

Identification d'Essences à Haut Potentiel de Valorisation (EHPVAL)

Rapport semestriel n°3 : Février – Juillet 2020

Robin Doucet, Gaël Bibang Bengono, Alain Souza, Christian Moupela, Patrick Martin, Aurore Richel, Benoit Jourez, Philippe Lejeune, Jean-Louis Doucet

15/09/2020



Sommaire

1. Contexte	2
2. Informations préliminaires.....	4
3. Activités réalisées	5
4. Tableau synthétique de la progression du projet	29
5. Activités prévues pour la 3 ème période.....	30
6. Conclusion	31

1. Contexte

Dans le Bassin du Congo, un peu moins de 5 millions d'hectares sont certifiés par le Forest Stewardship Council (FSC). La traduction des 10 principes du FSC en standards régionaux précise que le gestionnaire doit maintenir les capacités de production des écosystèmes forestiers (indicateur 5.1.2). Dans cette optique, un taux de prélèvement est calculé pour chaque essence afin d'assurer la reconstitution du stock forestier au cours d'une rotation (entre 25 et 30 ans selon le plan d'aménagement). Bien que ce taux soit censé garantir la pérennité des ressources (critère 5.6), il n'est calculé que sur une seule rotation et une valeur inférieure à 100 % est tolérée par les législations forestières actuelles. Or le faible taux de régénération de certaines essences ne permet pas la reconstitution du stock à long terme et l'on assiste à une perte importante du potentiel de production de certaines essences forestières. Cette perte est très préoccupante pour deux raisons principales. Premièrement, la biodiversité forestière s'en trouve menacée car le cortège floristique et faunistique associé aux espèces exploitées est perturbé. Deuxièmement, elle met en péril la viabilité économique des entreprises.

L'abandon récent des concessions certifiées de grands groupes (Wijma, Rougier) est à ce titre très interpellant. Les conséquences sont multiples : (i) il en résulte une diminution des superficies certifiées, (ii) cet abandon questionne un modèle de concession jugé « exemplaire » pendant deux décennies, (iii) il ouvre la porte à des pratiques d'exploitation non durables. Il est donc extrêmement urgent de garantir la viabilité des concessions forestières au-delà de la première rotation. Pour ce faire, il convient de valoriser mieux et plus d'essences.

Parmi les options de valorisation, figure deux possibilités majeures : (i) mettre sur le marché des nouvelles essences dont les propriétés technologiques et de durabilité demeurent peu connues, (ii) valoriser de façon éco-efficace et directement sur les sites de transformation les coproduits actuellement non utilisés par l'industrie du bois. Cette chimie « fine » du bois peut cibler des marchés de niche et se caractériser par la production de petits volumes à haute, voire très haute valeur ajoutée (par exemple production de pycnogenol, un antioxydant naturel extrait des écorces de pin maritime). Une telle filière peut s'intégrer de manière harmonieuse dans la filière bois, en s'insérant dans la chaîne de valorisation existante et sans perturber la valorisation des autres coproduits. En Europe, ce secteur est en plein essor (voir par exemple le projet EXTRA FOR EST). Vouloir le développer en Afrique est une évidence compte tenu de la diversité des molécules présentes dans les arbres tropicaux.

En conséquence, le présent projet vise à identifier et à valoriser des essences à haut potentiel, tant sur le plan ligneux qu'en termes d'extraction de biomolécules à haute valeur ajoutée. L'objectif est donc d'augmenter la liste des essences commerciales actuelles et de diversifier les produits en mettant l'accent sur des essences dont l'exploitation est rentable économiquement et dont la régénération garantit la pérennité de la ressource. Ce faisant, le projet ambitionne de réduire les prélèvements sur des essences « classiques » dont la régénération n'est pas garantie.

Le projet s'articule autour de quatre axes :

- i) Sélection d'essences candidates sur la base de leurs structures de population (indicatrices de la régénération), de leur dynamique des populations, des données dendrométriques (morphologie) et des données bibliographiques (composés chimiques) ;
- ii) Création d'une database des molécules présentes dans les produits ligneux connexes issus du sciage et identification des usages potentiels ;
- iii) Caractérisation des propriétés physiques, technologiques et de durabilité naturelle du bois des essences considérées ;
- iv) Identification des contraintes techniques et commerciales et proposition de solutions pour que la transformation de ces essences soit économiquement viable.

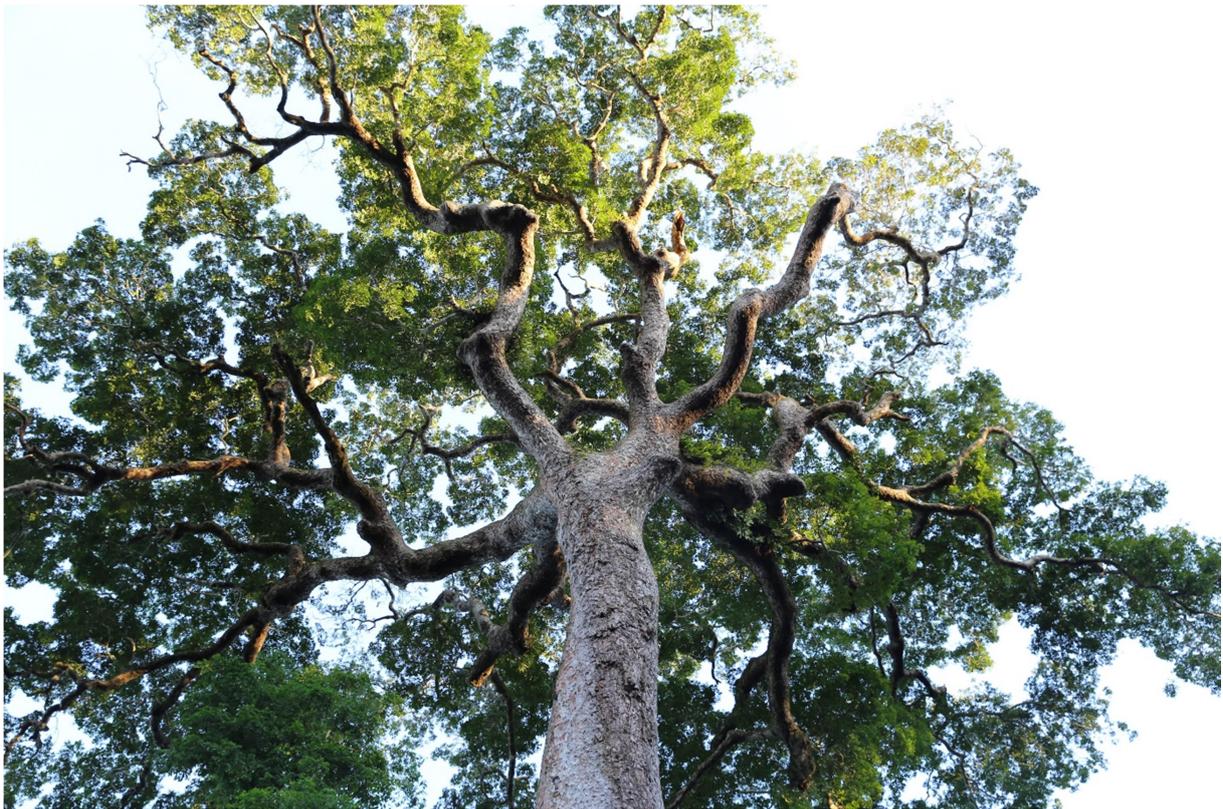


Figure 1 : L'Eyek, *Pachyelasma tessmannii*, espèce majestueuse du projet dont l'exploitation serait dépendante de mesures sylvicoles adaptées à sa faible régénération.

2. Informations préliminaires

La différenciation des espèces d'Eyoums étant très complexe en l'absence de fleurs, il a été décidé de réaliser des tests génétiques pour confirmer l'identification de chaque individu. En l'attente des résultats, les 3 espèces potentielles seront nommées *Dialium_1*, *Dialium_2* et *Dialium_3* dans ce rapport.



Figure 2 : Planches d'herbier de a) *Dialium_1*, b) *Dialium_2* et c) *Dialium_3*

3. Activités réalisées

Les activités réalisées au cours du troisième semestre sont présentées en suivant le cadre logique.

Résultat 1 : Cinq essences candidates sont identifiées en concertation avec les industriels, sur la base de leurs structures de population (indicatrices de la régénération), de leurs dynamiques de population, des données dendrométriques disponibles et de leur morphologie.

Activité 1.1 : Analyse des structures de populations issues des plans d'aménagement de CEB-PWG et Pallisco-CIFM

Descriptif de l'activité

Une analyse des structures de populations d'espèces peu connues potentiellement valorisables (LKTS) a été réalisée pour deux types représentatifs des forêts d'Afrique centrale (forêts sempervirentes et semi-décidues).

Les espèces étudiées sont des espèces répondant à un ou plusieurs des critères suivants : (i) intérêt marqué de la société forestière partenaire, (iii) propriétés du bois peu connues, (iv) présence supposée de molécules intéressantes compte tenu de caractéristiques particulières (présence de latex, gomme, résine,...)

L'analyse a permis d'évaluer (i) le potentiel de régénération naturelle de l'espèce, (ii) la densité de pieds exploitables ainsi que (iii) la nécessité de mettre en place des mesures sylvicoles particulières dans le cas où l'espèce serait exploitée.

Résultats obtenus :

Les résultats de cette activité ont été présentés dans le rapport d'avancement du premier semestre du projet.

Taux de réalisation et prochaines étapes

Cette activité est terminée, le taux de réalisation est donc de 100 %.

Activité 1.2. : Modélisation de l'évolution de ces structures en intégrant les paramètres de dynamique issus du projet P3FAC

Descriptif de l'activité

L'évolution des populations sur le long terme devrait pouvoir être modélisée sur base des paramètres démographiques (croissance, mortalité, recrutement) obtenus dans le cadre du projet P3FAC.

Résultats obtenus

A. Dispositif P3FAC :

Le dispositif d'inventaire, ainsi que les sentiers de suivis phénologique de P3FAC ont été installés à CEB-PWG. Concernant la phénologie, 708 Omvongs seront suivis. Le premier re-mesurage des

parcelles est actuellement en cours et permettra de renseigner le nombre exact des espèces cibles qui seront suivies.

B. Croissance Mubala :

L'estimation de l'Accroissement Annuel Moyen est toujours attendue de la réception du conteneur de bois d'Eyoum et d'Eveuss. Cependant, au vu de ce retard, il a été décidé de lancer les essais sur le Mubala uniquement. Quatre barreaux de Mubala ont été ponçés et scannés à l'aide d'un scanner haute résolution (Figure 3). Des prélèvements de 150 mg de bois ont été effectués à 6 et 12 cm du cerne le plus récent. Ces échantillons ont été conditionnés et ont été envoyés au *Poznan Radiocarbon Laboratory* pour datation au C^{14} . Une fois la datation réalisée, le rapport entre les dates de formation du bois et la distance les séparant permettra d'estimer l'accroissement annuel moyen de l'espèce.



Figure 3 : Acquisition d'image de haute résolution d'une face transversale de Mubala pour le calcul de l'accroissement annuel moyen de cette espèce.

Taux de réalisation et prochaines étapes

Le taux de réalisation est de 15% pour cette activité.

Activité 1.3 : Sélection des espèces candidates

Descriptif de l'activité

La sélection des espèces candidates a été opérée sur base de l'activité 1.1 et des attentes et besoins des deux concessions forestières partenaires du projet.

Résultats obtenus

Les résultats de cette activité ont été présentés dans le rapport d'avancement premier semestre du projet.

Taux de réalisation et prochaines étapes

Cette activité est terminée, le taux de réalisation est donc de 100 %.

Résultat 2 : Des molécules présentes dans les produits connexes ligneux issus de la transformation sont identifiées et leurs usages déterminés

Activité 2.1 : Sélection des coproduits à valoriser

Descriptif de l'activité

Cette activité vise à identifier les types de coproduits valorisables pour l'extraction de molécules à haut potentiel dans les concessions forestières.

Résultats obtenus

Les résultats de cette activité ont été présentés dans le rapport d'avancement n°1 du projet.

Taux de réalisation et prochaines étapes

Cette activité est terminée, le taux de réalisation est donc de 100 %.

Activité 2.2 : Analyse de la composition chimique (database)

Descriptif de l'activité

Avant d'envisager la valorisation d'un quelconque produit, il convient d'identifier les molécules qui pourraient faire l'objet d'une utilisation industrielle. Cette identification se fait sur base d'une synthèse des connaissances actuelles, d'enquêtes ethnobotaniques et d'analyses chimiques.

Résultats obtenus

A. Synthèse bibliographique des Eyoums :

La synthèse bibliographique sur le genre *Dialium* a été finalisée et sera prochainement soumise dans la revue BASE.

B. Enquête ethnobotanique :

Une enquête ethnobotanique débutée le 16 Août est en cours dans le Nord du Gabon à Oyem. L'enquête a été menée auprès de guérisseurs (7), de personnes fréquentant quotidiennement la forêt (51), de prospecteurs de la société forestière TTIB au village Konossoville (3) et de villageois (32).

Sur les 93 personnes seules deux personnes âgées de 76 et 82 ans semblent bien connaître l'Eyoum. Tous le décrivent comme un bois « très » dur qui était utilisé pour la construction des cases au village, la fabrication d'outils tels que le pilon et le mortier et de lits. Les fruits y sont consommés uniquement par les singes, non par les hommes. La majorité des personnes interrogées semblent confondre les Eyoum (*Dialium*) à l' « Eyùmun » nom vernaculaire (langue fang) du noisetier.

Il semblerait que les deux appellations (Omvong et Eyoum) ne soient pas utilisées dans le dialecte Fang de la région investiguée. Des recherches sont en cours afin de comprendre cet absence de connaissance sur les *Dialiums*.

C. Screening phytochimique :

Le screening phytochimique a été effectué à partir de deux tests : (i) la Chromatographie sur Couche Mince (CCM) pour les polyphénols, flavonoïdes et alcaloïdes et (ii) des tests colorimétriques spécifiques aux tanins et aux terpènes. Ces tests ont été réalisés pour *Dialium_1*, *Dialium_2*, *Dialium_3* et *Klainedoxa gabonensis* (Eveuss) au sein de leurs écorces, duramens et aubiers. Les résultats sont présentés au Tableau 1.

Tableau 1 : Evaluation de la présence de 5 classes de molécules au sein de l'écorce (E), du duramen (D) et de l'aubier (A) des 4 espèces étudiées. Signification : - = absence, + = présence sous forme de trace, ++ = forte présence, +++ = abondance.

Groupes chimiques		<i>Dialium_1</i>			<i>Dialium_2</i>			<i>Dialium_3</i>			Eveuss		
		E	D	A	E	D	A	E	D	A	E	D	A
CCM	Polyphénols	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++
	Flavonoïdes	-	-	-	++	+	-	-	++	-	-	-	-
	Alcaloïdes	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-
Color tests	Tanins	++	+	+	++	-	+	+++	+	++	+++	+++	++
	Terpénoïdes	++	+++	+++	+	+	+	+++	+++	+	+++	++	++

D. Caractérisation des molécules par HPLC-UV :

La Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) permet la séparation des différentes molécules présentes au sein d'une solution. Les molécules sont injectées dans une colonne de séparation et vont ressortir à des temps de rétention (RT) différents en fonction de leur affinité pour cette colonne. A la sortie de la colonne, un détecteur UV va permettre de détecter les molécules en mesurant leurs absorbances entre 190 et 400 nm. La forme de la courbe d'absorbance d'un composé en fonction de la longueur d'onde est appelé spectre d'absorbance. Le spectre

d'absorbance est spécifique à chaque molécule. Afin de comparer les molécules présentes dans les extraits éthanoliques (70/30, v/v), certaines molécules standards ont été passées en parallèles dans l'HPLC-UV. Les molécules sortant de l'HPLC-UV au même RT et ayant la même forme de spectre que les molécules standards ont dès lors pu être identifiées (Tableau 2).

Tableau 2 : Composés identifiés dans l'écorce (E), le duramen (D), l'aubier (A) de *Dialium_1*, *Dialium_2* et de l'Eveuss. x = présence dans l'extrait.

Espèce	Composé	RT (min)	compartiments		
			E	D	A
<i>Dialium_1</i>	Kampferol	26,82	x	x	
	Catéchine	22,12		x	
	Isomère de catéchine	15,03		x	x
	Flavanol	22,99		x	
	Acide cinnamique	22,04			x
	Acide benzoïque	16,23	x		
	Acide ferrulique	16,15	x		
<i>Dialium_2</i>	Kampferol	26,82	x	x	
	Catéchine	22,12		x	
	Isomère de catéchine	15,03		x	x
	Flavanol	22,99		x	
	Acide cinnamique	22,04			x
	Acide benzoïque	16,23	x		
Eveuss	Kampferol	26,82	x	x	
	Catéchine	22,12		x	
	Isomère de catéchine	15,03		x	
	Flavanol	22,99		x	
	Acide cinnamique	22,04			
	Acide benzoïque	16,23	x		
	Acide ferrulique	16,15	x		

E. Caractérisation par GC-MS :

La Chromatographie en phase Gazeuse (GC) fonctionne sur le même principe que l'HPLC mais cette fois-ci les molécules sont en phase gazeuse et non en solution. Après leur passage dans la colonne, les molécules sont ensuite détectées par Spectroscopie de Masse (MS). La MS est un appareil utilisant une technique physique qui permet d'aller jusqu'à une identification des molécules par mesure de leur masse et de leur structure chimique. Pour chaque molécule l'aire sous le pic d'identification a été calculée. La comparaison de l'aire des différents pics donne une indication la proportion de chacune des molécules dans le compartiment étudié.

Deux méthodes d'extraction ont été utilisées : (i) extraction par hydrodistillation pour la caractérisation des huiles essentielles dans les écorces et (ii) extraction Soxhlet au dichlorométhane et à l'acétone sur les écorces, l'aubier et le duramen pour la caractérisation de composés divers (acides gras, sucres,...)

(i) Hydrodistillation :

Les rendements obtenus par hydrodistillation sont extrêmement faibles (Tableau 3).

Tableau 3 : Rendement d'extraction par hydrodistillation des écorces de *Dialium_1*, *Dialium_2* et de l'Eveuss

Essence	Rendement (gr d'extrait/ gr de matière sèche)
<i>Dialium_1</i>	0,00003
<i>Dialium_2</i>	0,0001
Eveuss	0,000006

Les huiles essentielles étant fortement volatiles, le temps entre la récolte (Aout 2019) et l'extraction (Avril 2020) explique ces rendements très faibles. Il serait opportun de réitérer l'expérience directement après la récolte pour obtenir de meilleurs rendements. Cependant, de nombreuses molécules ont pu être identifiées au sein des écorces de *Dialium_1*, *Dialium_2* et de l'Eveuss (Tableau 4)

Tableau 4 : Molécules identifiées par GC-MS dans les extraits obtenus par hydrodistillation des écorces de *Dialium_1*, *Dialium_2* et de l'Eveuss

Espèce	Composé	Formule	RT (min)	Aire (%)
<i>Dialium_1</i>	Dibutyl phthalate	C16H22O4	15.86	0.13
	1-Nonadecene	C19H38	18.08	0.10
	9-Octadecenamamide, (Z)-	C18H35NO	18.54	0.12
	Di-n-octyl phthalate	C24H38O4	19.60	0.43
	ethyl vallesiachotamate	C23H26N2O4	24.87	0.25
	Friedelan-3-one	C30H50O	33.10	0.91
<i>Dialium_2</i>	dl-Limonene	C10H16	4.58	0.22
	2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (S)	C10H14O	7.72	0.58
	.BETA. BOURBONENE	C15H24	9.72	0.60
	Caryophyllene	C15H24	10.20	0.79
	.alpha.-Humulene	C15H24	10.64	0.14
	(+)-Epi-bicyclosesquiphellandrene	C15H24	10.76	0.11
	GERMACRENE-D	C15H24	10.99	0.38
	1H-Cyclopropa[a]naphthalene, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,7,7a-tetramethyl-,	C15H24	11.18	0.12
	1S,CIS-CALAMENENE	C15H22	11.49	0.13
	CARYOPHYLLENE OXIDE	C15H24O	12.28	0.07
Eveuss	Hexadecanoic acid	C16H32O2	16.07	2.25
	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)	C18H32O2	17.30	1.50

	14-.BETA.-H-PREGNA	C21H36	17.74	0.89
	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis 2-ethylhexyl) ester	C24H38O4	19.65	1.59

(ii) Extraction Soxhlet au dichlorométhane et à l'acétone :

Les molécules identifiées à l'aide de cette méthode sont présentées au Tableau 5. Les extractions au Dichlorométhane ont permis de révéler plusieurs composés et particulièrement le 4,6-Dimethoxy-2,3-diphenyl-7-(1-pyrrolin-2-yl) indole qui semble être retrouvé en quantité relativement importantes dans les différentes parties du bois des *Dialium*.

Taux de réalisation et prochaines étapes

Afin de mieux caractériser les polyphénols présents dans les différents compartiments des espèces cibles, une caractérisation LC-MS est en cours.

Une recherche bibliographique sur l'activité biochimique des molécules identifiées lors de cette période est également en cours.

Le taux de réalisation de l'activité peut être estimé à 85 %.

Tableau 5 : Molécules identifiées par GC-MS dans les extraits réalisés au dichlorométhane (DCM) et à l'acétone (Ac) sur l'écorce (E), le duramen (D), l'aubier (A) de *Dialium_1*, *Dialium_2*, *Dialium_3* et de l'Eveuss

Espèce	Solvant	Composé	Formule	Rt (min)	Aire (%)			Activité
					Ecorces	Duramen	Aubier	
<i>Dialium_1</i>	DCM	.beta.-Sitosterol phenaze	C29H50O	29.65		1.52		anti-inflammatoire, antipyrétique, antinéoplasique et immunomodulatrice
		1H-Indole-3-propanoic acid	C11H11NO2	14.81		0.22		puissant antioxydant neuroprotecteur
		2-(3-methoxybenzyl)-1H-indole	C16H15NO	25.90		1.01		contribue à l'absorption intestinale chez l'homme
		4,6-Dimethoxy-2,3-diphenyl-7-(1-pyrrolin-2-yl) indole	C26H24N2O2	30.26		12.26		contre l'obésité, traitement des maladies cardiaques
		9-Octadecenamide, (Z)-	C18H35NO	18.53		0.58		
		Rotenalone	C23H22O7	31.11		0.59		
		Stigmast-4-en-3-one	C29H48O	31.72			0.95	
		Stigmasterol	C29H48O	28.50		0.60		
	Ac	1-Docosene	C22H44	17.43	0.21	0.33		
		1-Eicosene	C20H40	16.03		0.76		
		1-Hexadecene	C16H32	12.17	0.25	0.22	0.65	
		1-Octadecene	C18H36	14.34		0.78	0.88	
		3-Eicosene, (E)	C20H40	16.03			0.64	
		3-Methylheneicosane	C22H46	22.27	0.24			
	9-Octadecenamide, (Z)	C18H35NO	18.52		0.47	0.73		

		Cyclopentane-1-carbonitrile, 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)	C13H15NO2	12.69	0.12			
		Triacotane	C30H62	23.42			0.76	
		Tricosane	C23H48	26.56			1.09	
Dialium_2	DCM	.beta.-Sitosterol	C29H50O	29.63		5.82	1.09	anti-inflammatoire, antipyrétique, antinéoplasique et immunomodulatrice
		1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono (2-ethylhexyl) ester	C16H22O4	19.61	0.89			
		4,6-Dimethoxy-2,3-diphenyl-7-(1-pyrrolin-2-yl) indole	C26H24N2O2	30.24	5.63	6.29	9.78	contre l'obésité, traitement des maladies cardiaques
		3.ALPHA.,5-CYCLO-ERGOSTA-7,22-DIEN-6-ONE	C28H42O	28.91		1.33	3.83	Activataur de la cyclooxygénase
		5-hydroxy-7-methoxy-2-pentylchromone	C15H18O4	18.02	1.33			inhibe la 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase
		7.alpha.-Methylcholesterol	C28H48O	28.21		1.15		inhibe la 5-alpha.réductase
		9-Octadecenamide, (Z)	C18H35NO	18.53		0.82		
		D-Friedoolean-14-en-3-one	C30H48O	29.36	2.46			analgésiques, anti-inflammatoires
		Friedelan-3-one	C30H50O	33.20	1.17			antibactérienne
		Stigmast-4-en-3-one	C29H48O	31.81			3.05	antihyperglycémiant
		Stigmast-4-en-3-one (isomère)	C29H48O	31.82	1.55	1.11		antihyperglycémiant
	Stigmasterol	C29H48O	28.47		0.94			
Ac		3-Eicosene	C20H40	16.03		0.26		

		cholesta-3,5(6)-diene	C27H44	22.53		2.35		puissant inhibiteur endogène de l'isoenzyme cytosolique
		Cyclopentane-1-carbonitrile, 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)	C13H15NO2	14.71		5.09		Non défini
		Pentane, 2-methyl	C6H14	1.40	0.90			
		Pregnan-16-one, 20-methyl-, (5.alpha.)	C22H36O	14.99		1.71		régulation du taux de glucose
Dialium_3	DCM	(24R)-4-ERGOSTEN-3-ONE	C28H46O	30.27		0.72		
		.beta.-Sitosterol	C29H50O	29.62		6.67	0.66	
		1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis 2-methylpropyl ester	C16H22O4	15.09	0.15			
		1,2-Benzenedicarboxylic acid, dibutyl ester	C16H22O4	15.86		0.17		
		1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono (2-ethylhexyl) ester	C16H22O4	19.60	0.66			
		13-Docosenamide, (Z)	C22H43NO	21.26	0.34	0.46		
		4,6-Dimethoxy-2,3-diphenyl-7-(1-pyrrolin-2-yl) indole	C26H24N2O2	30.14	4.09		4.48	
		3. Alpha.,5-cyclo-ergosta-7,22-dien-6-one	C28H42O	28.90	0.73		0.62	
		4,22-Stigmastadiene-3-one	C29H46O	30.79		0.99		
		9-Octadecenamide, (Z)	C18H35NO	18.53		0.84	0.89	
		D-Friedoolean-14-en-3-one	C30H48O	29.27	0.33			
		Octadecanoic acid, butyl ester	C22H44O2	18.61	0.12			

		Stigmast-4-en-3-one	C29H48O	31.77	1.52	3.22	0.81	
	Ac	1-Docosene	C22H44	17.42		0.28	0.48	
		1-Eicosene	C20H40	16.02		0.42		
		3,1,2-Azaazoniaboratine, 2,2-(1,5-cyclooctanediyl)- 4,6-diethyl-2,3-dihydro-5- met	C16H29BN2	15.46			0.39	
		3-Eicosene	C20H40	16.02		0.42	0.81	
		9-Octadecenamamide, (Z)	C18H35NO	18.53			1.21	
		Cyclopentane-1- carbonitrile, 1-(4-hydroxy- 3-methoxyphenyl)	C13H15NO2	14.69			0.37	
		Eicosane	C20H42	23.40		0.57		
Eveuss	DCM	(Z)-Octadec-9-en-18-olide	C18H32O2	17.30		0.42		
		.beta.-Sitosterol	C29H50O	29.84		0.98		
		1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester	C16H22O4	19.60			1.08	
		19-Methylene-5,10- secocholestan-3,5-dione	C27H44O2	28.19		0.61		
		3.ALPHA.,5-CYCLO- ERGOSTA-7,22-DIEN-6- ONE	C28H42O	28.89		1.05		
		4-Styryldibenzothiophene	C20H14S	14.09	0.16			
		6-Benzoyl-5-methoxy-2,2- dimethyl-10-phenyl- 2H,8H-benzo[1,2-b : 3,4- b']dipyran-8-	C28H22O5	30.57	6.35	5.03		
		9-Octadecenamamide, (Z)	C18H35NO	18.54	0.35	0.46	2.22	
		Aborenone	C30H48O	29.29	1.08			
		Cholesta-6,22,24-triene, 4,4-dimethyl-	C29H46	28.98	1.67			

		Hexadecanamide	C16H33NO	17.41			0.45	
		Stigmast-4-en-3-one	C29H48O	31.73		0.70		
	Ac	1-Octadecene	C17H32O	14.34	0.23			
		Friedelan-3-one	C30H50O	33.07	0.45			
		.beta.-Sitosterol	C29H50O	30.02	0.83			
		9-Octadecenamide, (Z)	C18H35NO	18.53			0.17	
		Dimethyl 2-p-tolyl-5,6-diphenylpyridine-3,4-dicarboxylate	C28H23NO4	32.19	1.55			

Activité 2.3 : Extraction et caractérisation des molécules

Descriptif de l'activité

Les molécules potentiellement valorisables doivent être extraites des coproduits. Dans cette optique, différents solvants doivent être testés et les rendements d'extraction comparés.

Résultats obtenus :

A. Macérations de l'Eyoum et de l'Eveuss :

Suite aux résultats obtenus à la période précédente, les rendements d'extraction par macération avec agitation à l'éthanol (70/30, vol/vol), à 50°C, durant 2h, ont été investigués (Figure 4). Les rendements d'extraction sont exprimés en gr d'Extraits Sec (ES) par 100 gr de Matière Sèche (MS). Concernant les Eyoums les rendements ont été calculés sur 4 individus des 2 espèces, à 2 hauteurs de prélèvements (h1 = prélèvement à la base de la tige et h2 = prélèvement à la première charpentière) et pour deux compartiments : l'aubier (*sapwood*) et le duramen (*heartwood*). Pour l'Eveuss, les rendements d'extraction ont été mesurés sur 4 individus, à deux hauteurs de prélèvement sur trois compartiments : l'aubier, le duramen et le bois de cœur (*corewood*).



Figure 4 : Extraits par macération d'aubier, de duramen et de bois de cœur d'Eveuss à l'éthanol (70/30, v/v)

Aucune différence significative en termes de rendement n'a été constatée entre les deux espèces d'Eyoum. Cependant, ces deux espèces confondues, des différences significative et très significative, respectivement pour le compartiment de prélèvement et la hauteur de prélèvement, ont été constatées (Figure 5). Les rendements sont significativement supérieurs dans le duramen (3 gr ES/ 100gr MS) par rapport à l'aubier (2,5 gr ES/ 100gr MS). Ils sont également significativement supérieurs lorsque le prélèvement a été effectué à h2 par rapport à un prélèvement à h1, respectivement 3,1 et 2,4 gr ES / 100gr MS.

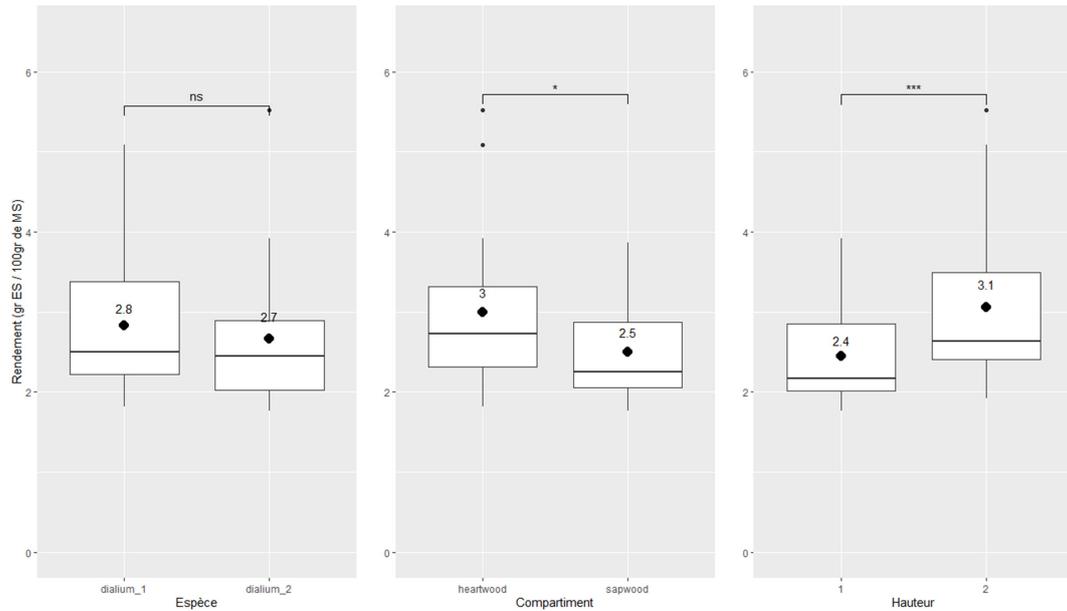


Figure 5 : Rendement d'extraction des Eyoams en fonction de l'espèce, du compartiment et de la hauteur de prélèvement. Médianes comparées au moyen du test de Wilcoxon, ns = non significatif, * = significatif, ** = hautement significatif, *** = très hautement significatif, **** = très très hautement significatif.

Concernant l'Eveuss, seul le compartiment de prélèvement a une influence significative sur le rendement (Figure 6). L'aubier (5,4 gr ES / 100 gr MS) et le duramen (4,7 gr ES/ 100 gr MS) donnent des rendements supérieurs au bois de cœur (3,3 gr ES/ 100 gr MS), mais ne sont pas significativement différents entre eux.

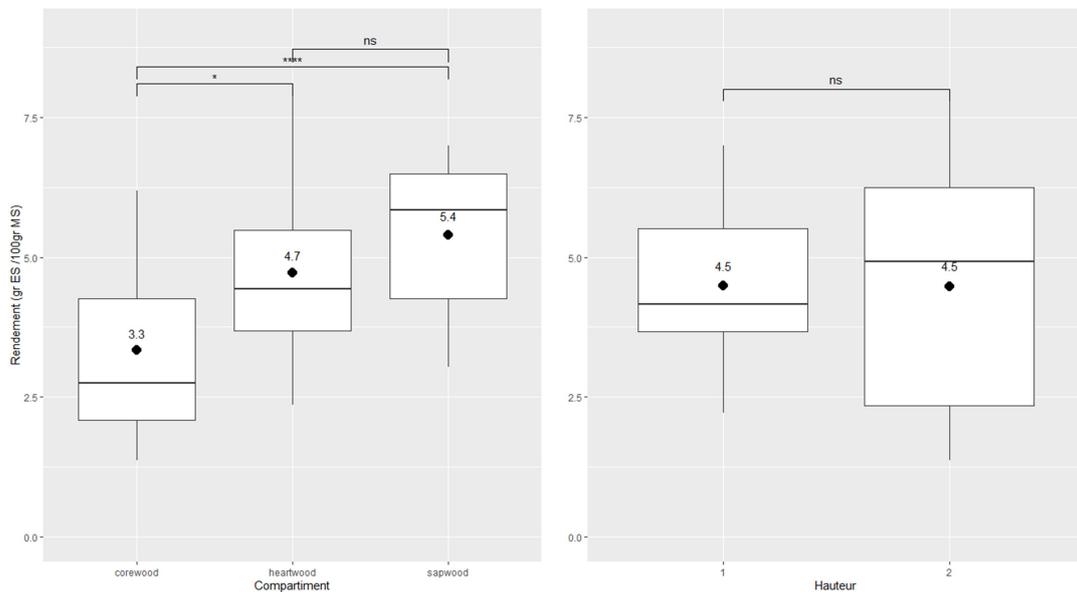


Figure 6 : Rendement d'extraire sec de l'Eveuss en fonction des compartiments de prélèvements et de la hauteur. Moyenne comparée au moyen du test de Tukey, ns = non significatif, * = significatif, ** = hautement significatif, *** = très hautement significatif, **** = très très hautement significatif.

Conclusion partielle :

L'Eveuss présente globalement de meilleurs taux d'extraction que les Eyoums mais pour les trois espèces le rendement reste assez faible. L'aubier (co-produits important de l'industrie du bois) de l'Eveuss présentant un taux d'extraction semblable au duramen, semble intéressant pour une valorisation. Une optimisation du processus d'extraction est cependant nécessaire pour envisager une valorisation industrielle.

B. Dosage des composés phénoliques totaux :

Le dosage des polyphénols totaux (DPT) est basé sur le principe d'oxydation des cycles phénolique des molécules en présence dans la solution par le réactif de Folin-Ciocalteu (Figure 7). Il est exprimé en gr d'Equivalent d'Acide Gallique (EAG) / 100 gr d'Extrait Sec (ES). Le dosage a été réalisé sur les extraits éthanoliques obtenus par macération cités précédemment. Ce dosage reflète également la capacité anti-oxydante d'un extrait.

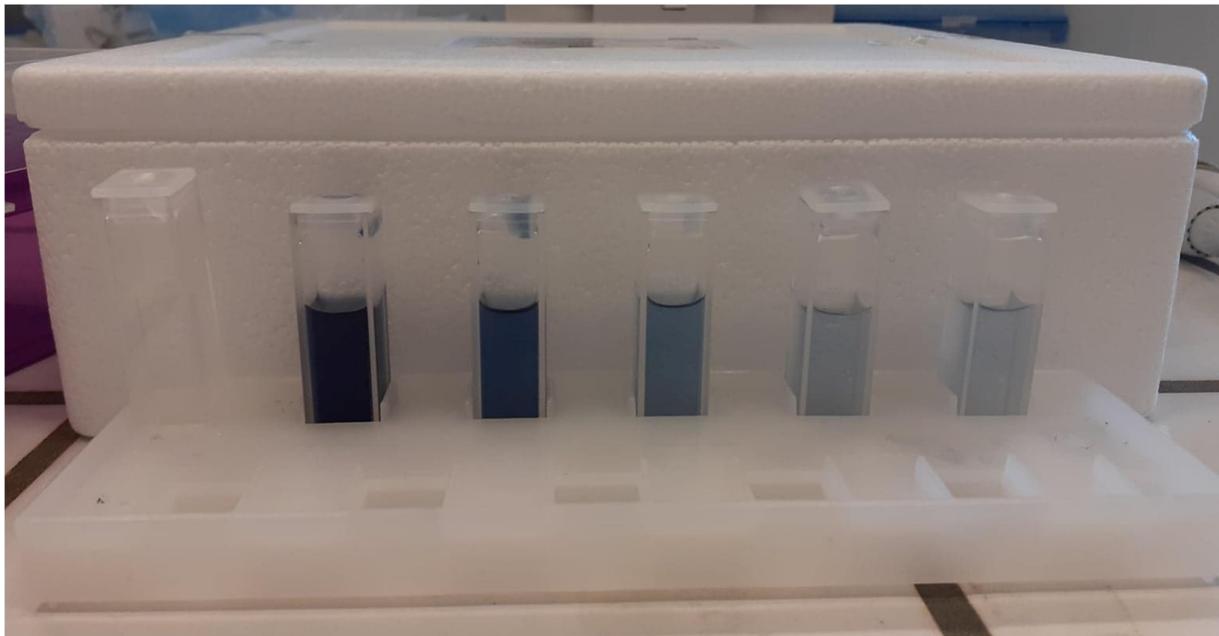


Figure 7 : Droite d'étalonnage d'acide gallique montrant la coloration bleu caractéristique de la réaction entre le réactif de Folin-Ciocalteu et un composé phénolique. L'intensité de la coloration est dépendante de la concentration en cycles phénoliques dans la solution.

Concernant les Eyoums, *Dialium_1* présente un DPT (38,4 gr EAG/ 100 gr ES) très significativement supérieur au *Dialium_2* (30,4 gr EAG/ 100gr ES). Le duramen (40,2 gr EAG/ 100 gr ES) présente également un DPT très significativement supérieur à l'aubier (28,7 gr EAG/ 100 gr ES). La hauteur de prélèvement n'a pas d'influence significative sur la proportion de polyphénols dans l'extrait (Figure 8).

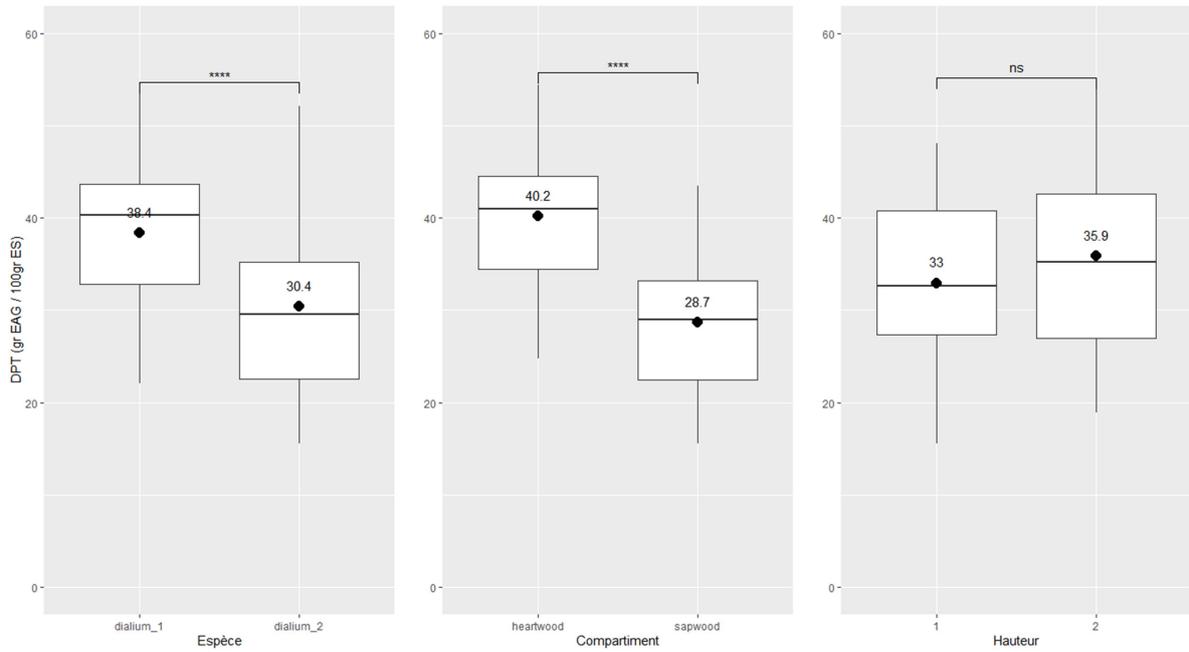


Figure 8 : Dosage des polyphénols totaux des Eyoums en fonction de l'espèce, du compartiment et de la hauteur de prélèvement. Moyenne comparée au moyen du test de Tukey, ns = non significatif, * = significatif, ** = hautement significatif, *** = très hautement significatif, **** = très très hautement significatif.

Concernant l'Eveuss, la position radiale de l'échantillon impacte significativement le DPT (Figure 9). La variation radiale du DPT est opposée à celle des Eyoums : l'aubier (66,6 gr EAG / 100 gr ES) a un DPT significativement supérieur au duramen (57,5 gr EAG / 100 gr ES) et au bois de cœur (41,9 gr EAG / 100 gr ES).

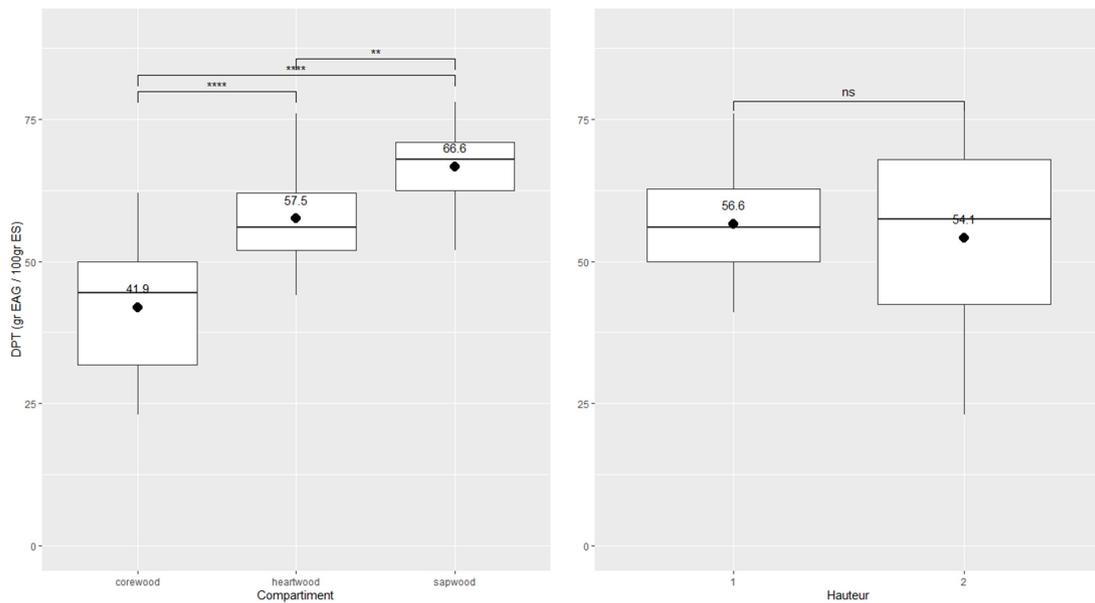


Figure 9 : Dosage des polyphénols totaux de l'Eveuss en fonction du compartiment et de la hauteur de prélèvement. Moyenne comparée au moyen du test de Tukey, ns = non significatif, * = significatif, ** = hautement significatif, *** = très hautement significatif, **** = très très hautement significatif.

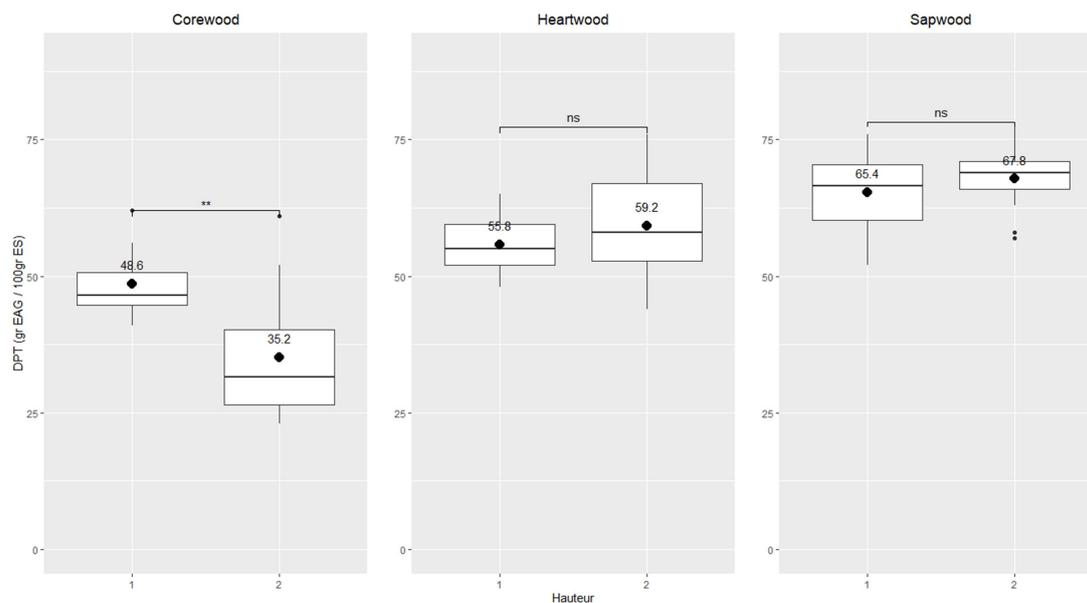


Figure 10 : Dosage des polyphénols totaux pour chaque compartiment de l'Eveuss en fonction de la hauteur de prélèvement. Moyenne comparée au moyen du test de Tukey, ns = non significatif, * = significatif, ** = hautement significatif, *** = très hautement significatif, **** = très très hautement significatif.

Le DPT est également significativement supérieur pour le prélèvement à la base de l'arbre (48,6 gr EAG / 100 gr ES) par rapport au haut du fut (35,2 gr EAG / 100 gr ES) dans le cas du bois de cœur de l'Eveuss (Figure 10).

Conclusion partielle :

L'Eveuss présente un DPT supérieur aux deux espèces d'Eyoum aux seins desquels *Dialium_1* présente un DPT supérieur à *Dialium_2*. Concernant l'Eveuss le compartiment le plus intéressant en termes de concentration en polyphénols totaux est l'aubier. Dans le cas des Eyoums, c'est le duramen qui semble le plus intéressant. Pour les trois espèces, la teneur en polyphénols totaux semble importante en comparaison avec d'autres espèces renseignées dans littérature scientifique. Les polyphénols sont des molécules pouvant montrer de nombreuses activités biochimiques, notamment : anti-oxydante, contre le cancer et les maladies cardiovasculaires.

C. Dosage des tanins condensés :

Le Dosage des Tanins Condensés (DTC) se base sur le principe de réaction des groupements flavonoïdes terminaux de ces molécules avec la vanilline formant alors des anthocyanidols de couleur rouge. Le dosage est exprimé en gr Equivalent Catéchine (EC) / 100 gr Extraits Secs (ES). Ce dosage a également été réalisé sur les extraits éthanoliques obtenu par macération comme cité précédemment.

Chez les Eyoums, l'espèce ainsi que le compartiment ont une influence significative sur le DTC des extraits (Figure 11). *Dialium_1* a un DTC (76gr EC/ 100 gr ES) significativement supérieur à *Dialium_2* (50,2 gr EC/ 100 gr ES). Le duramen présente un DTC (73,3 gr EC/ 100 gr ES) supérieur à l'aubier (52,8 gr EC/ 100 gr ES). Pour *Dialium_2*, les prélèvements effectués à h2 ont un DTC (59,9gr EC/ 100 gr ES) significativement supérieur à ceux réalisés à h1 (40,5 gr EC/ 100 gr ES) (Figure 12).

Contrairement au rendement d'extraction et au DPT, l'Eveuss présente un DTC fortement inférieurs aux Eyoums. Pour cette espèce, seul le compartiment à une influence significative sur le DTC (Figure 13). Le bois de cœur (12,3gr EC/ 100 gr ES) et le duramen (9,6 gr EC/ 100 gr ES) ont un contenu en tanins condensés supérieur à l'aubier (2,6 gr EC/ 100 gr ES).

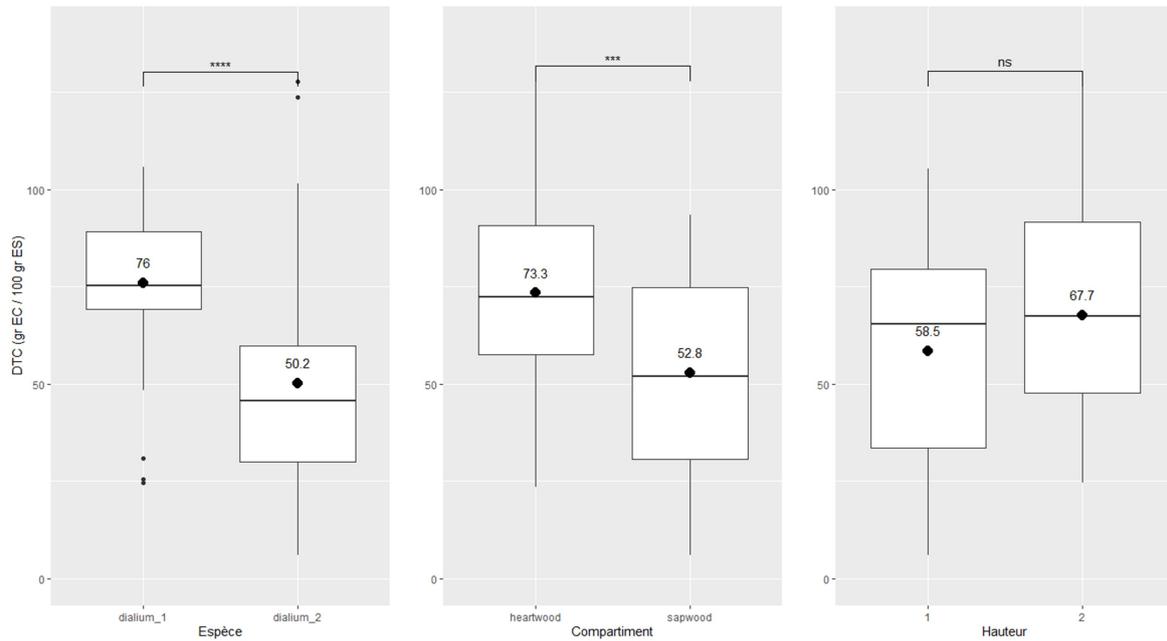


Figure 11 : Dosage des tanins condensés des Eyoums en fonction de l'espèce, du compartiment et de la hauteur de prélèvement. Moyenne comparée au moyen du test de Tukey, ns = non significatif, * = significatif, ** = hautement significatif, *** = très hautement significatif, **** = très très hautement significatif.

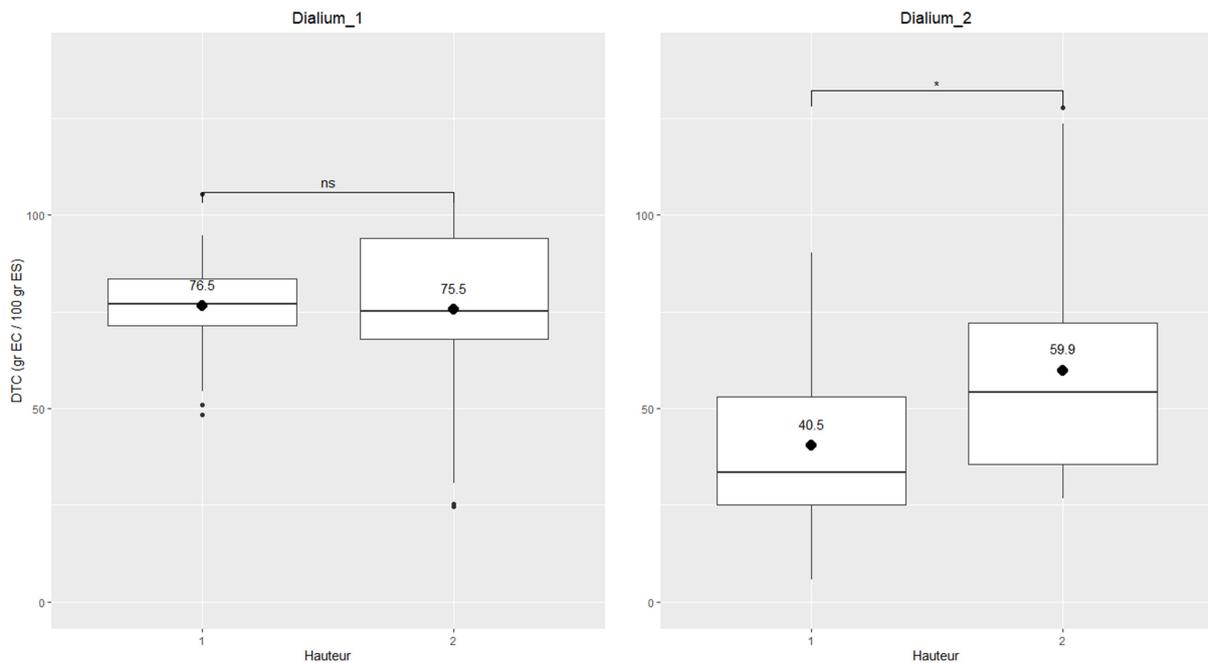


Figure 12 : Dosage des tanins condensés des différentes espèces d'Eyoums en fonction de la hauteur de prélèvement. Moyenne comparée au moyen du test de Tukey, ns = non significatif, * = significatif, ** = hautement significatif, *** = très hautement significatif, **** = très très hautement significatif.

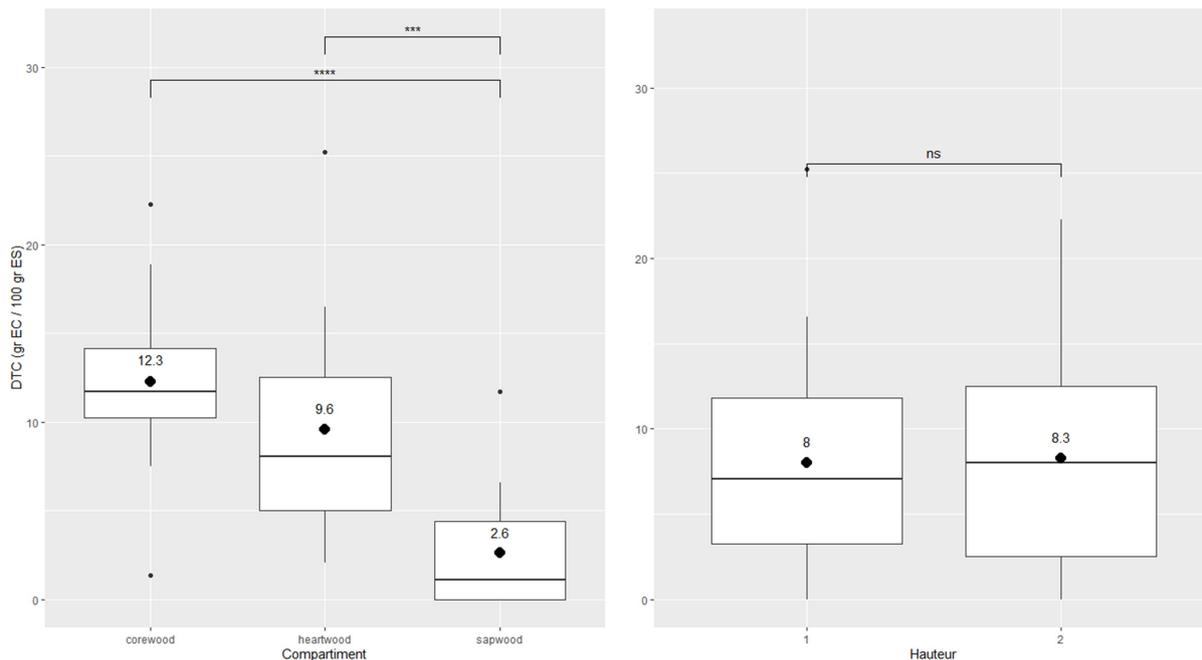


Figure 13 : Dosage des tanins condensés de l'Eveuss en fonction du compartiment et de la hauteur de prélèvement. Moyenne comparée au moyen du test de Tukey, ns = non significatif, * = significatif, ** = hautement significatif, *** = très hautement significatif, **** = très très hautement significatif.

Conclusion partielle :

Contrairement au rendement et au DPT, les Eyoums présente des teneurs en tanins condensés bien plus intéressantes que l'Eveuss. Pour les trois espèces, le bois de cœur et le duramen présentent des teneurs en tanins condensé supérieures à l'aubier. Dans le cas de *Dialium_2*, le prélèvement à la première charpentièrè permet d'obtenir un DPT supérieur. La comparaison avec la littérature scientifique permet d'avancer que les Eyoums présente de très hauts taux de tanins condensés. Les tanins condensés sont une sous-classe des polyphénols et peuvent donc présenter les mêmes activités. Ils sont cependant majoritairement utilisé pour le tannage du cuire (maroquinerie) ou pour leur astringence/amertume, notamment dans certaines boisson alcoolisées (vin, whisky,...).

Taux de réalisation et étapes ultérieures

Le taux de réalisation de l'activité peut être estimé à 70 %.

Activité 2.4 : Etude des propriétés des molécules (fonctionnalisation)

Descriptif de l'activité

Afin d'attribuer une valeur aux molécules extraites, il est nécessaire de vérifier leur propriétés et les activités biologiques qu'elles présentent. Différentes activités seront testées : anti-oxydante, antiparasitaire, antifongique, antimicrobienne, hypoglycémiant,...

Résultats obtenus

A. Capacité des composés phénoliques à précipiter les protéines :

La Capacité de Précipitation (CP) des composés phénoliques est la quantité totale de phénols capables de faire précipiter l'Albumine de Sérum Bovin (BSA). Les extraits éthanoliques obtenus comme mentionné précédemment (2.3 – A.) ont été mis en présence de BSA durant 24h à 4°C. Les solutions ont ensuite été centrifugées pour récupérer le culot composé du complexe phénols-BSA. Le culot a ensuite été re-solubilisé pour doser la quantité totale de polyphénols ayant réagi avec la BSA. Le dosage est exprimé en gr Equivalent Acide Tannique (EAT)/ 100gr Extrait Sec (ES).

Dialium_1 présente une CP (17 gr EAT/ 100 gr ES) significativement supérieur à *Dialium_2* (6,4 gr EAT/ 100 gr ES). Cependant le compartiment et la hauteur de prélèvement n'influence pas de manière significative la CP des extraits (Figure 13).

L'Eveuss présente des valeurs de CP inférieurs à *Dialium_1* mais comparables à *Dialium_2*. Les compartiments sont tous significativement différents les uns des autres (Figure 15). La CP du centre de l'arbre vers l'écorce avec 3,6 gr, 6,8 gr et 8,7 gr EAT/ 100 gr ES de moyenne respectivement pour le bois de cœur, le duramen et l'aubier. La hauteur de prélèvement influence uniquement la CP dans le bois de cœur de l'Eveuss (Figure 16) avec 4,5 gr EAT/ 100 gr ES pour h1 et 2,4 gr EAT/ 100 gr ES pour h2.

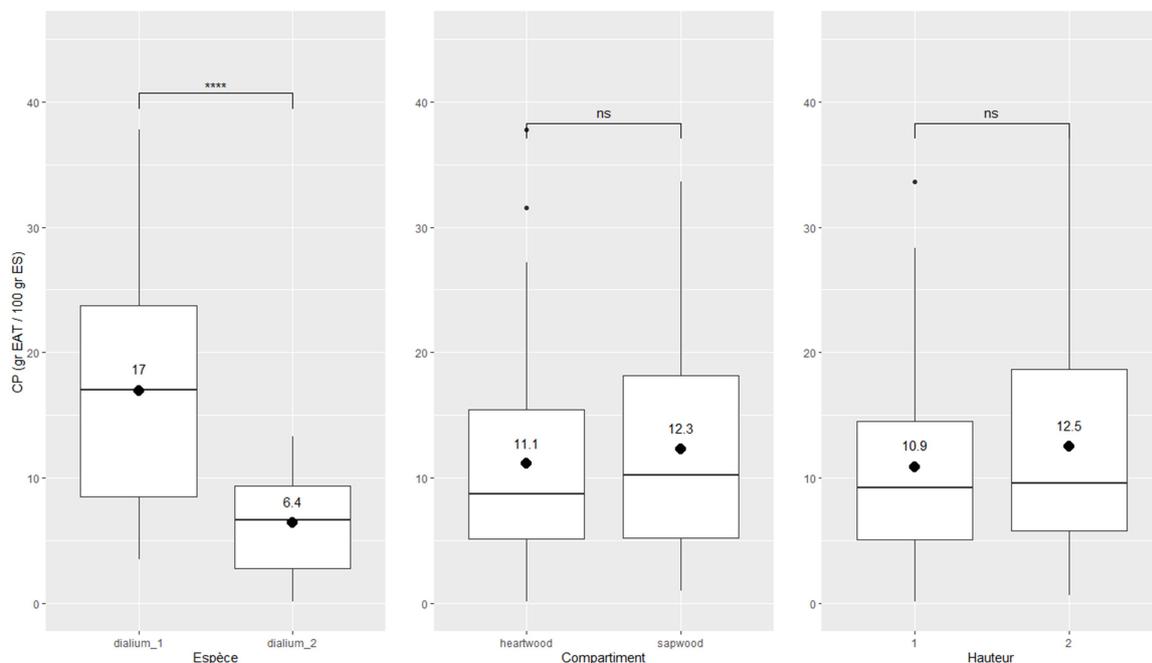


Figure 14 : Capacité de précipitation des composés phénoliques des différentes espèces d'Eyoums en fonction de la hauteur de prélèvement. Médianes comparées au moyen du test de Wilcoxon, ns = non significatif,

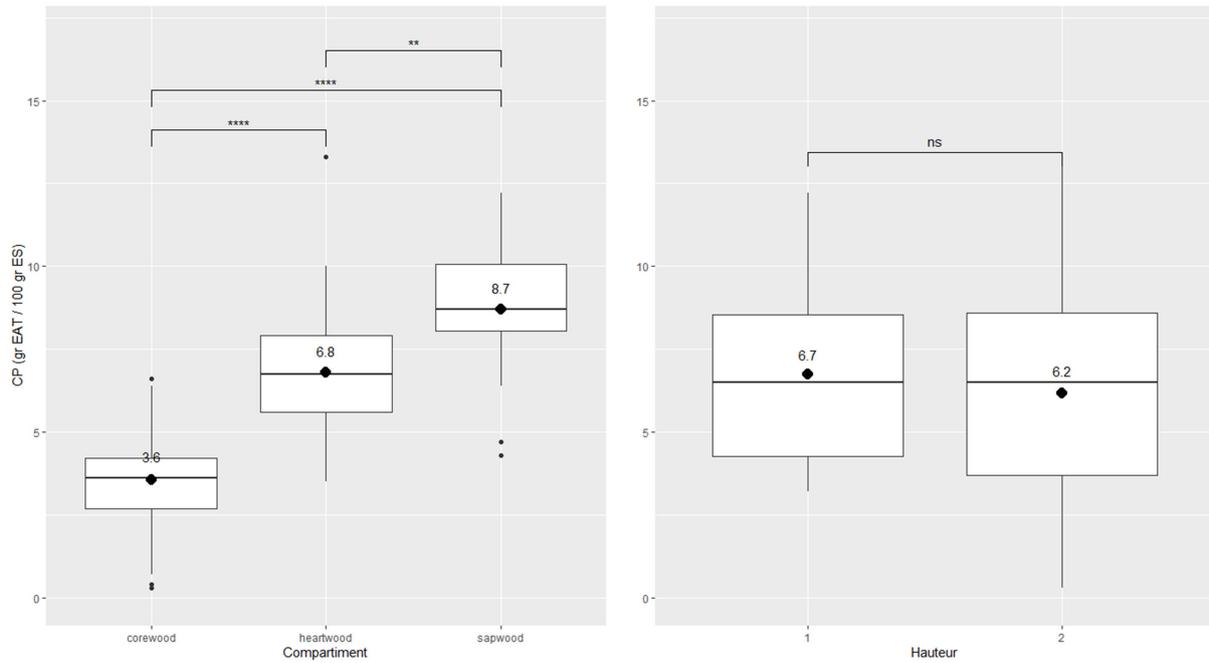


Figure 15 : Capacité de précipitation des composés phénoliques de l'Eveuss en fonction du compartiment et de la hauteur de prélèvement. Moyenne comparée au moyen du test de Tukey, ns = non significatif, * = significatif, ** = hautement significatif, *** = très hautement significatif, **** = très très hautement significatif.

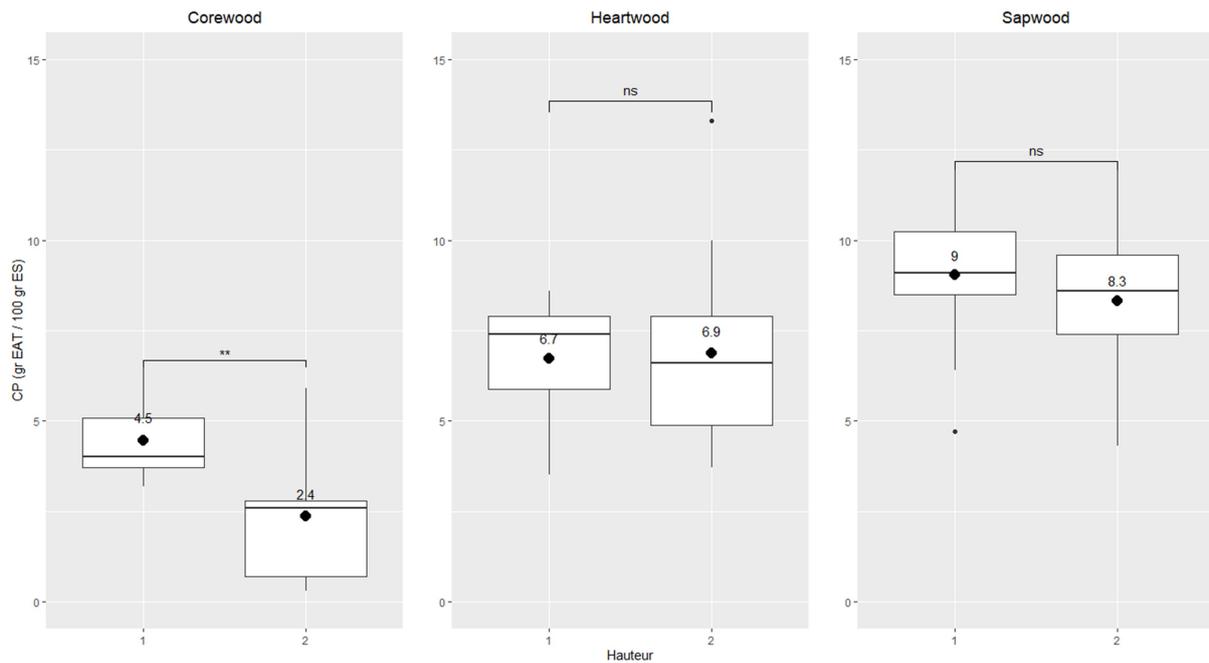


Figure 16 : Capacité de précipitation des composés phénoliques des extraits issus des différents compartiments de l'Eveuss en fonction de la hauteur de prélèvement. Moyenne comparée au moyen du test de Tukey, ns = non significatif, * = significatif, ** = hautement significatif, *** = très hautement significatif, **** = très très hautement significatif.

Conclusion partielle :

Dialium_1 possède la plus grande CP des trois espèces. Les compartiments n'étant pas significativement différents pour cette espèce, ils pourraient tout deux être utilisés au même titre. L'Aubier de l'Eveuss pourrait également être intéressant. Ce test n'étant pas renseigné dans la littérature, il n'est pas possible de comparer les résultats à d'autres espèces connues. Ce test permet notamment de mettre en évidence la capacité des extraits à être utilisé pour le tannage de peau et donc en maroquinerie.

Taux de réalisation et étapes ultérieures :

Réalisation de tests antiparasitaires.

Le taux de réalisation de l'activité peut être estimé à 30 %.

Résultat 3 : Les propriétés physiques, technologiques et de durabilité naturelle du bois des essences considérées sont identifiées

Activité 3.1 : Découpe et transport de plateaux

Descriptif de l'activité

Afin d'étudier les propriétés des bois, des essais standardisés doivent être menés. Ceux-ci reposent sur des normes précisant les dimensions des échantillons.

Résultats obtenus

L'autorisation d'exportation des bois sous forme de rondelles a été délivrée. Le conteneur a été chargé et est en partance pour le port d'Owendo.

Taux de réalisation et étapes ultérieures :

Une fois les colis expédiés au port d'Anvers, ils seront ensuite acheminés jusque Gembloux Agro-Bio tech. Ils seront alors stockés pour le séchage puis façonnés en éprouvettes de tests standardisées.

Le taux de réalisation peut être estimé à 60 %.

Activités 3.2 et 3.3 : Etude des propriétés physico-mécaniques et de durabilité naturelle

Descriptif de l'activité

Afin d'étudier les propriétés des bois, des essais standardisés doivent être menés. Ceux-ci reposent sur des normes précisant les dimensions des échantillons.

Résultats obtenus

A. Rédaction des articles scientifiques

L'article « Wood description and potential uses of *Pachyelasma tessmannii* (Harms) Harms » a été finalisé et est en dernière relecture avant soumission.

L'article « Faisabilité de la valorisation de *Pentaclethra macrophylla* Benth. : cas de la concession Pallisco, Est Cameroun » est en attente de la délivrance des datations C¹⁴ pour finalisation.

Taux de réalisation et étapes ultérieures :

Les propriétés du bois des Eyoums et de l'Eveuss seront étudiées lorsque que le conteneur sera arrivé.

Deux espèces sur 4 ayant déjà été étudiées, on peut estimer le taux de réalisation à 55 %.

Résultat 4 : Les contraintes techniques et commerciales liées à la valorisation de nouvelles espèces sont identifiées et résolues

Activité 4.1. Identification des contraintes techniques dans les unités de transformation

Descriptif de l'activité

Cette activité vise à identifier et quantifier les contraintes liées à la transformation des espèces étudiées en scierie.

Résultats obtenus

Aucune avancée n'a été opérée durant cette période.

Taux de réalisation

Le taux de réalisation de cette activité reste le même que la période précédente: 60 %.

Activité 4.2 : Mise en œuvre de solutions techniques

Descriptif de l'activité

Après avoir identifié les contraintes liées à la valorisation, il convient de proposer des solutions techniques.

Résultats obtenus

Aucune avancée significative n'a été opérée durant cette période.

Taux de réalisation

Le taux est de 40 %.

Activité 4.3. Actions de promotion

Descriptif de l'activité

Après avoir identifié des usages intéressants et économiquement rentables, il convient de vulgariser les résultats et de promouvoir les essences ou les usages nouveaux.

Résultat

Cette activité devant se dérouler en fin de projet, elle n'a pas encore débuté.

Taux de réalisation

Le taux est de 0 %.

4. Tableau synthétique de la progression du projet

Le tableau VI donne un aperçu général du niveau de réalisation du projet à l'issue du second semestre. Les taux de réalisation des résultats correspondent aux taux moyens de réalisation des activités.

Résultats	Activités	Taux de réalisation des activités	Taux de réalisation des résultats	Indicateurs
Résultat 1 : Cinq essences candidates sont identifiées en concertation avec les industriels, sur la base de leurs structures de population (indicatrices de la régénération), de leurs dynamiques de population, des données dendrométriques disponibles et de leur morphologie.	Activité 1.1 : Analyse des structures des populations issues des inventaires d'aménagement de CEB-PWG	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■	71,5%	
	Activité 1.2 : Modélisation de l'évolution de ces structures en intégrant les paramètres de dynamique issus du projet P3FAC	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■		
	Activité 1.3 : Sélection des espèces candidates	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■		
Résultat 2 : Des molécules présentes dans les produits connexes ligneux issus de la transformation sont identifiées et leurs usages déterminés	Activité 2.1 : Sélection des coproduits à valoriser	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■	70%	
	Activité 2.2 : Analyse de la composition chimique (database)	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■		
	Activité 2.3 : Extraction et caractérisation des molécules	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■		
	Activité 2.4 : Etude des propriétés des molécules (fonctionnalisation)	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■		
Résultat 3 : Les propriétés physiques, technologiques et de durabilité naturelle du bois des essences considérées sont identifiées	Activité 3.1 : Découpe et transport des plateaux de cœur	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■	57%	indicateur 6 : cf tableaux 3, 4, 5
	Activité 3.2 et 3.3 : Etude des propriétés physico-mécaniques et de durabilité des bois	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■		
Résultat 4 : Les contraintes techniques et commerciales liées à la valorisation de nouvelles espèces sont identifiées et résolues	Activité 4.1 : Identification des contraintes techniques dans les unités de transformation	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■	33%	Indicateur 7 : cf section 4.1 itinéraire possible pour le Mubala
	Activité 4.2 : Mise en œuvre de solutions techniques	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■		
	Activité 4.3 : Actions de promotion	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■		

5. Activités prévues pour la 3^{ème} période

Les activités prévues pour la 4^{ème} période sont synthétisées ci-après.

Activité 1.2 : Modélisation de l'évolution des structures de population en intégrant les paramètres de dynamique issus du projet P3FAC

- Finalisation du test d'accroissement annuel moyen du Mubala ;
- Début du test d'accroissement annuel moyen des Eyoums et de l'Eveuss. ¹

Activité 2.2 : Analyse de la composition chimique

- Finalisation de l'article « Synthèse bibliographique sur les *Dialium* de la région guinéo-congolaise » ;
- Analyse LC-MS des extraits des espèces cibles pour la caractérisation des polyphénols.

Activité 2.4 : Etude des propriétés des molécules (fonctionnalisation) :

- Mesure de l'activité antiparasitaire des extraits des espèces cibles; ²
- Investigation bibliographique des activités biochimiques des molécules identifiées lors de la 3^{ème} période.

Activité 3.1 : Découpe et transport de plateaux

- Préparation des échantillons pour les activités 3.2 et 3.3. ¹

Activité 3.2 et 3.3 : Etude des propriétés physico-mécaniques et de durabilité naturelle

- Finalisation de l'article « *Wood description and timber uses investigation of Pachyelasma tessmannii (Harms) Harms* »
- Finalisation de l'article « Faisabilité de la valorisation de *Pentaclethra macrophylla* Benth. : Cas de la concession Pallisco, Est Cameroun. »
- Réalisation des tests de propriétés physico-mécaniques et de durabilité naturelle. ¹

Activité 4.2 : Mise en œuvre de solutions techniques :

- Mission (Octobre-Novembre 2020) de récolte de données pour la réalisation d'un tarif de cubage spécifique au Sorro. ³

¹ Dépend de l'arrivée du conteneur d'échantillons d'Eyoums et d'Eveuss.

² Dépend de l'autorisation du gouvernement belge pour accueillir le doctorant gabonais (Gael Bibang Bengono) qui s'occupe de cet aspect. Ceci fait suite à la crise du coronavirus.

³ Dépend de la délivrance d'une autorisation du gouvernement gabonais aux non-résidents pour accéder au territoire. Ceci fait suite à la crise du coronavirus.

6. Conclusion

La deuxième période montre globalement une bonne progression malgré la situation sanitaire.

Le premier résultat montre une légère progression car une activité a pu être menée en parallèle au projet P3FAC dont les résultats ne seront disponibles qu'en fin de projet.

Le deuxième résultat affiche une très bonne progression. En effet deux chercheurs ont pu œuvrer à pleins temps à sa réalisation durant toute cette période. Deux étudiants ont également pu travailler sur les activités des extraits pour leur mémoire de fin d'études. La crise du coronavirus n'a affecté que très peu les avancées dans ce résultats car le télétravail a permis de travailler sur la rédaction de la synthèse bibliographique et le traitement des données obtenues avant le début du confinement.

Le troisième résultat n'affiche pas de progression car les bois n'ont toujours pas quitté le territoire gabonais, malgré les multiples interventions. Les tests physico-mécaniques, de durabilité naturelle et d'accroissement étant prévus pour la période suivante, cette situation met en péril le bon déroulement du projet.

Le quatrième n'affiche aucune progression étant donné que le résultat 4 ne sera abordé qu'en fin de projet.

Pour l'instant les deux problèmes majeurs, que sont l'exportation des bois et la crise du coronavirus, n'ont pas eu d'impact significatif sur le projet. Cependant, la 4^{ème} période est basée sur plusieurs activités qui sont directement dépendantes de l'arrivée des bois.