant le dichlorométhane (DCM) reconnu comme un bon solvant des cires (Sin, 2012).

Une masse de 0,25 g d'extraits de solvant a été dissoute dans 40 mL de dichlorométhane (DCM) et le même volume d'eau distillée a été ajouté à la solution. Les solutions biphasiques ont été inversées à plusieurs fois et la pression a été relâchée périodiquement. Le lavage aqueux a été répété deux fois (2 x 40 ml) et les solutions aqueuses totales ont été combinées et lavées avec 2 x 40 ml de DCM. Le DCM et les lavages aqueux ont été combinés et les fractions de DCM ont été séchées sous vide.

IV- MODÉLISATION ET OPTIMISATION DU RENDEMENT D'EXTRACTION

La modélisation et l'optimisation ont été réalisées par la mise en place d'un plan d'expériences. Le plan de Placket et Burman a été choisi comme plan du fait de la simplicité dans sa mise en oeuvre et de la réduction du nombre d'expériences à réaliser. Il comprend deux étapes dont le criblage de facteurs ou la sélection des variables (ou facteurs) qui ont un effet significatif sur la réponse et l'application d'un plan d'optimisation de la réponse.

IV.1- Criblage de facteurs et modélisation

Le criblage est une stratégie qui permet d'identifier parmi un ensemble de facteurs potentiellement influents ceux qui le sont réellement. Dans la présente étude, le plan utilisé pour déterminer les facteurs influant sur le rendement d'extraction est le plan de criblage de Placket et Burman. Il comporte plusieurs étapes décrites dans les paragraphes suivants.

IV.1.1- Définition de la réponse

La réponse (variable de sortie) correspond à un paramètre de sortie du système étudié. Dans notre étude, le rendement d'extraction a été défini comme réponse, la méthode au Soxhlet étant choisie comme technique d'extraction.

IV.1.2- Définition des facteurs

Selon la littérature, divers facteurs sont susceptibles d'influer sur le rendement d'extraction des lipides lors de l'extraction par Soxhlet. Ce sont : le temps d'extraction ou le nombre de cycles nécessaires, le rapport volume du solvant/masse de matière végétale, le taux de remplissage de la cartouche, et le type de solvant (Luque de Castro and García-Ayuso, 1998 ; Bouthaina, 2008 ; Ahmad et al., 2010 ; Daud et al., 2015). Ainsi quatre facteurs ont été retenus pour la présente étude. Ce sont :

- la granulométrie du broyat ;
- le ratio volume de solvant/masse de matière végétale (v/m) ;
- le type de solvant d'extraction ;
- la durée d'extraction.

IV.1.3- Définition du domaine expérimental

Le domaine expérimental a été effectué en tenant compte des limites expérimentales de fonctionnement, et en considérant les données de la littérature sur les conditions de l'extraction par Soxhlet. Pour les quatre facteurs indiqués précédemment, les modalités ou niveaux ont été définis, à savoir les deux valeurs extremum (minimum et maximum) pour chaque facteur, représentés par le codage [-1 ; +1]. Le *tableau 7* résume les différentes modalités des facteurs.

Tableau 7 : Codage et niveaux des facteurs

Codage	Facteurs	Valeur (-1)	Valeur (+1)
X1	Granulométrie (mm)	$dp < 0,5$	$2 < dp < 1$
X2	Ratio v/m (mL/g)	20	10
X3	Solvant d'extraction	Hexane	Acétate d'éthyle
X4	Durée d'extraction (h)	2	5

dp = diamètre des particules

IV.1.4- Construction de la matrice d'expériences

Dans la présente étude, la construction de la matrice d'expériences a été réalisée à partir de la matrice de Plackett et Burman ou matrice d'Hadamard. Le nombre de facteurs est égal à $k = 4$. Ainsi le nombre d'expériences est un multiple de 4 et doit satisfaire à la relation N

= $k + 1$ et $N \geq 4$. On obtient donc $N = 8$ expériences. Pour l'établissement de la matrice de Plackett et Burman, 3 autres facteurs fictifs ont été ajoutés pour que le nombre total de facteurs soit du type $k+1$, multiple de 4 et corresponde au nombre d'expériences. Les matrices d'expériences d'Hadamard s'obtiennent par une permutation circulaire d'une série de niveaux + et - donnée dans la littérature (**Plackett and Burman, 1946**) sous forme d'une ligne. Pour la matrice d'Hadamard à 8 lignes, mise en œuvre dans le cadre de cette étude, cette série est la suivante : + + + - + - - . Ainsi, la matrice d'expérience est obtenue en effectuant une permutation circulaire de ces niveaux de gauche vers la droite et en ajoutant une dernière ligne constituée uniquement de signes -. La matrice obtenue est présentée dans le **tableau 8**.

Tableau 8 : Établissement de la matrice de Plackett et Burman

Test	x1	x2	x3	x4	x5	x6	x7
1	1	1	1	-1	1	-1	-1
2	-1	1	1	1	-1	1	-1
3	-1	-1	1	1	1	-1	1
4	1	-1	-1	1	1	1	-1
5	-1	1	-1	-1	1	1	1
6	1	-1	1	-1	-1	1	1
7	1	1	-1	1	-1	-1	1
8	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1

Le plan d'expérimentation s'obtient en remplaçant dans la matrice les valeurs -1 et +1 des variables codées par des valeurs réelles des facteurs correspondants. La matrice obtenue montre qu'il faut réaliser au total huit (8) tests présentés dans le **tableau 9**.

Tableau 9 : Matrice d'expérimentation

Test	X1	X2	X3	X4
1	$1 < dp < 2$	10 mL/g	Acétate d'éthyle	2h
2	$dp < 0,5$	10 mL/g	Acétate d'éthyle	5h
3	$dp < 0,5$	20 mL/g	Acétate d'éthyle	5h
4	$1 < dp < 2$	20 mL/g	Hexane	5h
5	$dp < 0,5$	10 mL/g	Hexane	2h
6	$1 < dp < 2$	20 mL/g	Acétate d'éthyle	2h
7	$1 < dp < 2$	10 mL/g	Hexane	5h
8	$dp < 0,5$	20 mL/g	Hexane	2h

dp = diamètre des particules

IV.1.5- Elaboration du modèle par régression linéaire multiple

L'objectif général de la régression linéaire multiple est d'analyser la relation existante entre plusieurs variables indépendantes ou prédictives et une variable dépendante ou de critère. En d'autres termes, elle permet d'obtenir les coefficients du modèle à l'aide de calculs. De nos jours, on dénombre de nombreux logiciels permettant d'effectuer ces calculs à l'instar de la suite Excel du logiciel Microsoft Office et NemrodW. Ces logiciels ont été utilisés non seulement pour la régression multiple mais aussi pour d'autres analyses statistiques et graphiques. Après la régression, seuls les coefficients significatifs seront retenus dans l'équation du modèle. Les coefficients significatifs seront ceux dont la valeur de p (p-value) est inférieure à 0,05 (seuil de signification). La signification statistique des coefficients du modèle sera déterminée en utilisant le Test de Student.

IV.2- Analyse de la qualité du modèle

IV.2.1- Analyse des Résidus

Les résidus ou " erreurs observées " sont définis comme étant les différences entre les valeurs observées et les valeurs estimées par un modèle de régression. Ils ont la particularité de représenter la partie non expliquée par l'équation de régression. L'analyse des résidus a pour objectif de tester la validité d'un modèle de régression. Elle permet de déceler les

défaillances d'un modèle. Les méthodes d'analyse des résidus, ou des résidus réduits sont principalement des méthodes d'analyse graphique. L'analyse de ces courbes est assez simple. En effet, il s'agit de vérifier que la représentation des résidus ne présente aucune structure particulière.

IV.2.2- Analyse de la variance du modèle

L'analyse de la variance nous permet de voir si les variables retenues pour la modélisation ont, dans leur ensemble, un effet significatif sur la réponse (**tableau 10**) (Britel, 2007).

Tableau 10 : Analyse de la variance d'un modèle

Source de variation	Somme des carrées	Degré de liberté	Carrée moyen	Rapport F	P-value
Modèle	SCE _{facteur}	DDL _{facteur}	$S^2_{\text{facteur}} = \frac{\text{SCE (facteur)}}{\text{DDL (facteur)}}$	$F = \frac{s^2(\text{facteur})}{s^2(\text{résidu})}$	P (F > F_{obs})
Résidus	SCE _{résidu}	DDL _{résidu}	$S^2_{\text{résidu}} = \frac{\text{SCE (résidu)}}{\text{DDL (résidu)}}$		
Total	SCE _{total}	DDL _{total}			

Pour un test de niveau α (en général fixé à 5 %), on compare la probabilité du test donnée par la loi de Fisher avec une probabilité α . La régression est donc significative lorsque la probabilité du test donnée par la loi de Fisher est inférieure au test de niveau α .

IV.3- Optimisation du modèle

L'optimisation du modèle obtenu après le traitement des résultats est réalisée par la suite Excel du logiciel Microsoft Office avec le complément solveur qui permet de faire une optimisation par la méthode des Simplex (Han et al., 2017; Ribeiro-Santos et al., 2017). Cette méthode est utilisée pour les modèles linéaires et elle permet de trouver une solution optimum.

V- MÉTHODES DE CARACTÉRISATION DES CIRES

V.1- Caractéristiques organoleptiques des cires

Ces caractéristiques concernent la *couleur, l'odeur, le goût et l'aspect ou consistance* des cires. La détermination de ces caractéristiques permet d'avoir une première appréciation des cires brutes extraites d'une matière végétale. Dans la présente étude, les caractéristiques organoleptiques des cires ont été déterminés par simple examen portant sur la couleur, l'odeur, et la consistance, perceptibles par les organes de sens.

V.2- Paramètres physico-chimiques

Ce sont les premiers paramètres déterminés sur les cires après leur extraction. Ils fournissent les premières informations utiles avant l'application des cires dans un quelconque domaine. L'une des raisons principales de la détermination des paramètres physico-chimiques de certains composés est qu'il est possible que deux composés aient quelques paramètres physico-chimiques similaires mais il est quasiment impossible pour ces deux composés d'avoir plusieurs paramètres physico-chimiques identiques (**Gilbert and Martin, 2016**).

Les différents paramètres physico-chimiques des cires tels que l'indice d'iode, l'indice d'acide, l'indice de saponification ont été déterminés suivant la méthode officielle de (**Association of Official Analytical Chemists, 1990**). Les protocoles de détermination de ces différents paramètres (point de fusion, indice d'acide, d'iode, de refraction, de saponification) sont décrits dans les paragraphes suivants.

V.2.1- Point de fusion

Le point de fusion fait partie des paramètres physico-chimiques les plus déterminants au niveau des cires. Il s'agit de la température à laquelle la cire passe de l'état solide à l'état liquide. De façon générale, plus la chaîne carbonée des constituants de la cire est longue, plus le point de fusion est élevé. Toutefois les insaturations présentes au niveau des acides gras, contribuent à faire baisser le point de fusion. Ce paramètre peut être déterminé par Calorimétrie Différentielle à Balayage (DSC) (**Athukorala and Mazza, 2010; Sin, 2012**) où par des appareils plus simples tels que l'appareil de point fusion Büchi B-545 ou M-565.

Dans la présente étude, les points de fusion des cires ont été déterminées avec un appareil de point de fusion Büchi B-545 utilisant des tubes capillaires (température de 2°C / min).

V.2.2- Indice de réfraction (NF T60-212, 1984)

L'indice de réfraction des cires étudiées a été mesuré à l'aide d'un réfractomètre de marque Leica AR 200 Barolword (USA), selon la Norme NF T60-212, 1984.

V.2.3- Indice d'acide (Norme AOAC, 2000)

Pour la détermination de l'indice d'acide, une masse de 1 g de cire brute est introduite dans un erlenmeyer de 100 mL auquel sont ajoutés 20 mL de mélange éthanol/éther-diéthylique : 50/50 (v/v). Le mélange est placé sous agitation et sous chauffage léger pour faciliter la solubilisation de la cire. Quelques gouttes de phénolphaléines à 1% sont ensuite ajoutées au mélange et l'ensemble est titré avec une solution de KOH à 0,1 M. L'indice d'acide (en mg de KOH / g de corps gras) est déterminé par la formule de la relation (5) :

$$I_a = \frac{V \times 56,1 \times N}{m} \quad (5)$$

V = Volume de la solution de KOH à l'équivalence en mL.

N = Normalité de la solution de Potasse

m = masse de la prise d'essai en g

56,1 = Masse molaire moléculaire de KOH

V.2.4- Indice d'iode (Norme AOAC 2000)

Pour la détermination de l'indice d'iode, une masse de 0,5 g de cire est placée dans un erlenmeyer contenant 15 mL de chloroforme (CHCl_3). Le mélange est placé sous agitation et sous chauffage léger pour faciliter la solubilisation de la cire. Ensuite 20 mL de réactif de Wijs sont immédiatement ajoutés. L'erlenmeyer est bouché, agité doucement puis laissé à l'obscurité pendant 1 heure. Un essai à blanc est aussi préparé en remplaçant l'échantillon par de l'eau distillée et après avoir retiré les erlenmeyers de l'obscurité, 10 mL d'iodure de potassium (KI) (10%) et 150 mL d'eau distillée sont ajoutés. L'iode libéré est dosé avec une solution titrée de thiosulfate de sodium, pentahydraté ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) à 0,1 N. Quand la solution est partiellement décolorée, 3 gouttes d'empois d'amidon (1%) sont ajoutées et la solution est titrée jusqu'à l'incolore.

L'expression de l'Indice d'iode (en g d'iode / 100 g de cire) est donnée par la formule de la relation (6) :

$$I_i = \frac{12,69 (V_0 - V) \times N}{m} \quad (6)$$

V = volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisée pour la prise d'essai
V₀ = volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisée pour l'essai à blanc
N = Normalité de la solution de Potasse
m = masse de la prise d'essai en g
12,69 = dixième de la masse moléculaire de l'iode.

V.2.5- Indice de saponification (Norme AOAC 2000)

Pour la détermination de l'indice de saponification, une masse de 1 g de cire est placée dans un erlenmeyer, puis 12,5 mL de solution de potasse alcoolique à 0,5 N sont ajoutés. Le mélange est porté à ébullition sous reflux pendant deux heures. La solution savonneuse obtenue est titrée à chaud à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique (0,5 N) en présence de phénophtaléine. Un essai à blanc est réalisé parallèlement.

L'indice de saponification (I_s) est donné par la formule de la relation (7) :

$$I_s = \frac{56,1 \times N \times (V_0 - V)}{m} \quad (7)$$

Avec V₀ et V les volumes en mL respectifs des solutions d'acide chlorhydrique versés pour l'essai à blanc et pour la prise d'essai.

N = Normalité de la solution d'acide chlorhydrique utilisée.

m = masse de la prise d'essai en g

56,1 = Masse molaire moléculaire de KOH

V.3- Spectroscopie infra-rouge

Les analyses des cires par spectroscopie IR ont été effectuées à 30°C avec un spectromètre Perkin Elmer Spectrum BX (Perkin Elmer, USA). Les échantillons ont été scannés à des nombres d'onde variant de 4000 à 600 cm⁻¹. Les pastilles ont été préalablement rincées avec du chloroforme, puis une goutte de l'échantillon est déposée entre deux pastilles de séléniure de zinc (ZnSe) et elles ont ensuite été introduites dans la chambre optique pour la réalisation des spectres.

V.4- Spectrophotométrie UV-visible

Les analyses au spectrophotomètre UV-visible ont été effectuées en utilisant un spectrophotomètre UV/visible de type JASCO V-530 (Jasco Corporation, JAPAN). Une quantité de cire (0,1% m/v) a été dissoute dans l'hexane pour les mesures des concentrations au spectrophotomètre. La solution obtenue a été lue à des longueurs d'onde variant de 200 à 700 nm.

V.5- Microscopie Electronique à Balayage

Des micrographies de la surface des organes de plantes étudiés ont été réalisées avec un Microscopie Électronique à Balayage (MEB) de type FEG Supra 40 VP Zeiss (**annexe 7**). Ces organes (feuille de Rônier et peau de Mangue) ont d'abord été nettoyés de manière à leur ôter les impuretés, puis séchés.

L'échantillon à analyser est étalé sur un plot apprêté avec du carbone adhésif à double faces qui est ensuite fixé sur le plateau. Ce dernier est monté sur la platine de la chambre du MEB pour l'observation. Après la mise sous tension de l'appareil et la mise en route des moniteurs (ouverture du logiciel SMAT), le vide primaire dans la chambre et le vide secondaire dans la colonne sont vérifiés. La distance de travail, le diamètre d'ouverture du microscope et la tension d'accélération sont réglés respectivement aux valeurs de 8,5 mm, 30 μm et 20,10 kV.

L'image est ensuite obtenue après ajustement du focus suivi du réglage du contraste et de la luminosité. Des prises de vue à différentes zones de l'échantillon sont effectuées avec des grossissements de 50 à 1000 fois. Les micrographies de la surface des échantillons ont été réalisées à différentes échelles : 100 μm , 50 μm , 20 μm , 10 μm et 2 μm .

V.6- Chromatographie sur Couche Mince

La Chromatographie sur Couche Mince (CCM) a été utilisée pour la détermination qualitative des composés éventuels que pourraient contenir les extraits cireux en s'appuyant sur les travaux de Spitzer (1999) selon lequel la Chromatographie sur Couche Mince est l'une des méthodes les plus simples pour avoir des informations sur la composition de lipides. Des échantillons de 5 mg sont dilués dans 5 mL d'hexane. Puis des aliquotes de 10 à 20 μL sont déposées sur une plaque en aluminium recouverte de gel de silice 60 UV 254 (Macherey-Nagel, Germany). Ces plaques sont éluées à l'aide du mélange hexane / éther diéthylique / acide acétique : 80/20/2 (v/v/v) pour la séparation des composés lipidiques présents dans les différents échantillons. Les composés sont ensuite révélés par lecture sous une lampe UV visible à 254 nm et à 366 nm puis après pulvérisation dans une solution d'anisaldéhyde sulfurique. De façon générale, les séquences suivantes de taches peuvent être observées :

1. alcanes/alcènes/squalène/stérolester/cérides ($R_f \approx 0,98-0,94$) ;
2. triglycérides ($R_f \approx 0,60$; dominant pour les huiles) ;
3. acides gras libres ($R_f \approx 0,39$) ;

4. stérols ($R_f \approx 0,19$) ;
5. diglycérides ($R_f \approx 0,15-0,21$) ;
6. monoglycérides ($R_f \approx 0,20$) ;
7. phospholipides ($R_f \approx 0$).

V.7- Chromatographie sur Couche Mince à Haute Performance

Les analyses en Chromatographie sur Couche Mince à Haute Performance (HPTLC) ont été réalisées en utilisant des composés standards dans les conditions décrites ci-après. L'identification des composés a été réalisée en comparant les références frontales des composés purs à celles des composés séparés de l'échantillon à analyser.

Les analyses ont été effectuées sur des plaques en verre de 20 cm x 10 cm revêtues de gel de silice 60 NH₂ F254 (Merck). Les plaques ont été pré-conditionnées par l'isopropanol en indiquant le sens de migration sur la plaque puis mises à l'étuve à 120°C pendant 15 min. Les solutions standards et les échantillons ont été préparés à une concentration d'environ 1 g/L avec de l'hexane. Ils ont été appliqués sur les plaques sous forme de bandes de 8 mm à partir du bord inférieur et de 15 mm à partir du bord gauche au moyen d'un applicateur automatique Linomat V (Camag, Muttenz, Suisse) équipé d'une seringue de 100 µL (Hamilton, Bonaduz, Suisse) en prélevant 10 µL de chaque solution. Des chromatogrammes de 5,0 cm ont été développés en utilisant le système de solvant hexane/diéthyl-éther/acide acétique avec un rapport de : 90/20/1 (v /v/ v).

Après migration des échantillons sur les plaques, une analyse quantitative a été réalisée par un scanneur "TLC Scanner 3 (Camag)" en mode absorption / réflectance à 340 nm, en utilisant des dimensions de fente de 6 mm x 0,30 mm et une vitesse de balayage de 20 mm.s⁻¹. Les plaques ont été plongées dans un réactif d'acide sulfurique anisaldéhyde (révélateur) et les taches ont été détectées par chauffage des plaques à 105-110 ° C pendant 5 min. Les plaques développées ont été ensuite balayées à 350, 450 et 550 nm de façon à enregistrer les zones de pic. Tous les instruments ont été exploités par le programme winCATS (version 1.4.8, Camag).

V.8- Profil en acides gras des cires

La composition en acides gras a été déterminée par l'analyse des esters méthyliques d'acides gras en chromatographie en phase gazeuse selon la norme NF EN ISO 5508 (1995) qui consiste à l'extraction et à l'estérification des acides gras. Ces derniers sont identifiés par comparaison de leurs chromatogrammes à ceux de témoins purs analysés dans les mêmes conditions en fonction de leurs différents temps de rétention.

Pour ce faire, une fraction de 20 mg de l'huile est solubilisée dans 1 mL de tertio-butyl méthylÉther (TBME), après agitation et filtration avec un filtre 0,45 µm, 100 µL de la solution filtrée est introduit dans un insert. Un volume de 50 µL d'hydroxyde de triméthyl sulfonium (TMSH) à 0,5 M dans le méthanol est rajouté pour les acides gras plus volatils en les estérifiant. Le chromatographe utilisé est de type Varian, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) avec les conditions opératoires présentées dans le **tableau 11**.

Tableau 11 : Conditions d'analyse des acides gras en GC-FID

Paramètres	Valeurs
Type de colonne	colonne capillaire CP – select CB for FAME fused Silica WCOT (50 m x 0,25 mm x 0,25µm)
Gaz vecteur	Hélium : 1mL/min
Température de l'injecteur	250°C
Quantité injectée	1,0 µL
Programmation de la température du four	185°C (40min) ; 15°C/min jusqu'à 250°C ; 250°C (10,68 min)
Température du détecteur FID	250°C
Injecteur en mode split	1/100
Durée de l'analyse	55 min

V.9- Profil en hydrocarbures des cires

Le profil en hydrocarbures a été réalisé dans le but de déterminer la composition en hydrocarbures des cires étudiées.

L'analyse a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID) en s'appuyant sur la norme NF EN 14039 (2005). Les différentes fractions d'hydrocarbures ont été obtenues par comparaison de leurs chromatogrammes à ceux de témoins purs analysés dans les mêmes conditions en tenant

compte de leurs différents temps de rétention. Les conditions opératoires sont présentées dans le **tableau 12**.

Tableau 12 : Conditions d'analyse des hydrocarbures en GC-FID

Paramètres	Valeurs
Type de colonne	colonne capillaire CP – 50m HP-Ultra-1 (50 m x 0,20 mm x 0,33 µm)
Gaz vecteur	Hélium : 1mL/min
Pression	1,6 bar
Température de l'injecteur	300°C
Quantité injectée	2,0 µL
Programmation de la température du four	5°C/min jusqu'à 300°C
Température du détecteur FID	300°C
Injecteur en mode split	1/50
Durée de l'analyse	60 min

Le chromatographe utilisé est de type Perkin Elmer, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). Dans certains cas, les substances de référence dont nous disposions n'ont pas permis l'identification de pics pourtant importants.

V.10- Détermination des points de fusion de mélanges cire-beurre

Les mélanges de beurre-cire sont effectués en faisant fondre des quantités de cire et beurre au bain marie à des proportions variables. Le mélange est ensuite homogénéisé, puis refroidi à température ambiante. Les pourcentages de cire dans les mélanges sont de 0, 10, 20, 30, 40 et 50%.



**TROISIÈME PARTIE :
RÉSULTATS ET DISCUSSION**

CHAPITRE I : BIBLIOMÉTRIE

Il s'agit dans ce chapitre d'évaluer l'environnement thématique du sujet afin d'en dégager la pertinence relativement aux publications effectuées sur la thématique. La présente bibliométrie a été réalisée sur une période de 20 ans s'étendant de 1998 à 2018 en vue d'évaluer l'évolution des publications scientifiques sur le sujet au cours de cette période.

I- THÉMATIQUE DES CIRES VÉGÉTALES

I.1- Nombre de publications en fonction des années

La thématique des cires végétales a été abordées par de nombreux auteurs ayant publié dans divers domaines au cours de la période de 1998 à 2018. La **figure 19** présente l'évolution du nombre de publication en fonction des années.

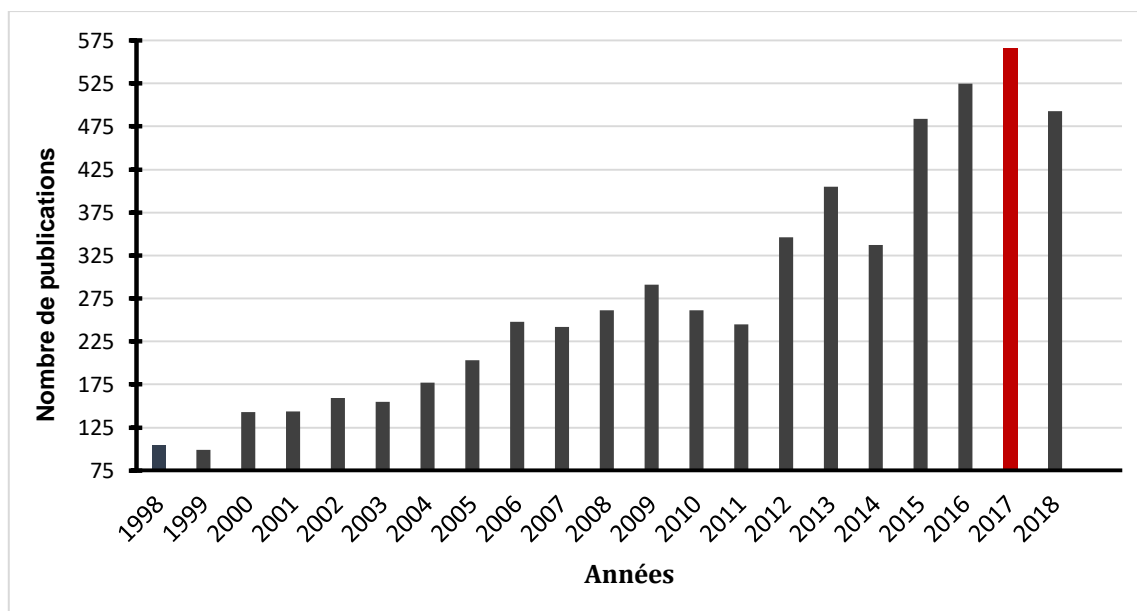


Figure 19 : Nombre de publications par année sur la thématique des cires végétales

Environ 5890 publications relatives au sujet ont été enregistrées sur la période de 1998 à 2018, bien que la première publication ait été enregistrée en 1882. Un nombre de 3953 publications parmi celles-ci ont été enregistrées dans les dix dernières années (2009-2018), soit environ 67% des publications enregistrées sur la période. On note également 40% des publications sur les cinq dernières années. Le pic des publications a été enregistré en 2017 avec 566 publications soit environ 10% des publications. La moyenne annuelle de publications peut être estimée à 280 sur toute la période d'étude. Ces chiffres dénotent de l'engouement scientifique que suscite le sujet des cires végétales.

Cet intérêt général pourrait s'expliquer par le fait qu'il est aujourd'hui constaté une grande préférence des cires végétales au détriment des cires issues du pétrole dans de nombreuses applications telles que les domaines du cosmétique et de l'agroalimentaire. En effet, comme le montre la **figure 20**, la bibliométrie indique que de nombreuses publications ont été faites ces 20 dernières années sur la thématique des cires végétales comparativement aux cires animales, synthétiques et minérales. Par ailleurs, la faible proportion de publications relativement aux cires animales pourrait être liée à l'interdiction de chasse de certains animaux à partir desquels étaient extraites certaines cires comme le blanc de baleine (spermaceti), et à la baisse des colonies d'abeilles ayant nettement réduit la disponibilité de la cire d'abeille (**Bromenshenk et al., 2010**).

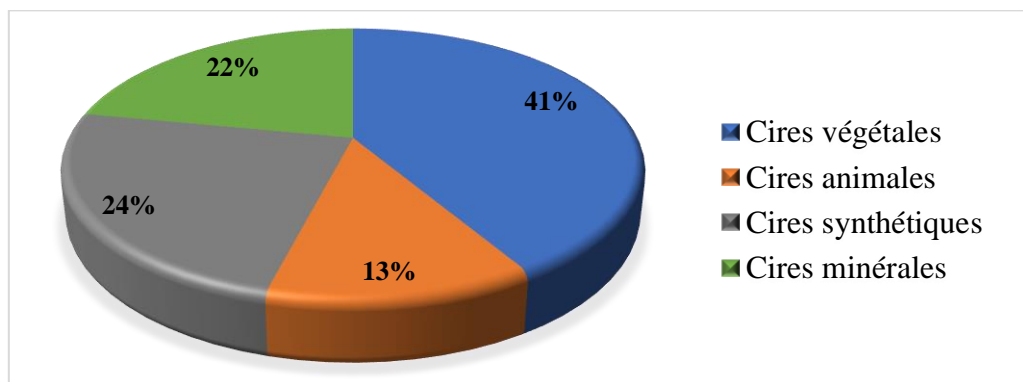


Figure 20 : Proportions de publications sur les différentes classes de cires

I.2- Nombre de publications en fonction des auteurs

De nombreux auteurs (environ 3000) ont publié sur le sujet des cires végétales. Les auteurs ayant réalisé le plus de publications sur le sujet sont Jetter Reinhard avec environ 96 publications, suivi de Simoneit Bernd R. T. avec 58 publications et de Schreiber Lukas avec 43 publications.

La **figure 21** donne les quinze auteurs ayant publié le plus sur la thématique des cires végétales.

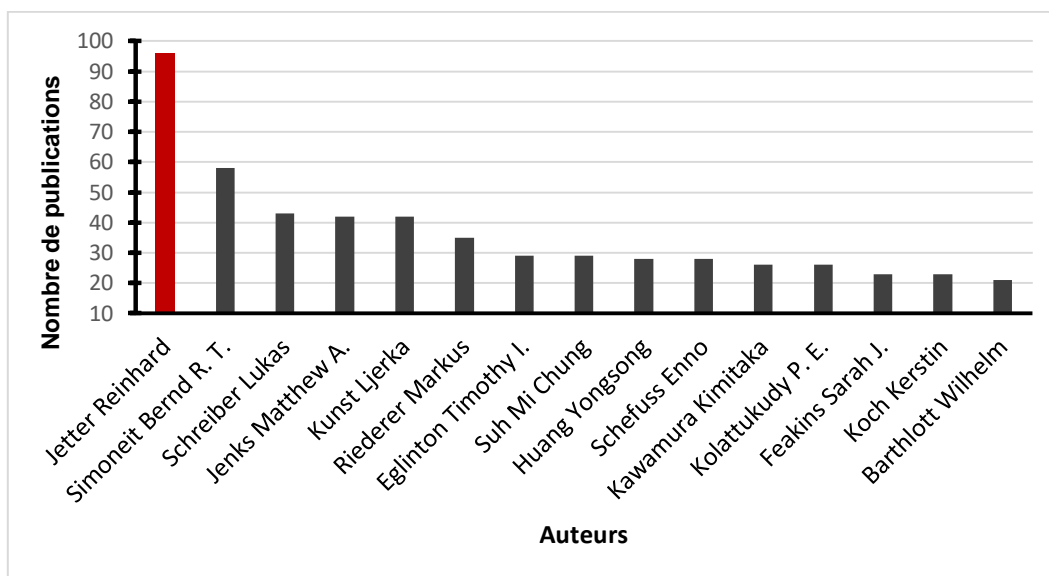


Figure 21 : Nombre de publications en fonction des auteurs

I.3- Proportion des publications en fonction des domaines de publication

Les publications sur les cires végétales ont été réalisées dans divers domaines dont la toxicologie, la peintures, les colorants et pigments organiques, les corps gras et savons ainsi que les vernis et laques. Cependant les domaines ayant enregistré le plus de publications sont illustrés dans la **figure 22**.

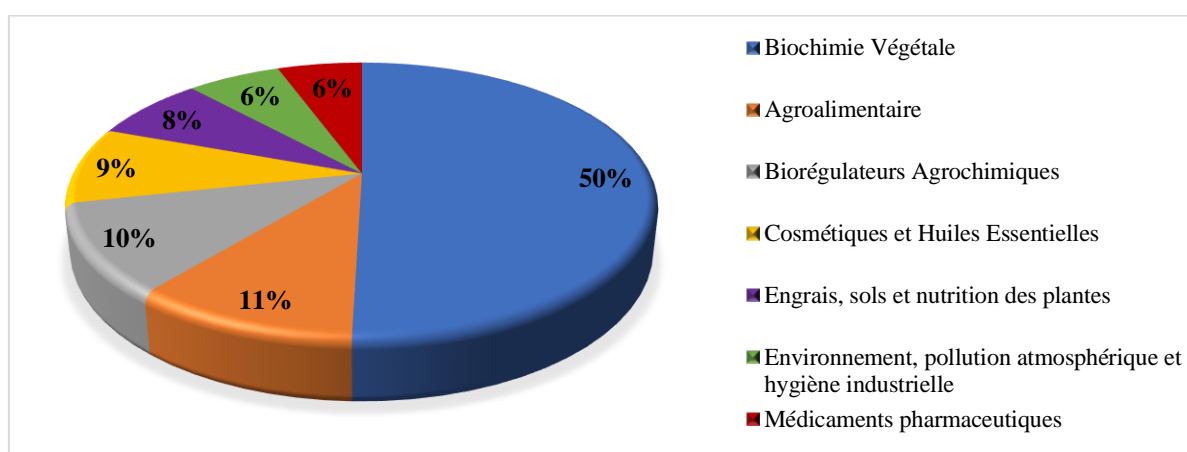


Figure 22 : Pourcentage des publications en fonction des domaines de publications

Selon la **figure 22**, le domaine ayant enregistré le plus de publications est celui de la biochimie végétale avec environ 50% des publications, suivi de celui de l'agroalimentaire et de celui des biorégulateurs biochimiques avec respectivement 11% et 10% des publications.

I.4- Proportion des publications en fonction du type de documents

Un nombre important de documents divers ont été écrits sur le sujet des cires végétales. La **figure 23** montre les proportions des publications par type de document dans lequel les publications ont été faites.

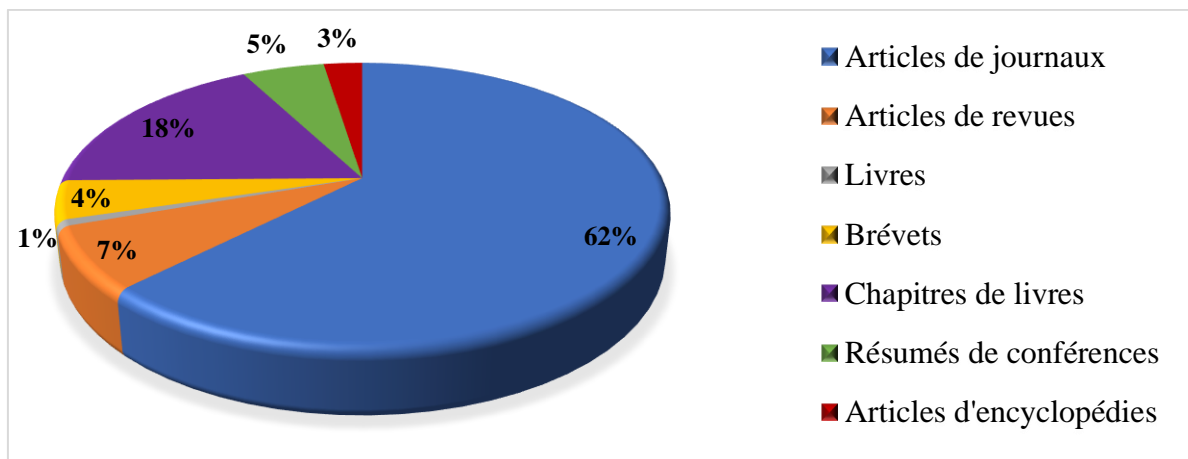


Figure 23 : Pourcentage des publications en fonction du type de document

L'analyse de la **figure 23** montre que 62% des documents publiés sur les cires végétales ont été réalisés dans des articles de journaux, 18% des documents publiés sont des chapitres de livres et 7% des documents publiés sont des revues de journaux.

Ainsi, ces chiffres montrent que la majorité des publications scientifiques enregistrées sont des articles de journal suivis des chapitres de livres. On note également une proportion non négligeable de brevets obtenus sur cette thématique. Ceci montre que le sujet de recherche sur les cires végétales est encore en plein essor eu égard à l'engouement scientifique déployé autour de cette thématique.

II- THÉMATIQUE DE *Borassus aethiopum*

II.1- Nombre de publications en fonction des années

La première publication sur la thématique de *Borassus aethiopum* a été enregistrée en 1986. Toutefois, la période de la présente étude bibliométrique ne prend pas en compte cette année.

La **figure 24** illustre le nombre de publications effectués par année sur la thématique.

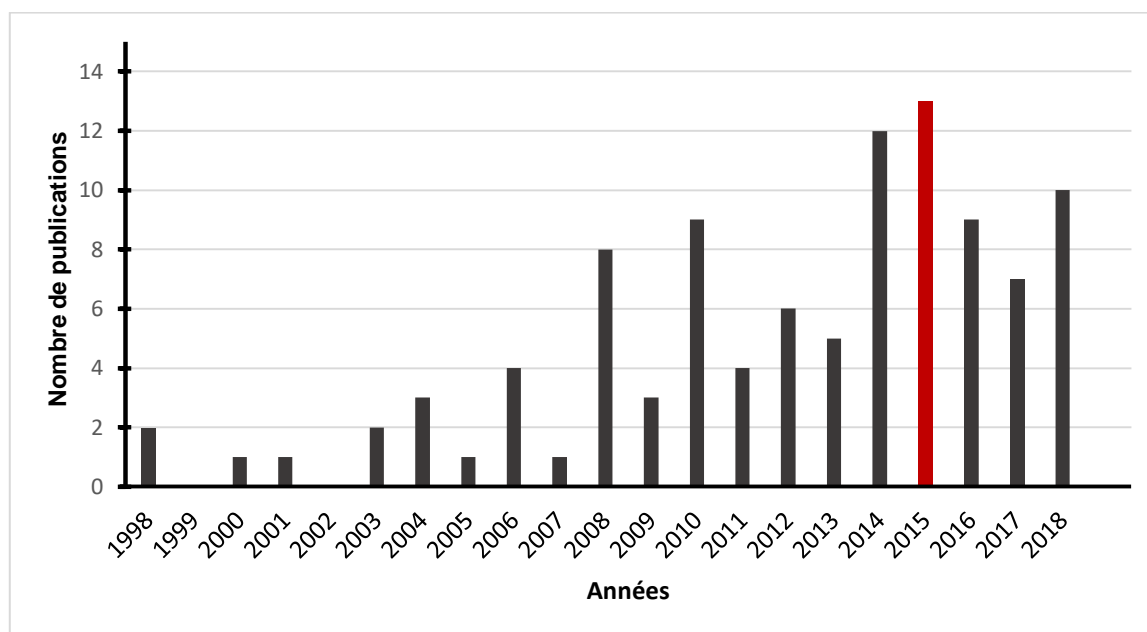


Figure 24 : Nombre de publications par année sur la thématique de *Borassus aethiopum*

Environ une centaine de publications relatives au sujet a été enregistré sur la période de l'étude dont 78 publications dans les dix dernières années (2009-2018), soit environ 78% des publications. On note également 51% des publications sur les cinq dernières années. Le pic des publications a été enregistré en 2015 avec 13 publications soit environ 13% des publications. La moyenne annuelle de publications est estimée à 280 sur toute la période d'étude bibliométrique. Ces chiffres montrent que le sujet relatif au palmier africain *Borassus aethiopum* a enregistré en général très peu de publication. Cela pourrait s'expliquer par le fait que cette plante soit répartie que sur une certaine zone géographique du globe (essentiellement en Afrique). Cela a conduit donc à une faible connaissance de cette plante par le monde scientifique avant les années 1900. Toutefois, c'est une thématique qui suscite de plus en plus d'engouement.

II.2- Nombre de publications en fonction des auteurs

La thématique de *Borassus aethiopum* a été abordée par très peu d'auteurs. Le nombre d'auteurs ayant effectué une publication sur le sujet, est de 225 provenant de différents pays avec une très grande majorité d'auteurs africains (environ 90%). L'auteur ayant réalisé le plus de publications sur le sujet est l'ivoirien Agbo Georges N. avec environ 4 publications.

La **figure 25** montre les huit auteurs ayant publiés le plus sur la thématique.

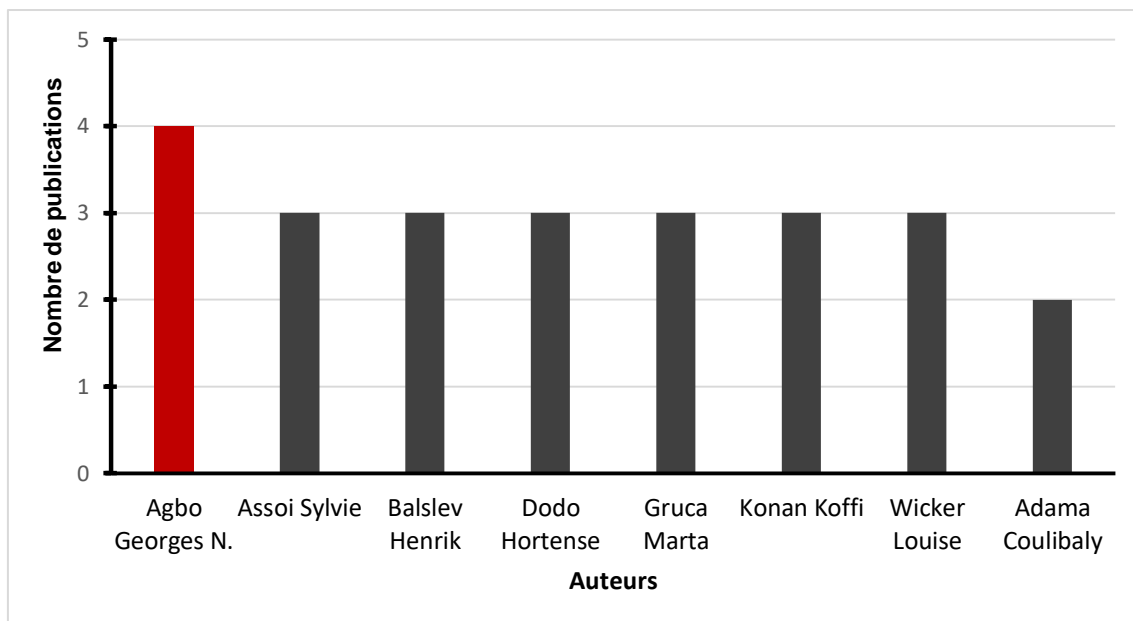


Figure 25 : Nombre de publications en fonction des auteurs

II.3- Proportion des publications en fonction des domaines de publications

La thématique de *Borassus aethiopum* a été abordée dans divers domaines dont ceux ayant enregistré le plus de publications sont illustrés dans la **figure 26**.

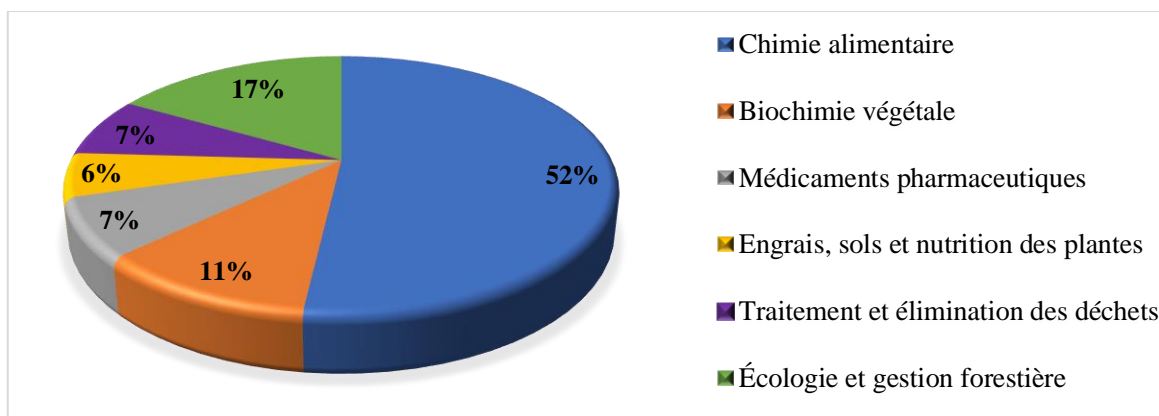


Figure 26 : Pourcentage des publications en fonction des domaines

La **figure 26** montre que le domaine dans lequel le plus grand nombre de publications a été effectué est le domaine de la chimie alimentaire qui enregistre 52 % des publications, suivi de l'écologie et la gestion forestière. Ces résultats pourraient s'expliquer par le fait que la grande partie des travaux effectués sur le Rônier, a été réalisée sur les fruits comestibles de la plante. En outre, d'autres travaux ont été menés dans le contexte de la connaissance et de la préservation de l'espèce végétale.

II.4- Proportion des publications en fonction du type de documents

Divers documents ont été écrits dans le but de mieux faire connaître le Rônier qui est vraisemblablement l'un des palmiers africains les moins vulgarisés. La **figure 27** montre les proportions des publications par type de documents dans lesquels les publications ont été réalisées.

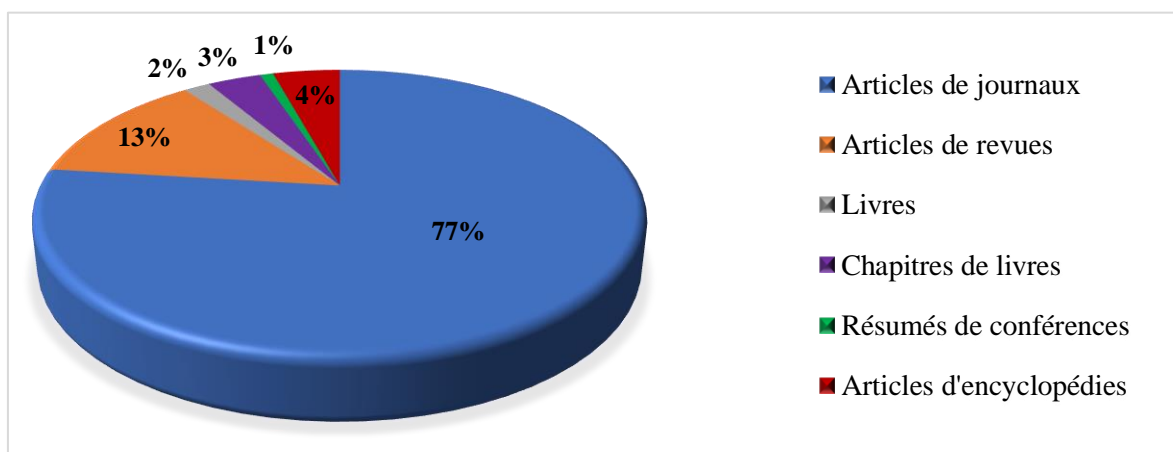


Figure 27 : Pourcentage des publications en fonction du type de document

L'analyse de la **figure 27** montre qu'environ 77% des documents publiés sur le Rônier, ont été réalisés dans des articles de journaux, 13% des documents publiés sont des revues et 4% des documents publiés sont des articles d'encyclopédies. Il est à noter la quasi-inexistence de brevet sur la thématique.

Ces chiffres montrent que la majorité des publications scientifiques enregistrées sont des articles de journaux suivis d'articles de revues. Par ailleurs, ces chiffres montrent également que le sujet de recherche sur le Rônier est un sujet à haut potentiel de recherche eu égard à la croissance progressive du nombre de publications effectuées ces dernières années.

III- THÉMATIQUE DE *Mangifera indica*

III.1- Nombre de publications en fonction des années

La première publication sur la thématique du manguier (*Mangifera indica*) a été enregistrée en 1984. Environ 9400 publications relatives au sujet ont été enregistrées sur la période de l'étude bibliométrique (1998 à 2018). 7189 publications parmi celles-ci ont été enregistrées dans les dix dernières années (2009-2018), soit environ 76% des publications enregistrées sur la période. On note également 46% des publications réalisées sur les cinq

dernières années. Le pic des publications a été enregistré en 2016 avec 926 publications soit environ 10% des publications. La moyenne annuelle de publications peut être estimée à 448 sur toute la période de l'étude bibliométrique. Ces chiffres montrent que le sujet relatif au manguier a enregistré en général de nombreuses publications. Cela pourrait s'expliquer par le fait que cet arbre soit très connu du monde scientifique car sa culture a été exportée un peu partout dans le monde dès les années 1800 (**De Candolle, 1885**). La **figure 28** illustre le nombre de publications effectuées par année sur la thématique.

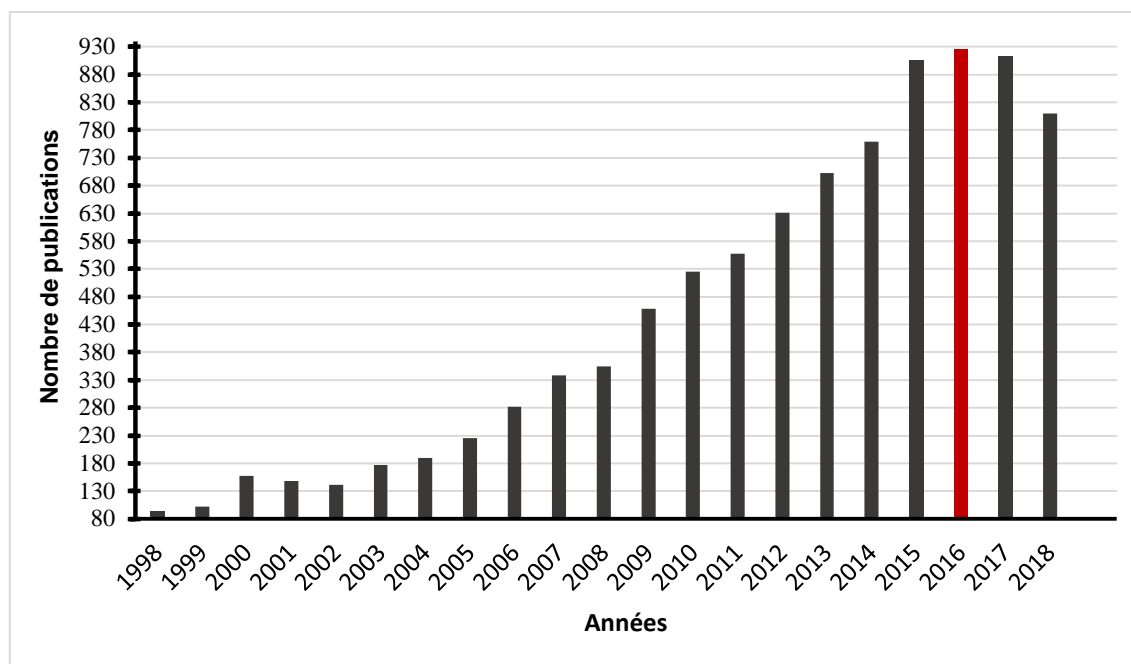


Figure 28 : Nombre de publications par année sur la thématique de *Mangifera indica*

III.2- Nombre de publications en fonction des auteurs

La thématique de *Mangifera indica* a été abordée par de nombreux auteurs. Le nombre d'auteurs ayant effectués au moins une publication sur le sujet, est estimé à environ 1000 provenant de différents pays avec une très grande majorité d'auteurs asiatiques (indiens, chinois et japonais). L'auteur ayant réalisé le plus de publications sur le sujet est l'auteur indien **Singh Zora** avec environ 62 publications. Ce constat pourrait être lié au fait que le manguier soit une plante originaire de l'Asie précisément de l'Inde (**De Candolle, 1885**).

La **figure 29** montre les six auteurs ayant publié le plus sur la thématique.

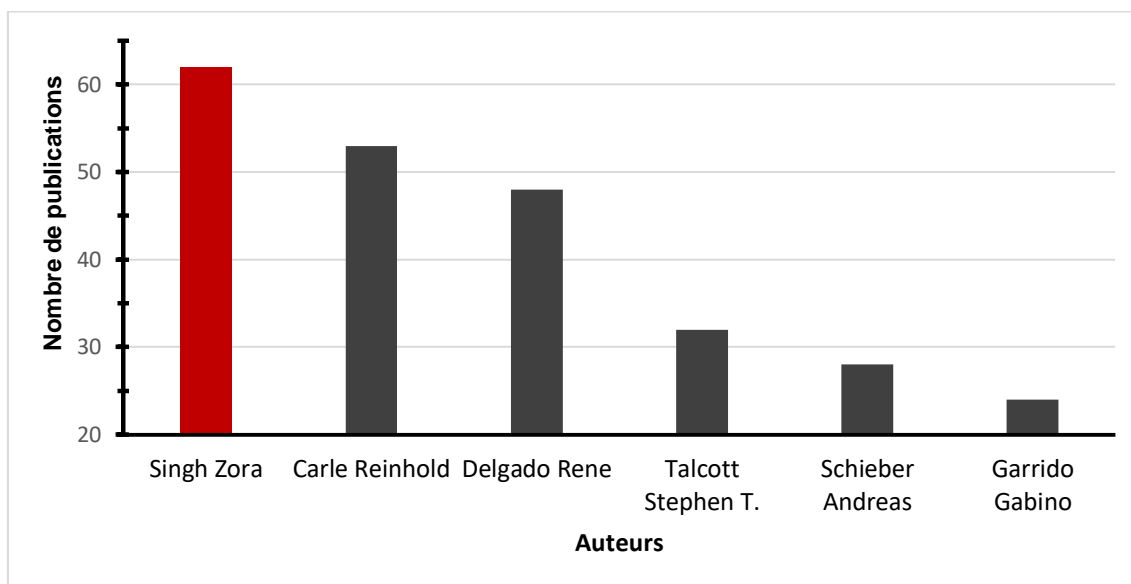


Figure 29 : Nombre de publications en fonction des auteurs

III.3- Proportion des publications en fonction des domaines de publications

La thématique de *Mangifera indica* a été abordée dans divers domaines dont ceux ayant enregistré le plus de publications sont illustrés par la **figure 30**.

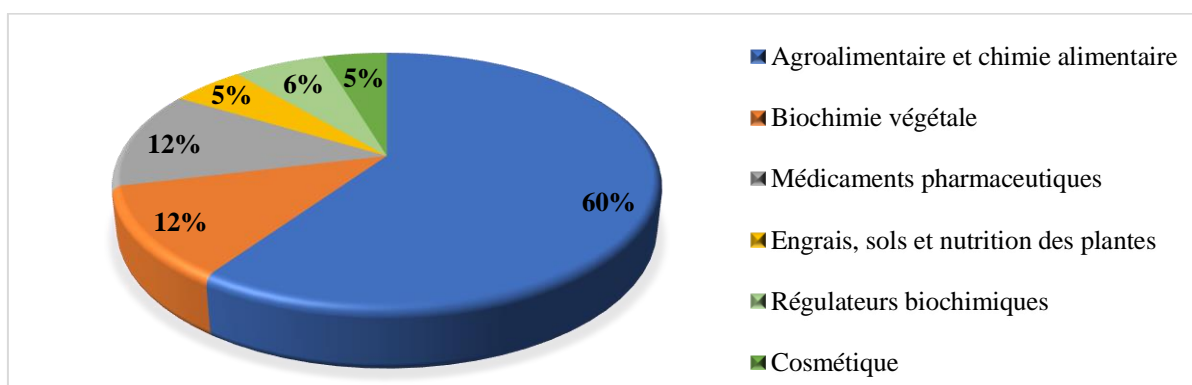


Figure 30 : Pourcentage des publications en fonction des domaines de publications

L'analyse de la **figure 30** montre que le domaine dans lequel le plus grand nombre de publications a été effectué est le domaine de la chimie alimentaire et l'agroalimentaire qui enregistre 60% des publications, suivi de la biochimie végétale et des médicaments pharmaceutiques avec 12% chacun. Ces résultats pourraient s'expliquer par le fait que la grande partie des travaux effectués sur le manguiier est relative aux fruits (les mangues) qui sont industriellement exploités et largement consommés.

III.4- Proportion des publications en fonction du type de documents

Divers documents ont été écrits sur le mangouier et ses fruits. La **figure 31** montre les proportions des publications par type de documents dans lesquels les publications ont été réalisées.

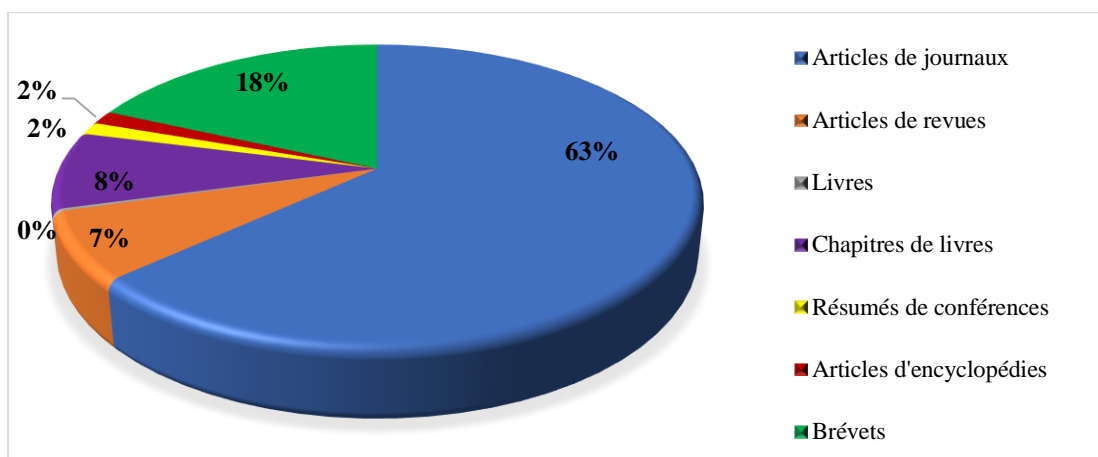


Figure 31 : Pourcentage des publications en fonction du type de documents

L'analyse de la **figure 31** montre que 63% des documents publiés sur *Mangifera indica* ont été réalisés dans des articles de journaux. On note un fort taux (18%) de brevets obtenus sur le sujet. Cela dénote du fort engouement scientifique suscité par la thématique du mangouier et ses fruits qui constituent un domaine de recherche particulièrement prisé par les chercheurs.

IV- CONCLUSION PARTIELLE

La présente étude bibliométrique a permis de montrer l'intérêt général et l'engouement scientifique que suscite le sujet des cires végétales eu égard au nombre de publications de plus en plus croissant effectué sur cette thématique. Elle montre également qu'au niveau des deux plantes, *Mangifera indica* a longtemps été étudiée et continue de susciter de l'engouement pendant que *Borassus aethiopum* auparavant très peu connu, commence à susciter également de l'engouement en termes de recherches et de publications scientifiques. Cependant, aucune de ces études scientifiques ne fait mention de la possibilité d'obtenir des cires à partir de ces deux ressources végétales. Cette nouvelle approche scientifique qu'est la bibliométrie est aujourd'hui de plus en plus recommandée et utilisée avant d'entreprendre un projet de recherche ou une étude sur un sujet donné.

CHAPITRE II : RENDEMENTS ET CINÉTIQUE D'EXTRACTION DES CIRES

Ce chapitre a pour objectif d'étudier l'évolution des rendements d'extraction en fonction de divers paramètres tels que la méthode d'extraction, le solvant d'extraction, la granulométrie du matériel végétal, ainsi que la cinétique d'extraction des cires végétales extraites à partir des feuilles de Rônier et des peaux de Mangue.

I- RENDEMENTS D'EXTRACTION

I.1- Influence de la méthode d'extraction sur le rendement

Les cires ont été extraites à partir de trois (3) différentes méthodes d'extraction afin de déterminer laquelle serait la plus efficace en termes de rendement. Ainsi, une masse 30 g de matière végétale a été utilisée pour chaque extraction avec le n-hexane comme solvant. Les résultats obtenus pour les deux cires extraites sont illustrés dans la **figure 32**.

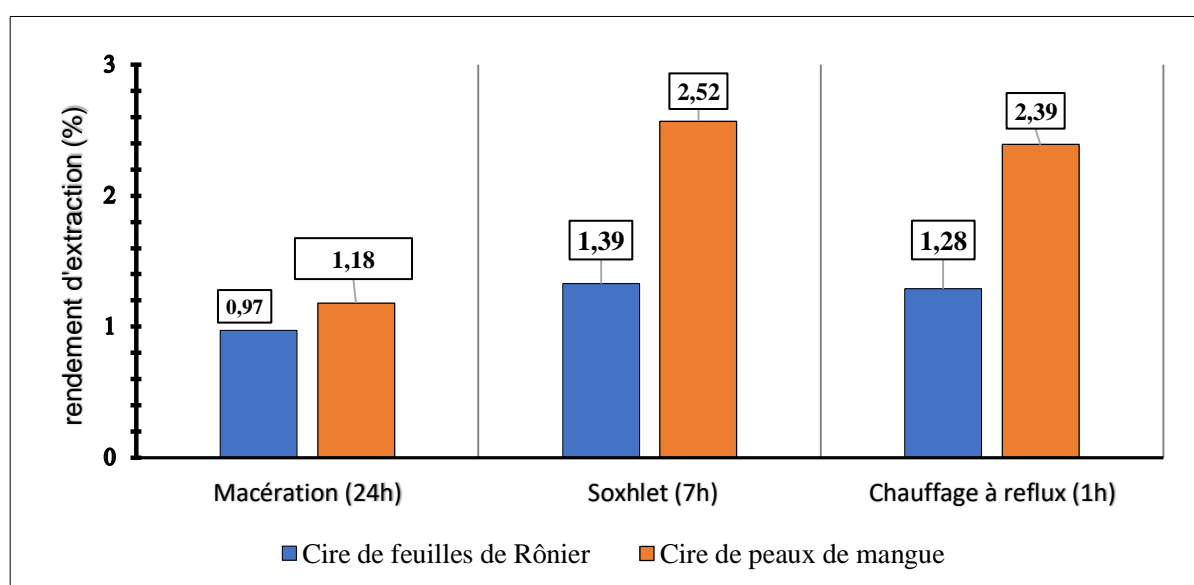


Figure 32 : Rendements d'extraction en fonction de la méthode d'extraction

Pour la cire de feuilles de Rônier, les rendements d'extraction obtenus par macération, la méthode de chauffage à reflux, et le Soxhlet sont respectivement de 0,97%, 1,28% et 1,39% tandis que ceux obtenus pour la cire de peaux de Mangue sont respectivement de 1,18%, 2,39% et 2,52%.

Les rendements d'extraction des cires de peaux de Mangue sont supérieurs à ceux des cires de feuilles de Rônier quelque soit la méthode d'extraction. Cela pourrait être dû à l'aspect mou des poudres de broyats de peaux de Mangue par rapport à celui des poudres de

broyat des feuilles de Rônier. En effet, cet aspect favorise le mouillage et donc une plus grande pénétration du solvant. Cela entraîne par conséquent une plus grande quantité de cire extraite. De plus, la plante perdant généralement de l'eau par les feuilles, les cires issues de ces organes sont donc localisées plus en profondeur de la cuticule empêchant ainsi les pertes en eau (**Riederer and Schreiber, 2001**).

De façon générale, les rendements d'extraction obtenus pour les deux cires avec le n-hexane sont supérieurs à ceux des cires de grains de sorgho (0,16 – 0,30 %) (**Megan, 2018**), de l'épluchure de canne à sucre (0,95 %) (**Inarkar and Lele, 2012**), voisins de ceux des cires de Sons de riz (1,00 – 2,00 %) [16] et inférieurs à ceux des cires de Candelilla (3,50 %) (**Rojas-Molina et al., 2013**) et de Carnauba (4,00-5,00 %) (**Sin,2012**).

Les rendements d'extraction obtenus par la méthode Soxhlet sont plus élevés que ceux obtenus avec la méthode de chauffage à reflux et la macération faisant de l'extraction par Soxhlet, la méthode d'extraction la plus efficace des trois méthodes. Ces résultats s'expliquent aisément par le fait que l'extraction au Soxhlet, en plus du facteur température, soit une extraction dynamique et continue où le solvant est continuellement renouvelé et ne peut donc être saturé comme dans les deux autres cas. Par ailleurs, le rendement plus élevé dans le cas de la méthode de chauffage à reflux par rapport à la macération s'explique par le fait que dans le premier cas, la température plus élevée, constitue un facteur important dans l'extraction des cires végétales (**Bouthaina, 2008 ;Athukorala et al., 2009**).

Ces résultats montrent que l'extraction par Soxhlet semble être la meilleure méthode pour l'extraction des cires car elle permet d'obtenir les meilleurs rendements. De plus, la consommation de solvant peut être réduite de 90% avec cette technique, ce qui la rend moins chère et plus écologique. Cette méthode a été retenue comme méthode d'extraction dans la suite des travaux.

I.2- Influence du solvant sur le rendement d'extraction

L'extraction par Soxhlet des cires a ensuite été réalisée avec trois différents solvants organiques : l'hexane, l'acétate d'éthyle et l'éthanol. Ces solvants ont pour but de solubiliser les cires de manière efficace et sélective et doivent être facilement éliminés afin de récupérer les cires recherchées. Le choix de ces solvants, en dehors de l'hexane, se justifie par leur faible impact environnemental et leurs grandes stabilités (**Curzons et al., 1999**). Les rendements obtenus sont donnés dans le graphique de la **figure 33**.

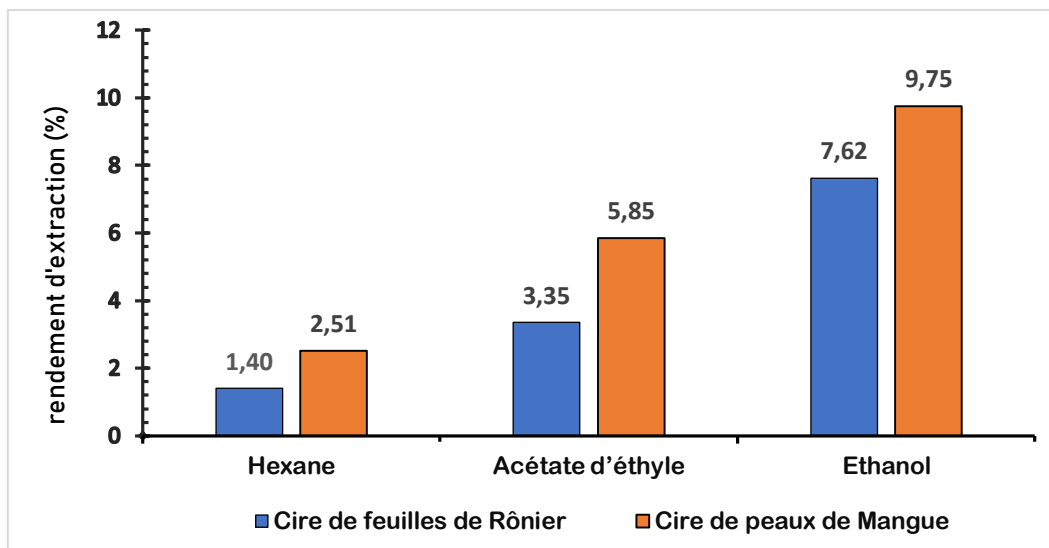


Figure 33 : Rendement d'extraction en fonction du solvant utilisé

Les rendements obtenus avec ces trois solvants sont respectivement de 1,40%, 3,35% et 7,62% pour la cire de feuilles de Rônier et de 2,51%, 5,85% et 9,75% pour la cire de peaux de Mangue.

Les rendements obtenus avec l'hexane (1,4% et 2,51%) sont supérieurs à celui obtenu par Sin (2012) dans l'extraction de cire de paille de blé, qui est de 1,2%. Ceux obtenus avec l'acétate d'éthyle (3,35% et 5,85%) sont également supérieurs au rendement obtenu par Sin (2012) avec le même solvant (2,31%). Enfin, les rendements avec l'éthanol qui sont de 7,62% et 9,75% sont nettement supérieurs au rendement obtenu par Sin (2012) qui est de 3,87 %.

Ces résultats montrent également que plus la polarité du solvant organique utilisé est élevée, plus le rendement d'extraction est élevé. Ces résultats pourraient s'expliquer par le fait que l'éthanol et l'acétate d'éthyle étant plus polaires que l'hexane, extraient plus de composés polaires. En effet, la dissolution d'un composé dans un solvant ne peut se produire que lorsque les forces attractives entre le soluté et le solvant l'emportent sur les interactions solvant-solvant et soluté-soluté (Adams, *et al.* 2005). Ces forces attractives et la quantité de co-extraits augmentent avec la polarité du solvant et permettent de justifier les résultats obtenus. Toutefois, la polarité du solvant qui mesure la résistance du solvant, ne peut être uniquement définie par les interactions solvant-soluté (Edmundson and Jacks, 1989). Plus il y a de co-extraits dans un extrait, plus le rendement en cire brute est élevé (Sin, 2012), ce qui est à l'origine des rendements élevés obtenus avec l'éthanol et l'acétate d'éthyle comparativement à l'hexane.

I.3- Analyse de la sélectivité des solvants

Les extractions au solvant ont tendance à être non sélectives et peuvent conduire à l'extraction de nombreuses molécules indésirables (co-extraits). En effet, diverses études ont établi la présence de nombreux composés dans des extraits lipidiques de plantes. Parmi ces composés, on distingue notamment des acides phénoliques, des acides résiniques, des glycérides, des phospholipides, des pigments, des glucides de faibles poids moléculaires, des cendres et des sels. Une étude de sélectivité des solvants a donc été réalisée afin d'apprécier le caractère sélectif des solvants utilisés.

Pour ce faire, la fraction lipophile des cires extraites a été déterminée en utilisant comme solvant de référence le dichlorométhane (DCM) reconnu comme un très bon solvant des cires (Sin, 2011). Les résultats obtenus sont consignés dans le **tableau 13**.

Tableau 13 : Rendement brut d'extraction et fraction soluble au DCM et à l'eau en fonction des solvants d'extraction

Solvants	Rendement brut (%)	Fraction soluble DCM (%) (fraction cireuse)	Fraction hydrosoluble (%)
<i>Cire de feuilles de Rônier</i>			
Ethanol	7,62	3,96	3,66
Acétate d'éthyle	3,35	2,95	0,40
Hexane	1,40	1,30	0,10
<i>Cire de peaux de Mangue</i>			
Ethanol	9,75	5,95	3,80
Acétate d'éthyle	5,85	4,85	1,00
Hexane	2,5	2,37	0,13

Les pourcentages de sélectivité ont été calculés à l'aide de la formule de la relation (8) et ont permis d'établir le graphique de la **figure 34**.

$$\text{Sélectivité (\%)} = \frac{\text{Fraction soluble DCM (\%)}}{\text{Rendement brut (\%)}} \times 100 \quad (8)$$

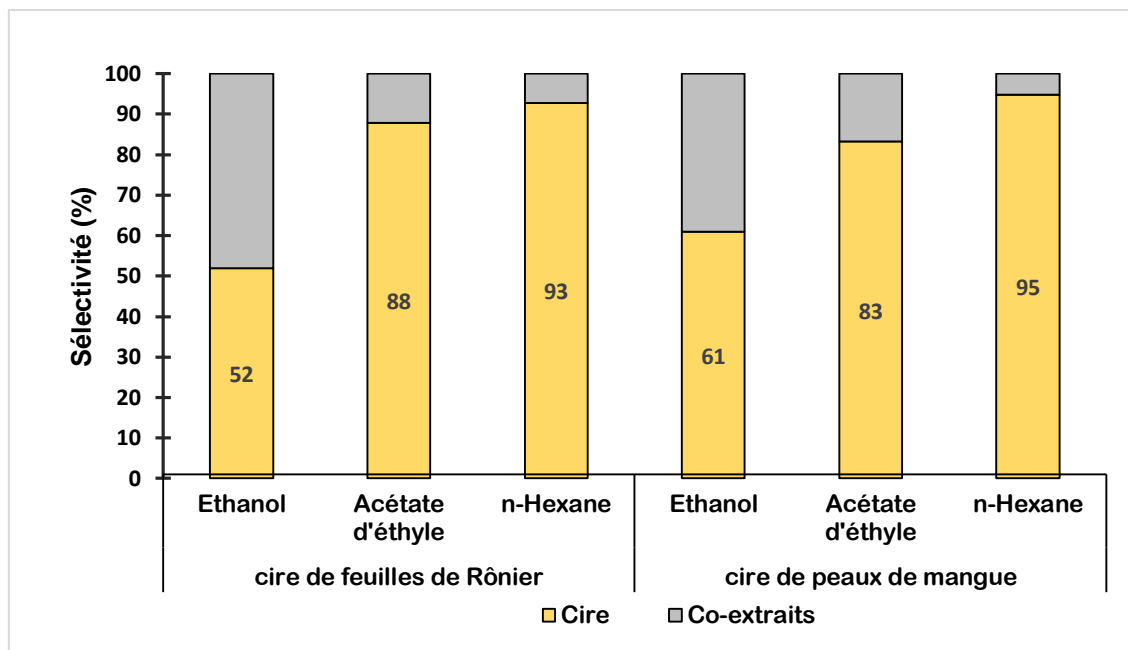


Figure 34 : Sélectivité de trois différents solvants d'extraction

L'analyse de la **figure 34** montre que l'hexane semble être le plus sélectif des solvants et présente une bonne sélectivité, car plus de 90% de l'extrait hexanique constitue un matériau cireux lipophile. Ce résultat est en accord avec la sélectivité élevée observée avec l'hexane lors du fractionnement des cires de pailles de blé (**Deswarte et al., 2006**). L'acétate d'éthyle a également indiqué une sélectivité élevée de 88% pour la cire de feuilles de Rônier et 83% pour la cire de peaux de Mangue. Ainsi l'éthanol apparaît comme étant le solvant le moins sélectif. En effet, l'utilisation de l'éthanol comme solvant d'extraction peut également améliorer la solubilité d'autres composés, ce qui conduira à une extraction moins sélective.

Si l'on ajoute les résultats des rendements bruts en cires en fonction de la sélectivité, le **tableau 13** donne les rendements réels en cires contenues dans les deux matrices végétales. Ici encore, les meilleurs rendements en cires sont obtenus avec l'éthanol à des valeurs respectives de 3,96%, et 5,95% pour les cires de feuilles de Rônier et de peaux de Mangue. Toutefois, l'utilisation de ce solvant exigera des purifications supplémentaires car les cires obtenues avec ce dernier sont de couleur noirâtre, indiquant une forte proportion de composés non cireux.

I.4- Influence de la granulométrie sur les rendements d'extraction

La granulométrie des broyats du matériel végétal a été étudiée dans le but d'établir un lien éventuel entre ce paramètre et les rendements d'extraction des cires (**figure 35**).

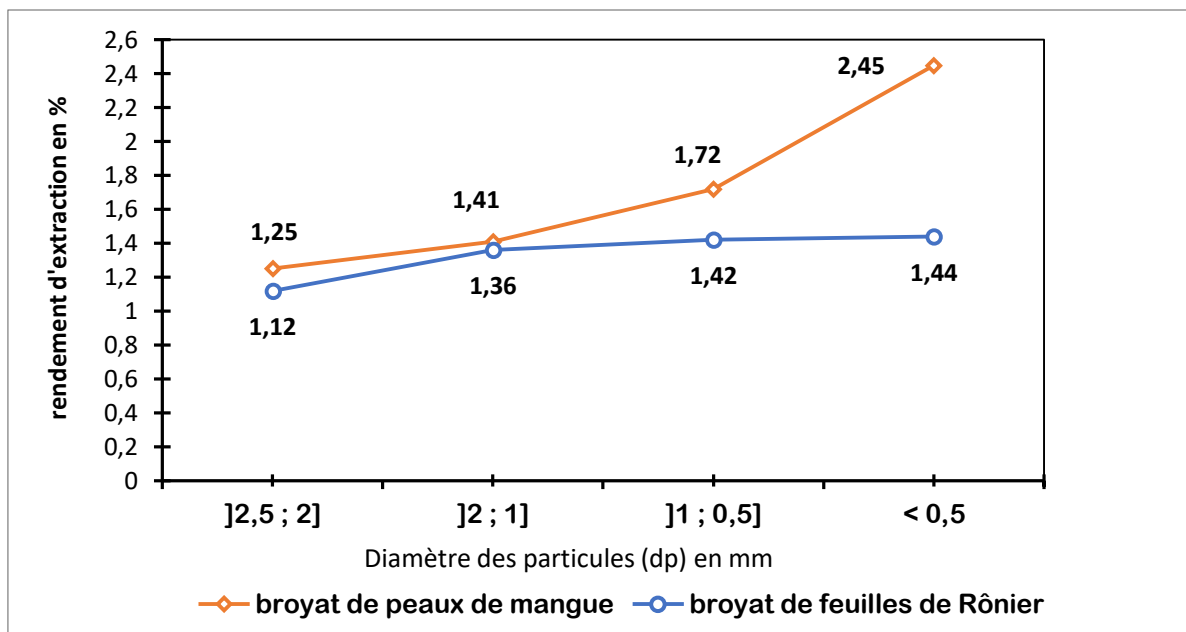


Figure 35 : Influence de la taille des particules sur le rendement d'extraction

L'analyse du graphique de la **figure 35** indique que pour le broyat de peaux de Mangue, le rendement d'extraction augmente à mesure que la taille des particules diminue. La plage de taille de particules optimale pour ce broyat est établie à une granulométrie inférieure à 0,5 mm conduisant à un rendement d'extraction de $(2,45 \pm 0,08)\%$. Quant au broyat des feuilles de Rônier, le rendement d'extraction croît également à mesure que la taille des particules diminue et se stabilise déjà à une granulométrie comprise entre 1 et 0,5 mm conduisant à un rendement de $(1,42 \pm 0,05)\%$.

Ces résultats sont en accord avec ceux de la littérature qui stipulent de façon générale que plus le broyage est fin, plus le taux d'extraction croît. En effet, le broyage vise à diviser la matière pour augmenter la surface de contact entre le solide et le solvant d'extraction et à faciliter l'extraction des cires (**Bouthaina, 2008**). Ainsi, pour les particules plus fines, la résistance au transfert de matière interne des solutés va diminuer. Cela explique l'augmentation du rendement après le broyage. Cependant, une diminution du rendement pourrait être observée pour les particules les plus fines (en deçà d'une certaine granulométrie) comme cela a été rapporté dans la littérature lors de l'étude de l'influence de la taille des particules sur le rendement global d'extraction de la fraction volatile de *T. articulata* par CO₂ supercritique (**Herzi, 2013**).

II-CINÉTIQUE D'EXTRACTION

La cinétique des extractions des cires de feuilles de Rônier et de peaux de Mangue a été déterminée en notant les rendements d'extraction obtenus à diverses durées d'extraction variant de 1 h à 7 h.

L'allure des courbes obtenues est indiquée par la **figure 36**.

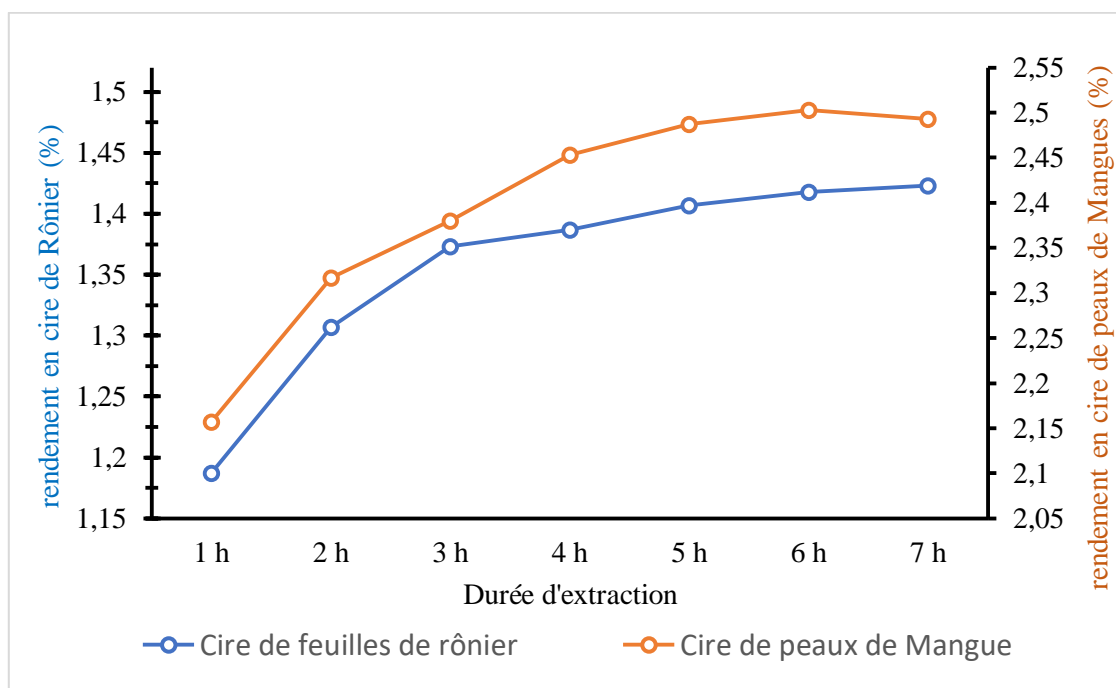


Figure 36 : Cinétique d'extraction de la cire de feuilles de Rônier et de peaux de Mangue

Ces résultats montrent que l'extractibilité augmente avec le temps d'extraction jusqu'à une valeur d'équilibre à partir de laquelle l'augmentation devient négligeable. Ces courbes sont assez typiques avec une tendance générale exponentielle présentant une limite asymptotique, qui montre qu'un équilibre est atteint lorsque la concentration dans les extraits devient indépendante du temps.

L'allure de ces courbes indique qu'une grande partie des cires extraites sont disponibles à la surface des organes végétaux étudiés. En effet, la courbe obtenue a une croissance rapide et se stabilise dès les premières heures d'extraction indiquant l'extraction de cires épicuticulaires (Pham et al., 2018).

Une analyse de variance a été effectuée pour vérifier s'il y a une différence significative entre les valeurs moyennes des rendements obtenus. Les résultats de l'analyse sont consignés dans le **tableau 14**.

Tableau 14 : Test statistique effectué sur la cinétique d'extraction

Test de Newman-Keuls, $\alpha = 0,050$		
Durée d'extraction (h)	Moyennes des Rendements (%)	
	Cire de feuilles de Rônier	Cire de peaux de Mangue
1	1,187 (a)	2,157 (a)
2	1,307 (b)	2,317 (b)
3	1,353 (c)	2,380 (c)
4	1,377 (c)	2,453 (d)
5	1,407 (c)	2,487 (d)
6	1,418 (c)	2,503 (d)
7	1,423 (c)	2,493 (d)

Pour un rendement donné, il n'y a pas de différence significative entre deux valeurs portant une même lettre (a ou b ou c). Deux lettres différentes traduisent une variabilité significative entre les rendements.

Les résultats d'analyse de la variance (ANOVA) indiqués dans le **tableau 14** montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les moyennes à partir d'une durée d'extraction de 3 h pour la cire de feuilles de Rônier et après 4 h pour la cire de peaux de Mangue. Par conséquent, l'équilibre est supposé atteint respectivement après 3 h et 4 h d'extraction pour l'extraction des deux cires.

Pour la même durée d'extraction, les quantités de cires extraites des peaux de Mangue sont supérieures à celles extraites des feuilles de Rônier. Par ailleurs, pour ces mêmes durées d'équilibre d'extraction, les rendements des deux cires sont supérieurs à ceux obtenus par **Pham et al. (2018)** dans l'extraction de cires de certaines céréales (blé = 0,12%, riz = 0,18% et sorgho = 0,30%). Aussi, **Hwang et al. (2004 ; 2005)** ont obtenu pour les mêmes plantes céréalières un rendement en cire de 0,2 à 0,3% pour un temps d'extraction optimale de 30 min.

Ces résultats laissent également suggérer que les cires disponibles au sein des matrices végétales des feuilles de Rônier et des peaux de Mangue sont en grande partie des cires épicuticulaires (**Barthlott et al., 1998**).

III- CONCLUSION PARTIELLE

Trois différentes méthodes ont été expérimentées dans l'extraction des cires végétales à partir des feuilles de Rônier et des peaux de Mangue. Les résultats obtenus montrent que la méthode d'extraction au Soxhlet est la plus adéquate pour l'extraction des cires car elle présente les rendements les plus élevés.

L'étude de l'influence des solvants indique que l'éthanol est le solvant qui donne les meilleurs rendements en cire mais avec une faible sélectivité. L'hexane et l'acétate d'éthyle constituent de bons solvants d'extraction des cires étudiées avec des sélectivités respectives de 93% et 88% pour la cire de feuilles de Rônier et 95% et 83% pour la cire de peaux de Mangue. En outre, les résultats obtenus indiquent une granulométrie inférieure à 0,5 mm avec une durée minimale d'extraction de 4h.

CHAPITRE III : MODÉLISATION ET OPTIMISATION DES RENDEMENTS D'EXTRACTION

Ce chapitre a pour but de déterminer les facteurs importants influençant l'extraction des cires de feuilles de Rônier et de peaux de Mangue à travers un plan d'expériences et de modéliser les paramètres d'extraction afin d'aboutir à une optimisation des rendements dans des conditions spécifiées.

I- MODÉLISATION DES RENDEMENTS D'EXTRACTION

La modélisation des rendements d'extraction des cires de feuilles de Rônier et de peaux de Mangue a été réalisée par la mise en place d'un plan d'expériences, en l'occurrence celui de Placket-Burman.

I.1- Résultats

Le **tableau 15** représente les rendements d'extraction obtenus lors des huit (08) essais du plan d'expériences. Les rendements obtenus sont compris entre 1,25% et 3,25% pour la cire de feuilles de Rônier et entre 2,10% et 4,10% pour la cire de peaux de Mangue.

Tableau 15 : Résultats des essais du plan d'expériences

N° du Test	Granulométries dp (mm)	Ratios v/m (mL/g)	Types de solvant	Durées d'extraction (h)	Y ₁ (%) <i>Borassus aethiopum</i>	Y ₂ (%) <i>Mangifera indica</i>
1	1 < dp < 2	10	Acétate d'éthyle	2	2,60	2,35
2	dp < 0,5	10	Acétate d'éthyle	5	3,25	4,10
3	dp < 0,5	20	Acétate d'éthyle	5	2,80	3,20
4	1 < dp < 2	20	Hexane	5	1,25	2,10
5	dp < 0,5	10	Hexane	2	1,90	3,75
6	1 < dp < 2	20	Acétate d'éthyle	2	2,25	2,40
7	1 < dp < 2	10	Hexane	5	1,30	3,10
8	dp < 0,5	20	Hexane	2	1,60	2,80

I.2- Discussion

Les résultats obtenus ont été traités statistiquement en régression linéaire multiple à l'aide de la suite Excel de Microsoft Office. Cette analyse statistique a permis de déterminer les facteurs qui ont un effet significatif sur la réponse qu'est le rendement d'extraction. Les **tableaux 16 et 17** présentent les résultats de l'analyse statistique pour chaque matériel végétal comprenant les coefficients des modèles, l'erreur type, les valeurs du test de Student et la valeur « p-value » pour chaque facteur.

I.2.1- Au niveau de *Borassus aethiopum*

Les résultats expérimentaux du rendement d'extraction de *Borassus aethiopum*, traités en régression linéaire multiple, sont consignés dans le **tableau 16**. Seuls les facteurs pour lesquels le test de « Student » a donné une valeur de probabilité (P-value) inférieure au risque de signification **5%**, sont significatifs.

Tableau 16 : Analyse statistique des résultats expérimentaux avec *Borassus aethiopum*

Facteurs	Coefficients	P-value	Pertinence
Constante	2,1187	1,7827E-05	Oui
Granulométrie du broyat (X ₁)	-0,2687	0,0080	Oui
Ratio volume du solvant / masse de broyat (X ₂)	0,1437	0,0431	Oui
Type de solvant d'extraction (X ₃)	0,6062	0,0007	Oui
Durée d'extraction (X ₄)	0,0312	0,5158	Non

L'analyse du **tableau 16** indique des valeurs de probabilité (P-value) inférieures à 0,05 pour les facteurs X₁, X₂, et X₃ indiquant que ces trois facteurs sont statistiquement significatifs dans le cas de l'extraction de cire à partir de *Borassus aethiopum*. Le modèle obtenu est donc le suivant : $Y_1 = 2,1187 - 0,2687 X_1 + 0,1437 X_2 + 0,6062 X_3$ (M₁)

I.2.2- Au niveau de *Mangifera indica*

Les résultats expérimentaux du rendement d'extraction de *Mangifera indica*, traités en régression linéaire multiple, sont consignés dans le **tableau 17**.

Comme dans le cas précédents, seuls les facteurs pour lesquels le test de « Student » a donné une valeur de probabilité (p-value) inférieure au risque de signification **5%**, sont significatifs.

Tableau 17: Analyse statistique des résultats expérimentaux avec *Mangifera indica*

Facteurs	Coefficients	P-value	Pertinence
Constante	2,9750	4,2313E-05	Oui
Granulométrie du broyat (X ₁)	-0,4875	0,0087	Oui
Ratio volume du solvant / masse de broyat (X ₂)	0,350	0,0218	Oui
Type de solvant d'extraction (X ₃)	-0,0375	0,6701	Non
Durée d'extraction (X ₄)	0,2250	0,0665	Non

L'analyse du **tableau 17** indique des valeurs de probabilité inférieures à 0,05 pour les facteurs X₁ et X₂. Il ressort de cette analyse que ces deux facteurs sont statistiquement significatifs dans le cas de l'extraction de cire à partir de *Mangifera indica*. Le modèle obtenu est donc le suivant : $Y_2 = 2,9750 - 0,4875 X_1 + 0,350 X_2$ (M₂)

Les rendements d'extraction des deux cires ne sont pas influencés par les mêmes facteurs. En effet, alors que trois sont significatifs pour *Borassus aethiopum*, deux seulement sont significatifs pour *Mangifera indica*. De tels résultats ont déjà été obtenus dans des travaux effectués dans notre laboratoire sur d'autres plantes (**Koné, 2018**)

II- VÉRIFICATION DE LA QUALITÉ DU MODÈLE

Afin de vérifier la qualité des modèles obtenus, une série de tests statistiques a été effectuée.

II.1- Analyse des résidus

L'analyse des résidus a été effectuée à partir du logiciel NemrodW. Les résultats des tests sont illustrés dans la **figure 36**. En effet, dans un modèle de regression linéaire, l'hypothèse est que les valeurs de Y dépendent de celles des valeurs X_i, c'est-à-dire la connaissance des valeurs des X_i permet de prévoir les valeurs de la réponse Y_i.

On peut donc affecter à chaque valeur observée (Y_{obs}) une valeur estimée par le modèle (Y_{calc}). Les résidus représentant ainsi l'erreur d'estimation entre Y_{obs} et Y_{calc} ($\epsilon_i = Y_{obs} - Y_{calc}$).

L'analyse des deux diagrammes des résidus en fonction des valeurs prévues des deux réponses (**figure 37**) permet de constater que les points sont bien répartis au hasard et donc de conclure que les régressions effectuées sont bonnes.

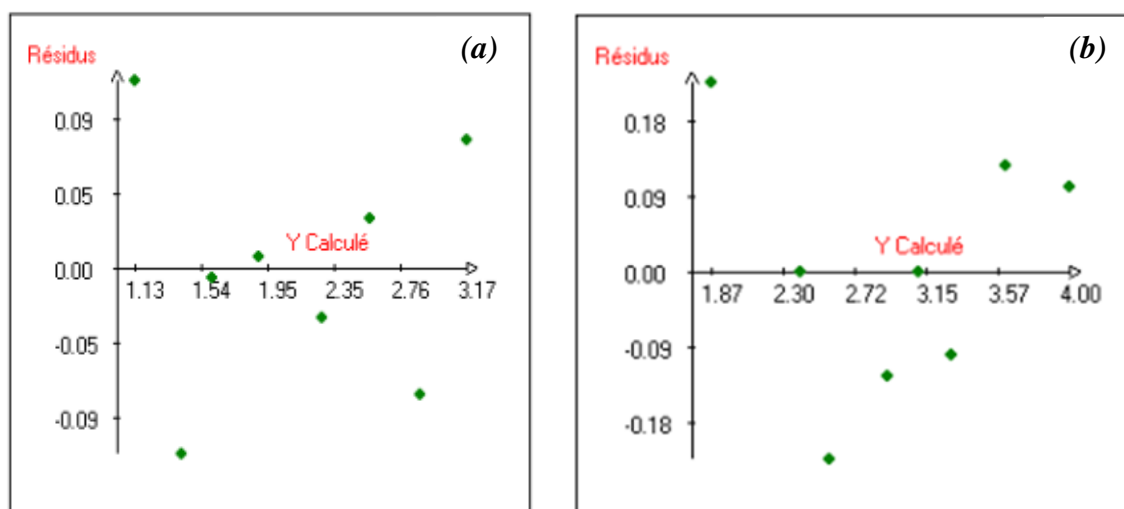


Figure 37 : Diagramme des résidus en fonction des valeurs prévues du rendement en cire de *Borassus aethiopum* (a) et de *Mangifera indica* (b)

II.2- Analyse de la variance

L'analyse de la variance est un autre paramètre qui permet d'apprécier le niveau d'ajustement des modèles obtenus. Les **tableaux 18** et **19** montrent les résultats de l'analyse de la variance entre les rendements expérimentaux et les rendements calculés *via* les modèles obtenus avec *Borassus aethiopum* et *Mangifera indica*.

Tableau 18 : Analyse de la variance du modèle avec *Borassus aethiopum*

Source de variation	Somme des carrées	Degré de liberté	Carrée moyen	Rapport F	P-value
Modèle M_1	3,6912	4	0,9228	63,7338	0,0031
Résidus	0,04343	3	0,0144		
Total	3,7346	7			

Tableau 19 : Analyse de la variance du modèle avec *Mangifera indica*

Source de variation	Somme des carrées	Degré de liberté	Carrée moyen	Rapport F	P-value
Modèle M ₂	3,2975	4	0,8243	16,2172	0,0226
Résidus	0,1525	3	0,0508		
Total	3,4500	7			

D'après les résultats des **tableaux 18 et 19**, il est possible de conclure que la régression explique bien les deux réponses mesurées (rendement d'extraction) puisque la probabilité critique du test de Fisher est inférieure à **0,05** (le seuil de signification). Les régressions effectuées sont donc significatives.

II.3- Analyse de l'adéquation des modèles

Connaissant les rendements d'extraction expérimentaux et calculés, on peut aisément déterminer le coefficient de détermination de ces paramètres pour chaque matériel végétal et vérifier l'adéquation des modèles avec les résultats expérimentaux obtenus.

Le **tableau 20** donne les résultats des coefficients de détermination obtenus à partir des données expérimentales et des données théoriques fournies par les deux modèles.

Tableau 20 : Coefficients de détermination obtenus avec les données de *Borassus aethiopum* et *Mangifera indica*

<i>Borassus aethiopum</i>			<i>Mangifera indica</i>		
Y ₁ exp.	Y ₁ cal.	R ²	Y ₂ exp.	Y ₂ cal.	R ²
2,60	2,56	0,988	2,35	2,57	0,955
3,25	3,16		4,10	4,00	
2,8	2,88		3,20	3,30	
1,25	1,13		2,10	1,87	
1,90	1,89		3,75	3,62	
2,25	2,28		2,40	2,40	
1,30	1,41		3,10	3,10	
1,60	1,60		2,80	2,92	

Les données du **tableau 20** ont permis d'effectuer une comparaison entre les rendements d'extraction expérimentaux et calculés. Pour la cire extraite de *Borassus aethiopum*, le coefficient de détermination ($R^2 = 0,988$) indique que les rendements d'extraction expérimentaux sont liés à 98,8% aux rendements calculés à partir du modèle M_1 . Quant à la cire extraite de *Mangifera indica*, les rendements d'extraction expérimentaux sont liés à 95,5% à ceux calculés à l'aide du modèle M_2 . Cela signifie que le modèle obtenu avec *Borassus aethiopum* donne des résultats beaucoup plus proches de la réalité expérimentale que celui obtenu avec *Mangifera indica*. Mais dans l'ensemble, les corrélations obtenues entre les valeurs expérimentales et celles calculées sont bonnes ($R^2 \geq 0,7$) (Ségolen, 2009).

III- OPTIMISATION DU RENDEMENT D'EXTRACTION

La recherche des conditions optimales dans cette étude consiste à déterminer les valeurs qui permettront de maximiser le rendement d'extraction. D'après les résultats obtenus précédemment, les réponses prédites du rendement d'extraction des deux échantillons sont sous la forme de fonctions (Y_1, Y_2) (voir les équations des modèles M_1 et M_2).

Pour déterminer le maximum de ces fonctions, dans le domaine expérimental choisi, la résolution des systèmes (S_1) et (S_2) suivant s'impose :

$$\left[\begin{array}{l} \text{Max } Y_1(X_1, X_2, X_3) \\ -1 \leq X_1 \leq 1 \\ -1 \leq X_2 \leq 1 \\ -1 \leq X_3 \leq 1 \end{array} \right. \quad (S_1) \qquad \left[\begin{array}{l} \text{Max } Y_2(X_1, X_2) \\ -1 \leq X_1 \leq 1 \\ -1 \leq X_2 \leq 1 \end{array} \right. \quad (S_2)$$

Cette résolution, a été effectuée avec le complément solveur d'Excel.

Pour le modèle réalisé avec *Borassus aethiopum*, on obtient les conditions optimales suivantes : une granulométrie dp inférieure à 0,5 mm, un ratio volume du solvant/masse de broyat de 10 mL/g, avec l'acétate d'éthyle comme solvant et une durée d'extraction de 5 heures. Pour le modèle réalisé avec *Mangifera indica*, on obtient les conditions optimales suivantes : une granulométrie dp inférieure à 0,5 mm, un ratio volume du solvant/masse de broyat de 10 mL/g, avec l'hexane comme solvant et une durée d'extraction de 5 heures.

IV- VALIDATION DES MODÈLES À PARTIR D'EXPÉRIENCES

La vérification de la qualité d'un modèle s'effectue en répétant une expérience à partir des données du modèle obtenu afin d'apprécier l'adéquation du modèle à la réponse optimale recherchée.

Afin de valider les modèles obtenus, deux autres essais ont été réalisés dans les conditions optimales décrites précédemment. Les résultats des rendements expérimentaux obtenus avec les deux essais ont été comparés à ceux des rendements calculés avec les modèles (**tableau 21**).

Tableau 21 : Valeurs expérimentales et prédites des rendements d'extraction

	<i>Borassus aethiopum</i>				<i>Mangifera indica</i>			
	Valeurs optimales		Rendement d'extraction (%)		Valeurs optimales		Rendement d'extraction (%)	
	Codées	réelles	Cal.	Exp.	Codées	Réelles	Cal.	Exp.
X₁ (mm)	-1	dp < 0,5			-1	dp < 0,5		
X₂ (mL/g)	1	10			1	10		
X₃	1	Acétate d'éthyle	3,11	3,21	-1	Hexane	3,83	3,97
X₄ (h)	1	5			1	5		
	P-value (α)		0,031				0,035	

Les résultats présentés dans le **tableau 21** montrent qu'il n'y a pas une différence significative ($\alpha < 0,05$) entre les réponses expérimentales et celles prédites concernant les rendements d'extraction des deux cires. Les valeurs obtenues sont donc en accord avec les valeurs prédites par les modèles. Le rendement optimisé obtenu avec *Mangifera indica* est d'environ 4% dans les conditions expérimentales données. Il est plus élevé que celui obtenu avec *Borassus aethiopum* qui est de 3,2 %.

V- CONCLUSION PARTIELLE

Ce chapitre visait à optimiser le rendement d'extraction de deux cires végétales extraites. Les plans d'expériences de Placket-Burman ont permis d'obtenir deux modèles différents : un modèle pour le rendement d'extraction des cires issues de *Borassus aethiopum* et un autre pour celui des cires extraites à partir de *Mangifera indica*.

L'étude des paramètres d'entrée de l'extraction au Soxhlet a montré que la granulométrie du broyat, le ratio volume du solvant sur masse du broyat et la nature du solvant d'extraction influent sur le rendement d'extraction de la cire des feuilles de *Borassus aethiopum*. Quant au modèle relatif à la cire issue de *Mangifera indica*, la granulométrie du broyat, le ratio volume du solvant sur masse du broyat ont une influence sur le rendement d'extraction. Les valeurs optimales expérimentales du rendement d'extraction des cires issues de *Borassus aethiopum* et *Mangifera indica* sont respectivement de 3,1% et 4%.

CHAPITRE IV : CARACTÉRISATION CHIMIQUE DES CIRES

Ce chapitre a pour but de déterminer quelques caractéristiques organoleptiques, les paramètres physico-chimiques ainsi que la composition des cires extraites.

I- CARACTÉRISTIQUES ORGANOLEPTIQUES ET PHYSICO-CHIMIQUES

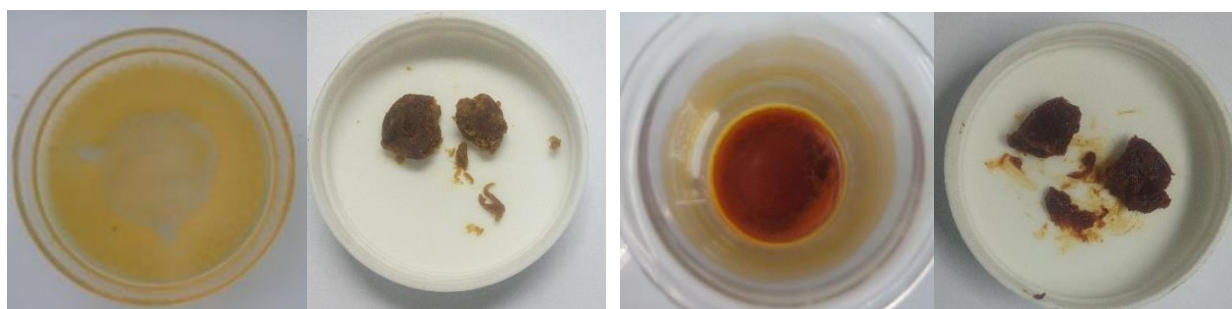
I.1- Caractéristiques organoleptiques des cires

Les caractéristiques organoleptiques des cires extraites sont présentées dans le **tableau 22**.

Tableau 22 : Caractéristiques organoleptiques des cires extraites

Caractéristiques	Cire de feuilles de Rônier	Cire de Peaux de Mangue
Couleur	Jaune	Rouge orangée
Odeur	Légère	Celle de l'huile de palme brut
Goût	-----	-----
Apparence	Dure et cassante	Douce et molle
Etat physique à T ambiante (25°C)	Solide	Solide

Les cires extraites à partir des feuilles de Rônier et des peaux de Mangue sont respectivement de couleur jaune et rouge orangée (**figure 38**).



Cire de feuilles de Rônier

Cire de peaux de Mangue

Figure 38 : Photographies des cires extraites après élimination du solvant et séchage

La couleur de la cire de feuilles de Rônier varie du jaune clair au jaune brun plus foncé à mesure que l'on concentre l'extrait. Cette même tendance de variation de couleur a été observée par **Emily Sin (2011)** avec les cires extraites de pailles de céréales (*annexe 8*).

Cette coloration est probablement due à la présence de caroténoïdes oxygénés tels que les xanthophylles (**Butnariu, 2016**)

La couleur de la cire de peaux de Mangue varie du jaune orangé au rouge orangé à mesure que l'on concentre l'extrait. La couleur de cette cire est identique à celle de la cire extraite au n-hexane à partir de grain blé (**Pham et al., 2018**). L'**annexe 8** présente diverses cires extraites de céréales au n-hexane par Pham et al. (2018). La couleur rouge orangé de la cire de peaux de Mangue, peut être attribuée à la présence de caroténoïdes tels que le β -carotène présent dans la pulpe de la mangue (**Sawadogo-Lingani and Traoré, 2001**). Ces pigments caractérisés par des doubles liaisons conjuguées influencent les caractéristiques chimiques, physiques et biochimiques des caroténoïdes (**Butnariu, 2016**).

La cire de peaux de Mangue obtenue est très colorée, ce qui indique qu'elle n'est pas idéale pour les applications cosmétiques sous sa forme brute. En effet, avant l'application d'une cire dans certains domaines, sa couleur, son odeur et son goût sont déterminés et des étapes de décoloration et de désodorisation sont éventuellement effectuées pour répondre à l'application de la cire (**Sin, 2012**). Ainsi, pour des applications en cosmétique, il n'est pas souhaitable que la cire soit fortement colorée ou dégage une forte odeur. La cire d'abeille est par exemple généralement blanchie au peroxyde d'hydrogène pour obtenir une couleur satisfaisante (**Reichert et al., 1938**). Aussi, la désagréable odeur de mouton est éliminée de la cire de lanoline par désodorisation sous vide à 0,2 - 0,5 KPa et à 373 - 393 K avec une purge à la vapeur (**Clark, 1999b**).

Les aspects « dur et cassant » et « mou et souple » respectifs des cires de feuilles de Rônier et de peaux de Mangue sont liés à leur point de fusion. Ce paramètre physique est également directement lié à la nature des constituants chimiques de ces cires.

I.2- Paramètres physico-chimiques des cires extraites

Les paramètres physico-chimiques dont le point de fusion, l'indice d'acide, l'indice de saponification et l'indice d'iode sont des tests simples effectués sur la plupart des cires car ils donnent un aperçu de leurs composants chimiques et permet l'identification de leurs potentiels champs d'application (**Sin, 2012**). Pour les cires extraites, les valeurs obtenues de ces différents paramètres sont comparées à celles de quatre cires les plus commercialisées. Parmi ces paramètres, le point de fusion reste l'un des paramètres physiques les plus importants à déterminer (**Sin, 2012**). Le **tableau 23** présente les valeurs des différents paramètres physico-chimiques obtenus pour les deux cires.

Tableau 23 : Paramètres physico-chimiques des cires étudiées

Paramètres physico-chimiques	Cire de feuilles de Rônier	Cire de peaux de mangue
<i>Point de fusion (°C)</i>	78,80 ± 1,09	54,23 ± 1,01
<i>Indice de refraction</i>	1,515 ± 0,004	1,475 ± 0,001
<i>Indice d'acide (mg KOH/g)</i>	7,56 ± 0,83	17,52 ± 0,41
<i>Indice d'iode (gd'iode/100g)</i>	11,68 ± 0,92	16,03 ± 0,50
<i>Indice de saponification (mg KOH/g)</i>	94,05 ± 0,48	158,58 ± 1,03

Le point de fusion de la cire de feuilles de Rônier est de 78, 80 ± 1,09°C, classant cette cire parmi les cires dures (**Kim, 2008**). Son point de fusion est légèrement en dessous du point de fusion moyen de la cire de Carnauba, qui est de 83°C (**Athukorala and Mazza, 2010**). Cette caractéristique permet d'envisager, pour cette cire, des applications en cosmétique (mascaras, rouges à lèvres), en revêtement, ainsi qu'en emballage alimentaire (**Edmundson and Jacks, 1989; Mausner, 1995; Sin, 2012; Yao et al., 2013**). Cette cire pourrait également être utilisée pour augmenter le point de fusion d'autres cires. Le point de fusion de la cire de peaux de Mangue est de 54,23 ± 1,01°C, classant cette cire parmi les cires molles et souples. La valeur obtenue est inférieure à celles de la cire de Carnauba (78-85°C), de Candellila (66-71°C), ou de la cire d'abeille (62-65°C), mais est supérieure à celle de la cire de Lanoline (35-42°C) qui est une cire animale à bas point de fusion. Par ailleurs, ce point de fusion est identique à celui de la cire de paille de lin (**Athukorala et al., 2009**). Cette cire pourrait donc être utilisée en cosmétique pour des applications de soins corporels, tels que les soins de peau ou comme ingrédient de rouge à lèvres, de crème, ou de savon où la spécification pour le point de fusion est compris entre 48 et 56°C (**Bennett, 1975**).

Les indices de réfraction à 20°C des cires de Rônier et des peaux de Mangue sont de 1,515 et 1,475. Ils sont voisins de ceux des cires d'Abeille (1,485-1,505), de Lanoline (1,478-1,482) et de Carnauba (1,450).

Les indices d'acides des cires de feuilles de Rônier et de peaux de Mangue, qui donnent une idée du taux d'acidité, sont respectivement de 7,56 ± 0,83 et 17,52 ± 0,41 mg de KOH/g de cire. L'indice d'acide de la cire de feuilles de Rônier est inférieur à celui des cires de Candelilla (12-22 mg KOH/g), d'Abeille (17-36 mg KOH/g) et de Lanoline (7-15 mg

KOH/g), mais supérieur à celui de la cire de Carnauba (2,9-9,7 mg KOH/g) (**Hamilton, 1995; Jacob, 1999**). La cire de peaux de Mangue a une acidité supérieure à celle des cires de feuilles de Rônier et de Lanoline, voisine de celle de la cire de Candelilla mais inférieure à celle de la cire d'Abeille (**Hamilton, 1995; Jacob, 1999**). Les indices d'acide des cires extraites indiquent la présence d'acides gras libres.

Les indices d'iode des cires de feuilles de Rônier et de peaux de Mangue, qui donnent une idée du degré d'insaturation des composés de ces cires, sont respectivement de $11,68 \pm 0,92$ et $16,03 \pm 0,50$ g d'iode/100 g de cire. Ces valeurs dénotent de l'existence de groupes chromophores dans les deux cires et pourraient expliquer la forte coloration de la cire de peaux de Mangue par rapport à la cire de feuilles de Rônier. Les valeurs obtenues montrent également que la cire de peaux de Mangue pourrait contenir plus d'acides gras insaturés que la cire de feuilles de Rônier. Ces valeurs sont globalement similaires à celles des cires de Carnauba (7-14 g d'iode/100 g) et d'Abeille (7-16 g d'iode/100 g) mais inférieures à celles des cires de Candelilla (19-45g d'iode/100g) et de Lanoline (15-30 g d'iode/100g) (**Hamilton, 1995; Jacob, 1999**).

Les indices de saponification des cires des feuilles de Rônier et des peaux de Mangue, qui donnent une idée du niveau de saponification dans un extrait lipidique, sont respectivement de $94,05 \pm 0,48$ et $158,58 \pm 1,03$ mg de KOH/g de cire. L'indice de saponification de la cire de rônier est supérieur à celui de la cire de Candelilla (43-65mg de KOH/g de cire), globalement similaire à celui de la cire de Carnauba (79-95 mg de KOH/g) mais inférieur à ceux des cires de mangue ($158,58 \pm 1,03$ mg de KOH/g), d'Abeille (90-149 mg de KOH/g) et de Lanoline (100-110 g d'iode/100g) (**Hamilton, 1995**). L'indice de saponification de la cire des peaux de Mangue est supérieur à celui des cires commerciales utilisées dans ce travail, indiquant une plus grande aptitude pour une application en savonnerie.

II- CARACTÉRISATION PAR MICROSCOPIE ELECTRONIQUE À BALAYAGE

II.1- Contexte

La surface des feuilles, des fleurs, et des fruits sont recouverts d'une cuticule faite de cutine et de cires (**Jetter et al., 2008**). Dans les cires cuticulaires, une couche intracuticulaire et une couche épicuticulaire peuvent être distinguées en fonction de l'emplacement de la cire à l'intérieur de la matrice de la cutine et à l'extérieur de celle-ci (**Jeffree, 1986**). Ainsi, les cires directement observables en surface au Microscopie Électronique à Balayage (MEB) sont les cires épicuticulaires des organes végétaux. Ces dernières forment généralement un film mince et continu mais peuvent aussi être incrustées de cristaux microscopiques protubérants se présentant sous forme de filaments, de bâtonnets, de plaquettes, de tubes et de structures dendritiques complexes (**Jeffree, 1986 ; Barthlott et al., 1998**). Par ailleurs, la morphologie de ces cires épicuticulaires permet d'établir une corrélation entre les formes de ces cires et les composés chimiques qui y sont présents en se basant sur les travaux de Jeffree (1986) et Barthlott et al. (1998).

II.2- Microscopie Electronique à Balayage de la cire de feuilles de Rônier

La structure des cires présentes à la surface des feuilles de Rônier (faces adaxiale et abaxiale) a été observée à l'aide d'un Microscopie Électronique à Balayage. L'ultrastructure de la partie externe de la cuticule des feuilles des faces adaxiale et abaxiale montre presque la même organisation structurale des éléments présents à la surface. En surface, la cutine est recouverte d'un film cireux et de cristaux de cires épicuticulaires qui confèrent à la feuille des aspects plus ou moins brillants.

II.2.1- Ultrastructure de la face abaxiale de la feuille

La microphotographie (ou micrographie) de la face abaxiale (face supérieure) de la feuille de Rônier montre une morphologie en général plane parsemée de nombreuses unités cristalloïdes. Ces microstructures regroupées en agrégat sont les stomates des feuilles qui sont répartis sur toute la surface foliaire (**figure 39 et 40**).

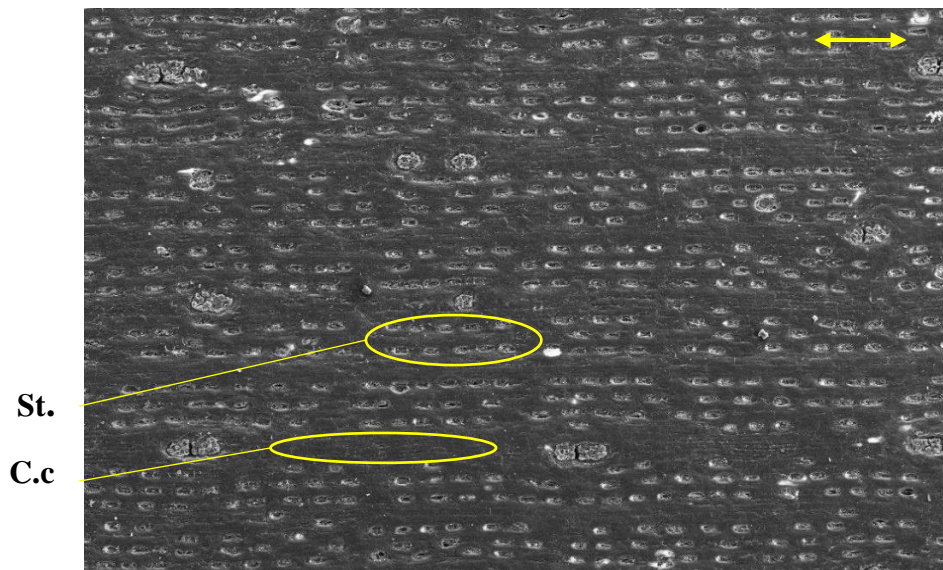


Figure 39 : Ultrastructure de la face abaxiale de la feuille de *Borassus aethiopum*

Échelle : 200 μm ; St. = Stomates ; C.c = Film de couches cireuses

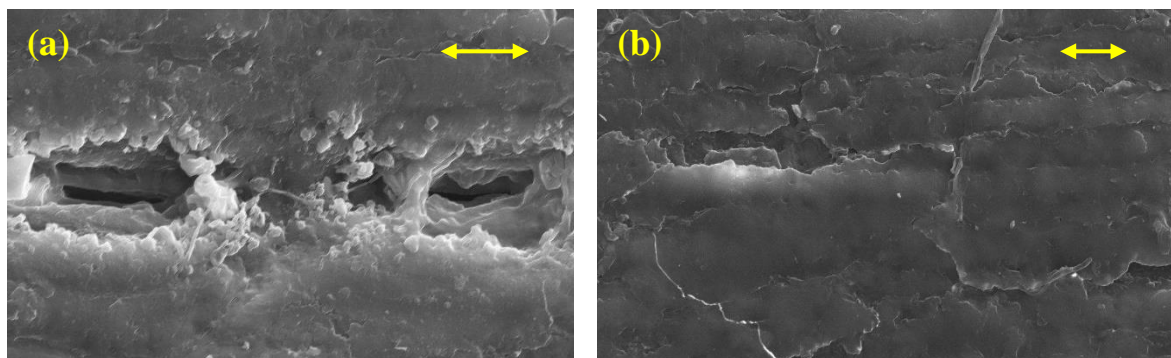


Figure 40 : Microstructures observées sur la face abaxiale de la feuille de *Borassus aethiopum*

a : Stomates ; échelle : 10 μm

b : Couches cireuses fissurées ; échelle : 10 μm

L'observation des microstructures de la face abaxiale à 10 μm , permet de mieux distinguer les stomates des feuilles ainsi qu'une morphologie de « couches cireuses fissurées » (**figure 40**) constituée de plusieurs couches discontinues de cires ayant généralement une épaisseur inférieure à 1 mm sans sculpture de surface apparente (Barthlott et al., 1998).

II.2.2- Ultrastructure de la face adaxiale de la feuille

La face adaxiale de la feuille de Rônier présente la même organisation structurale que la face adaxiale à quelques différences près liées au nombre de stomates (**figure 41**).

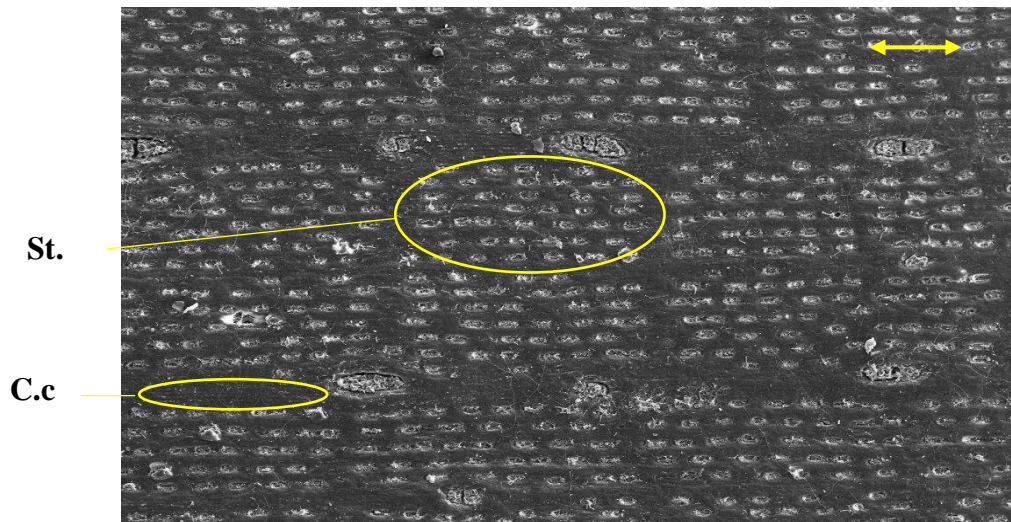


Figure 41 : Ultrastructure de la face adaxiale de la feuille de *Borassus aethiopum*

Échelle : 200 μm ; St. = Stomates ; C.c : Couches cireuses

L'imagerie MEB montre des structures stomatiques en plus grand nombre sur la face adaxiale de la feuille de Rônier comparativement à la face abaxiale. Cela est lié en général à la forte densité stomatique de la face adaxiale des feuilles des plantes par rapport à la face abaxiale. Cette forte densité stomatique est due au fait que cette face soit la moins exposée au soleil. Elle possède donc plus de stomates pour qu'elle puisse réaliser les échanges gazeux et éviter les pertes d'eau (**Hetherington and Woodward, 2003 ; Cundy and Shin, 2017**). Afin d'étudier ces structures, elles ont été observées à différentes échelles (100 μm , 70 μm , 20 μm et 10 μm) (**figure 42**).

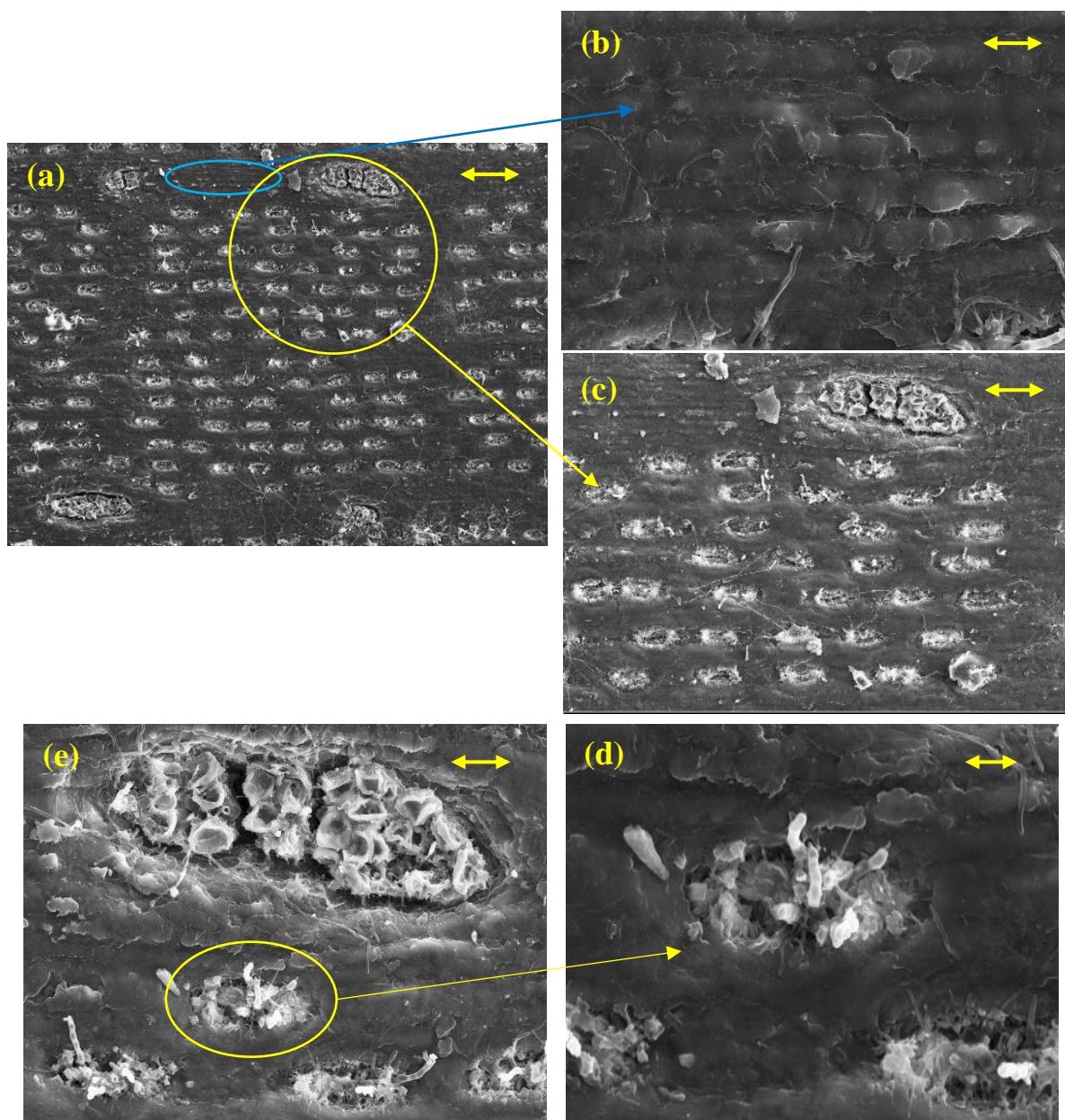


Figure 42 : Micromorphologie des structures présentes sur la face adaxiale de la feuille de *Borassus aethiopum*

(a) : échelle : 100 μm / (b) : échelle : 10 μm

(c) : échelle : 70 μm / (d) : échelle : 10 μm / (e) : échelle : 20 μm

À 10 μm (**figure 42-b**), on peut observer une morphologie de « couches lisses » striées par endroit qui sont constituées de revêtements continus ayant généralement une épaisseur inférieure à 1 mm sans sculpture de surface apparente (**Barthlott et al., 1998**).

L'observation à 10 μm des unités cristalloïdes (**figure 42-d,e**) présentes à la surface des feuilles de Rônier montre que chaque petite unité de stomate est truffée de microstructures en forme de microtubules. Elle présente également des structures isolées de plus grande taille accompagnant les groupes de cristaux regroupés en agrégat. Cette structure possède une forme peu commune avec une apparence spongieuse (**figure 42-e**).

Toutes les cavités stomatiques (stomates sur la surface adaxiale) sont complètement remplies de cristaux de cire épicuticulaire. Ces cristaux présentant des formes de tubules peuvent être corrélés à la présence d'alcools secondaire (**Holloway et al., 1976**), de diols (**Jetter and Riederer, 1994**) ainsi que de dicétones et hydroxy- β -dicétones (**Tulloch, 1981; Jeffree, 1986**).

Par ailleurs, selon les saisons, les feuilles des plantes peuvent s'adapter aux changements de son environnement en augmentant l'épaisseur de la couche cireuse. Ces changements ont probablement une valeur adaptative, la cire foliaire étant une caractéristique importante pour prévenir les pertes d'eau (**Harrington and Carlson, 2015**). En effet, les plantes cultivées à une humidité relative basse (20-30 %) possèdent une masse de cire foliaire supérieure à celles cultivées à une humidité relative élevée (98 %) (**Koch et al., 2006**). D'autres facteurs environnementaux tels que la température ou l'intensité lumineuse peut également influencer sur le développement de la cire (**Baker, 1974**).

Les cristaux de cire épicuticulaires en forme de bâtonnet ou tubules sont présents sur les deux surfaces foliaires. Cependant, ils sont beaucoup moins développés sur les surfaces abaxiales que sur les surfaces adaxiales.

II.3- Microscopie Électronique à Balayage de la cire de peaux de Mangue

La structure des cires présentes à la surface externe des fruits du manguier (*Mangifera indica*) a également été observée à l'aide d'un Microscopie Électronique à Balayage. La cutine externe, recouverte d'un film de cristaux de cires épicuticulaires, confère à la surface des fruits des aspects plus ou moins brillants et granuleux (**figure 43**).

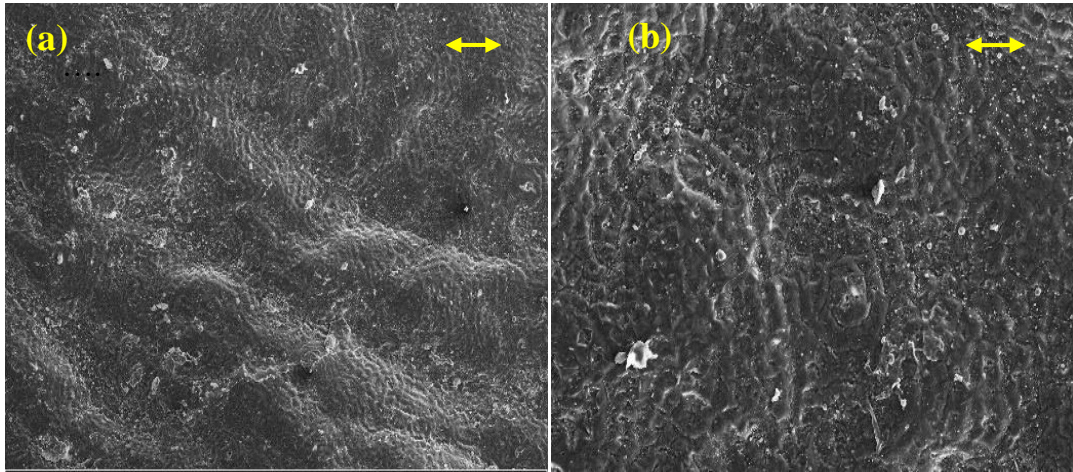


Figure 43 : Ultrastructure de la face externe la peau du fruit de *Mangifera indica*
(a) : échelle : 200 μm / (b) : échelle : 100 μm

L'observation de la surface cuticulaire de la peau du fruit de *Mangifera indica* à 200 et 100 μm (**figure 43**) montre une surface cuticulaire granuleuse et une texture non lisse, parsemée de structures cristalloïdes isolées par endroit. Pour mieux apprécier ces microstructures, la surface de l'échantillon de mangue a été observée à diverses échelles dont 70, 30, 10, 05 et 02 μm (**figure 44**).

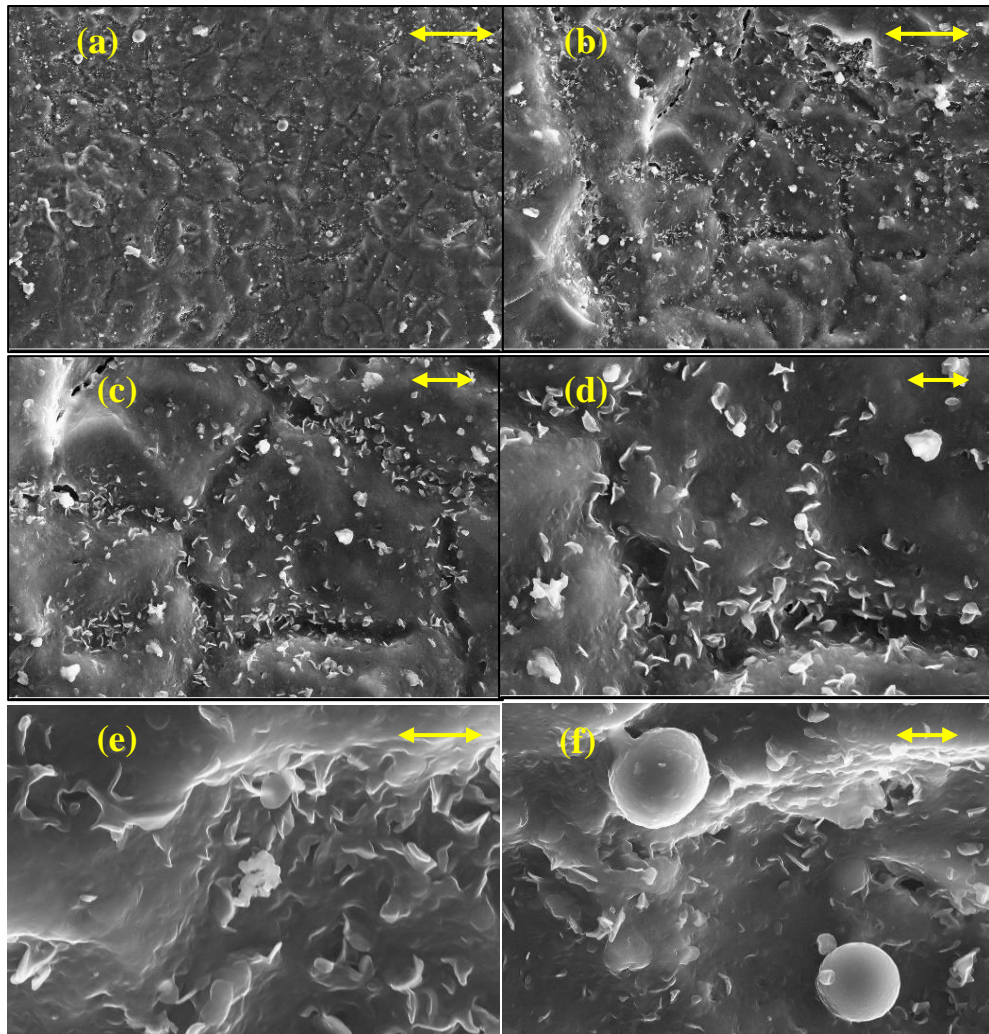


Figure 44 : Microstructure de la face externe la peau du fruit de *Mangifera indica*

(a) : échelle : 70 μm / (b) : échelle : 30 μm

(c) : échelle : 10 μm / (d) : échelle : 05 μm

(e) : échelle : 02 μm / (f) : échelle : 02 μm

La **figure 44** montre une couche amorphe parsemée de structures cristalloïdes appelées plaquettes (Barthlott et al., 1998) recouvrant complètement la peau à certains endroits. La surface présente de nombreuses zones de dépressions et de discontinuité. Les auteurs Gazzola et al. (2004) ont observé une morphologie similaire à la surface de la variété de mangue brésilienne "Tommy Atkins". Ils ont montré que les cires épicuticulaires présentes à la surface des mangues, passaient d'une structure amorphe à une structure cristalline au fur et à mesure que la plante se développait.

La forte présence de structures cristalloïdes en forme de plaquettes à la surface des peaux de Mangue pourrait être liée à l'action du séchage de la peau de ces fruits. En effet, Il semblerait qu'une plus grande quantité de cires disponibles à la surface des plantes a pour rôle d'augmenter la réflexion du rayonnement photo-synthétiquement actif (PAR) et des rayonnements ultraviolet et lutter ainsi contre les agressions environnementales (**Grant et al., 1995**). Par ailleurs, la présence de ces formes cristalloïdes en plaquettes peuvent être corrélées à des cires contenant des alcools primaires, ou encore une forte présence de triterpénoïdes (**Barthlott et al., 1998**).

Les cires épicuticulaires présentes à la surface des feuilles de Rônier et des peaux de Mangue forment généralement un film mince et continu qui est décoré de cristaux microscopiques protubérants se présentant sous forme de plaquettes, de tubules et de structures dendritiques complexes. Ces différentes formes cireuses ont également été identifiées par Jeffree (1986) et Barthlott et al. (1998) à la surface cuticulaire de nombreuses plantes.

III- COMPOSITION CHIMIQUE DES CIRES

L'identification des composés chimiques dans les cires est importante car la nature de ces composés influe directement sur leurs propriétés physiques et chimiques qui peuvent orienter leurs applications. Par ailleurs, la présence de certains composés importants permet d'entrevoir une éventuelle possibilité d'isolation afin de les valoriser dans des domaines précis. Ainsi plusieurs analyses ont été effectuées sur les cires afin de déterminer leurs compositions chimiques.

III.1- Analyse par spectroscopie infrarouge

Les cires ont été analysées par spectroscopie infrarouge à Transformé de Fourier (FT-IR). Les différents spectres illustrés par les **figures 45 et 46** mettent en évidence la présence de plusieurs groupes fonctionnels organiques qui permettent l'identification des composés correspondants.

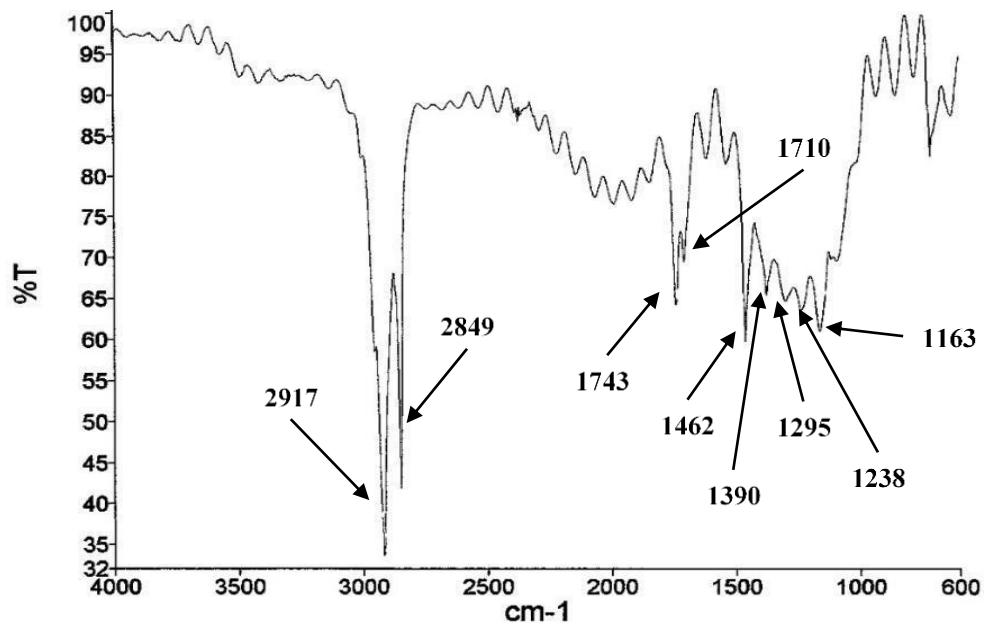


Figure 45 : Spectre Infrarouge de la cire de feuilles de Rônier

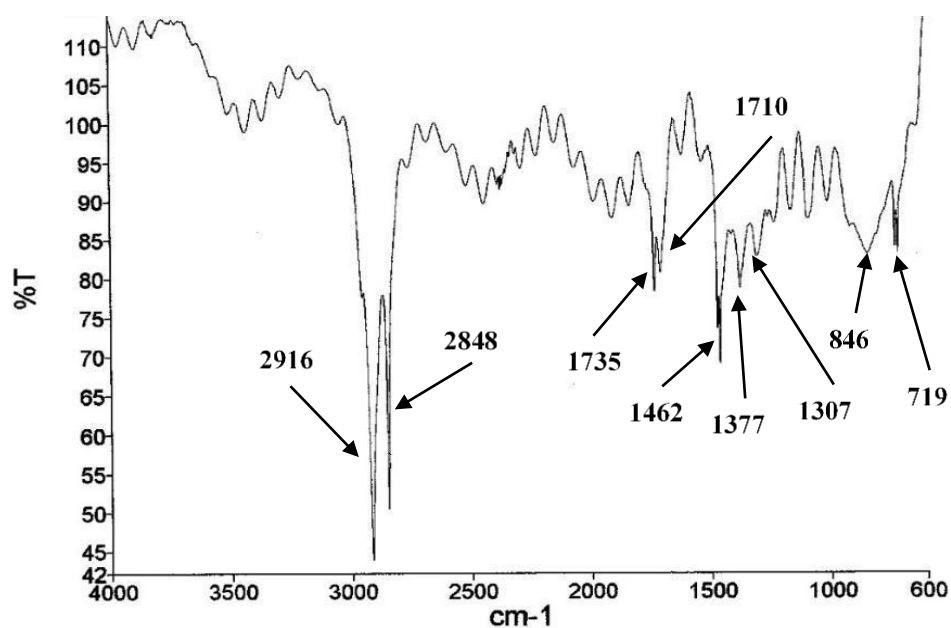


Figure 46 : Spectre Infrarouge de la cire de peaux de Mangue

Les pics intenses et étroits observés à 2916/2917 et 2848/2849 cm^{-1} sont assignés respectivement à des vibrations d'élongation -CH antisymétriques et symétriques présentes dans le groupe CH_2 (Athukorala *et al.*, 2009; Inarkar and Lele, 2012; Heredia-Guerrero *et al.*, 2014). Ces pics peuvent être directement liés aux pics étroits observables à 1462 cm^{-1} , qui représentent les vibrations de déformation des groupes CH_2 et CH_3 (Ramirez *et al.*, 1992), caractéristiques de la présence d'hydrocarbures dans les cires extraites.

Les pics de faible intensité observés à 1735 et 1743 cm^{-1} correspondent à la présence de groupes carbonyles ($-\text{C}=\text{O}$), et indiquent la présence d'acides carboxyliques (acides gras libres), d'esters, d'aldéhydes, de cétones et de dicétones (**Sin, 2012**). En effet, les bandes présentes à 1390, 1377, 1307 et 1295 cm^{-1} sont dues aux déformations C-H proches des groupes carbonyles (**Merk et al., 1997**). La présence d'aldéhyde et précisément de l'octacosanal dans les cires de paille de blé a déjà été rapportée dans la littérature (**Sun and Sun, 2001; Sun, et al., 2003**). Les bandes à 1238, 1163 cm^{-1} sont attribuées à des vibrations d'élongation asymétrique et symétrique des liaisons $-\text{C}-\text{O}-$ présents dans les esters (**Heredia-Guerrero et al., 2014**), les alcools (**Inarkar and Lele, 2012**). Enfin, les pics observés à 846 et 719 cm^{-1} sont attribués aux déformations du groupement CH_2 présents dans les chaînes carbonées aliphatiques (**Merk et al., 1997**).

Ainsi les spectres obtenus pour les deux cires extraites sont similaires à ceux de la plupart des cires végétales observés dans la littérature (**Mazliak, 1963; Ramirez et al., 1992; Athukorala et al., 2009; ; Nielsen et al., 2010; Sin, 2012; Heredia-Guerrero et al., 2014**).

III.2- Analyse par spectrophotométrie UV-Visible

L'analyse des cires au spectrophotomètre UV-Visible illustrée par les spectres de la **figure 47**, indique une forte absorption à la longueur de 230-240 nm correspondant à la présence d'acides gras, de diènes conjuguées et d'hydroperoxydes résultant de l'oxydation des lipides (**Athukorala et al., 2009; Nielsen et al., 2010; Inarkar and Lele, 2012**).

Les pics légers perceptibles entre 305 et 320 nm sont attribués à la présence d'alcaloïdes.

Enfin, Les pics observés à 425 et 450 nm respectivement pour les cires de feuilles de Rônier et de peaux de Mangue, dans l'intervalle de longueurs d'onde correspondant au visible (400–700 nm) sont attribués à la présence de caroténoïdes (**Athukorala et al., 2009; Butnariu, 2016**). Cela pourrait expliquer les colorations jaune et rouge-orangée des cires de feuilles de Rônier et de peaux de Mangue.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus avec la cire de paille de lin et la cire de son de riz (**Vali et al., 2005; Athukorala et al., 2009**).

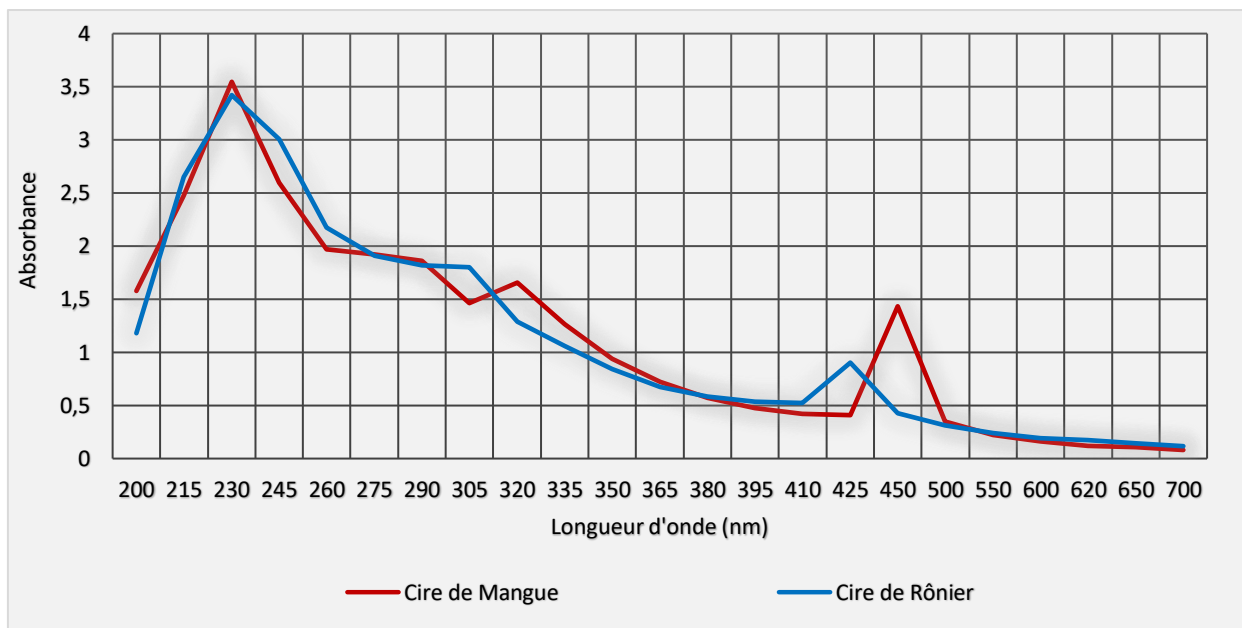


Figure 47 : Spectres UV-Visible des cires extraites

III.3- Analyse en Chromatographie sur Couche Mince et en Chromatographie sur Couche Mince à Haute Performance

III.3.1- Chromatographie sur Couche Mince

Une analyse en Chromatographie sur Couche Mince (CCM) a été réalisée suivant la méthode décrite par **Spitzer (1999)** en vue déterminer la présence de classes de composés présentes dans les cires extraites.

Les différentes taches révélées respectivement à la lampe UV-Visible à 254 nm et 365 nm et dans une solution d'anisaldéhyde sulfurique, sont présentées à la **figure 48**.

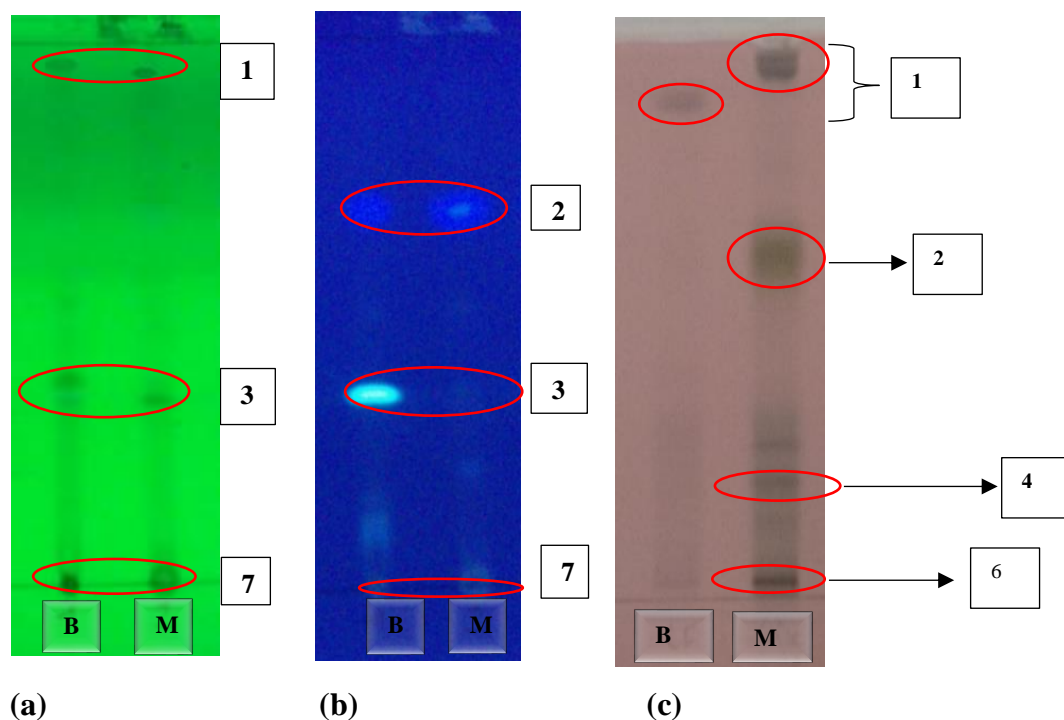


Figure 48 : Analyse CCM des cires

Système d'éluant : Hexane / éther diéthylique /acide acétique : 80/20/2 (v/v/v)

(a) révélation à 254 nm ; (b) révélation à 365 nm ; (c) révélation à l'anisaldéhyde.

B : Cire de feuilles de Rônier ; M : Cire de peaux de Mangue.

Ainsi les taches 1 correspondent au groupe de composés suivants : les alcanes, les alcènes, les squalènes et les cérides ($R_f = 0,94 - 0,98$). Les taches 2 visibles à 365 nm indiquent la présence de triglycérides. Les taches 3 correspondent à la présence d'acides gras libres. La tache 4 est attribuée à la présence de stérol. La tache 6 correspond aux monoglycérides. Enfin les taches 7 sont attribuées à des phospholipides (**Spitzer, 1999**). Il est à noter l'absence de stérols et de monoglycérides dans la cire de feuilles de Rônier.

En définitive, l'analyse en Chromatographie sur Couche Mince a permis de mettre en évidence la présence d'alcane, d'esters, d'acides gras libres et de phospholipides au sein de la cire de feuilles de Rônier et de la cire de peaux de Mangue qui elle comporte en plus des stérols et des monoglycérides.

III.3.2- Chromatographie sur Couche Mince à Haute Performance des cires

Les cires ont été analysées par Chromatographie sur Couche Mince à Haute Performance (HPTLC) en observant le nombre de pics obtenus en fonction des longueurs d'ondes (**figures 49 et 50**).

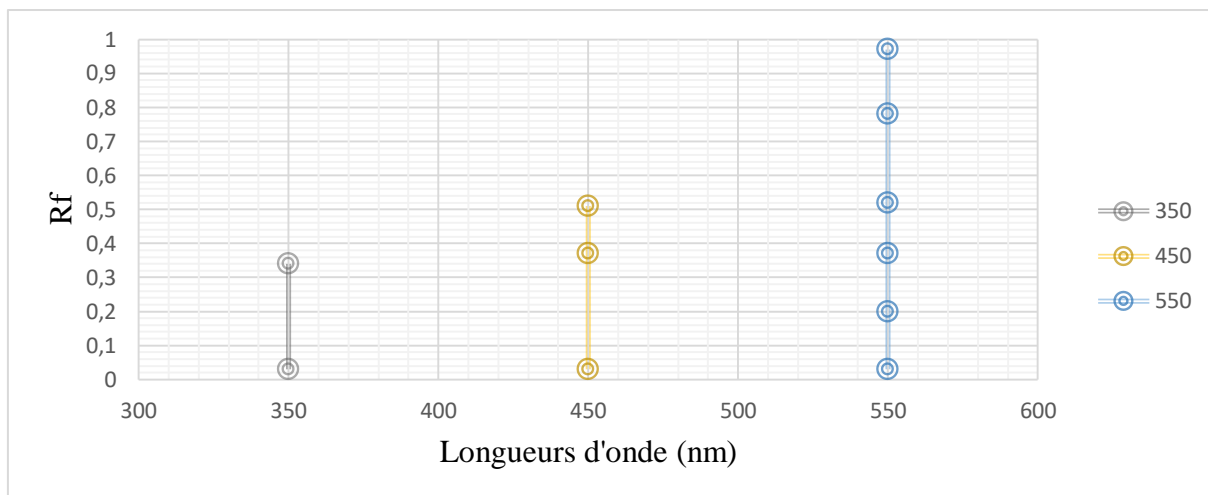


Figure 49 : Analyse HPTLC de la cire de feuilles de Rônier à 350,450 et 550 nm

L'analyse des chromatogrammes obtenus avec la cire de feuilles de Rônier montre deux taches ($Rf_1 = 0,03$; $Rf_2 = 0,34$) à la longueur d'onde de 350 nm, trois taches ($Rf_1 = 0,05$; $Rf_2 = 0,37$; $Rf_3 = 0,51$) à la longueur d'onde de 450 nm, et six taches ($Rf_1 = 0,03$; $Rf_2 = 0,19$; $Rf_3 = 0,37$; $Rf_4 = 0,52$; $Rf_5 = 0,78$; $Rf_6 = 0,97$) à la longueur d'onde de 550 nm.

Toutes les taches apparaissant à 350 et 450 nm sont également observables à 550 nm. Cette dernière longueur d'onde a donc été retenue pour l'analyse quantitative de la composition de cette cire.

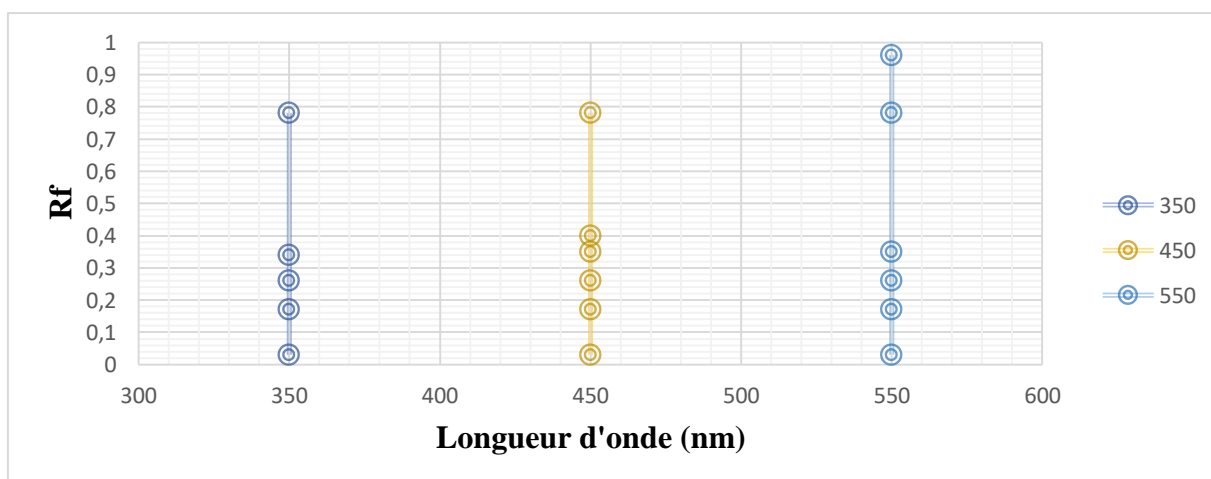


Figure 50 : Analyse HPTLC de la cire de peaux de Mangue à 350, 450 et 550 nm

L'analyse des chromatogrammes HPTLC obtenus avec la cire de peaux de Mangue (*figure 43*) montre cinq taches ($Rf_1 = 0,03$; $Rf_2 = 0,17$; $Rf_3 = 0,26$; $Rf_4 = 0,35$; $Rf_5 = 0,78$) à la longueur d'onde de 350 nm, six taches ($Rf_1 = 0,03$; $Rf_2 = 0,17$; $Rf_3 = 0,26$; $Rf_4 = 0,35$;

Rf₅ = 0,40 ; Rf₆ = 0,78) à la longueur d'onde de 450 nm, et six taches (Rf₁ = 0,03 ; Rf₂ = 0,17 ; Rf₃ = 0,26 ; Rf₄ = 0,35 ; Rf₅ = 0,78 ; Rf₆ = 0,96) à la longueur d'onde de 550 nm.

La quasi-totalité des taches apparaissant à 350 et 450 nm sont également observables à 550 nm. Cette dernière longueur d'onde a donc été retenue également pour l'analyse quantitative de la composition de la cire de peaux de Mangue.

L'analyse quantitative des cires a été réalisée en HPTLC à 550 nm en vue de déterminer leur composition en esters, acides gras, alcanes, aldéhydes, cétones, stérols, caroténoïdes en nous appuyant sur la méthode décrite par Li et *al.* (2008). Ainsi les chromatogrammes obtenus après l'analyse sont illustrés par les figures 51 et 52 annexées par les tableaux 24 et 25.

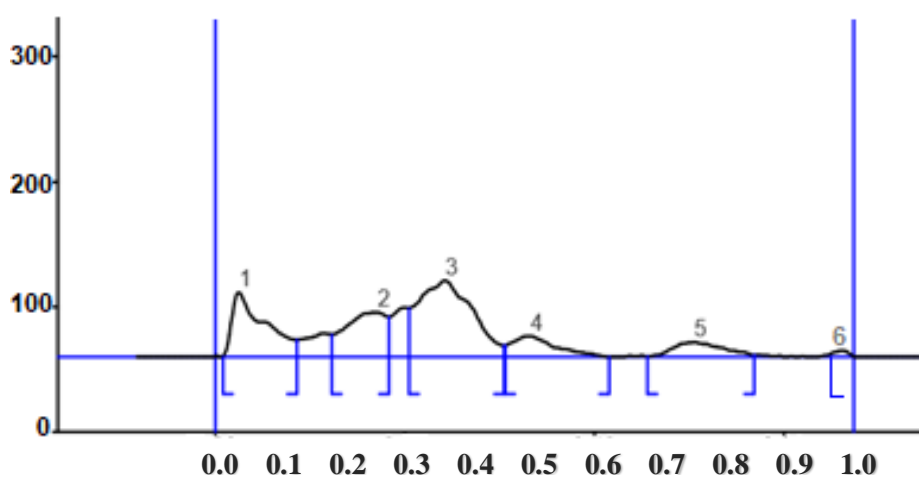


Figure 51 : Chromatogramme HPTLC de la cire de feuilles de Rônier

Tableau 24 : Valeurs spectrales des empreintes HPTLC de composés présents dans la cire de feuilles de Rônier

N° du pic	Rf max	Hauteur max	Aire	% relative	Composés assignés
1	0,03	51,8	1265,2	21,28	Acides gras
2	0,19	35,5	1091,2	18,35	Alcools
3	0,37	61,3	2451,2	41,23	Esters
4	0,52	16,7	0557,6	09,38	Cétones
5	0,78	12,0	0459,6	07,73	Caroténoïdes
6	0,97	05,8	0120,3	02,02	Alcanes

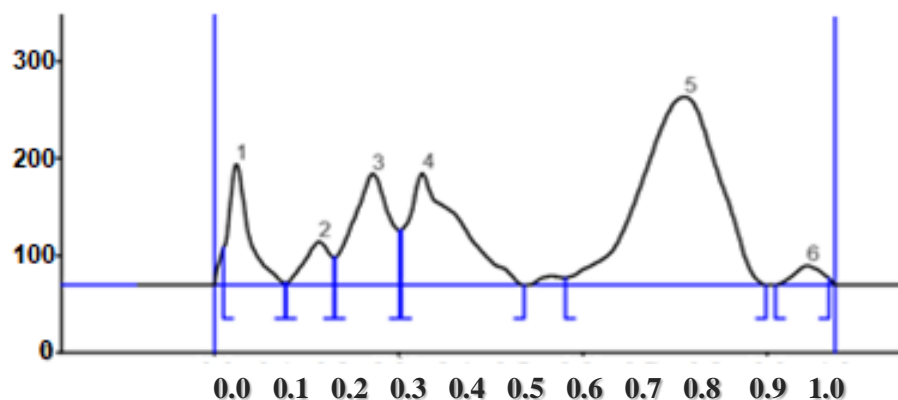


Figure 52 : Chromatogramme HPTLC de la cire de peaux de Mangue

Tableau 25 : Valeurs spectrales des empreintes HPTLC de composés présents dans la cire de peaux de Mangue

N° du pic	Rf max	Hauteur max	Aire	% relative	Composés assignés
1	0,04	124,1	1909,4	08,62	Acides gras
2	0,21	044,4	0860,0	03,88	Alcools
3	0,29	114,2	3184,9	14,38	Stérois
4	0,36	114,7	4406,8	19,90	Esters
5	0,76	193,6	11370,2	51,35	Caroténoïdes
6	0,96	019,8	0411,2	01,86	Alcanes

Les résultats des analyses en HPTLC montrent que la cire de feuilles de Rônier est riche en esters, en acides gras et en alcools avec des proportions respectives de 41,23%, 21,28% et 18,35% alors que la cire des peaux de Mangue est riche en caroténoïdes, en esters et en stérois avec des proportions respectives de 51,35%, 19,90% et 14,38%. La cire de feuilles de Rônier contient environ deux fois plus d'esters et six fois moins de caroténoïdes que la cire de peaux de Mangue qui contient en plus des stérois. La présence de grande quantité de caroténoïdes dans la peau de Mangue est certainement due à l'état de maturité de la mangue. En effet, le stade de murissement influence grandement les quantités des caroténoïdes. Ces composés sont des pigments qui possèdent des propriétés antioxydantes et confèrent une couleur rouge orangé aux aliments qui en contiennent en grande quantité (**Mercadante and Rodriguez-Amaya, 1998**). De façon générale, les composés identifiés sont très caractéristiques de la plupart des cires végétales (**Athukorala et al., 2009; Athukorala and Mazza, 2010; Inarkar and Lele, 2012; Racovita and Jetter, 2016**).

III.4- Profil en hydrocarbures des cires

Le profil en hydrocarbures des cires a été déterminé par chromatographie en phase gazeuse couplé à un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID). Les différents pics obtenus sont présentés par les figures 53 et 54.

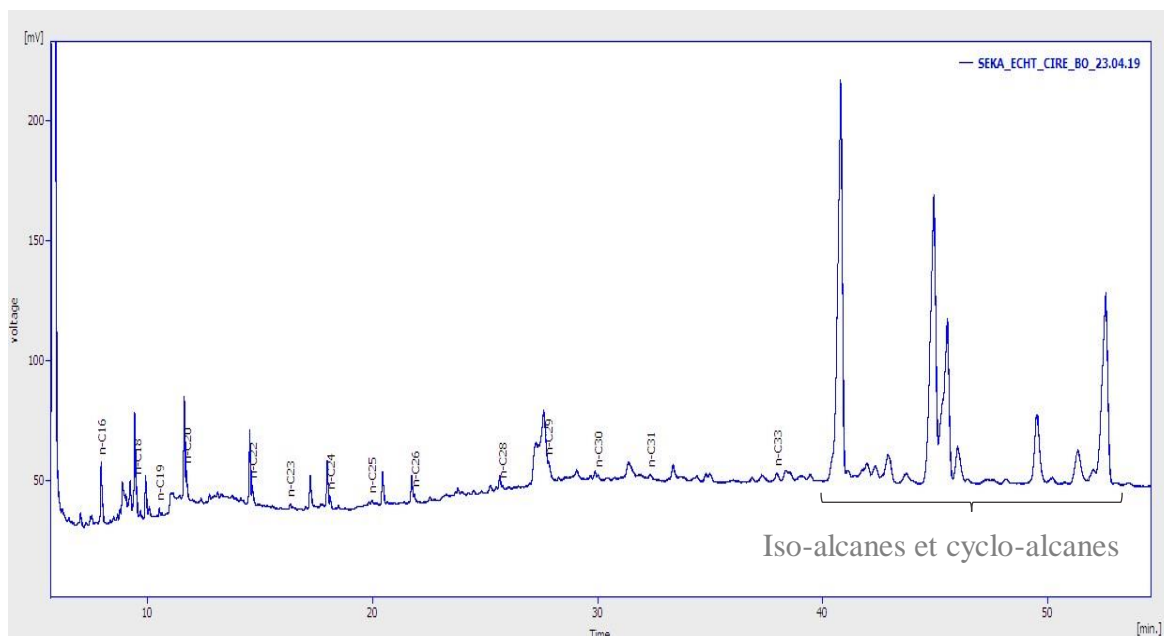


Figure 53 : Chromatogramme au GC-FID du profil en hydrocarbures de la cire de feuilles de Rônier

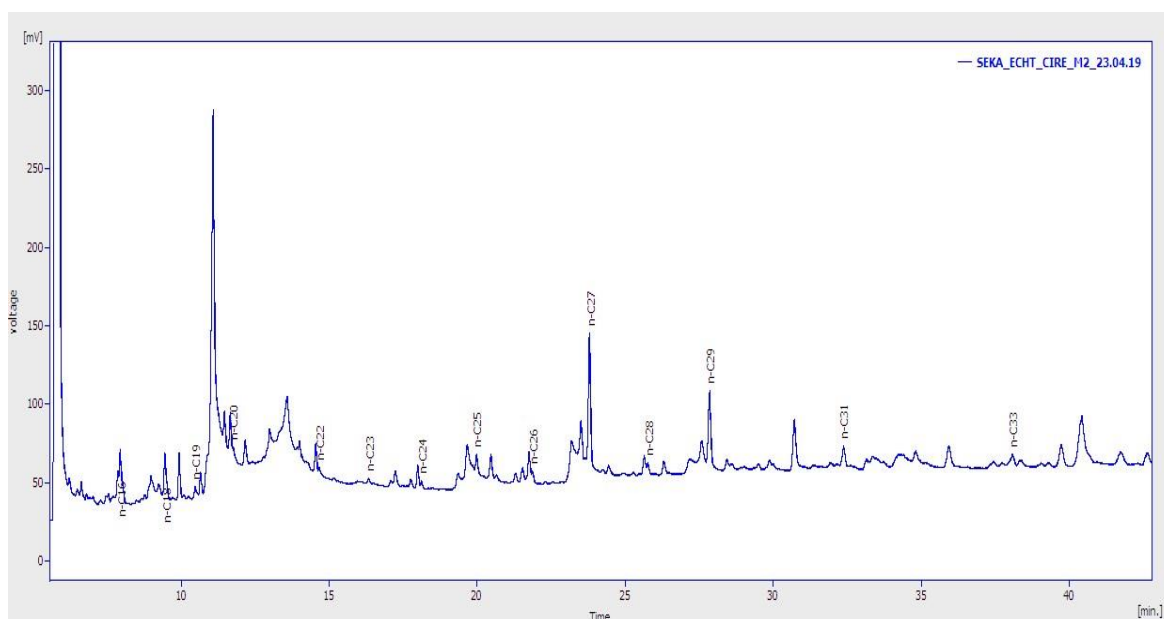


Figure 54 : Chromatogramme au GC-FID du profil en hydrocarbures de la cire de peaux de Mangue

Ce profil indique exclusivement la présence d’alcane linéaires, ramifiés et cycliques. Le traitement issu de l’analyse des pics et données des tableaux associés en **annexe 9** et **10** donnent les résultats qui sont résumés dans le **tableau 26**.

Tableau 26 : Profil en hydrocarbures des cires extraites

n-alcane	Cire de feuilles de Rônier		Cire de peaux de mangue	
	T. R. (min)	Pourcentage (%)	T. R. (min)	Pourcentage (%)
n-C16	07,966	11,42	07,991	03,63
n-C18	09,531	05,16	09,508	01,62
n-C19	10,555	04,11	10,477	02,05
n-C20	11,756	09,27	11,756	10,35
n-C22	14,68	07,98	14,688	04,22
n-C23	16,357	04,91	16,358	04,02
n-C24	18,135	04,09	18,139	01,26
n-C25	19,985	04,48	19,994	06,07
n-C26	21,878	04,26	21,878	01,31
n-C27	-	-	23,820	24,61
n-C28	25,758	01,16	25,787	02,64
n-C29	27,824	16,32	27,872	18,83
n-C30	30,010	09,23	-	-
n-C31	32,368	05,12	32,380	10,78
n-C33	37,991	12,47	38,105	08,60
Total		100		100
Total n-alcane		15,73		100
Total isoalcane et cycloalcane		84,27		négligeable

T. R. = Temps de Rétention

Comme le montre les **figures 53, 54** et le **tableau 26**, le profil en hydrocarbures de la cire de feuilles de Rônier indique une présence majoritaire d’alcane (n-alcane, isoalcane, et alcane cyclique). Parmi les principaux constituants des n-alcane que l’on retrouve dans cette cire, les homologues allant de C16 à C33 ont été identifiés avec une prédominance des alcane en C29, C33, et C16. Le profil en hydrocarbures de la cire de peaux de Mangue indique également une présence majoritaire d’alcane, exclusivement des n-alcane avec une prédominance de n-alcane en C27, C29, et C31.

Les homologues d’alcane à chaîne carbonée impaire (C27, C29, et C31) ont également été identifiés de façon majoritaire dans la cire de Triticale (*Triticosecale wittmack*) et de la

cire de Lin (**Athukorala et al., 2009; Athukorala and Mazza, 2010**). Par ailleurs, selon Eglinton et al. (1962), les n-alcanes présents dans les cires végétales épicuticulaires existent principalement sous forme de nombres impairs et comprennent des chaînes de C27, C29, C31 et C33. Toutefois des n-alcanes à chaîne paire sont également présents chez certaines espèces.

Les alcanes identifiés également dans la cire de feuilles de Rônier présentent des pics de forte intensité. Ces pics correspondent à la présence d'isoalcanes et de cycloalcanes (**figure 45**). Le pourcentage en n-alcanes est de 15,73 et celui des iso et cycloalcanes de 84,27. En effet, certaines espèces de plantes contiennent des proportions assez élevées d'isoalcanes qui dépassent parfois même la teneur en n-alcanes (**Eglinton et al., 1962**). De tels constituants accompagnent généralement les n-alcanes dans les cires de végétaux supérieurs et possèdent la même gamme de longueur de chaînes (**Arpino, 1973**). En plus, les n-alcanes ne sont pas toujours récupérés par extraction au solvant.

III.5- Profil en acides gras

Le profil en acides gras des cires extraites a été effectué à l'aide d'une analyse GC-FID. Les résultats obtenus sont consignés dans le **tableau 27**.

Tableau 27 : Composition en acides gras de la cire de feuilles de Rônier et de peaux de Mangue

N° du pic	Nom du composé	Pourcentage (%)	
		Cire de feuilles de Rônier	Cire de peaux de Mangue
Acides gras saturés			
1	C 14: 0 acide myristique	04,56	04,63
2	C 16: 0 acide palmitique	26,94	33,96
3	C 18: 0 acide stéarique	39,77	03,36
	Total	71,27	41,95
Acides gras insaturés			
4	C 16:1n-7c acide palmitoléique	12,73	08,36
5	C 18:1n-9c acide oléique	16,00	25,17
6	C 18:1n-7c acide vaccénique	-	04,23
7	C 18:2n-6c acide Linoléique	-	13,72
8	C 18:3n-3a acide Linoléique	-	06,57
	Total	28,73	58,05

Les acides gras majoritaires identifiés dans la cire de feuilles de Rônier sont l'acide stéarique C_{18:0} (39,77 %) et l'acide palmitique C_{16:0} (26,94 %). Ces deux acides gras sont également majoritaires dans la cire de paille de lin (**Athukorala et al., 2009**). Quant à la cire de peaux de Mangue, elle contient majoritairement l'acide palmitique C_{16:0} (33,96 %), l'acide oléique C_{18:1} (25,16 %). Un profil similaire en acides gras a été observé dans la cire obtenue à partir des déchets de transformation du Lin (**Morrison III et al., 2006**). Ces acides libres proviennent de la biosynthèse des lipides et éventuellement de l'hydrolyse de triglycérides ou esters de cire lorsque la plante entre en sénescence (**Kunst and Samuels, 2003**).

Par ailleurs, ces résultats pourraient en partie expliquer la différence entre les points de fusion des deux cires étudiées. En effet, la cire de feuilles de Rônier contient majoritairement des acides gras saturés et se présente sous forme de solide dur alors que la cire de peaux de Mangue contient des acides gras saturés et insaturés en proportions voisines, ce qui pourrait expliquer son point de fusion moins élevé et son aspect doux et mou.

IV- APPLICATION DES CIRES DANS LA CONSERVATION DES BEURRES

IV.1- Contexte

L'un des paramètres les plus importants au niveau des cires et beurres est leur point de fusion. Ce paramètre est important et constitue actuellement une des limites dans le transport de certains beurres. En effet, lors de la commercialisation, on assiste à la fonte des beurres sous l'effet de la température, entraînant de nombreuses pertes. Ainsi cette étude a été menée afin d'étudier l'influence du mélange cire-beurre sur ce paramètre.

IV.2- Points de fusion de mélanges cires-beurres

Les points de fusion des mélanges cire-beurre ont été déterminés en fonction du pourcentage massique de cire ajoutée qui sont de 0, 10, 20, 30, 40 et 50 %. La **figure 55** illustre les résultats obtenus.

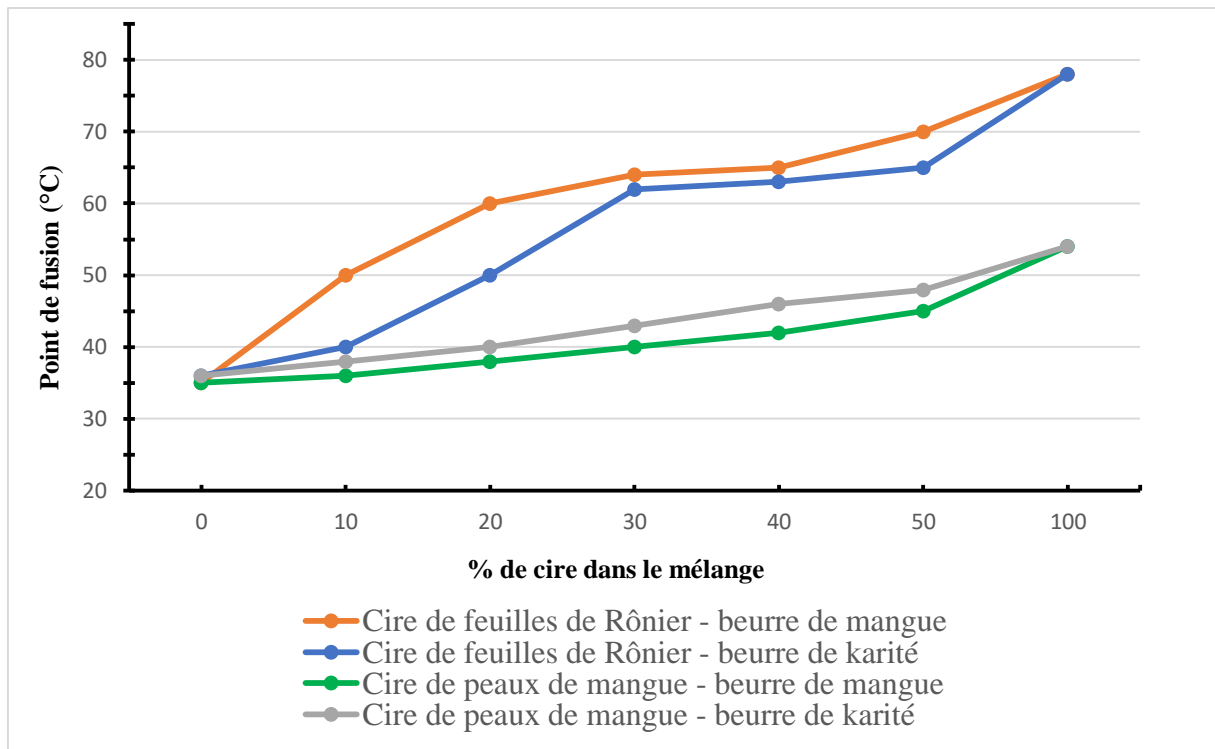


Figure 55 : Evolution des points de fusion de mélange cire-beurre en fonction du % de cire

Les résultats obtenus montrent que de façon globale, l'ajout de cire dans les beurres augmente leurs points de fusion. En effet, le point de fusion du mélange *beurre de karité-cire de mangue* varie progressivement de 35°C à 50°C à mesure que l'on augmente le pourcentage de cire ajoutée respectivement de 0 à 50%. Celui du mélange *beurre de mangue-cire de mangue* varie progressivement de 34°C à 42°C à mesure que l'on augmente le pourcentage de cire ajoutée respectivement de 0 à 50%.

Quant au mélange du mélange *beurre de karité-cire de Rônier*, son point de fusion varie progressivement de 35°C à 65°C à mesure que l'on augmente le pourcentage de cire ajouté respectivement de 0 à 50%. Enfin, celui du mélange *beurre de mangue-cire de Rônier*, varie progressivement de 35°C à 70°C avec la même augmentation progressive du pourcentage de cire ajoutée.

Ainsi, de façon générale, l'ajout progressif des cires dans les beurres permet d'élever les points de fusion de ces derniers de façon significative. Aussi, la cire de Rônier ayant un point de fusion plus élevé que celui de la cire de peaux de Mangue, son ajout dans les beurres permet d'obtenir des points de fusion plus élevés que cette dernière.

Par ailleurs, l'ajout progressif de cire de feuilles de Rônier au beurre de mangue permet à ce beurre d'avoir des points de fusion plus élevés que lorsque cette cire est ajoutée au beurre de karité. Cependant, à l'ajout de cire peaux de Mangues au beurre de mangue lui confère des points de fusion moins élevée que lors de l'ajout de cette cire au beurre de Karité. Cela peut être lié à la composition des chimiques des deux beurres et aux interactions entre les différents composés présents dans les mélanges. En effet, les beurres sont dominés par la présence d'acides gras liés au glycérol (triglycérides) et une fraction insaponifiable mineure (**Nahm, 2011**). La nature et la proportion de ces acides gras peuvent significativement influencer sur leurs propriétés thermiques (**Dimick and Manning, 1987**). De plus, puisque différents acides gras sont présents dans les beurres étudiés, différentes combinaisons d'acides gras liés au glycérol sont possibles (**Nahm, 2011**), mais encore plus avec le mélange. Les acides gras majoritaires de ces différents corps gras sont similaires et sont susceptibles d'interagir entre eux durant les mélanges influençant ainsi leurs propriétés thermiques. En effet, la composition en acides gras du beurre de mangues est de 45,76% d'acide stéarique et 44,08% d'acide oléique (**Kassi, 2009**). Le beurre de karité quant à lui comprend 46,8% d'acide stéarique et 51,4% d'acide oléique (**Lipp and Anklam, 1998**). Ainsi, les deux beurres contiennent une quantité relativement élevée d'acides gras saturés (acide stéarique) et insaturés (acide oléique), responsables de l'état solide à semi-solide des beurre à température ambiante (**Kassi, 2009; Nahm, 2011**). Par ailleurs, la cire de Rônier comprend 39% d'acides stéarique, 27% d'acides palmitique et 16% d'acide oléique tandis que la cire de peaux de Mangues contient 34% d'acides palmitique, 25% d'acides oléique et 13% d'acide linoléique.

L'ajout de cire dans les beurres présente un autre gros avantage car cela évite le rancissement rapide de ces matières grasses, observé lors de leurs conservations. Le phénomène est lié aux transformations subies par les beurres du fait des oxydations spontanées ou des lipases que leur extraction a entraînées, ou qui ont été développées par certains microbes (**Goiffon, 1949**). Or les cires en raison de leurs poids moléculaires élevés liés à la présence de composés à très longues chaînes tels que les alcools, les alcanes et les acides gras, sont chimiquement très stables. Ainsi, leur addition aux beurres permettrait de stabiliser ceux-ci. Par exemple, le beurre de cacao est connu comme un beurre qui rancit difficilement en raison de la présence de glycérides mixtes notamment ceux qui renferment deux radicaux d'acides saturés et un seul radical oléique (**Marcusson, 1929**). Ce dernier se trouve alors vraisemblablement protégé par les deux autres, et la double liaison du radical

oléique résiste mieux à l'action des agents atmosphériques que lorsqu'elle se trouve à découvert.

Ces résultats intéressants montrent que la cire pourrait être ajoutée à des beurres en certaines proportions pour élever leur point de fusion et ainsi permettre une meilleure conservation de ces produits pour des applications en cosmétique et soins de peau. Ces mélanges pourraient convenir aux nouvelles tendances cosmétiques comme décrit par **Rossow (2008)**. Les beurres de Karité et de mangue rentrent déjà dans la composition aussi bien de produits de soin que de maquillage, auxquels ils apportent onctuosité, propriété glissante, émollience, et permettent d'augmenter l'homogénéité des phases grasses (**De Clermont-Gallerande, 2006; Mouloungui et al., 2006; Ramirez and Moroni, 2008**). Par ailleurs les beurres peuvent être utilisés pour baisser le point de fusion de certaines cires.

Les résultats obtenus montre également que les déchets agricoles que sont les noyaux et les peaux de Mangue généralement abandonnés dans la nature, posant un problème d'hygiène environnemental, peuvent être valorisés dans des formulations cosmétiques et même pharmaceutique car le noyaux de mangue possède en plus plusieurs propriétés biologiques : anti-diarrhéique (**Sairam et al., 2003**), antibactérienne et antioxydante (**Khammuang and Sarnthima, 2011**).

V- CONCLUSION PARTIELLE

Différentes méthodes chromatographiques, spectroscopiques ainsi que la Microscopie Électronique à Balayage (MEB) ont permis d'étudier la composition des cires extraites des feuilles de Rônier et des peaux de Mangue. L'identification effectuée indique la présence de divers composés dont les principaux sont des alcanes, des acides gras, des aldéhydes, des alcools, des cétones, et des esters, des caroténoïdes au sein des deux cires avec la présence de stérols particulièrement au sein de la cire de peaux de Mangue. Par ailleurs, la MEB a permis d'observer la morphologie des cires présentes à la surface des organes de plantes étudiées et d'en déduire une corrélation relativement à la présence de certains composés. Enfin, les points de fusion des mélanges cire-beurre ont été déterminés afin d'étudier l'impact de l'ajout de cire sur les points de fusion des beurres de Karité et de mangue. Les résultats obtenus montrent que de façon générale, l'ajout de cire dans ces beurres permet d'élever leurs points de fusion et donc facilite leurs transports et leurs conservations.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Le présent travail avait pour objectif d'étudier la possibilité d'extraire et caractériser des cires à partir de déchets agricoles que sont les feuilles de Rônier et les peaux de Mangue avec des rendements assez intéressants. L'enjeu est la valorisation de ces déchets en bioproduits susceptibles de générer des revenus supplémentaires aux agriculteurs. Ainsi, une revue de littérature a montré que les cires localisées à la surface des plantes constituent une source naturelle et biodisponible de nouvelles cires potentielles. Un criblage de matériel végétal provenant de la biomasse ivoirienne a permis d'identifier deux sources potentielles de cires végétales que sont les feuilles de Rônier et les peaux de Mangue. Ces ressources constituent des sous-produits agricoles disponibles qui sont actuellement sous-utilisés.

Dans la première étape de cette étude, une bibliographie, a permis de décrire l'état de connaissance sur les cires végétales, leurs modes d'obtention, les méthodes de caractérisation ainsi que sur les plantes étudiées. Une bibliométrie réalisée ensuite sur le sujet d'étude a permis d'établir le fort engouement scientifique suscité par la thématique générale des cires végétales et le taux de publications scientifiques déjà réalisées sur les deux plantes identifiées.

Dans la deuxième étape, les cires de feuilles de Rônier et de peaux de Mangue ont été extraites à l'aide de différents solvants organiques traditionnels en utilisant la méthode au Soxhlet. Cette étude a montré que les rendements d'extraction dépendent fortement du solvant utilisé. L'extraction hexanique réalisée sur les feuilles de Rônier et les peaux de Mangue a conduit respectivement à des rendements bruts de 1,4% et 2,5%.

La mise en place d'un plan d'expériences a permis d'optimiser les rendements d'extraction obtenus les faisant passer de 1,4 à 3 % pour la cire de feuilles de Rônier et de 2,5 à 4 % pour la cire de peaux de Mangue. Les conditions optimales ont également été définies.

Les paramètres physico-chimiques tels que le point de fusion, l'indice de réfraction, l'indice d'iode, l'indice d'acide, l'indice de saponification ont été déterminés et comparés aux cires commerciales existantes. Ainsi, la cire brute de feuilles de Rônier est une cire dure, de couleur jaune brun, très hydrophobe avec une odeur légère, tandis que la cire de peaux de Mangue est souple, de couleur rouge orangé, très hydrophobe et a une odeur caractéristique semblable à celle de l'huile de palme brute.

Une analyse qualitative réalisée à partir de la spectroscopie infrarouge, de la spectrophotométrie UV-visible et de la Chromatographie sur Couche Mince a permis l'identification de composés contenus dans les deux cires. Des acides gras, des alcools gras, des n-alcanes, des cyclo et iso-alcanes, des hydroperoxydes, des cétones, des esters, des caroténoïdes et des stéroïdes ont été identifiés.

Une analyse quantitative réalisée à partir de la Chromatographie sur Couche Mince à Haute Performance (HPTLC) et de la Chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID), a permis de fournir la proportion des principaux composés identifiés au sein des cires étudiées.

Les cires épicuticulaires présentes à la surface des organes de plantes étudiées ont enfin été observées par microscopie électronique à balayage. Une corrélation entre la morphologie des cires observées et la présence de certains composés chimiques a été établie.

De façon générale, les résultats obtenus montrent que les feuilles de Rônier et la peau de Mangue constituent de très bonnes sources de cires végétales. Les cires extraites présentent des propriétés intéressantes pour de nombreuses applications dans divers domaines tels que le cosmétique, la pharmacie et l'industrie des bougies.

Ce travail offre de nombreuses perspectives. Il serait intéressant d'étudier la composition des cires extraites à partir d'analyse au GC-MS et GC-FID. Cela pourrait fournir de précieuses informations sur la composition en policosanols (mélange d'alcools à longues chaînes carbonées), en stéroïdes, en d'autres composés majeurs non identifiés dans la présente étude.

L'optimisation des rendements d'extraction pourrait être approfondie en élargissant les domaines expérimentaux d'étude et en prenant en compte d'autres paramètres intrinsèques de la plante tels que l'âge de la plante, la zone de culture et la saison de récolte. Les modèles prédictifs obtenus pourraient être appliqués sur des plantes issues d'autres variétés de Rônier et de Mangue ou sur d'autres plantes cireuses identifiées dans la littérature. Il serait également intéressant d'utiliser d'autres types de plans d'expériences prenant en compte les interactions entre les facteurs pour l'optimisation des rendements d'extraction.

Les résultats obtenus dans cette étude pourraient être généralisés en faisant la même étude sur des végétaux identiques mais échantillonnés dans d'autres localités.

La caractérisation des mélanges cire-beurre devra être poursuivie en étudiant les divers indices chimiques afin d'apprécier l'influence de l'ajout des cires sur les paramètres physico-chimiques des beurres de Karité et de Mangué.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adams, D.J., Dyson, P.J., Tavener, S.J., 2005. *Chemistry in alternative reaction media*. John Wiley & Sons.
- Adams, M., 1982. Kick-start for village vinegar in Papua New Guinea. *Appropriate technology*.
- Aguilar, F., Crebelli, R., Dusemund, B., Galtier, P., Gott, D., Gundert-Remy, U., König, J., Lambre, C., Leblanc, J.-C., Mortensen, A., 2012. Scientific Opinion on the re-evaluation of candelilla wax (E 902) as a food additive. *EFSA Journal* 10.
- Ahmad, A., Alkarkhi, A.F.M., Hena, S., Siddique, B.M., Dur, K.W., 2010. Optimization of Soxhlet Extraction of Herba Leonuri Using Factorial Design of Experiment. *IJC* 2, p198. <https://doi.org/10.5539/ijc.v2n1p198>.
- Akihisa, T., Yasukawa, K., Oinuma, H., Kasahara, Y., Yamanouchi, S., Takido, M., Kumaki, K., Tamura, T., 1996. Triterpene alcohols from the flowers of compositae and their anti-inflammatory effects. *Phytochemistry* 43, 1255–1260.
- Al-Arafi, N., Salimon, J., 2012. Production of oleic acid based wax ester using acidic homogeneous catalysts. *Journal of Chemistry* 9, 99–106.
- Aleklett, K., Höök, M., Jakobsson, K., Lardelli, M., Snowden, S., Söderbergh, B., 2010. The peak of the oil age—analyzing the world oil production reference scenario in world energy outlook 2008. *Energy Policy* 38, 1398–1414.
- Anastas, P., Eghbali, N., 2010. Green chemistry: principles and practice. *Chemical Society Reviews* 39, 301–312.
- Aracil, J., Martinez, M., Sa, N., Corma, A., 1992. Formation of a jojoba oil analog by esterification of oleic acid using zeolites as catalyst. *Zeolites* 12, 233–236.
- Arpino, P., 1973. *Les lipides de sédiments lacustres éocènes*. Université Louis Pasteur, Strasbourg France.
- Association of Official Analytical Chemists, 1990. 1990. Method 930.15,” in *Official Methods of Analyses of the Association of Official Analytical Chemists*, 15th edition. ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA,.
- Athukorala, Y., Mazza, G., 2010. Supercritical carbon dioxide and hexane extraction of wax from triticale straw: Content, composition and thermal properties. *Industrial crops and products* 31, 550–556.
- Athukorala, Y., Mazza, G., Oomah, B.D., 2009. Extraction, purification and characterization of wax from flax (*Linum usitatissimum*) straw. *European journal of lipid science and technology* 111, 705–714.

- Audisio, G., Rossini, A., Bianchi, G., Avato, P., 1987. CGC-MS determination of mixtures of long chain aliphatic esters. *Journal of High Resolution Chromatography* 10, 594–597.
- Ayernor, G.K.S., Matthews, J.S., 1971. Sap of palm *elaeis-guineensis* jacq. as raw-material for alcoholic fermentation in Ghana. *Tropical Science* 13, 71.
- Baker, E.A., 1982. Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes, in: *Linnean Society Symposium Series*.
- Baker, E.A., 1974. The influence of environment on leaf wax development in *Brassica oleracea* var. *gemmifera*. *New Phytologist* 73, 955–966.
- Barthlott, W., Neinhuis, C., Cutler, D., Ditsch, F., Meusel, I., Theisen, I., Wilhelmi, H., 1998. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. *Botanical journal of the Linnean society* 126, 237–260.
- Bassir, O., 1968. Some Nigerian wines. *West Afr. J. Biol. Appl. Chem* 10, 42–45.
- Bastien, C., 2011. tude chimique des substances contenues dans une collection exceptionnelle de poteries provenant de Deir el-Médineh (Egypte) : une population et ses produits. Université de Strasbourg, France.
- Bayton, R.P., 2007. A revision of *Borassus* L. (Arecaceae). *Kew Bulletin* 561–585.
- Bellouard, P., 1950. Le Rônier en AOF. *Bois & forets des tropiques* 14, 117–126.
- Benjamin, Y., Lamartine, R., Lantéri, P., Longerey, R., 2001. Stratégie expérimentale pour l'optimisation de la réaction de synthèse du thymol en phase gazeuse. *J. Soc, Ouest-Afr, Chim*, 11, 61–71.
- Bennett, H., 1975. *Commercial waxes: natural and synthetic*. Chemical Pub. Co, Newyork, NY (USA).
- Berardini, N., Fezer, R., Conrad, J., Beifuss, U., Carle, R., Schieber, A., 2005a. Screening of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars for their contents of flavonol O- and xanthone C-glycosides, anthocyanins, and pectin. *Journal of agricultural and food chemistry* 53, 1563–1570.
- Berardini, N., Knödler, M., Schieber, A., Carle, R., 2005b. Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 6, 442–452.
- Béreau, D., 2001. *Huiles et fractions fractions insaponifiables de huit espèces de palmiers amazoniens*. INP-Toulouse, France.
- Beyerinck, M.W., 1889. Ein einfacher Diffusionsversuch. *Zeitschrift für physikalische Chemie* 3, 110–112.
- Beylot, G., 2012. Le soin des lèvres. *Actual. Pharm.* 51, 55–57.

- Bianchi, G., Avato, P., Bertorelli, P., Mariani, G., 1978. Epicuticular waxes of two sorghum varieties. *Phytochemistry* 17, 999–1001.
- Bianchi, G., Corbellini, M., 1977. Epicuticular wax of *Triticum aestivum* Demar 4. *Phytochemistry* 16, 943–945.
- Bianchi, G., Scole, F., Borghi, B., Corbellini, M., 1982. Epicuticular waxes of hexaploid and octaploid triticales. *Phytochemistry* 21, 639–642.
- Blanc-Pamard, C., 1979. Un jeu écologique différentiel : les communautés rurales du contact forêt-savane au fond du 'V Baoulé' (Côte d'Ivoire), *Travaux et Documents de l'ORSTOM*, Paris, ORSTOM. ed.
- Blomquist, G.J., Chu, A.J., Remaley, S., 1980. Biosynthesis of wax in the honeybee, *Apis mellifera* L. *Insect Biochemistry* 10, 313–321.
- Bouthaina, B.A., 2008. Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs : texturation par détente instantanée contrôlée. Université de la Rochelle, France.
- Box, G.E., Hunter, J.S., 1961. The 2^k—p fractional factorial designs. *Technometrics* 3, 311–351.
- Box, G.E., Hunter, W.G., Hunter, J.S., 1978. *Statistics for experimenters*.
- Britel, O., 2007. Modélisation et optimisation par la méthodologie des plans d'expériences de la synthèse: De l'hydroxyapatite phosphocalcique, du phosphate tricalcique apatitique, du phosphate de calcium apatitique carbonate.
- Bromenshenk, J.J., Henderson, C.B., Wick, C.H., Stanford, M.F., Zulich, A.W., Jabbour, R.E., Deshpande, S.V., McCubbin, P.E., Seccomb, R.A., Welch, P.M., 2010. Iridovirus and microsporidian linked to honey bee colony decline. *PloS one* 5, e13181.
- Butnariu, M., 2016. *Methods of Analysis (Extraction, Separation, Identification and Quantification) of Carotenoids from Natural Products*. *Journal of Ecosystem & Ecography* 6. <https://doi.org/10.4172/2157-7625.1000193>
- Candiotti, L.V., De Zan, M.M., Camara, M.S., Goicoechea, H.C., 2014. Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. *Talanta* 124, 123–138.
- Carver, T.L., Gurr, S.J., 2008. 12 Filamentous fungi on plant surfaces. *Annual plant reviews, biology of the plant cuticle* 23, 368.
- Cerf, R., 1994. Une théorie asymptotique des algorithmes génétiques (PhD Thesis). Montpellier 2.

- Chen, J.P., Tai, C.Y., Chen, B.H., 2004. Improved liquid chromatographic method for determination of carotenoids in Taiwanese mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Chromatography A* 1054, 261–268.
- Chevalier, A., Dubois, R., 1938. Les Palmiers Hyphaene et Borassus de l’Afrique Occidentale. *J. Agric. Tradit. Bot. Appliquée* 18, 93–103
- Christie, W.W., 2012. Waxes : Structure, composition, occurrence and analysis. Scottish crop research institute (and Mylnefield lipid analysis), Invergowrie Dundee, Scotland.
- Clark, E.W., 1999. The history and evolution of lanolin ; in Hoppe U (ed): *The Lanolin Book*. Hamburg, Beiersdorf. pp 17–49.
- Clark, J.H., Deswarte, F.E., 2008. The biorefinery concept—an integrated approach, in: *Introduction to Chemicals from Biomass*. Wiley, Chichester, United Kingdom, pp. 1–18.
- Cochran, W.G., Cox, G.M., 1992. *Experimental designs*. Wiley, New York.
- Cundy, A.S., Shin, G., 2017. *Découvrir la biologie*. De Boeck Supérieur.
- Curzons, A.D., Constable, D.C., Cunningham, V.L., 1999. Solvent selection guide: a guide to the integration of environmental, health and safety criteria into the selection of solvents. *Clean Prod. Process.* 1, 82–90.
- Cutler, D.F., Alvin, K.L., Price, C.E., 1982. The plant cuticle : papers presented at an international symposium organized by the Linnean Society of London, held at Burlington House, London, 8-11 September 1980, in: *Linnean Society Symposium* Academic Press. pp. 139–165.
- Daniel, J.-F., Gardan, L., Luisetti, J., Prunier, J.P., 1975. Identification de l’agent responsable de la maladie des taches noires de la mangue (*Mangifera indica*). *Fruits* 30, 625–630.
- Daud, N.N.N.N.M., Rosdi, M.N.M., Ya’akob, H., Musa, N.F., 2015. Optimization of soxhlet extraction parameter of *Annona muricata* leaves using Box-Behnken Design (BBD) expert and antioxidant analysis. *Jurnal Teknologi* 77.
- De Candolle, A., 1885. *Origin of cultivated plants*. D. Appleton.
- De Clermont-Gallerande, H., 2006. Évolution des corps gras utilisés dans la formulation des rouges à lèvres au cours des quinze dernières années. *Ol. Corps Gras Lipides* 13, 322–325.
- DeMan, J.M., Finley, J.W., Hurst, W.J., Lee, C.Y., 1999. *Principles of food chemistry*. Springer.
- Demel, R.A., De Kruff, B., 1976. The function of sterols in membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Biomembranes* 457, 109–132.

- Deswarte, F.E., Clark, J.H., Hardy, J.J., Rose, P.M., 2006. The fractionation of valuable wax products from wheat straw using CO₂. *Green Chemistry* 8, 39–42.
- Diakité, A., 2018. Extraction et caractérisation des extraits cireux de graines de *Jatropha curcas* pour application biopesticide.
- Dimick, P.S., Manning, D.M., 1987. Thermal and compositional properties of cocoa butter during static crystallization. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 64, 1663–1669.
- Djioua, T., 2010. Amélioration de la conservation des mangues 4ème gamme par application de traitements thermiques et utilisation d’une conservation sous atmosphère modifiée (PhD Thesis). Université d’Avignon.
- Dominguez, E., Heredia, A., 1998. Waxes: a forgotten topic in lipid teaching. *Biochemical Education* 26, 315–316.
- Edmundson, R.J., Jacks, T.C., 1989. High-gloss, high-shine lipstick. Brévet N° 4873078.
- Eglinton, G., Gonzalez, A.G., Hamilton, R.J., Raphael, R.A., 1962. Hydrocarbon constituents of the wax coatings of plant leaves: a taxonomic survey. *Phytochemistry* 1, 89–102.
- Eigenbrode, S.D., 1996. Plant surface waxes and insect behaviour. *Plant cuticles—an integrated functional approach*. BIOS Scientific Publishers Limited, Oxford 201–222.
- Eigenbrode, S.D., Espelie, K.E., 1995. Effects of plant epicuticular lipids on insect herbivores. *Annual review of entomology* 40, 171–194.
- Elevitch, C.R., 2006. Traditional trees of Pacific islands: species profiles for Pacific island agroforestry—ecological, economic, and cultural renewal. *Agroforestry Trees for Life series*. Permanent Agriculture Resources, Holualoa, Hawaii.
- Essiamah, S.K., 1983. Utilisation of palms in West Africa (Forest products), *Die Nutzung der Palmen in Westafrika*. *Forstarchiv* 54, 232–236.
- Farag, Y., 2010. Characterization of Different Shellac Types and Development of Shellac-Coated Dosage Forms. Université de Hambourg.
- Faurot-Bouchet, E., Michel, G., 1964. Composition of insect waxes. I. Waxes of exotic coccidae: *Gascardia madagascariensis*, *Coccus ceriferus* and *Tachardia lacca*. *Journal of the American Oil Chemists’ Society* 41, 418–421.
- Feinberg, M., 1996. La validation des méthodes d’analyse: une approche chimiométrique de l’assurance qualité au laboratoire. Masson.
- Ficken, F.A., 2015. The simplex method of linear programming. Courier Dover Publications.
- Fox, D.M., 2009. Alternative Solvents for Green Chemistry. ACS Publications.

- Gaël, C., 2013. Étude des effets létaux et sublétaux d'une intoxication au thymol sur le développement et l'immunité des larves d'*Apis mellifera* élevées in vitro. Université de Toulouse, France.
- Gautier-Béguin, D., 1992. Plantes de cueillette à utilisation alimentaire en Côte d'Ivoire Centrale. *Boissiera* 46, 341.
- Gazzola, R., Alves, R.E., Filgueiras, H.A.C., 2004. Physical State of Epicuticular Waxes During Development of Tommy Atkins Mangoes. *Acta horticulturae* 595–600.
- Giese, B.N., 1975. Effects of light and temperature on the composition of epicuticular wax of barley leaves. *Phytochemistry* 14, 921–929.
- Giffard, P.-L., 1967. Le palmier Rônier. *Bois & forets des tropiques* 116, 3–13.
- Gilbert, J.C., Martin, S.F., 2016. Experimental organic chemistry: a miniscale & microscale approach. Nelson Education.
- Goguey, T., 1996. Architectural approach of the mechanisms of canopy growth and flowering of mango trees, in: V International Mango Symposium 455. pp. 124–131.
- Goiffon, E., 1949. Index colorimétrique d'acidification des lipides du beurre. *Le Lait* 29, 466–476.
- Gómez, A.M., López, C.P., de la Ossa, E.M., 1996. Recovery of grape seed oil by liquid and supercritical carbon dioxide extraction: a comparison with conventional solvent extraction. *The Chemical Engineering Journal and the Biochemical Engineering Journal* 61, 227–231.
- Goupy, J., 2006. Experimental design, MODULAD review. *Tutoriel* 34, 74–116.
- Goupy, J., 2001. Introduction aux Plans d'expériences. Dunod. Paris.
- Grant, R.H., Jenks, M.A., Rich, P.J., Peters, P.J., Ashworth, E.N., 1995. Scattering of ultraviolet and photosynthetically active radiation by sorghum bicolor: influence of epicuticular wax. *Agricultural and Forest Meteorology* 75, 263–281.
- Guilloton, M., Quintard, B., 2002. *Biochimie*, Editions Dunod. ed.
- Gunawan, E.R., Basri, M., Rahman, M.B.A., Salleh, A.B., Rahman, R.N.Z.A., 2005. Study on response surface methodology (RSM) of lipase-catalyzed synthesis of palm-based wax ester. *Enzyme and Microbial Technology* 37, 739–744.
- Hahn-Deinstrop, E., 2007. *Applied Thin-Layer Chromatography*. Wiley VCH 1, 154.
- Halinski, L.P., Szafranek, B.M., 2006. Cuticular waxes from potato leaves—evaluation of extractions methods. *Herba Polonica* 52.

- Hallberg, M.L., Wang, D., Härröd, M., 1999. Enzymatic synthesis of wax esters from rapeseed fatty acid methyl esters and a fatty alcohol. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 76, 183–187.
- Hamilton, R.J., 1995. *Waxes: chemistry, molecular biology and functions*. Oily Press Dundee.
- Han, W., Dang, C.V., Kim, J.-W., Kim, Y.-J., Jung, S.-Y., 2017. Global-Simplex Optimization Algorithm Applied to FEM based Optimal Design of Electric Machine. *IEEE Transactions on Magnetics* 1–1. <https://doi.org/10.1109/TMAG.2017.2684184>
- Harrington, C.A., Carlson, W.C., 2015. Morphology and Accumulation of Epicuticular Wax on Needles of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii*). *Northwest Science* 89, 401–409.
- Herbin, G.A., Robins, P.A., 1969. Patterns of variation and development in leaf wax alkanes. *Phytochemistry* 8, 1985–1998.
- Heredia, A., 2003. Biophysical and biochemical characteristics of cutin, a plant barrier biopolymer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 1620, 1–7.
- Heredia-Guerrero, J.A., Benítez, J.J., Domínguez, E., Bayer, I.S., Cingolani, R., Athanassiou, A., Heredia, A., 2014. Infrared and Raman spectroscopic features of plant cuticles: a review. *Frontiers in plant science* 5.
- Herzi, N., 2013. Extraction et purification de substances naturelles: comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles (PhD Thesis). INP Toulouse.
- Herzog, F.M., 1992. Etude biochimique et nutritionnelle des plantes alimentaires sauvages dans le sud du V-Baoulé, Côte d'Ivoire (PhD Thesis). ETH Zurich.
- Hetherington, A.M., Woodward, F.I., 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* 424, 901.
- Holloway, P.J., 1994. Plant cuticles: physicochemical characteristics and biosynthesis, in: *Air Pollutants and the Leaf Cuticle*. Springer, pp. 1–13.
- Holloway, P.J., 1982. Structure and histochemistry of plant cuticular membranes: an overview. *The plant cuticle*, London: Academic Press, 10, 1–32.
- Holloway, P.J., Jeffree, C.E., Baker, E.A., 1976. Structural determination of secondary alcohols from plant epicuticular waxes. *Phytochemistry* 15, 1768–1770.
- Hwang, K.T., Cuppett, S.L., Weller, C.L., Hanna, M.A., 2002. Properties, composition, and analysis of grain sorghum wax. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 79, 521–527.
- Inarkar, M.B., Lele, S.S., 2012. Extraction and characterization of sugarcane peel wax. *ISRN Agronomy* 2012.

- Irmak, S., Dunford, N.T., Milligan, J., 2006. Policosanol contents of beeswax, sugar cane and wheat extracts. *Food Chemistry* 95, 312–318.
- Jacob, J., 1999. The chemical composition of wool wax ; in Hoppe U (ed): *The Lanolin Book*. Hamburg, Beiersdorf. pp 55–84.
- Jeffree, C.E., 1986. The cuticle, epicuticular waxes and trichomes of plants, with reference to their structure, functions and evolution. *Insects on the plant surface* 23–64.
- Jetter, R., Kunst, L., 2008. Plant surface lipid biosynthetic pathways and their utility for metabolic engineering of waxes and hydrocarbon biofuels. *The Plant Journal* 54, 670–683.
- Jetter, R., Kunst, L., Samuels, A.L., 2008. Composition of plant cuticular waxes. *Biology of the plant cuticle* 23, 145–181.
- Jetter, R., Riederer, M., 1994. Epicuticular crystals of nonacosan-10-ol: in-vitro reconstitution and factors influencing crystal habits. *Planta* 195, 257–270.
- Jiang, Y., Wang, T., 2005. Phytosterols in cereal by-products. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 82, 439–444.
- Jiménez, J.J., Bernal, J.L., Aumente, S., del Nozal, M.J., Martín, M.T., Bernal Jr, J., 2004. Quality assurance of commercial beeswax: Part I. Gas chromatography–electron impact ionization mass spectrometry of hydrocarbons and monoesters. *Journal of Chromatography A* 1024, 147–154.
- Kasse, M., 2015. Amélioration de la conservation des mangues 4ème gamme par l'utilisation d'un enrobage, d'un traitement antimicrobien et du conditionnement sous atmosphère modifiée (PhD Thesis). Université Cheikh Anta Diop de DAKAR.
- Kassi, A.B.B., 2009. Contribution à l'étude phytochimique des amandes de *Mangifera Indica* et des Feuilles, écorces, graines de *Santaloïdes Afzelii*. Université Félix Houphouët Boigny de Cocody, Côte d'Ivoire.
- Keng, P.S., Basri, M., Zakaria, M.R.S., Rahman, M.A., Ariff, A.B., Rahman, R.A., Salleh, A.B., 2009. Newly synthesized palm esters for cosmetics industry. *Industrial crops and products* 29, 37–44.
- Kerton, F.M., Marriott, R., 2013. *Alternative solvents for green chemistry*. Royal Society of chemistry.
- Ketata, M., Desjardins, Y., Ratti, C., 2013. Effect of liquid nitrogen pretreatments on osmotic dehydration of blueberries. *Journal of food engineering* 116, 202–212.
- Khammuang, S., Sarnthima, R., 2011. Antioxidant and antibacterial activities of selected varieties of Thai mango seed extract. *Pak. J. Pharm. Sci.* 24, 37–42.

- Kilz, P., 1992. Two-dimensional chromatography. Application of HPLC-gel permeation chromatography coupling for analysis of complex poly-mer systems. *LaborPraxis* 16, 628–32.
- Kim, J., 2008. Wax Extraction and Characterization from Full-fat and Defatted Rice Bran. Pusan National University.
- Kim, J., Godber, J.S., 2014. Comparison of rice bran oil and wax yields; a systematic approach to wax ester analysis. *International Journal of Food Science & Technology* 49, 410–415.
- Koch, K., Hartmann, K.D., Schreiber, L., Barthlott, W., Neinhuis, C., 2006. Influences of air humidity during the cultivation of plants on wax chemical composition, morphology and leaf surface wettability. *Environmental and Experimental Botany* 56, 1–9.
- Kolattukudy, P.E., 1976. Chemistry and biochemistry of natural waxes. Elsevier Scientific Pub. Co.
- Kolattukudy, P.E., Buckner, J.S., Liu, T.-Y.J., 1973. Biosynthesis of secondary alcohols and ketones from alkanes. *Archives of biochemistry and biophysics* 156, 613–620.
- Koné, K.P., 2018. Application des techniques de chromatographie et de spectroscopie dans l'identification de métabolisme secondaires de trois plantes antidiabétiques et antihypertensives de la pharmacopée ivoirienne. INP-HB, Yamoussoukro Côte d'Ivoire.
- Kra, S., Assidjo, N.E., Dioppoh, K.J., Cardot, P., 2006. Use of Experimental Design for Peuhl Cheese Process Optimization. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* 10.
- Krauss, P., Markstädter, C., Riederer, M., 1997. Attenuation of UV radiation by plant cuticles from woody species. *Plant, Cell & Environment* 20, 1079–1085.
- Krendlinger, E., Wolfmeier, U., Schmidt, H., Heinrichs, F.-L., Michalczyk, G., Payer, W., Dietsche, W., Boehlke, K., Hohner, G., Wildgruber, J., 2015. Waxes. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* 1–63. <https://doi.org/10.1002/14356007>.
- Kunst, L., Jetter, R., Samuels, A.L., 2008. Biosynthesis and transport of plant cuticular waxes. *Annual Plant Reviews* 23, 182–215.
- Kunst, L., Samuels, A.L., 2003. Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax. *Progress in lipid research* 42, 51–80.
- Lakshmi, P., 2010. A study on physical properties of some waxes. Jawaharlal Nehru Technological University, Hyderabad - India.
- Lang, Q., Wai, C.M., 2001. Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies— a practical review. *Talanta* 53, 771–782.

- Langlois, J., 2010. Fast GC analysis of natural waxes from art and museum objects.
- Lecomte, J., 2009. Les cires végétales: sources et applications. OCL. Oléagineux Corps gras Lipides 16, 262–266.
- Li, C.K., 1985. China wax and the China wax scale insect. World Animal Review 26–33.
- Li, F., Wu, X., Lam, P., Bird, D., Zheng, H., Samuels, L., Jetter, R., Kunst, L., 2008. Identification of the wax ester synthase/acyl-coenzyme A: diacylglycerol acyltransferase WSD1 required for stem wax ester biosynthesis in Arabidopsis. Plant physiology 148, 97–107.
- Lipp, M., Anklam, E., 1998. Review of cocoa butter and alternative fats for use in chocolate—part A. Compositional data. Food Chem. 62, 73–97.
- Lochte-Watson, K.R., Weller, C.L., 1999. Technical Notes: Wax yield of grain sorghum (*Sorghum bicolor*) as affected by mechanical harvesting, threshing, and handling methods. Applied Engineering in Agriculture 15, 69.
- Luque de Castro, M.D., García-Ayuso, L.E., 1998. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. Analytica Chimica Acta 369, 1–10. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(98\)00233-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00233-5)
- Lusas, E.W., Riaz, M.N., Alam, M.S., Clough, R., 2017. Animal and vegetable fats, oils, and waxes, in: Handbook of Industrial Chemistry and Biotechnology. Springer, pp. 823–932.
- Mahattanatawee, K., Manthey, J.A., Luzio, G., Talcott, S.T., Goodner, K., Baldwin, E.A., 2006. Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-grown tropical fruits. Journal of agricultural and food chemistry 54, 7355–7363.
- Marcusson, J., 1929. Manuel de Laboratoire pour l'industrie des Huiles et Graisses, 2nd ed, Traduit sur la deuxième édition allemande par Ad. Jouve. Paris & Liège, Librairie Polytechnique ch. Beranger.
- Marrion, A., 2004. The chemistry and physics of coatings. Royal Society of Chemistry.
- Mausner, J., 1995. Mascara composition. 5948393.
- Mazliak, P., 1963. La Cire cuticulaire des pommes (*Pirus malus L.*). (Etude morphologique, biochimique et physiologique). Revue générale de Botanique.
- Megan E.H., Robert A.M., Michael J.P., Jonathan L.H., Extraction of Surface Wax from Whole Grain Sorghum. Journal of the American Oil Chemists' Society (2018) 95(7), 845-852.
- Mercadante, A.Z., Rodriguez-Amaya, D.B., 1998. Effects of ripening, cultivar differences, and processing on the carotenoid composition of mango. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46, 128–130.

- Merk, S., Blume, A., Riederer, M., 1997. Phase behaviour and crystallinity of plant cuticular waxes studied by Fourier transform infrared spectroscopy. *Planta* 204, 44–53.
- Millar, A.A., Kunst, L., 1997. Very-long-chain fatty acid biosynthesis is controlled through the expression and specificity of the condensing enzyme. *The Plant Journal* 12, 121–131.
- Mladenova, K., Stoianova-Ivanova, B., Camaggi, C.M., 1977. Composition of neutral components in flower wax of some decorative roses. *Phytochemistry* 16, 269–272.
- Mollet, M., 1999. L'utilisation durable des palmiers 'Borassus aethiopum', 'Elais guineensis' et 'Raphia hookeri' pour l'extraction de vin de palme en Côte d'Ivoire: recherche sur la forêt tropicale. *Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit*.
- Monnier, Y., 1977. Problemes de l'approvisionnement d'Abidjan en vin de palme, Travaux et documents de géographie tropicale. *CEGET* 28, 179.
- Morlock, G.E., Oellig, C., Bezuidenhout, L.W., Brett, M.J., Schwack, W., 2010. Miniaturized planar chromatography using office peripherals. *Analytical chemistry* 82, 2940–2946.
- Morrison III, W.H., Holser, R., Akin, D.E., 2006. Cuticular wax from flax processing waste with hexane and super critical carbon dioxide extractions. *Industrial Crops and Products* 24, 119–122.
- Mouloungui, Z., Alfos, C., Rossignol-Castera, A., 2006. Utilisation des lipides non polaires dans les rouges à lèvres: état de l'art et perspectives. *Ol. Corps Gras Lipides* 13, 326–328.
- Müller, C., 2006. Plant-insect interactions on cuticular surfaces. In 'Biology of the plant cuticle'. (Eds M Riederer, C Müller) pp. 398–422. Blackwell Publishing, Annual Plant Reviews.
- Murty, K.G., 1983. *Linear programming*. Springer.
- Nahm, H.S., 2011. Quality characteristics of West African shea butter (*Vitellaria paradoxa*) and approaches to extend shelf-life (PhD Thesis). Rutgers University-Graduate School-New Brunswick.
- Niang, M., 1976. The ronier-palm (*Borassus flabellifer*) in the Thies (Senegal) region: geographical study. *Notes Africaines* 147, 77–82.
- Nicoletti, M., Petitto, V., Gallo, F.R., Multari, G., Federici, E., Palazzino, G., 2012. The modern analytical determination of botanicals and similar novel natural products by the HPTLC fingerprint approach, in: *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier, pp. 217–258.
- Nielsen, S.S., others, 2010. *Food analysis*. Springer.

- Nieschlag, H.J., Spencer, G.F., Madrigal, R.V., Rothfus, J.A., 1977. Synthetic wax esters and diesters from crambe and limnanthes seed oils. *Industrial & Engineering Chemistry Product Research and Development* 16, 202–207.
- Ohmoto, T., Ikuse, M., Natori, S., 1970. Triterpenoids of the Gramineae. *Phytochemistry* 9, 2137–2148.
- Papadaki, A., Mallouchos, A., Efthymiou, M.-N., Gardeli, C., Kopsahelis, N., Aguiéiras, E.C., Freire, D.M., Papanikolaou, S., Koutinas, A.A., 2017. Production of wax esters via microbial oil synthesis from food industry waste and by-product streams. *Bioresource technology* 245, 274–282.
- Paturau, J.M., 1989. By-products of the cane sugar industry. An introduction to their industrial utilization. Elsevier Science Publishers BV.
- Perrin, R., Scharff, J.P., 1993. *Chimie industrielle 1* MASSON. PARIS.
- Peter, T.R., 2001. Beeswax through the ages. *Personal care* 10, 27–31.
- Pfündel, E.E., Agati, G., Cerovic, Z.G., 2006. Optical properties of plant surfaces. In ‘Biology of the plant cuticle’. (Eds M Riederer, C Müller) pp. 216–249. Blackwell Publishing: Oxford Sheffield.
- Pham, T.C.T., 2014. Cryo-extraction des cires des produits céréaliers (sorgho, blé et riz brun) (MÉMOIRE, Maîtrise en Sciences et technologie des aliments Maître ès Sciences). Université LAVAL, Québec, Canada.
- Pham, T.-C.-T., Angers, P., Ratti, C., 2018. Extraction of wax-like materials from cereals. *The Canadian Journal of Chemical Engineering* 96, 2273–2281.
- Phukan, P., 2016. Vegetable Oils as a Source of Wax Ester: Extraction and Transesterification. *Res. J. Chem. Sci.* 6, 69–72.
- Pillet, M., 1994. Introduction aux plans d’expériences par la méthode Taguchi. Editions d’Organisation.
- Plackett, R.L., Burman, J.P., 1946. The design of optimum multifactorial experiments. *Biometrika* 305–325.
- Portères, R., 1964. Le palmier Rônier (*Borassus aethiopum* Mart.) dans la Province du Baoulé (Côte d’Ivoire). *Journal d’agriculture traditionnelle et de botanique appliquée* 11, 499–514.
- Poux, M., Cognet, P., Gourdon, C., 2010. Génie des procédés durables: Du concept à la concrétisation industrielle. Dunod.
- Prakash, O., 2004. Diseases and disorders of mango and their management, in: *Diseases of Fruits and Vegetables Volume I*. Springer, pp. 511–619.

- Pritchard, A., 1969. Statistical bibliography or bibliometrics. *Journal of documentation* 25, 348–349.
- Profizi, J.-P., 1988. Swampy area transformations by exploitation of *Raphia hookeri* (Arecaceae) in southern Benin (West Africa). *Human Ecology* 16, 87–94.
- Racovita, R.C., Jetter, R., 2016. Composition of the epicuticular waxes coating the adaxial side of *Phyllostachys aurea* leaves: Identification of very-long-chain primary amides. *Phytochemistry* 130, 252–261.
- Ram, S., Litz, R.E., 2009. 11 Crop Production: Propagation. *The Mango : Botany, Production and Uses* 367.
- Ramirez, F.J., Luque, P., Heredia, A., Bukovac, M.J., 1992. Fourier transform IR study of enzymatically isolated tomato fruit cuticular membrane. *Biopolymers* 32, 1425–1429.
- Ramirez, J., Moroni, L., 2008. Formulating with exotic butters. *Care Mag* 13–5.
- Regert, M., Rolando, C., 2002. Identification of archaeological adhesives using direct inlet electron ionization mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 74, 965–975.
- Reichert, J.S., Campbell, D.J., Hinegardner, W.S., 1938. Process of bleaching ester type wax. 2113433.
- Renders, J.-M., 1994. *Algorithmes génétiques et réseaux de neurones*. Hermès Paris.
- Rey, J.-Y., Konan, K., 2002. La mangue d'exportation en Afrique de l'ouest.
- Ribeiro, S.M.R., Queiroz, J.H., de Queiroz, M.E.L.R., Campos, F.M., Sant'Ana, H.M.P., 2007. Antioxidant in mango (*Mangifera indica* L.) pulp. *Plant Foods for Human Nutrition* 62, 13–17.
- Ribeiro-Santos, R., Sanches-Silva, A., Motta, J.F.G., Andrade, M., de Araújo Neves, I., Teófilo, R.F., de Carvalho, M.G., de Melo, N.R., 2017. Combined use of essential oils applied to protein base active food packaging: Study in vitro and in a food simulant. *European Polymer Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.03.055>
- Riederer, M., Müller, C., 2008. *Annual Plant Reviews, Biology of the Plant Cuticle*. John Wiley & Sons.
- Riederer, M., Schreiber, L., 2001. Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. *Journal of experimental botany* 52, 2023–2032.
- Rojas-Molina, R., De León-Zapata, M.A., Saucedo-Pompa, S., Aguilar-Gonzalez, M.A., Aguilar, C.N., 2013. Chemical and structural characterization of Candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc.). *Journal of Medicinal Plants Research* 7, 702–705.

- Rombaut, N., 2013. Etude comparative de trois procédés d'extraction d'huile : aspects qualitatifs et quantitatifs : application aux graines de lin et aux pépins de raisin. Université de technologie Compiègne, France.
- Rossmann, J.M., 2009. Commercial manufacture of edible films, in: *Edible Films and Coatings for Food Applications*. Springer, pp. 367–390.
- Rossow, V., 2008. Le cas des beurres végétaux et des cires d'origine naturelle. *Oléagineux, Corps gras, Lipides* 15, 272–274.
- Rugalema, G.H., Okting'Ati, A., Johnsen, F.H., 1994. The homegarden agroforestry system of Bukoba district, North-Western Tanzania. 1. Farming system analysis. *Agroforestry systems* 26, 53–64.
- Sabale, V., Sabale, P.M., Lakhotiya, C.L., 2009. Comparative evaluation of rice bran wax as an ointment base with standard base. *Indian journal of pharmaceutical sciences* 71, 77.
- Sahena, F., Zaidul, I.S.M., Jinap, S., Karim, A.A., Abbas, K.A., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M., 2009. Application of supercritical CO₂ in lipid extraction—A review. *Journal of Food Engineering* 95, 240–253.
- Sánchez, F.J., Manzanares, M., de Andrés, E.F., Tenorio, J.L., Ayerbe, L., 2001. Residual transpiration rate, epicuticular wax load and leaf colour of pea plants in drought conditions. Influence on harvest index and canopy temperature. *European Journal of Agronomy* 15, 57–70.
- Sairam, K., Hemalatha, S., Kumar, A., Srinivasan, T., Ganesh, J., Shankar, M., Venkataraman, S., 2003. Evaluation of anti-diarrhoeal activity in seed extracts of *Mangifera indica*. *J. Ethnopharmacol.* 84, 11–15.
- Samman, S., Chow, J.W., Foster, M.J., Ahmad, Z.I., Phuyal, J.L., Petocz, P., 2008. Fatty acid composition of edible oils derived from certified organic and conventional agricultural methods. *Food Chem.* 109, 670–674.
- Sanon, M., Sacande, M., 2007. *Borassus aethiopum* Mart. Seed Leaflet.
- Saúco, V.G., Herrero, M., Hormaza, J.I., 2014. Tropical and subtropical fruits, in: *Horticulture: Plants for People and Places, Volume 1*. Springer, pp. 123–157.
- Sawadogo-Lingani, H., Traoré, A.S., 2001. Composition chimique et valeur nutritive de la mangue amélie (*Mangifera indica* L.) du Burkina Faso. *Journal des sciences* 2, 35–39.
- Schaller, H., 2004. New aspects of sterol biosynthesis in growth and development of higher plants. *Plant physiology and biochemistry* 42, 465–476.
- Schoeman, D.J., 2015. The chemical constitution of the fruit-coat fat from *myrica cordifolia*-Cape berry wax (PhD Thesis).

- Séka, O.C., Soro, Y., Amian, B.B.K., Siaka, S., 2018. Extraction et caractérisation de cires végétales issues de *Borassus aethiopum* (Arecaceae) et de *Mangifera indica* (Anacardiaceae). *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* 46, 29–35.
- Shepherd, T., Wynne Griffiths, D., 2006. The effects of stress on plant cuticular waxes. *New Phytologist* 171, 469–499.
- Sin, E.H.K., 2012. The extraction and fractionation of waxes from biomass. University of York.
- Solovchenko, A., Merzlyak, M., 2003. Optical properties and contribution of cuticle to UV protection in plants: experiments with apple fruit. *Photochemical & Photobiological Sciences* 2, 861–866.
- Spitzer, V., 1999. Screening analysis of unknown seed oils. *European Journal of Lipid Science and Technology* 101, 2–19.
- Srivastava, S.P., Handoo, J., 1993. K. M. Agrawal, and GC Joshi, “Phase-Transition Studies in n-Alkanes and Petroleum Related Waxes: A Review,” *J. Phys. Chem. Solids* 54, 639.
- Stacey, M., 1976. Straw as a potential raw material for chemicals. *Agric Prog Shrewsbury*.
- Stahl, E., 1956. Thin-layer chromatography; methods, influencing factors and an example of its use. *Die Pharmazie* 11, 633–637.
- Stone, R.E., Tovey, C.A., 1991. The simplex and projective scaling algorithms as iteratively reweighted least squares methods. *SIAM review* 33, 220–237.
- Sullivan, S., Konstant, T.L., Cunningham, A.B., 1995. The impact of utilization of palm products on the population structure of the vegetable ivory palm (*Hyphaene petersiana*, Arecaceae) in north-central Namibia. *Economic Botany* 49, 357–370.
- Sun, R.C., Salisbury, D., Tomkinson, J., 2003. Chemical composition of lipophilic extractives released during the hot water treatment of wheat straw. *Bioresour. Technol.* 88, 95–101.
- Sun, R.C., Sun, X.F., 2001. Identification and quantitation of lipophilic extractives from wheat straw. *Ind. Crops Prod.* 14, 51–64.
- Svečnjak, L., Baranović, G., Vinceković, M., Prđun, S., Bubalo, D., Gajger, I.T., 2015. An approach for routine analytical detection of beeswax adulteration using FTIR-ATR spectroscopy. *Journal of apicultural science* 59, 37–49.
- Thaï, T.H., 2000. Effet de différents enrobages sur les caractéristiques de la conservation à l'état frais de la mangue. ENSIA-SIARC, Montpellier - France.
- Tinsson, W., 2010. Plans d'expérience: constructions et analyses statistiques. Springer Science & Business Media.
- Tuley, P., 1965. Studies on the production of wine from the oil palm.

- Tulloch, A.P., 1981. Composition of epicuticular waxes from 28 genera of Gramineae: differences between subfamilies. *Canadian Journal of Botany* 59, 1213–1221.
- Tulloch, A.P., 1976. Chemistry of waxes of higher plants, in: *Chemistry and Biochemistry of Natural Waxes*. Elsevier, pp. 235–287.
- Tulloch, A.P., 1971. Beeswax: structure of the esters and their component hydroxy acids and diols. *Chemistry and Physics of Lipids* 6, 235–265.
- Tulloch, A.P., 1970. The composition of beeswax and other waxes secreted by insects. *Lipids* 5, 247–258.
- Tulloch, A.P., Hoffman, L.L., 1971. Leaf wax of durum wheat. *Phytochemistry* 10, 871–876.
- Vali, S.R., Ju, Y.-H., Kaimal, T.N.B., Chern, Y.-T., 2005. A process for the preparation of food-grade rice bran wax and the determination of its composition. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 82, 57–64.
- Van Dam, J.E., de Klerk-Engels, B., Struik, P.C., Rabbinge, R., 2005. Securing renewable resource supplies for changing market demands in a bio-based economy. *Industrial crops and products* 21, 129–144.
- Vannière, H., Didier, C., Rey, J.-Y., Diallo, T.M., Kéita, S., Sangaré, M., 2004. La mangue en Afrique de l'Ouest francophone: les systèmes de production et les itinéraires techniques. *Fruits* 59, 383–398.
- Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., Bates, D., 2008. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry—A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 9, 161–169.
- Villena, J.F., Domínguez, E., Heredia, A., 2000. Monitoring biopolymers present in plant cuticles by FT-IR spectroscopy. *Journal of Plant Physiology* 156, 419–422.
- Vinatoru, M., 2001. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics sonochemistry* 8, 303–313.
- Walton, T.J., 1990. Waxes, cutin and suberin. *Methods in plant biochemistry* 4, 5–158.
- Ward, G.W., 2008. *The grove encyclopedia of materials and techniques in art*. Grove Encyclopedia Of.
- Warth, A.H., 1956. *The chemistry and technology of waxes*, SECOND. ed. Reinhold Publishing Corporation.
- Whitley, D., 1994. A genetic algorithm tutorial. *Statistics and computing* 4, 65–85.
- Wilkinson, R.E., Cummins, D.G., 1981. Epicuticular Fatty Acid, Fatty Alcohol, and Alkane Contents of Bloom and Bloomless Sorghum 'Redbine 60' Leaves 1. *Crop science* 21, 397–400.

- Yadav, J., Datta, M., Gour, V.S., 2014. Developing hydrophobic paper as a packaging material using epicuticular wax: a sustainable approach. *BioResources* 9, 5066–5072.
- Yadav, V., 2014. Socio-economic impact of a private sugar factory: Case study of Natural Sugar and Allied Industries Limited, Sai Nagar, Ranjani, Tal. Kalamb, Dist. Osmanabad (PhD Thesis). Tilak Maharashtra Vidyapeeth.
- Yao, L., Lio, J., Wang, T., Jarboe, D.H., 2013. Synthesis and characterization of acetylated and stearylized soy wax. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 90, 1063–1071.
- Yao, L., Wang, T., 2012. Textural and physical properties of biorenewable “waxes” containing partial acylglycerides. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 89, 155–166.
- Yermanos, D., Dhillon, G., Holmes, R., 1977. Jojoba wax extraction and bleaching. *California Agriculture* 31, 16–16.
- Zhou, W., Apkarian, R., Wang, Z.L., Joy, D., 2006. Fundamentals of scanning electron microscopy (SEM), in: *Scanning Microscopy for Nanotechnology*. Springer, pp. 1–40.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Les douze principes de la chimie verte (Anastas and Eghbali, 2010)

1) Prévention

Mieux vaut éviter de produire des déchets que d'avoir ensuite à les traiter ou s'en débarrasser.

2) Économie d'atomes

Mise en œuvre de méthodes de synthèse qui incorporent dans le produit final tous les matériaux entrant dans le processus.

3) Conception de méthodes de synthèse moins dangereuses

Dans la mesure du possible, les méthodes de synthèse doivent utiliser et produire des substances peu ou pas toxiques pour l'homme et l'environnement.

4) Conception de produits chimiques plus sûrs

Mise au point de produits chimiques atteignant les propriétés recherchées tout en étant le moins toxiques possible.

5) Solvants et auxiliaires moins polluants

Renoncer à utiliser des auxiliaires de synthèse (solvants, agents de séparation, etc.) ou choisir des auxiliaires inoffensifs lorsqu'ils sont nécessaires.

6) Recherche du rendement énergétique

La dépense énergétique nécessaire aux réactions chimiques doit être examinée sous l'angle de son incidence sur l'environnement et l'économie, et être réduite au minimum. Dans la mesure du possible, les opérations de synthèse doivent s'effectuer dans les conditions de température et de pression ambiantes.

7) Utilisation de ressources renouvelables

Utiliser une ressource naturelle ou une matière première renouvelable plutôt que des produits fossiles, dans la mesure où la technique et l'économie le permettent.

8) Réduction du nombre de dérivés

Éviter, si possible, la multiplication inutile des dérivés en minimisant l'utilisation de radicaux bloquants (protecteurs/déprotecteurs ou de modification temporaire des processus physiques ou chimiques) car ils demandent un surplus d'agents réactifs et peuvent produire des déchets.

9) Catalyse

L'utilisation d'agents catalytiques (aussi sélectifs que possible) est préférable à celle de procédés stœchiométriques.

10) Conception de produits en vue de leur dégradation

Les produits chimiques doivent être conçus de telle sorte qu'en fin d'utilisation ils se décomposent en déchets inoffensifs biodégradables.

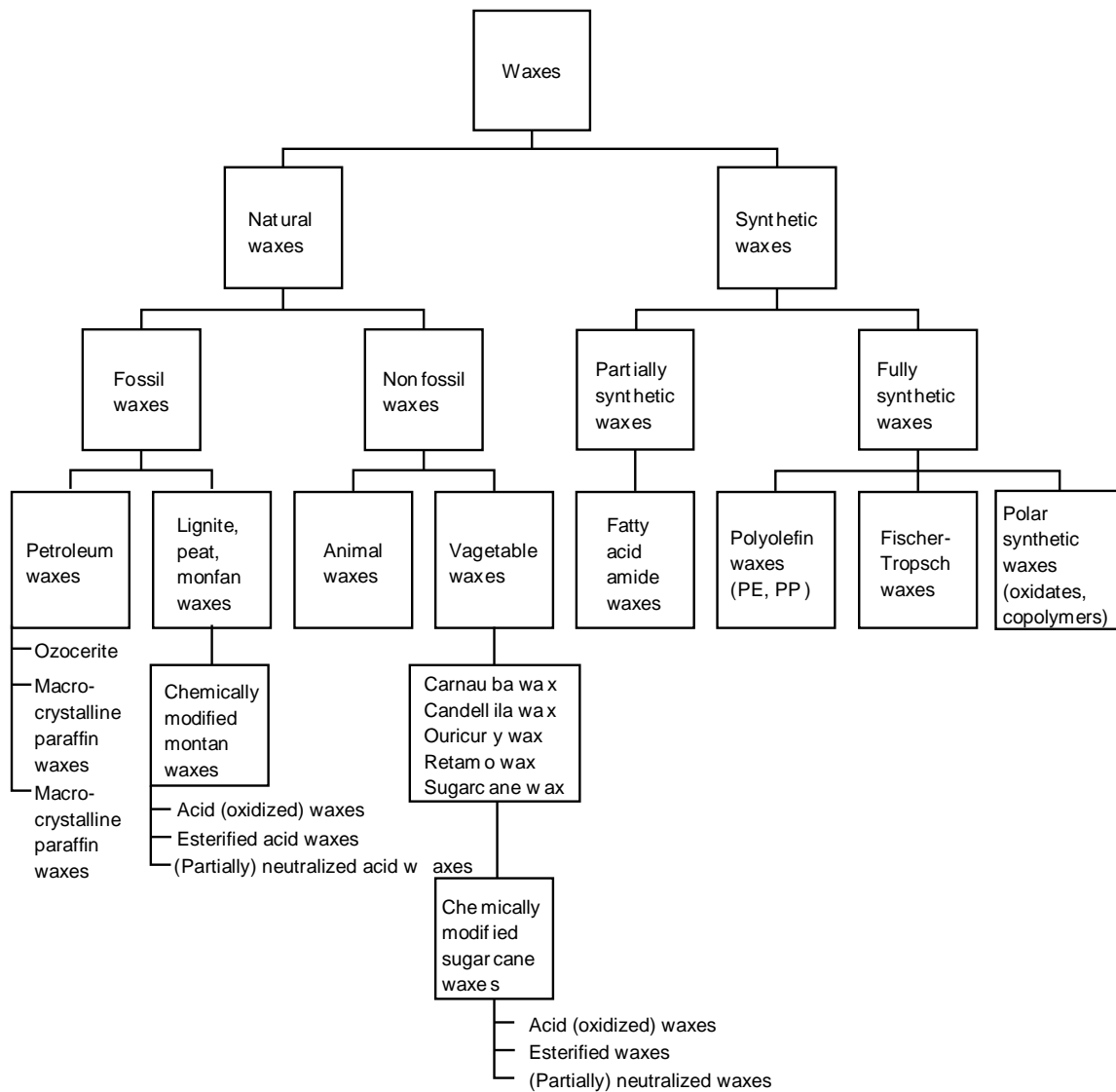
11) Observation en temps réel en vue de prévenir la pollution

Les méthodes d'observation doivent être perfectionnées afin de permettre la surveillance et le contrôle en temps réel des opérations en cours et leur suivi avant toute formation de substances dangereuses.

12) Une chimie fondamentalement plus fiable

Les substances et leur état physique entrant dans un processus chimique doivent être choisis de façon à prévenir les accidents tels qu'émanations dangereuses, explosions et incendies.

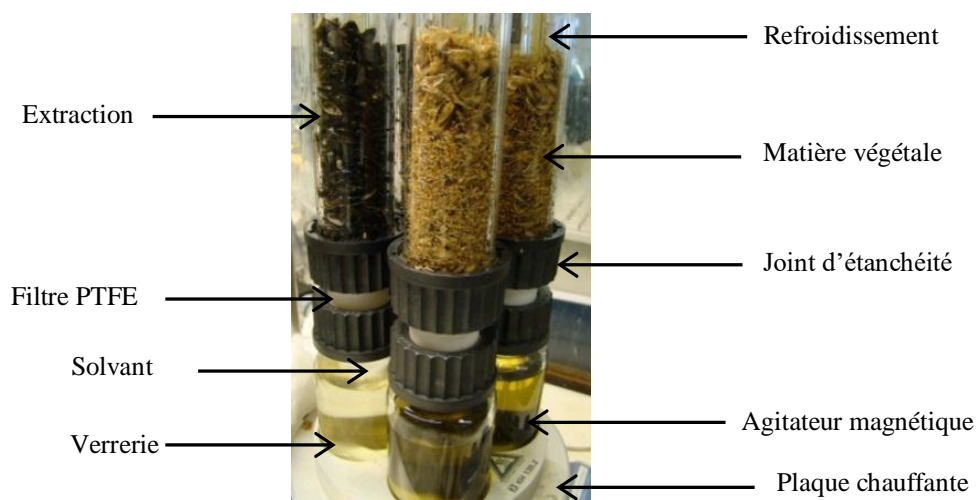
ANNEXE 2 : Classification des cires (Krendlinger et al., 2015)



ANNEXE 3 : Composition chimique des principales cires animales (Bastien, 2011)

Origine de la cire		Composés majoritaires				Composés minoritaires	Point de fusion	Références
		<i>n</i> -alcane	esters lourds	<i>n</i> -acides	<i>n</i> -alcools			
Cires provenant des insectes	Cire d'abeille	- 23 à 25% de la cire - C ₂₅ à C ₃₅ , avec C ₂₇ majoritaire et une forte prédominance impaire - C _{31:1} et C _{33:1}	- 49 à 53% de la cire - Esters de l'acide palmitique de C ₄₀ à C ₅₂ , avec C ₄₆ majoritaire	- 2 à 6% de la cire - C ₂₂ à C ₃₄ , avec C ₂₄ majoritaire et une prédominance paire	C ₂₄ à C ₃₄ , et une prédominance paire	- Hydroxyesters - Diesters - Hydroxydiesters	62-64°C	(Regert <i>et al.</i> , 2001) (Mills and White, 1994c) (Colombini and Modugno, 2009)
	Sauterelles	- C ₂₁ à C ₃₃ avec C ₂₉ et C ₂₇ majoritaires et une forte prédominance impaire - Alcanes ramifiés : méthyl-alcane avec ramification interne (C ₂₈ à C ₃₈ avec une prédominance paire, C ₃₂ , et C ₃₄ étant majoritaires) 3-méthylalcanes: C ₂₈ , C ₃₀ et C ₃₂ Diméthylalcanes: C ₃₅ majoritaire	- Mélange complexe et non caractérisé	- C ₁₂ à C ₂₂ - C _{18:3} , C _{18:2} et C _{18:1} majoritaires	- C ₂₂ à C ₃₂ , avec C ₂₄ et C ₂₆ majoritaires	- Cholestérol & stigmastérol - TAG avec acides gras en C ₁₂ , C ₂₀ , C ₂₂ et C ₂₄		(Soliday <i>et al.</i> , 1974)
	Cire de shellac	Faible quantité	- C ₄₂ à C ₆₈ avec une distribution bimodale centrée sur C ₄₄ et C ₆₄		- Termes en C ₂₈ , C ₃₀ , C ₃₂ et C ₃₄			(Mills and White, 1994c)
	Chinese insect wax <i>Ceroplastes ceriferus</i> <i>Ericerus pela</i>		- 83% de la cire - C ₄₈ à C ₆₀ avec C ₅₂ majoritaire					(Mills and White, 1994c)
Cire animale	Spermaceti		- Esters pairs de C ₂₆ à C ₃₆ , avec une partie acide paire de C ₁₀ à C ₁₈ , avec C ₁₂ majoritaire		- C ₁₈ , C ₁₄ et C ₁₆ majoritaires - C ₁₆ , C ₁₅ et 17 sont également présents		44°C	(Mills and White, 1994c) (Colombini and Modugno, 2009)

ANNEXE 4 : Extracteur de FexIKA® Vario Control Series (Sin, 2011)



ANNEXE 5 : Extracteur Accéléré par Solvant (ASE)



ANNEXE 6 : Exemple d'extracteur par micro-onde Assisté (www.sairem.fr)

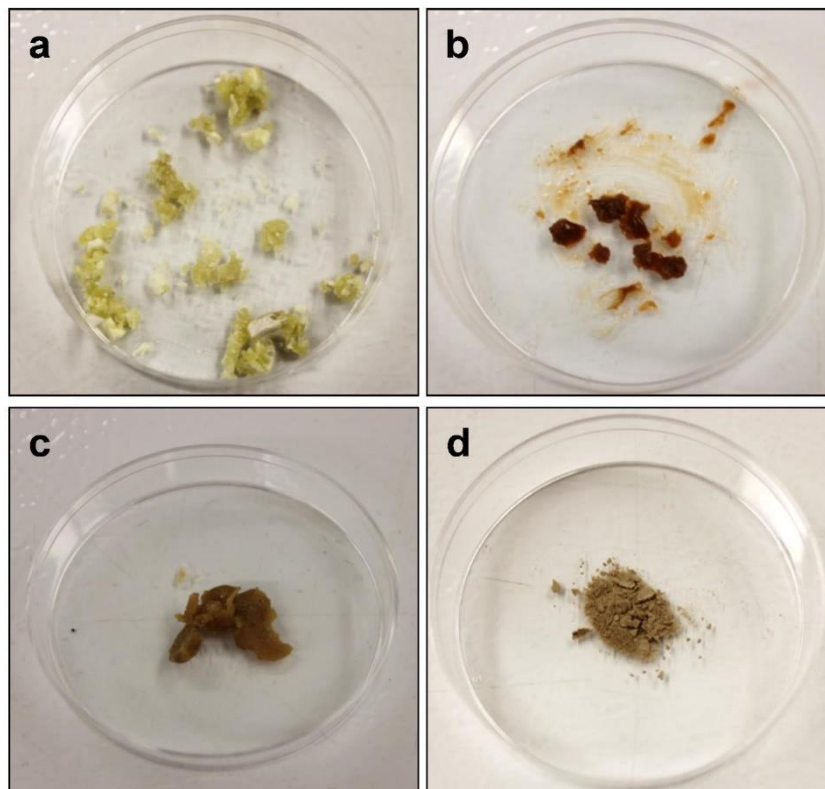


ANNEXE 7 : Microscopie Électronique à Balayage de type FEG Supra 40 VP Zeiss



ANNEXE 8 : Cires extraites au n-hexane: sorgho (a), blé (b), riz (c).

Cire de sorgho extraite à l'azote liquide (d). Pham et *al.* (2018).



ANNEXE 9 : Résultats de la chromatographie GC-FID du profil en hydrocarbures de la cire de feuilles de Rônier

n-alcane	Temps de rétention (min)	Aire du pic (mV,s)
n-C16	7,966	159,606
n-C18	9,531	72,106
n-C19	10,555	57,393
n-C20	11,756	129,553
n-C22	14,68	111,554
n-C23	16,357	68,559
n-C24	18,135	57,172
n-C25	19,985	62,625
n-C26	21,878	59,464
n-C28	25,758	16,232
n-C29	27,824	228,027
n-C30	30,01	128,894
n-C31	32,368	71,551
n-C33	37,991	174,195
Total n-alcane	-	1396,93
Total iso-alcane et cycloalcane	-	7483,35

**ANNEXE 10 : Résultats de la chromatographie GC-FID du profil en hydrocarbures
de la cire de peaux de Mangue**

n-alcane	Temps de rétention (min.)	Aire du pic (mV,s)
n-C16	7,991	86,515
n-C18	9,508	38,641
n-C19	10,477	48,781
n-C20	11,756	256,908
n-C22	14,688	100,605
n-C23	16,358	95,811
n-C24	18,139	29,929
n-C25	19,994	144,583
n-C26	21,878	31,317
n-C27	23,82	586,448
n-C28	25,787	62,841
n-C29	27,872	448,798
n-C31	32,38	246,627
n-C33	38,105	204,979
Total n-alcane	-	2382,78
Total iso-alcane et cyclo-alcane	-	négligeable

RESUME

La présente étude qui s'inscrit dans l'étude des cires naturelles, a été menée dans le but d'extraire et de caractériser des cires végétales de deux plantes de la biomasse ivoirienne. Il s'agit des cires issues de feuilles de Rônier (*Borassus aethiopum* Mart.), et des peaux de Mangue (*Mangifera indica* Lin.), qui constituent des déchets agricoles peu valorisés en Côte d'Ivoire. Parmi les méthodes d'extraction évaluées, la méthode au Soxhlet a été la plus efficace. Les rendements d'extraction des cires en utilisant le n-hexane comme solvant sont respectivement de 1,4% et 2,5% pour les cires de feuilles de Rônier et de peaux de Mangue. La mise en place d'un plan d'expériences a permis d'optimiser les rendements d'extraction obtenus les faisant passer de 1,4 à 3 % pour la cire de feuilles de Rônier et de 2,5 à 4 % pour la cire de peaux de Mangue. Les conditions optimales ont également été définies. Les paramètres physico-chimiques des cires (point de fusion, indice de réfraction, indice d'acide, indice de saponification et indice d'iode) ont été déterminés. Les valeurs sont proches de celles des cires commerciales de Carnauba et de Candellila. Par ailleurs, l'analyse de la composition des cires obtenues à partir de méthodes chromatographiques, de la spectroscopie infra-rouge, de la spectrophotométrie Ultra-violette et de Microscopie Électronique à Balayage a révélé la présence d'alcane, d'alcool, d'acides gras, d'aldéhydes et de caroténoïdes. Enfin, l'étude des mélanges cire-beurre a montré que les points de fusion de ces mélanges dépendent du pourcentage de cire ajoutée.

Mots-clés : *Borassus aethiopum*, *Mangifera indica*, cire végétale, extraction, caractérisation.

ABSTRACT

The present study, which is a contribution to the study of natural waxes, was conducted with the aim of extracting and characterizing vegetable waxes from two plants of the ivorian biomass. These are waxes derived from Palmyra leaves (*Borassus aethiopum* Mart.) and mango skins (*Mangifera indica* Lin.), which are under-valued agricultural waste in Côte d'Ivoire. Among the extraction methods evaluated, the Soxhlet method was the most effective. The extraction yields of the waxes using n-hexane as solvent are respectively 1.4% and 2.5% for the waxes from Palmyra leaves and mango skins. The implementation of Experimental design plans allowed to increase these yields respectively to 3% and 4%. The physico-chemical parameters of the waxes (melting point, refractive index, acid value, saponification value and iodine value) were then determined. The values obtained are close to those of Carnauba and Candellila commercial waxes. Furthermore, analysis of the waxes compositions using chromatographic methods, infrared spectroscopy, ultraviolet spectrophotometry and scanning electron microscopy revealed the presence of alkanes, alcohols, fatty acids, aldehydes and carotenoids. Finally, the study of wax-butter mixtures has shown that the melting points of these mixtures depend on the percentage of wax added.

Mots-clés : *Borassus aethiopum*, *Mangifera indica*, plant wax, extraction, characterization.