

APPLICATION DE LA CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE A L'ANALYSE DES GOMMES ET DES BOIS TROPICAUX

par Jacqueline DOAT

Ingénieur-chimiste,
Division de Cellulose et de Chimie
du Centre Technique Forestier Tropical

SUMMARY

The technique of thin film chromatography has been developed for the qualitative and quantitative analysis of the glucide constituents of woods and gums. In particular, analyses have been made of an Acacia gum arabic, a Nirmal gum, Limba wood, Doussié wood, and an inclusion of Balanites aegyptiaca.

The study showed that it was possible to separate and titrate the different oses and that the results recorded were valid and coherent on condition that the hydrolysis of the initial substance was properly performed. The technique of thin film chromatography is therefore of value, for it complements the results obtained by conventional chemical analyses.

RESUMEN

La técnica de la cromatografía en capa fina ha sido puesta a punto para el análisis cualitativo y cuantitativo de los componentes glucídicos de las gomas y de las maderas. En particular, se ha procedido al análisis de una goma arábiga de Acacia, una goma nirmal, de la madera de Limba, de la madera de Dussié, así como una inclusión de Balanites aegyptiaca.

El estudio llevado a cabo ha permitido demostrar que la separación y la dosificación de las distintas osas eran posibles y que los resultados registrados son valerosos y coherentes, con la condición de que la hidrólisis del producto inicial sea perfectamente dirigida. La técnica C. C. M. es, pues, interesante ya que la misma permite completar los resultados obtenidos mediante análisis químicos de carácter convencional.

INTRODUCTION

La chromatographie est un procédé d'analyse par percolation d'un fluide à travers une substance rigide et poreuse. L'analyse chromatographique permet la séparation et l'identification rapide des différents constituants d'une substance complexe. Un dosage quantitatif peut être aussi réalisé.

La découverte des techniques chromatographiques date du début de ce siècle, elle est due à un botaniste russe, TSWETT, qui en 1906 utilisa une

colonne de carbonate de calcium pour filtrer puis séparer en zones d'adsorption distinctes des pigments végétaux. Cette méthode d'analyse resta cependant ignorée du monde scientifique pendant vingt-cinq ans et ce n'est qu'en 1931 que KUTHN et LEDERER se servirent de la chromatographie d'adsorption pour séparer des colorants naturels et, en particulier, les α et β carotènes. Dix ans plus tard, MARTIN et SYNGE, étudiant les acides aminés,

Cette étude a été réalisée avec la collaboration de Marie-Arlette ENEL, Technicienne à la Division de cellulose et chimie.

mirent au point la chromatographie de partage applicable aux composés hydrophiles. Ils utilisaient dans ce cas des colonnes de gels de silice chargées d'une quantité déterminée d'eau et développaient le chromatogramme au moyen de solvants organiques. Une autre étape fut franchie par CONSDEN et GORDON qui remplacèrent le gel de silice par des feuilles de papier placées dans une enceinte saturée de vapeur d'eau. La chromatographie sur papier connut alors un essor considérable. Au cours des années 1940, différents chercheurs mirent au point des méthodes utilisant des plaques de verre sur lesquelles étaient étendues des couches d'alumine, de silice, de cellulose, etc... Mais ce fut surtout STAHL qui, en 1958, a donné son élan à la chromatographie sur couches minces. De leur côté, les fabricants de produits chimiques et de matériel proposèrent alors des plaques prêtes à l'emploi avec sous-couche de verre, puis d'aluminium ou de matière plastique, qui facilitèrent énormément le travail de l'analyste et augmentèrent

le champ d'utilisation de cette technique. Enfin, vers la même époque, la chromatographie en phase gazeuse fut expérimentée par MARTIN et JAMES pour l'analyse de composés gazeux, gazeux volatils, en appliquant les principes déjà cités de chromatographie d'adsorption et de partage. Cette méthode d'analyse prit bientôt, en s'améliorant, une place importante dans certains laboratoires de recherche ou de contrôle.

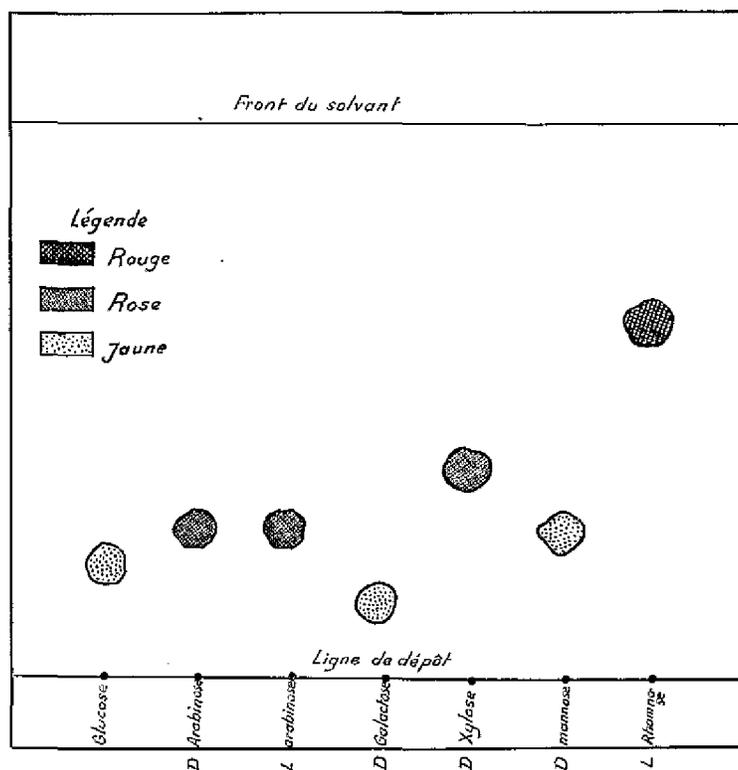
Parmi les techniques citées ci-dessus, on a retenu la chromatographie sur couches minces pour l'analyse de certains produits tropicaux. Ce procédé est en effet relativement simple car il ne nécessite pas de matériel important ou coûteux, quelques cuves transparentes, seringues et vaporisateurs étant suffisants.

Cet article fait état de la mise au point de cette technique et de son application particulière à l'analyse des glucides constituant les gommés et les bois.

MISE AU POINT DE LA MÉTHODE CHROMATOGRAPHIQUE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE SUR DIFFÉRENTS SUCRES

Avant d'effectuer l'analyse de produits complexes, une mise au point de la méthode a été réalisée sur les différents sucres simples suscep-

tibles d'être rencontrés dans des matières premières telles que les gommés et les bois. Les sucres retenus étaient le galactose, le rhamnose, l'arabinose, le xylose, le glucose et le mannose ; les premiers de la série représentant les constituants des gommés et les derniers entrant dans la composition des bois.



CHROMATOGRAPHIE PRÉLIMINAIRE DES SUCRES SIMPLES

Pour chaque sucre simple les solutions ont été constituées de la façon suivante : 250 mg ont été dissous dans 10 ml d'eau et amenés à 25 ml avec de l'alcool méthylique qualité spectro. On a utilisé des plaques de gel de silice de 0,25 mm d'épaisseur sur feuille d'aluminium, tamponnées au phosphate monosodique 0,6 M et séchées à l'air. Au bas de la plaque, on a déposé à intervalles réguliers 10 microlitres de chaque solution correspondant à un poids de 100 γ de sucre. La plaque a été ensuite introduite dans une cuve étanche

Graphique 1. — Plaques CCM de 6 sucres simples (système butanol-méthanol-eau).

Graphique 2. — Plaque CCM de 6 sucres simples (système acétate d'éthyle isopropanol-eau).

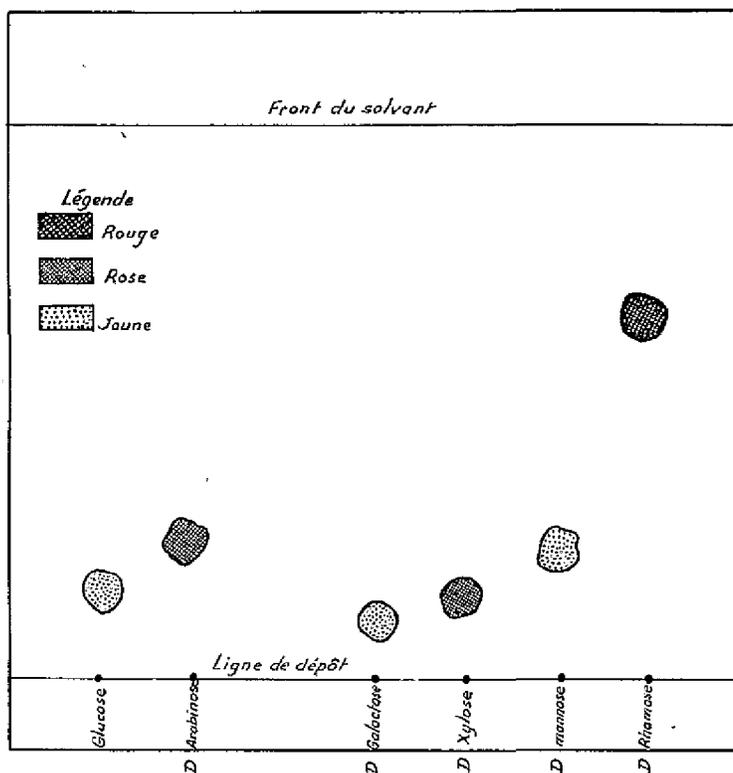
dont l'atmosphère était saturée par un mélange de solvants appropriés. Le développement du chromatogramme a été effectué de façon ascendante. Deux systèmes de solvants ont été essayés :

— butanol-méthanol-eau dans les proportions de 5-3-1,

— acétate d'éthyle : 65 % et mélange isopropanol-eau dans la proportion de 2 à 1 : 35 %.

Les durées de migration variaient de 6 h à 24 h. La révélation des chromatogrammes a été faite en pulvérisant sur la plaque du phtalate acide d'aniline, dissous dans un mélange de butanol et d'éther, et en séchant quelques minutes à 105 °C. On se reportera aux graphiques 1 et 2 pour avoir les schémas des plaques CCM avec migration de 6 h. Après révélation, chaque sucre est représenté par un spot coloré dont la teinte et l'intensité dépendent de la quantité et de la nature des sucres déposés. Notons que les sucres en C6 sont représentés par des taches plutôt jaunes alors que la teinte des spots des sucres en C5 irait du rouge au rosé. Le tableau suivant donne les résultats obtenus dans les deux systèmes pour 6h de rétention et 15 cm de migration du point de vue coloration et Rf (Rf = rapport entre la distance d parcourue par la substance et la distance D parcourue par le solvant).

A la suite de ces essais on peut dire que les deux systèmes donnent de bons résultats. On voit que dans les deux systèmes, la séparation du rhamnose



sera aisée. Son Rf de 0,65, indique que sa migration est plus rapide que celle des autres sucres. D'autre part, la séparation du xylose par rapport au glucose, mannose, arabinose semble plus simple dans le système (1) que dans le système (2) (Rf : 0,37 contre 0,20). Par contre, si l'on est en présence d'un mélange de glucose et d'arabinose, le système (2) paraît un peu plus sélectif.

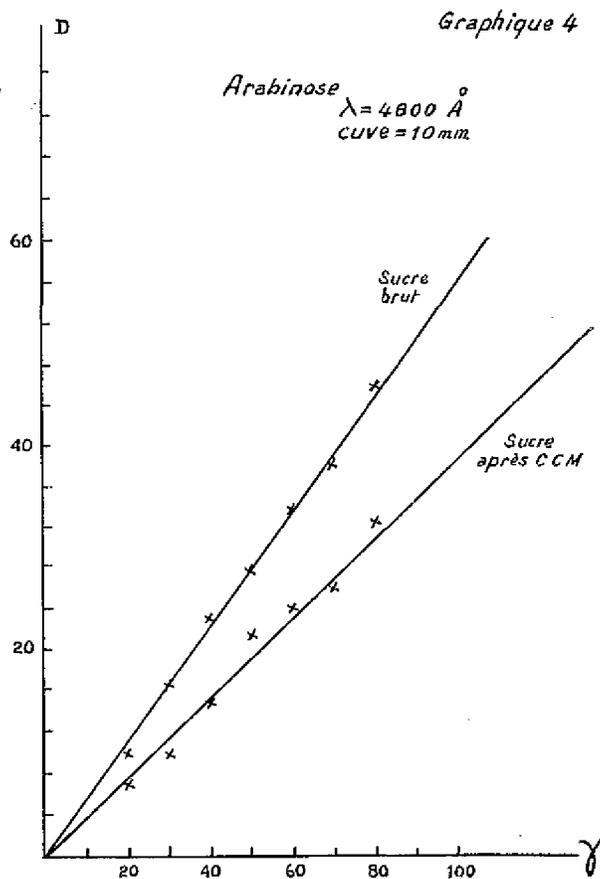
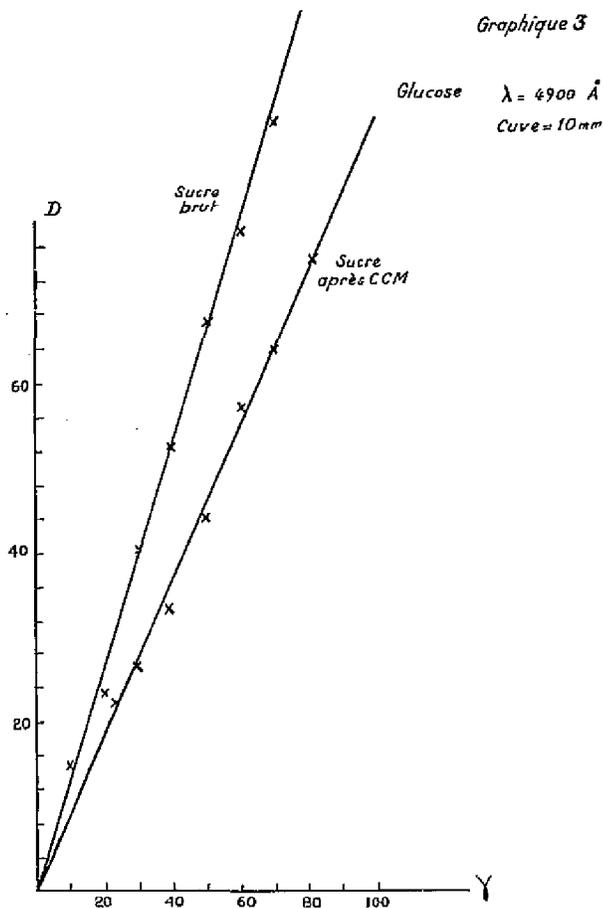
De toute façon, lorsqu'on a à étudier un mélange de sucres, on a remarqué qu'on avait intérêt à effectuer des durées de migration supérieures à 6 h et pouvant aller jusqu'à 24 h, ce qui permet une meilleure séparation de sucres ayant des Rf voisins.

Sucre étudié	Formule chimique	Système (1) butanol-méthanol-eau		Système (2) acétate d'éthyle isopropanol-eau	
		Rf	couleur du spot	Rf	couleur du spot
Glucose	$C_6H_{12}O_6$	0,2	brun-rouge	0,15	brun-jaune
Arabinose	$C_5H_{10}O_5$	0,25	rouge-rose	0,3	rouge-rose
Galactose	$C_6H_{12}O_6$	0,15	brun-jaune	0,1	brun-jaune
Xylose	$C_5H_{10}O_5$	0,37	rouge-rose	0,20	rouge-rose
Mannose	$C_6H_{12}O_6$	0,25	brun-jaune	0,25	brun-jaune
Rhamnose	$C_6H_{12}O_5 \cdot CH_3$	0,65	brun-rouge	0,65	brun-rouge

DOSAGE QUANTITATIF DES SUCRES — COURBES D'ÉTALONNAGE

Le dosage des sucres peut être effectué par différentes méthodes basées soit sur le pouvoir réducteur des oses (méthode BERTRAND au SO_4Cu ,

méthode AUESBACH par iodométrie), soit sur les réactions colorées que donnent les sucres en présence de certains réactifs.

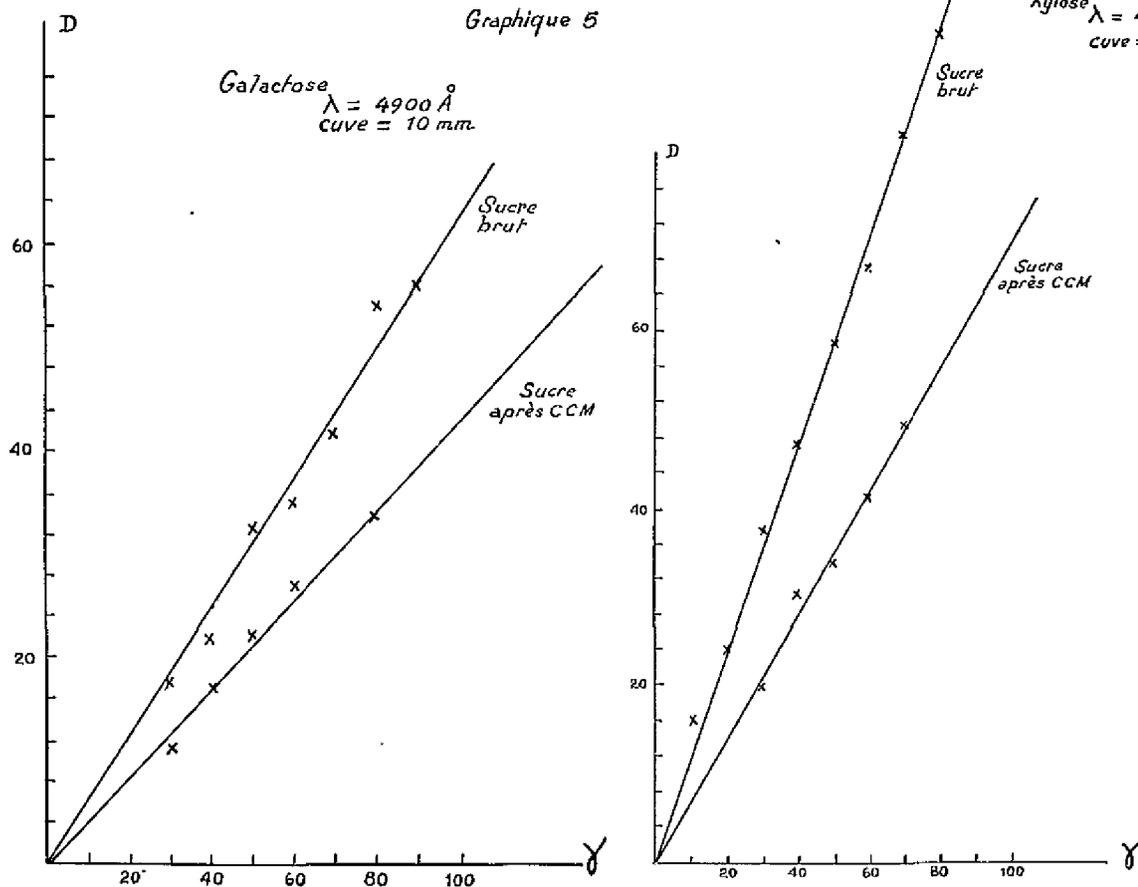


Dans le cas des sucres isolés par CCM, les premières de ces techniques ne sont pas applicables du fait de la trop petite quantité de matière première mise en œuvre. Par contre, les méthodes colorimétriques peuvent convenir. Parmi ces dernières, on a choisi pour le dosage des sucres la technique au phénol et à l'acide sulfurique qui est donnée par différents manuels comme rapide, sensible et bien reproductible. Elle consiste à introduire dans un tube à essais 2 ml de solution de sucre contenant 10 à 70 γ et 0,05 ml de phénol à 80 % puis à ajouter rapidement 5 ml de SO_4H_2 concentré à la surface du liquide. On laisse au repos pendant 10 mn puis on agite ; on porte alors dans un bain-marie à 25-30 °C pendant 15 mn. La coloration qui se développe est jaune orangé. On lit à l'aide d'un spectrophotomètre l'intensité de cette coloration, à 4.900 Å pour les hexoses et 4.800 Å pour les pentoses, en utilisant des cuves de 10 mm. Un essai à blanc est effectué en parallèle, en remplaçant la solution sucrée par de l'eau distillée. Cette technique a été appliquée à des solutions de sucres simples (xylose, glucose, arabinose, rhamnose, mannose, galactose) avant et après passage sur CCM. La récupération des sucres chromato-

graphiés a été faite en repérant à l'aide d'une plaque témoin révélée à part, la place des spots élués sur plaque non révélée. A l'emplacement de chaque spot, on a gratté et récupéré la silice sur laquelle le sucre est adsorbé, à l'aide d'un peu d'eau distillée. La liqueur résultante a été filtrée pour l'élimination de la silice et la solution limpide recueillie a été analysée comme précédemment. Pour les cinq sucres testés, on a effectué des courbes d'étalonnage donnant la densité optique en fonction de la quantité de sucre en solution. Ces courbes sont données sur les graphiques 3 à 8. On remarque que les droites trouvées sur les sucres bruts et sur les sucres chromatographiés n'ont pas la même pente. Cette différence est due vraisemblablement à la présence de phosphate dans le filtrat des sucres, ce phosphate provenant de la solution tampon dont est imprégnée la plaque de CCM, ou à quelques pertes à la récupération. Ce phénomène ne représente pas, toutefois, un inconvénient car les courbes des sucres CCM sont bien reproductibles. Il suffira, pour avoir un dosage correct, d'utiliser comme référence pour les essais ultérieurs, les courbes des sucres chromatographiés effectués avec les mêmes réactifs que ceux de l'analyse.

Graphique 6

Xylose $\lambda = 4800 \text{ \AA}$
cuve = 10 mm



ANALYSE D'UNE GOMME ARABIQUE

GÉNÉRALITÉS SUR LA GOMME

La gomme est connue depuis la plus haute antiquité ; il y a plus de 4.000 ans, les Egyptiens l'utilisaient déjà pour le collage des bandelettes des momies ou pour enduire des tableaux peints. Elle fut introduite en Europe occidentale par les croisés qui la ramenèrent du Proche-Orient. On trouve aussi de la gomme en Afrique tropicale sèche et jusqu'au XIX^e siècle la Mauritanie fut un important fournisseur de gomme pour l'Europe.

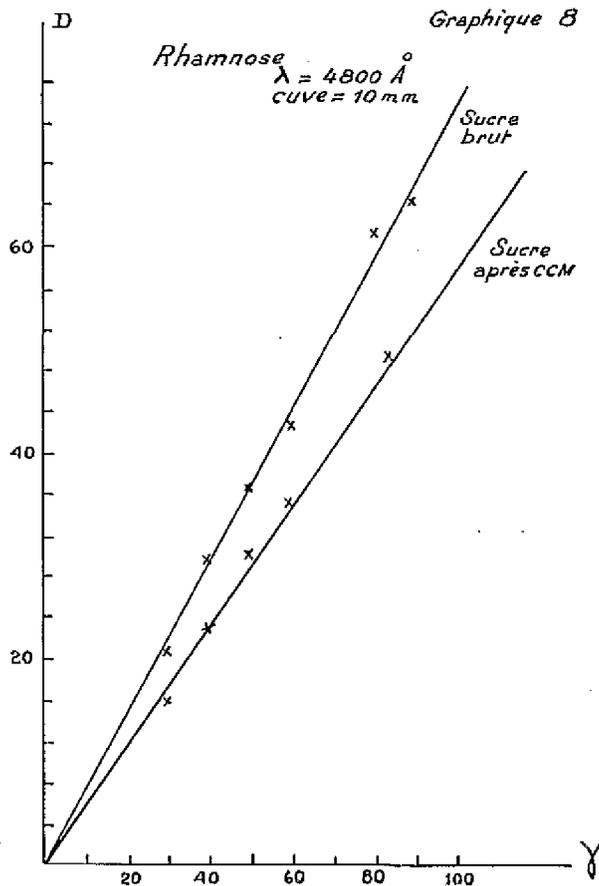
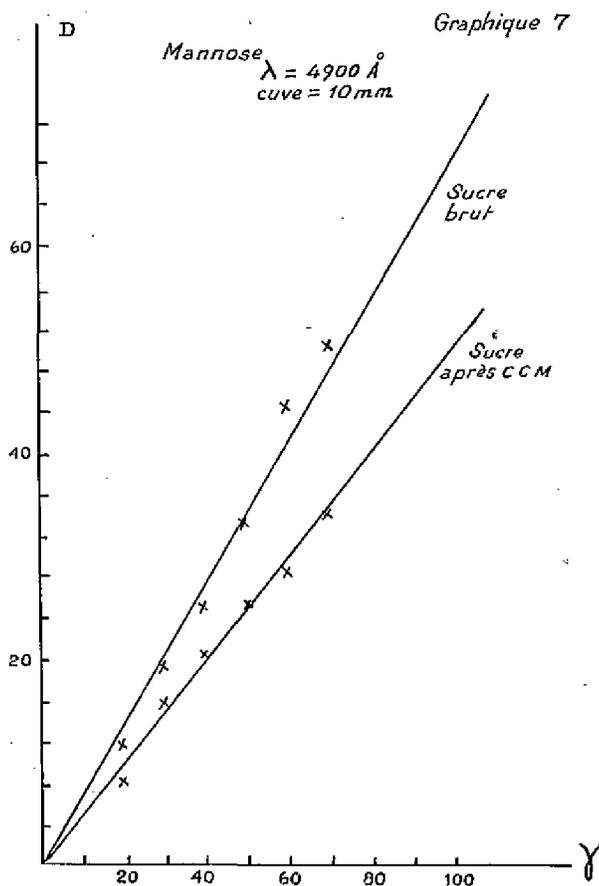
Au XX^e siècle, le premier producteur mondial est le Soudan qui fournit les 3/4 de la consommation mondiale suivi du groupe Mauritanie-Sénégal, de la Nigeria, du Mali, du Niger, etc...

La gomme est un exsudat végétal qui peut être produit par différents végétaux et en particulier les Acacias dont il existe au moins 600 espèces différentes.

La gomme arabique proprement dite est fournie par l'Acacia Verek ou Acacia Sénégal.

La gomme arabique a de multiples usages :

- dans l'alimentation (bonbons, ice-creams, chewing-gum, sodas, succédanés de jus de fruits, composés solubles en poudre pour la préparation de boissons instantanées, etc...)
- dans la pharmacie (fabrication de sirops pectoraux, de « boules de gomme », supports de produits chimiques de synthèse, pastilles, pilules, etc...)
- dans l'industrie des parfums, des cosmétiques (crèmes, fards, etc...)
- dans l'industrie des adhésifs, des peintures, des encres



Du point de vue constitution chimique, la gomme arabique est un polysaccharide complexe dont le poids moléculaire varie de 300.000 à

1 million, constitué par des chaînes de galactose, de rhamnose, d'arabinose et d'acides uroniques.

3

ANALYSE D'UNE GOMME ARABIQUE

Des essais de sylviculture des Acacias gommiers étant prévus en Afrique occidentale, en zone sèche, la division de Cellulose et Chimie a décidé dans un premier stade d'effectuer la mise au point d'une technique d'analyse de la gomme pour pouvoir, le cas échéant, suivre certains essais ou être en mesure de répondre à des demandes éventuelles concernant cette matière première.

La gomme retenue pour cette mise au point a été fournie par une Société chimique sous l'appellation de « gomme arabique en poudre fine ». La siccité de la gomme était au moment de l'étude de 85 %.

Etude de l'hydrolyse

Une première étape de l'analyse consiste à hydrolyser la gomme pour transformer en sucres simples les polysaccharides. Cette hydrolyse doit être suffisamment efficace pour être tout à fait

complète mais assez modérée pour ne pas dégrader les sucres formés.

On a essayé tout d'abord des acides minéraux : SO_4H_2 et NO_3H . Pour SO_4H_2 , on a utilisé les conditions retenues habituellement par l'isolation des sucres du bois c'est-à-dire 5 h d'ébullition dans SO_4H_2 à 5 %. Avec ce traitement, on n'a pas réussi à solubiliser et à hydrolyser de façon satisfaisante la gomme. Un précipité grisâtre s'est formé, gênant toute tentative de passage en CCM. Quant à NO_3H , un traitement à 3 % pendant 1/2 heure à reflux n'a pas donné non plus satisfaction. A la suite de ces déboires nous n'avons pas poussé plus loin l'étude de l'hydrolyse aux acides minéraux et nous nous sommes tournés vers l'acide formique. Cet acide qui présente l'avantage d'être volatil, peut en effet être facilement éliminé par évaporations successives. Plusieurs concentrations ont été essayées : 85 % (chiffre indiqué pour les textiles cellulosiques) puis 40 %, 35 %, 30 %,

% de H. COOH	Durée ébullition	Aspect de la solution sucrée	Résultats CCM	Conclusions
85 %	1/2 h	limpide — teinte jaune	nombreux spots secondaires — traînées	dégradation des sucres
40 %	1 h	trouble — incolore	spots faibles	hydrolyse incomplète
	2 h	légèrement trouble — incolore	spots pas nets — quelques spots secondaires	hydrolyse incomplète
	3 h	légèrement trouble — incoloret	spots secondaires — traînées	hydrolyse complète mais dégradation
	4 h	presque limpide — jaune	— idem —	— idem —
35 %	5 h	limpide — jaune	spots secondaires importants	hydrolyse complète mais dégradation
30 %	5 h	limpide — légèrement jaune	spots nets mais quelques spots secondaires	hydrolyse complète légère dégradation
25 %	5 h	limpide — claire	spots nets	hydrolyse complète pas de dégradation
20 %	5 h	légèrement trouble — incolore	spots un peu faibles	hydrolyse incomplète

25 % et 20 % de HCOOH ainsi que plusieurs durées de traitement allant de 1/2 h à 5 h. Après chaque traitement, l'acide a été éliminé par distillation sous vide à température inférieure à 50 °C et les liqueurs neutres ont été chromatographiées sur CCM.

Les résultats obtenus sont indiqués ci-dessus.

Parallèlement à la chromatographie, on a vérifié par dosage iodométrique que les trois sucres simples constituant la gomme n'étaient que peu affectés par un traitement à l'acide formique à 25 % alors qu'une hydrolyse à HCOOH à 85 % se traduisait par une perte non négligeable en sucre. Les rendements à l'hydrolyse se situaient en effet autour de 97-99,5 % dans le premier cas et autour de 87,5 à 95 % dans le second.

On a donc retenu comme technique d'hydrolyse de la gomme arabique, le traitement avec HCOOH à 25 % à l'ébullition pendant 5 h (1 g de gomme dans 50 ml d'acide) suivi d'évaporations successives sous vide et de reprises à l'eau jusqu'à élimination des restes d'acides.

Chromatographie de la gomme et dosages quantitatifs des sucres.

Dans un premier stade, nous avons vérifié qualitativement la composition chimique de la gomme arabique en déposant en parallèle, sur une même plaque, une solution de rhamnose, une solution d'arabinose, une solution de galactose ainsi qu'une solution de gomme hydrolysée. On se reportera au graphique 9 pour avoir la reproduction du chromatogramme obtenu, qui montre bien que la gomme est constituée par ces trois sucres. On remarque enfin que pour la gomme, un dépôt qui n'a pas migré reste sur la ligne de départ. Ce dépôt doit vraisemblablement correspondre aux acides uroniques contenus dans la gomme.

On a ensuite procédé à l'analyse quantitative, de chaque sucre. Pour cela, trois plaques CCM ont été utilisées une pour chaque sucre. Sur cha-

cune de ces plaques on a déposé des quantités de sucre simple allant de 40 à 100 γ et en parallèle une quantité connue de gomme hydrolysée (200 à 400 γ selon le cas). Les plaques ont été introduites dans la cuve saturée de solvant et on a laissé la migration se poursuivre pendant une nuit. Pour chaque sucre simple témoin et pour la gomme, on a gratté les emplacements des différents spots (repérés, comme précédemment, à l'aide d'une révélation annexe) et préparé les solutions sucrées par élution avec un peu d'eau et filtration. Un dosage colorimétrique, dans les conditions citées précédemment, a été effectué et on a repéré sur les courbes étalons les différentes teneurs en sucre de la gomme. On a trouvé les valeurs suivantes sur la gomme brute.

Arabinose	17,4 % ;
Galactose	60 % ;
Rhamnose	10,9 %.

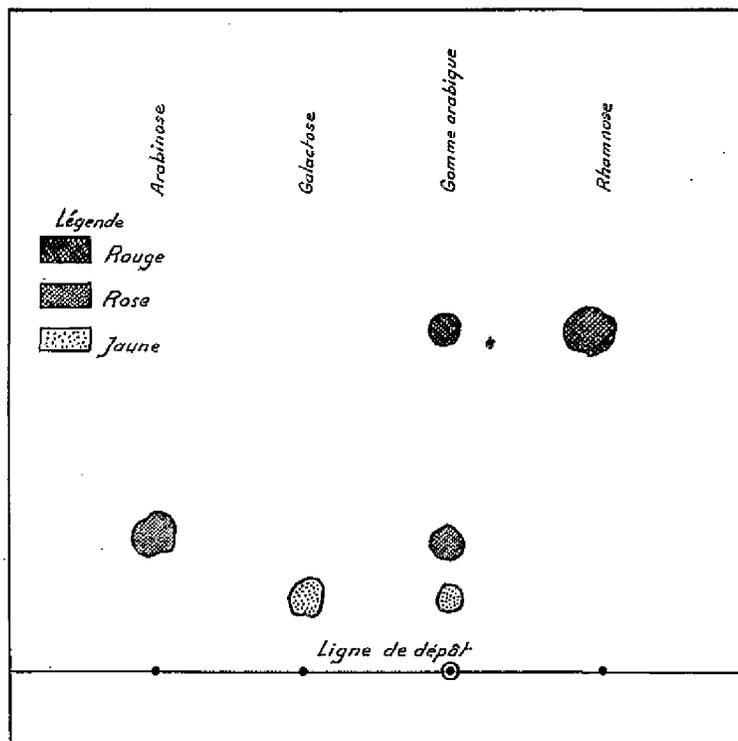
Autres tests quantitatifs effectués sur la gomme arabique.

Les résultats de l'analyse précédente couvrent un peu moins de 90 % de la composition de la gomme étudiée. Pour compléter ces chiffres on a déterminé le taux de cendres et les % des différents cations, la quantité d'azote, les sucres réducteurs libres, le pH de la solution de gomme à 5 % dans l'eau ainsi que l'acidité. Cette acidité a été mesurée à l'aide d'un potentiomètre, elle correspond vraisemblablement aux acides uroniques libres non salifiés. Le reste des acides uroniques peut être salifié par le calcium des cendres.

On a trouvé les chiffres suivants :

— Cendres : 3,3 % dont :	
SiO ₄	0,045 %,
Fe ₂ O ₂	0,003 %,
Fe ₂ O ₃ + Al ₂ O ₃ .	0,15 %,
CaO	0,92 % (soit 0,65 % en Ca ⁺⁺).

Graphique 9. — Plaque CCM de gomme arabique hydrolysée et de 3 sucres simples (système butanol-méthanol-eau).



- Taux d'azote : 0,35 %.
- Sucres réducteurs libres : 0,35 %.
- pH de la gomme (à 5 % dans H₂O) = 4,5 à 4,9.
- acides uroniques : les acides ont été estimés à partir du dosage de l'acidité et de la quantité de calcium. Le chiffre trouvé correspond à 0,9 % d'acides libres et 3,1 % d'acides salifiés (en sup-

posant que tout le calcium est employé pour cette salification). Soit un total maximum de 4 %. Il est évident que ce chiffre est donné sous toute réserve car aucun dosage systématique des acides uroniques (par perte de CO₂ par exemple) n'a été effectué.

Tests qualitatifs de caractérisation de la gomme.

La qualité d'une gomme arabique dépend aussi d'autres facteurs qui peuvent être estimés par quelques tests qualitatifs. Bien que ne rentrant pas dans le domaine de la chromatographie, ils ont tout de même été effectués sur une solution aqueuse de gomme à 10 % ; ils sont donnés ici pour mémoire :

- test à l'acétate de plomb : absence de précipité,
- test à l'iode : absence d'amidon,
- test au chlorure ferrique : précipité gélatineux,
- test au tanin : pas de précipité,
- test à l'alcool éthylique : précipité blanc important.

CONCLUSION

L'analyse qualitative et quantitative complète d'une gomme arabique est possible en faisant appel aux méthodes de chromatographie sur couches minces. Le bilan de l'analyse est donné dans le tableau ci-dessous.

On a calculé le bilan général de l'analyse en additionnant les chiffres de la colonne 4 et les

deux derniers chiffres de la colonne 3. Le bilan de l'analyse est de 97 % ce qui semble satisfaisant. La différence entre 97 % et 100 % correspond vraisemblablement aux acides uroniques que l'on avait estimés précédemment à 1 % minimum (acides libres) et 4 % au maximum (acides libres + acides salifiés).

Constituants simples	% de la gomme brute à S = 85 %	% de la gomme sèche	Polyosides %
Arabinose	17,4	20,4	17,9 d'arabanes
Galactose	60	70,5	63,1 de galactanes
Rhamnose	10,9	11,4	11,4 de rhamnanes
Cendres	3,3	3,9	—
Azote	0,35	0,4	—

ANALYSE DES BOIS

La constitution chimique d'une essence tropicale est habituellement déterminée selon des techniques classiques de dosage : extractions aux solvants, à l'eau et à la soude, isolation de la lignine par précipitation sulfurique, dosage des pentosanes après transformation en furfural, isolation de la cellulose par la méthode nitroalcoolique, dite de KRUSCHNER, dosage des mannanes, dans le cas des résineux, par hydrolyse à ClH dilué et précipitation à la phénylhydrazine, etc...

Avec ces méthodes, on détermine pour les composés glucidiques du bois (cellulose et pentosanes) un taux global de substance sans différencier nettement les sucres qui les composent. Il a donc semblé intéressant d'appliquer aux bois les méthodes de la chromatographie sur couche mince, pour voir si l'on pouvait obtenir tant au point de vue qualitatif que quantitatif des précisions supplémentaires sur la composition et la qualité des essences tropicales.

ÉTUDE DE L'HYDROLYSE

On a d'abord essayé, sur de la sciure de Limba extraite à l'alcool-benzène, un traitement à l'acide formique car cette technique, appliquée aux gommés, avait donné des bons résultats. On s'est aperçu que le HCOOH à faible concentration (25 à 35 %) n'avait que peu d'action sur la sciure de bois et qu'à forte concentration (90 à 100 %) on n'obtenait pas davantage de résultats satisfaisants. En effet, 1 g de bois, mis à digérer dans 25 ml d'acide formique à 100 % puis porté à l'ébullition pendant 1 h puis pendant 3 heures après dilution à 500 ml a donné un taux d'insoluble de 69 %. Si l'on sait que l'échantillon de Limba contient moins de 30 % de lignine, on voit que l'hydrolyse est loin d'être complète. On est donc revenu à la technique classique d'isolation des sucres sur les bois c'est-à-dire la méthode dite « de KLASON » permettant de séparer la lignine (acide sulfurique à 67 % à froid

puis ébullition à reflux pendant 5 heures après dilution dans SO_4H_2 à 5 %). En fin de traitement, les sucres ont été dosés dans les jus d'hydrolyse par la méthode de BERTRAND, on a trouvé 64 % de sucres ce qui concorde bien avec la valeur calculée 63,6 % d'après les taux de cellulose et de pentosanes trouvés à l'analyse du bois.

D'autre part, on a traité du glucose et du xylose par SO_4H_2 à 5 % et à l'ébullition dans les mêmes conditions que précédemment. On a dosé, selon la méthode colorimétrique les quantités de sucres avant et après hydrolyse. On a trouvé rigoureusement les mêmes valeurs et ceci pour les deux sucres. Cet essai a donc confirmé que l'hydrolyse selon la méthode de KLASON ne causait aucune dégradation. C'est donc ce type de traitement qui a été retenu pour les analyses de bois ultérieures.

ÉTUDE DE LA NEUTRALISATION

Le jus sucré obtenu par traitement sulfurique a un pH nettement acide. L'acide sulfurique n'étant pas volatil comme l'acide formique, une technique de neutralisation doit être appliquée. Cette neutralisation peut être théoriquement effectuée par addition d'une base, par passage sur résine échangeuse d'ions ou par addition d'un sel de Baryum (CO_3Ba) entraînant la formation de SO_4Ba qui peut être facilement éliminé par filtration.

Ces trois traitements ont été essayés, on a trouvé les résultats suivants :

Addition de soude : On a ajouté tout d'abord de la soude à 36 % jusqu'à pH 4 environ puis de la soude N jusqu'à pH 7. En présence d'acide sulfurique, une certaine quantité de sulfate de soude a été formée. Ceci a représenté un inconvénient car au moment de la concentration de la liqueur, on est rapidement arrivé au stade de la saturation avec formation d'un important insoluble prati-

quement impossible à séparer sans perdre une fraction non négligeable de jus sucré. Cette technique a donc été abandonnée.

Passage sur colonne de résine : La résine retenue correspondait à une résine échangeuse mixte V fournie par une Société chimique. Le passage de la solution s'est fait sans problème, le pH se situait alors autour de 5 ; on a seulement remarqué un changement de coloration des jus. On a dosé par la méthode colorimétrique la totalité des sucres avant et après colonne sur deux jus sucrés différents obtenus par hydrolyse de bois. On a enregistré les valeurs suivantes de sucres totaux exprimés en % du bois initial.

	Avant colonne	Après colonne	Pertes à la neutralisation
Jus a ...	51 %	43,5 %	14,7 %
Jus b ...	61,4 %	51,7 %	15,8 %

On remarque que pour les deux essais, on n'a récupéré que 85 % du produit initial ce qui n'est pas satisfaisant pour une analyse quantitative. Un rinçage ultérieur de la colonne n'ayant pas apporté d'amélioration, cette méthode n'a pas été retenue pour la neutralisation. Il conviendrait toutefois d'essayer d'autres types de résines avant de conclure définitivement à l'abandon de la technique.

Addition de CO₂Ba : Sur les mêmes jus que précédemment, on a ajouté par petites fractions et avec précautions une bouillie de CO₂Ba juste suffisante pour neutraliser l'acide sulfurique. L'im-

portant précipité formé a été isolé par filtration. On a dosé par la méthode colorimétrique les sucres avant et après neutralisation. Les chiffres suivants ont été trouvés :

	Avant neutralisation	Après CO ₂ Ba	Pertes à la neutralisation
Jus a	51 %	48,1 %	5,7 %
Jus b	61,4 %	57,8 %	5,8 %

Dans ce cas, les pertes ont été nettement moins importantes puisque le rendement se situe autour de 94-95 %. C'est donc cette technique qui a été choisie pour les essais de dosage des bois.

ANALYSE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE DE DEUX BOIS TROPICAUX

Les bois retenus pour ces essais étaient d'une part un Limba blanc portant le n° C. T. F. T. 19042 et un Doussié portant le n° C. T. F. T. 14235. Ces deux bois ont été analysés selon des techniques classiques. Ils ont été ensuite hydrolysés et on a déterminé par chromatographie sur couche mince la composition qualitative et quantitative des polysides du bois.

Dans les deux cas, on a remarqué la présence de glucose et de xylose mais on n'a pas décelé celle de l'arabinose. Les pentosanes de ces bois sont donc constitués uniquement de xylanes. Notons aussi

que, comme pour beaucoup de feuillus, on n'a pas trouvé trace de mannanes (voir graphique 10).

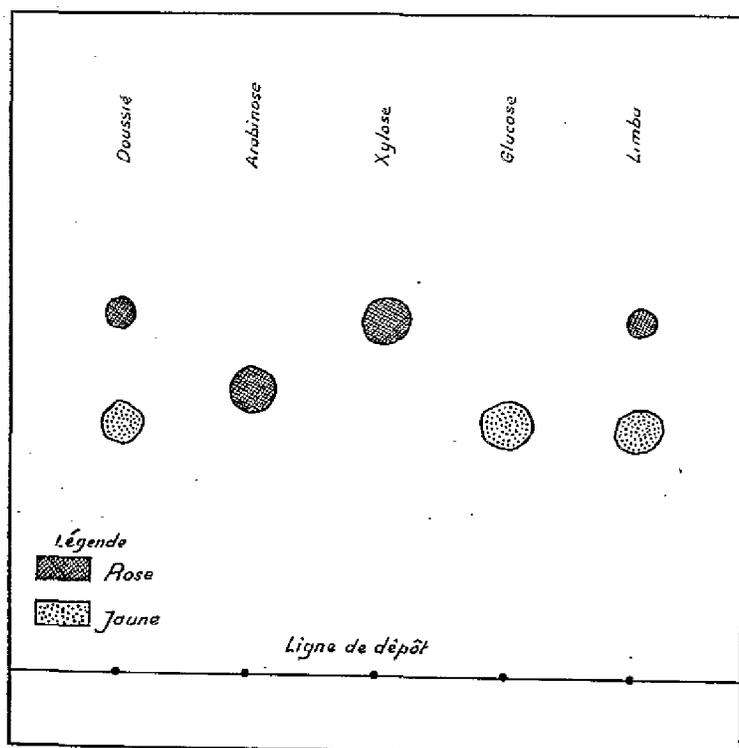
Analyse quantitative du Doussié : Un gramme environ de Doussié extrait à l'alcool-benzène (taux d'extraits : 18,8 %) a été traité par de l'acide sulfurique à 67 % à froid puis à l'ébullition après dilution à 5 %. Après élimination du précipité de lignine, les jus contenant la totalité des sucres ont été neutralisés au CO₂Ba, puis concentrés 10 fois sous vide à température inférieure à 50°. Dix à quinze microlitres de cette solution ont été déposés sur plaque de gel de silice tamponné. Le système de solvant retenu était le mélange butanol-méthanol-eau et la durée de migration était de 16 heures. Le dosage des deux sucres simples du bois a été fait par la méthode colorimétrique.

On a trouvé glucose : 47,8 % du bois extrait A B ou 38,8 % du bois initial et xylose : 17,3 % du bois extrait A B ou 14,1 % du bois initial.

On a ensuite transformé les valeurs de glucose et xylose en glucosane et xylane (ou cellulose et pentosanes) en appliquant les coefficients 162/180 dans le premier cas et 132/150 dans le second. On se reportera au tableau suivant pour avoir les résultats comparatifs trouvés par l'analyse classique et l'analyse chromatographique.

	Méthode classique	CCM	Différence
Pentosanes % .	13,4	12,4	— 7 %
Cellulose % ..	36,6	34,8	— 5 %

Graphique 10. — Plaque CCM de 2 bois tropicaux hydrolysés (Doussié et Limba) et de 3 sucres simples (système butanol-méthanol-eau).



Les chiffres trouvés par CCM sont un peu plus faibles que les valeurs données par la méthode classique mais l'ordre de grandeur est équivalent, les différences sont de l'ordre de celles trouvées au cours des études préliminaires (5 à 6 % de pertes à la neutralisation).

Analyse quantitative du Limba : La même technique a été appliquée au Limba extrait à l'alcool-benzène (taux d'extraits : 3,1 %). On a dosé glucose = 44,5 % du bois extrait ou 43,1 %

du bois brut et xylose : 16,6 % du bois extrait ou 16,1 % du bois brut. En comparant, comme précédemment, les deux méthodes d'analyse, nous avons trouvé :

	Méthode classique	CCM	Différence
Pentosanes % ...	15	14,2	-- 5 %
Cellulose %	41,8	38,8	-- 7 %

Les pertes sont du même ordre que les précédentes.

CONCLUSION POUR LES BOIS

L'analyse des glucides des bois par CCM est possible. Les chiffres enregistrés sont toutefois un peu plus faibles que ceux trouvés par les dosages classiques de cellulose et de pentosanes car quelques pertes peuvent exister essentiellement au

niveau de la neutralisation. L'étude de la neutralisation sur colonne avec d'autres types de résines échangeuses d'ions devrait être poursuivie pour préciser ce dernier point.

AUTRES ÉTUDES

Au cours de l'année 1973, nous avons eu, en plus des essais précédents, l'occasion d'appliquer à deux reprises la technique CCM. Il s'agissait de répondre à des demandes de renseignements pour

lesquelles des analyses succinctes ont dû être effectuées : l'une sur une gomme, l'autre sur un bois. Nous les citons ici pour mémoire.

GOMME NIRMAL

Cette gomme, d'origine mal précisée, pourrait provenir d'un arbre indien, le Nirmalii, de la famille des *Strygnos potatorum*. Cet arbre donne des graines très dures, parfois utilisées pour des médicaments, qui, une fois broyées seraient susceptibles d'être employées pour la production de colles industrielles. Cette graine a été adressée au C. T. F. T. par une Société française qui souhaitait l'utiliser pour ses fabrications.

Plusieurs essais d'hydrolyse ont été effectués sur le produit broyé :

- acide formique à 80 % à froid,
- acide sulfurique à 5 % à l'ébullition,
- acide chlorhydrique à 15 % à froid,
- acide chlorhydrique à 37 % à froid.

Seule la dernière technique a permis, malgré la présence d'un léger trouble, une dissolution satisfaisante de la gomme. Une plaque CCM a été réalisée, avec le système butanol-méthanol-eau. Elle

a montré que, d'un point de vue qualitatif, la gomme Nirmal ne contenait ni glucose, ni mannose, ni rhamnose, mais était constituée d'arabinose et de galactose. On remarquait de plus sur le chromatogramme quatre légers spots non identifiés ayant un Rf inférieur aux sucres précédents et un spot très important sur la ligne de départ correspondant à un produit qui n'a pas migré (peut-être des acides uroniques).

Du point de vue quantitatif, on a trouvé :

humidité	5 %,
taux d'azote	0,75 %,
cendres	1,5 %,
insoluble	7 %,
galactose	21 à 23 %,
arabinose	10 à 12 %.

Bien que ces chiffres ne couvrent que la moitié de la composition totale de la gomme, l'analyse n'a pas été poursuivie.

INCLUSION DE BALANITES AEGYPTIACA

Une section de tronc très tourmentée a été adressée au C. T. F. T. par l'O. R. S. T. O. M. de Saint-Louis du Sénégal. Cette portion d'arbre comportait plusieurs inclusions brunes sous forme de poches d'aspect plutôt gommeux. Une observation à l'œil pouvait faire penser soit à une

inclusion d'écorce, soit à une sécrétion. Une observation au binoculaire n'apportait pas de précisions supplémentaires : en effet, si l'on pouvait supposer qu'il s'agissait de débris végétaux, on ne reconnaissait pas d'assemblages de cellules caractérisant nettement une structure de bois. Pour préciser la

composition de ces poches, quelques tests chimiques classiques (cendres, lignine, extraits, etc...) et une hydrolyse suivie d'une chromatographie CCM qualitative ont été effectués sur l'inclusion et sur l'écorce.

A l'aide de dépôt de quantités croissantes des sucres identifiés, on a estimé approximativement d'après l'intensité des taches, l'ordre de grandeur des teneurs de chaque constituant.

Les résultats de cette chromatographie étaient les suivants :

	Ecorce	Inclusion
Xylose	5 à 10 %	1 à 2 %
Arabinose	5 à 7 %	3 à 5 %
Glucose	2 à 3 %	traces
Produits n'ayant pas migré.....	spot moyen	spot assez important

A la suite de cet essai, on a remarqué que l'écorce extérieure et les inclusions avaient qualitativement la même composition glucidique mais que quantitativement la répartition des constituants était différente.

CONCLUSION GÉNÉRALE

La chromatographie sur couche mince peut être utilisée avec profit pour l'analyse qualitative et quantitative de différentes matières premières tropicales. L'étude précédente a confirmé que la séparation et le dosage des glucides constituant les gommés et les bois étaient possibles et que les résultats enregistrés étaient valables et cohérents. L'application de la technique ne présente aucune difficulté si l'hydrolyse du produit initial a été bien conduite. C'est d'ailleurs l'hydrolyse qui représente le point délicat de la méthode car les conditions optimales de traitement sont différentes selon la matière première. Aussi, a-t-on retenu l'acide sul-

furique pour les bois, l'acide formique pour la gomme arabique, l'acide chlorhydrique pour la gomme Nirmal, etc... L'étude par CCM d'un produit nouveau doit donc commencer par l'étude de l'hydrolyse pour la séparation des sucres simples.

Enfin, il convient de rappeler d'un point de vue général qu'à côté des polyholosides, la chromatographie peut être appliquée à de nombreux autres corps entrant dans la composition des produits tropicaux : extraits, tanins, goudrons, etc... Le champ d'investigation est donc très large et des recherches ultérieures dans ce sens seraient justifiées.

BIBLIOGRAPHIE

1. D. M. W. ANDERSON. — Bilan de la recherche sur le développement des méthodes d'analyses fondamentales des gommés acacias (2^e Symposium européen sur les gommés et les colloïdes végétaux naturels, sept. 1970).
2. D. M. W. ANDERSON. — Les principales espèces d'acacias connues (3^e Symposium européen sur les gommés et les colloïdes végétaux naturels, sept. 1972).
3. J. ARTAUD et J. ESTIENNE. — Quelques moyens d'identification des polysaccharides. Chromatographie gazeuse et spectrographie de masse (3^e Symposium européen sur les gommés et les colloïdes végétaux naturels, sept. 1972).
4. B. C. E. A. O. — La gomme dite arabique (Etudes économiques Ouest-africaines, Fasc. 2, 1960).
5. A. BERTILLIER. — La chromatographie et ses applications (Ed. Dunod, Paris 1972).
6. B. L. BROWING. — Methods of wood chemistry. Vol. I et II (Interscience Publishers, New-York - London 1967).
7. G. H. JOUBERT. — Aperçu sur les propriétés physico-chimiques de la gomme arabique et des carrageenates (2^e Symposium européen sur les gommés et les colloïdes végétaux naturels, sept. 1970).
8. E. LEDERER. — Chromatographie en chimie organique et biologique (Ed. Masson et C^{ie}, Paris 1960).
9. Chanoine QUILLET. — Pouvoir suspensioïde et structure des gommés arabiques et des carrageenates (2^e Symposium européen sur les gommés et les colloïdes végétaux naturels, sept. 1970).
10. Pharmacopée Française (CODEX) 1965.
11. J. SAVARD et J. NICOLLE. — Application des méthodes de chromatographie sur papier à l'étude analytique des bois et des pâtes (n^o 19, C. T. F. T., Analyse chimique des bois tropicaux, Tome II, 1959).
12. K. RANDEKATH. — Chromatographie sur couches minces (Ed. Gauthier-Villars, Paris 1971).
13. H. L. TOOKEY and QUENTIN JONES. — New sources of water soluble seed gums (Economy botany, Vol. 19, n^o 2, april-june 1965).
14. R. L. WHISTHER and J. N. BENILLER. — Industrial gums (Academic Press, New-York and London 1959).