



Université Cheikh anta Diop, DAKAR (SN)

**Faculté de médecine et de pharmacie**

Année 1987 N° 52

Contribution a l'étude chimique et pharmacologique de adansonia  
digitata L. (Baobab)

## ***Dosage du calcium dans les feuilles***

***Thèse***

Présentée et soutenue publiquement le 3 juillet 1987 pour obtenir le  
grade de

DOCTEUR EN PHARMACIE

(DIPLOME D'ETAT)

Par

***Raymond GAYWE***

Né en 1959 à TCHATIBALI (CAMEROUN)

Président du Jury :

***M. Doudou BA, Professeur Agrégé***

Directeur de Thèse :

M. Emmanuel BASSENE, Maître assistant.

# SOMMAIRE (...)

Première partie

## CHAPITRE TROISIEME

### ETUDE CHIMIQUE

- 1) Les racines et l'écorce
- 2) Les fibres de l'écorce
- 3) Le fruit
  - a) La pulpe
  - b) La graine
- 4) Les feuilles
  - a) Les feuilles fraîches
  - b) Les feuilles sèches

## CHAPITRE QUATRIEME

### PHARMACOLOGIE ET ROLE PHYSIOLOGIQUE DU BAOBAB

- 1) Etude pharmacologique
- 2) Rôle du mucilage des feuilles
- 3) Conclusion

Deuxième partie,

## CHAPITRE PREMIER

### EXTRACTION DU MUCILAGE ET DOSAGE DE CALCIUM

- a) Récolte des feuilles
- b) Extraction du mucilage

- c) **Traitement des échantillon en vue du dosage**
  - 1) **Teneur en eau**
  - 2) **Teneur en cendres**
  - 3) **Mise en solution des cendres**
  
- d) **Description des méthodes de dosage du calcium**

### **1) METHODE COLORIMETRIQUE**

- a) **Principe**
- b) **Les réactifs**
- c) **Mode opératoire**
- d) **Calcul des résultats**

### **2) METHODE COMPLEXOMETRIQUE**

- a) **Principe**
- b) **Les réactifs**
- c) **Mode opératoire**
- d) **Calculs des résultats**

### **3) METHODE MANGANIMETRIQUES**

### **4) METHODE PHOTOMETRIQUE**

### **5) METHODE ABSORPTIOMETRIQUES**

- a) **Avec le glyoxalbis**
- b) **Avec la murexide**
- c) **Résultats**
- c) **Commentaires**

## **Deuxieme partie,**

## **CAPITRE DEUXIEME**

### **RAPPELS SUR L'IMPORTANCE ALIMENTAIRE DU CALCIUM**

- a) **Absorption et excrétion**
  - 1) **Absorption**
    - a) **Factures favorisant l'absorption**
    - b) **Facteurs d'inhibition**

**2) Excrétion**

**b) Rôle physiologique du calcium dans l'organisme**

- 1) Rôle plastique du calcium : Formation des os, rigidité du squelette**
- 2) Rôle du calcium dans le sang**
- 3) Rôle du calcium dans la contraction musculaire et le rythme cardiaque**

**c) Les besoins en calcium**

**d) Autres sources végétales de calcium**

## **CONCLUSIONS GENERALES**

## **Chapitre Troisième Étude Chimique**

### **1) Le racine et l'écorce**

Les racines et l'écorce du tronc renferment du mucilage matières de réserves, des pectines et de l'adansonine. L'écorce renferme également des alcaloïdes d'après LOUSTALOT et PAGAN cités par KERHARO.

### **2) Le fibre de l'Ecorce**

Les fibres de l'écorce sont riches en tanins. Elles contiennent également d'oxalate de calcium, d'aliments cellulose et lignifiés, des composés pectiques dans la lamelle moyenne. Cette étude a été effectuée par HEIMS citée par KERHARO.

### **3) Le Fruit**

#### **a) La pulpe du fruit**

Plusieurs études ont été effectuées sur la pulpe du fruit révélant sa pauvreté en matières protéiques et lipidiques, mais aussi sa richesse en vitamine B1 et lorsqu'elle est consommée crue, en vitamine C. La pulpe contient également des tanins du mucilage du calcium variant de 221mg p.100 à 655mg p. 100 et du phosphore selon les auteurs.

#### **b) La graine**

La graine est très riche en protéine. Le taux varie de 31g p. 100 g à 37,8g p. 100 g selon les auteurs. Elle se classe ainsi au premier rang des plantes africaines avec les graines de néré (*Parkia biglobosa*) 34g p. 100 g. Un fait encore plus remarquable est sa richesse en vitamine B1 1800mg. P. 100 g d'après TOURY et coll.

En sels minéraux la graine renferme du calcium 227 mg p. 100 g à 369 mg p. 100g du phosphore 1367mg p. 100g à 1525mg p. 100g.

### **4) Les feuilles**

#### **a) Chimie des feuilles fraîches**

Les feuilles fraîches renferment du calcium 260mg p. 100g à 402mg p. 100g, du phosphore 57,5mg p. 100g à 67mg p. 100g. Elles sont assez riches en vitamines C 42mg p. 100g à 48mg p. 100g. On note aussi la présence des vitamines: vitamine B, vitamine B2 et de la vitamine PP (1,85mg p. 100 g).

**b) Les feuilles sèches en poudre ou « LALO »**

(Voir tableau I).

Les résultats sont donnés pour 100g de produits secs.

Auteurs	EN G P. 100 g.						RN MG. P. 100 g.								
	Eau	Protides	Lipides	Glucides	Cendres	Celluloses	Calcium	Phosphore	Potassium	Magnésium	Fer	Vitamine A	Vitamine B1	Vitamine B2	Vitamine PP
PALES (L.)	146	10,5	5,3	13,75	12,2	11,3	1160	64	-	-	49				
TOURY et coll.	11,5	13,1	2,3	-	8,8	-	1930	276	-	-	-				
LUNVEN (P.) et coll.	11,5	11,35	-	14,75	8,5	18,3	2500	266	-	-	-				
TOURY et coll.	11,7	13,1	2,28	53,5	9	10,4	2260	266	-	-	-				
TOURY et coll.	12	12,5	2,89	-	9,62	10	2266	261	-	-	-				
DAKO	8,20	13,2	-	-	11,7	11,5	3080	260	1640	450					
BUSSON (F.)	13,35	10,3	3,55	-	10,8	10,2	2081	295	-	-	15	0,13	-	0,82	4,4
O.R.A.N.A.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,145	0,13	0,82	8,01

Tableau N°1 – Composition chimique de la poudre de feuilles de baobab « Lalo »

Malgré la variabilité' des résultats trouvés qui est peut-être due au méthode de dosages, on peut remarquer le taux très élevé de calcium dans la poudre de feuille de Baobab. Les résultats varie de 1160 mg p. 100 à 3080 mg p. 100.

La présence du Manganèse, du cuivre, du zinc et du fer a été signalé par Y. Dako (9), exprimés en quelques dizaines de p pm.

PARIS et Mme MOYSE-MIGNON (10) ont trouve du tanin des catéchines un mucilage environ 9 p. 100 et un flavonoside qu'ils ont appel adansoniaflavonoside.

L'analyse du mucilage extrait par ces mêmes auteurs leur a permis de constater que le mucilage est très riche en acides uronique 43,5 p.100, le mucilage est constitue par un noyau résistant forme d'acide galacturonique et de rhamnose et de sucres plus labiles, galactose et vraisemblablement rhamnose. Le mucilage se rapproche de la gomme de Sterculia qui contient elle aussi du rhamnose facilement détachable et du rhamnose combiné à un acide uronique.

## Chapitre quatrième

### PHARMACOLOGIE ET ROLE PHYSIOLOGIQUE DES FEUILLES DE BAOBAB

#### ETUDE PHARMACOLOGIQUE

SALLET, VINCENT et Mlle. SERO préconisent la poudre de feuilles comme anti-asthmatique et avec BRYGOO ont expérimenté l'action de l'extrait sur l'animal. Injecté par voie intraveineuse chez le chien chloralisé, il provoque une chute de la pression carotidienne et une accélération du rythme respiratoire avec augmentation de l'amplitude. Sur le cobaye les injections répétées entraînent un certain effet protecteur vis-à-vis de la crise asthmatique expérimentale provoquée par des aérosols d'histamine.

PARIS et Mme MOYSE-MIGNON ont repris l'étude pharmacodynamique des feuilles. Ils ont trouvé que la toxicité est faible, la dose létale 50 chez la souris étant par voie sous-cutanée de 10g/kg. Par voie sous-cutanée, une dose de teinture correspondant à 0,10 g de plante par kg d'animal provoque une hypotension accompagnée de bradycardie, puis de polypnée.

L'action préventive sur le bronchospasme histaminique du cobaye d'extraits alcooliques et aqueux à des doses correspondant à 5g feuille/kg n'a pas été significative.

Les mêmes auteurs ont en outre pratiqué quelques essais physiologiques sur l'adansoniaflavonoside qu'ils avaient isolé.

Ce principe actif s'est révélé peu toxique pour la souris : dose tolérée par voie sous-cutanée égale 1 g/kg. Chez le chien, par voie intraveineuse à dose de 0,01 g/kg. il ne provoque qu'une très faible hypotension.

Chez le lapin dans les mêmes conditions, il diminue la perméabilité des capillaires, mais il est cependant moins actif que le rutoside.

Les feuilles et l'écorce ont des actions fébrifuge, astringente et anti-diarrhéique.

## **ROLE DU MUCILAGE DES FEUILLES DE BAOBAB DANS LA DIGESTION ET L'ABSORTION ALIMENTAIRE**

La haute viscosité des feuilles du Baobab confère à cette substance le rôle de liant qui justifie son utilisation en alimentation subtropicale.

Selon P. LUNVEN et J. ADRIAN, l'emploi de ces feuilles comme aliment de couverture du besoin en calcium est également pleinement justifié. Ces feuilles constituent très vraisemblablement le meilleur préventif contre le rachitisme dû à une carence d'apport calcique.

Néanmoins, le taux élevé de cette feuille en insoluble formique et en matières mucilagineuses entraîne des répercussions nutritionnelles complexes.

Ces auteurs notent à l'actif de ce produit un effet d'appétence, qui influence le développement pondéral sans qu'on puisse parler d'une amélioration de l'efficacité protidique.

Au passif de la feuille de baobab, on enregistre aux taux de 10 p. 100 une chute de la digestibilité globale et surtout du coefficient d'utilisation digestive azotée. Cette action est considérablement renforcée lorsque la ration

est à base de céréales entières. La feuille de baobab est douée de propriétés « fécès-forming » environ 7 fois plus forte que les enveloppes d'un mil, ce qui fait que l'emploi conjoint de feuilles de baobab et de céréales non blutées conduit à une excrétion d'azote considérable qui atteint la moitié d'azote ingéré. La solution préconisée par J. ADRIAN et coll. est d'introduire cet aliment dans la ration à un taux relativement faible et par ailleurs de faire de sorte que le régime soit exempt de quantités notables d'indigestibles glucidiques. On pourrait ainsi résoudre le problème de rachitisme dû à un manque d'apport de calcium sans compromettre la lutte contre le Kwashiorkor.

F. ARNAL-PEYROT et J. ADRIAN ont mesuré chez le rat les effets de la feuille de baobab (introduite raison de 15 p. 100 dans une ration équilibrée) ou de ses hypocycoïdes: mucilages aux taux de 1 p. 100 et gommages aux taux de 295 p. 100.

Ces additions provoquent une diminution fécale d'eau qui peut être multipliée par 20 par rapport à celle du lot témoin. Cette eau est retenue dans le réseau des colloïdes, des indigestibles administrés aux rats. Il n'apparaît pas de diarrhée ni de selles anormalement ramollies. Cette importante élimination d'eau fécale entraîne avec elle un rejet abondant de métabolites hydrosolubles présents à l'état assimilable et vitamines libres, oligopeptides solubles etc.

En résulte une excrétion importante par rapport à celle observée dans le lot témoin dépourvu d'hydrocolloïdes.

- le taux d'azote fécal total est accru de 70 à 300 p. 100 et celui des oligopeptides solubles est 3 à 20 fois plus important ;

- le taux de minéraux est augmenté de 80 à 250 p. 100

- la quantité de vitamines PP libres est multipliée par 3,5.

En serait certainement de même pour d'autres éléments hydrosolubles qui n'ont pas pu être dosés ;

- Des études de digestion in vitro ont ensuite été effectuées par les mêmes auteurs révélant que les hydrocolloïdes inhibent de nombreux systèmes enzymatiques hydrolytiques.

- En résumé les hydrocolloïdes de la feuille de baobab entravent l'utilisation digestive de la ration selon un double mécanisme.

- Ils freinent l'activité des systèmes hydrolytiques, ce qui est susceptible de réduire la quantité de nutriments présents dans l'intestin sous une forme assimilable.

- Ils entraînent vers le rejet fécal les produits hydrosolubles de la digestion qui suivent le mouvement de l'eau, leur vecteur naturel.

## CONCLUSION

L'étude chimique des différentes parties du baobab nous a permis de constater l'extrême richesse de la poudre de feuille en calcium : 1160 mg. A 3080 mg p. 100 contre 221 mg. À 655 mg. P 100 pour la pulpe du fruit. La graine quant à elle est très riche en protéine 31 g à 37 g p.100 et en vitamine B1 1800 mg p.100.

La richesse de cette poudre de feuille en calcium serait malheureusement contrebalancée par la présence de mucilage (6,3 g à 9 g p.100) et de gommes (15g p.100) qui jouent un rôle néfaste sur la digestion alimentaire

Les feuilles de baobab présentent donc un intérêt certain en calcium, mais le problème posé par le mucilage qui s'y trouve est-il soluble ? Nous envisagerons de chercher où se trouve le calcium dans les feuilles. Est-il oui

ou non lié au mucilage et quelle solution adopter pour la consommation de ces feuilles sans risque

## Deuxième partie

# EXTRACTION DU MUCILAGE ET DOSAGE DU CALCIUM

### a) RECOLTE` DES FEUILLES

Les feuilles sont récoltées sur un baobab poussant dans l'enceinte de l'Université, sur une pelouse. A la période de récolte, fin Mai 1986, les feuilles sont assez jeunes (environ 2 mois). Les feuilles sont séchées au soleil pendant 10 jours et pulvérisées.

La teneur en eau de la poudre de feuille est de 8,5g p. 100g en moyenne contre 73g. p. 100g pour la feuille fraîche.

La poudre se prend en masse en présence d'eau, ce qui indique la présence de mucilage.

### b) EXTRACTION DU MUCILAGE

La méthode d'extraction utilisée a été inspirée, de celle de MARK L. WOOLFE (18), qui l'a pratiquée sur des feuilles fraîches et a trouvé 18 g/kg. Nous avons utilisé quant à nous la poudre de feuille séchée pour la simple raison que c'est cette dernière qui est largement consommée au Sénégal.

### MODE OPERATOIRE

- 20 g de poudre de feuille sont homogénéisées avec 400 ml d'eau bidistillée à l'aide d'un broyeur -mixeur. L'homogénéisât obtenu est centrifugé à 4000 tours/minute pendant 15 minutes. Le marc est repris par 400 ml d'eau bidistillée, homogénéisé puis centrifugé à nouveau.

Les surnageants clairs et visqueux sont réunis et filtrés sur verre fritté de porosité 3. On obtient en moyenne 5,80g de lyophilisat, soit 31,7% de la poudre de feuille (en poids sec).

Le marc est séché à l'étuve à 45° C jusqu'à obtention d'un poids constant. On obtient 12,30g soit 67,20% de la poudre de feuille totale (en poids sec).

Le marc ne se prend pas en masse au contact de l'eau, donc on peut considérer que tout le mucilage a été extrait.

- 3 g de lyophilisat précédemment obtenu, sont dissouts dans 100ml d'eau bidistillée. A cette solution, on ajoute 3 volumes d'alcool à 95°. Le mucilage précipite immédiatement. On laisse reposer quelques minutes ; le mucilage est récupéré sur le filtre à verre fritté après être lavé à l'alcool puis à l'acétone. Il est séché dans un dessiccateur en présence de pentoxyde de phosphore. Le poids obtenu est de 1,133g sur 3 g de lyophilisat, soit 12% de la poudre de feuille totale (en poids sec).

### c) Traitement des échantillon en vue du dosage

#### 1) Teneur en eau

Une prise d'essai P comprise entre 1,5 et 2g est exactement pesée dans une capsule en porcelaine tarée que l'on place dans une étuve (105°) jusqu'à obtention d'un poids constant. Après refroidissement dans un dessiccateur, on pèse la capsule. Soit P1 le poids de la prise d'essai ainsi séchée.

La teneur en eau est :

$$\text{TE} = \frac{\text{P} - \text{P1}}{\text{P}} \times 100$$

Les résultats des différentes fractions sont consignés dans le tableau II suivant.

#### 2) Teneur en cendres

La prise d'essai séchée est introduite au four et calciné au rouge entre 500-550 °C pendant 4 heures au moins (jusqu'à disparition de toute tache noire). On procède ensuite au refroidissement de la capsule au dessiccateur avant

de peser . Soit P1 le poids des cendres contenues dans la capsule. Le taux des cendres est :

$$TC = \frac{P2}{P} \times 100$$

Tableau II, teneur en eau et cendres des échantillons à doser

<b>EXTRAIT</b>	<b>TENEUR EN EAU (en g p.100)</b>	<b>TENEUR EN CENDRES (en g p.100)</b>
Poudre de feuille	8,50	11,30
Marc	2,65	10,09
Extrait aqueux total	9,10	13,20
Mucilage	11,50	11,45

### 3) Mise en solution des cendres

- Reprendre les cendres dans la capsule par 5 ml d'acide chlorhydrique diluée au 1/5.
- Evaporer à sec au bain -marie pour déshydrater Si O<sub>2</sub>.
- Reprendre de nouveau par 5 ml d'acide chlorhydrique dilué.
- Transférer quantitativement dans un erlen de 100ml.
- Ajouter 50ml d'eau bidistillée.
- Filtrer dans une fiole jaugée de 100ml.
- Compléter avec de l'eau bidistillée à 100ml.

N.B -Le matériel utilisé est soigneusement rincé à l'acide chlorhydrique dilué au 1/5, puis abondamment à l'eau bidistillée.

## D - DESCRIPTIONS DES DIFFERENTES METHODES DE DOSAGES DU Ca.

### METHODE COLORIMETRIQUE (Coffret Ca kit)

#### a) Principe

Le Calcium réagit avec l'indicateur bleu de méthylthymol, en milieu alcalin pour donner une coloration bleue dosable par photo colorimétrie à 612 nm.

La présence de la 8-hydroxyquinoléine évite l'interférence des ions magnésium jusqu'à une concentration de 100mg/l.

#### b) Les réactifs

Réactif 1 : étalon  $\text{Ca}^{2+}$  à 2,5 mmol/l ou 100mg/l.

Réactif 2 : Réactif de coloration  
-Bleu de méthylthymol 80mg/l.  
-Hydroxyquinoléine 1,6g/l.

Réactif 3 : Réactif alcalin pH > 11.

#### c) Mode opératoire

On opère à une longueur d'onde de 612 nm. Le zéro de l'appareil est fait avec un blanc réactif.

	BLANC	DOSAGE	ETALON
Echantillon à doser	-	0,1 ml	-
Réactif 1 (étalon)	-	-	0,1 ml
Réactif 2 (coloration)	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml
Réactif 3 (pH > 11)	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml

Mélanger les solutions et attendre 5 m. avant d'effectuer la lecture.

La coloration bleue obtenue est stable pendant une heure.

#### **d) Calculs des résultats**

Soient :

DE la densité optique de l'étalon

DX la densité optique de l'échantillon à doser.

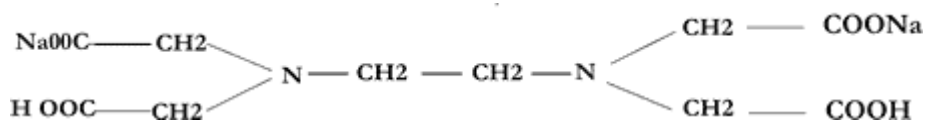
La concentration de l'échantillon à doser est

$$C = \frac{DX \times 100}{DE} \text{ mg/l.}$$

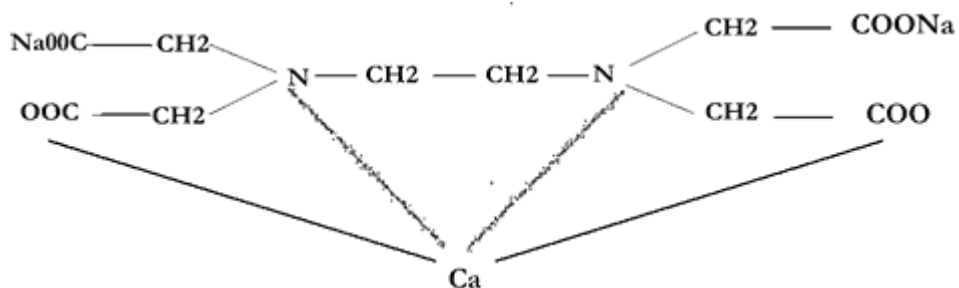
## METHODE COMPLEXOMETRIQUE DE TRONCHET

### a) Le principe.

Le calcium se complexe fortement en milieu alcalin avec l'EDTA, sel disodique de l'acide éthylène.



Présenté plus simplement sous forme  $\text{Na}_2 \text{H}_2\text{Y}$ ,  $2\text{H}_2\text{O}$  et symbolisé par  $\text{Y}^{4-}$ .  
Le complexe formé ayant la formule :



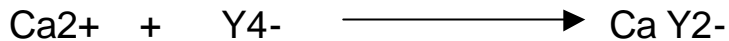
Pour mettre en évidence le point d'équivalence de cette réaction on ajoute à la solution à doser une pointe de spatule de l'indicateur de Patton et Reeder : Acide hydroxyl 2 (hydroxy 2 Sulfo 4 naphtyl -azo1) - 1 naphthoïque 3) spécifique des ions calcium en milieu fortement alcalin. Ce composé est capable de complexer les ions  $\text{Ca}^{2+}$  (mais moins fortement que l'EDTA) et a une couleur différente suivant qu'il est libre ou sous forme complexée.

A proximité du point d'équivalence, le complexe  $\text{Ca}^{2+}$  - Indicateur de Patton et Reeder est détruit par l'addition d'EDTA avec libération de l'indicateur : il se produit donc un changement de couleur de la solution.

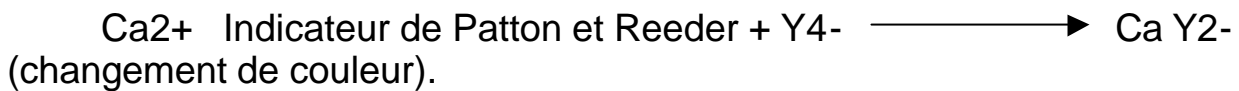
## REACTIONS DE DOSAGE

Dans la solution, une grande partie des ions  $\text{Ca}^{2+}$  est sous forme libre et quelques ions  $\text{Ca}^{2+}$  sont complexes avec l'indicateur :

- Début du dosage.



Au voisinage du point d'équivalence.



### a) Les réactifs

Solution titrée d'EDTA disodique 0,005 M.

EDTA disodique,  $2\text{H}_2\text{O}$  .....1,86 g  
Eau distillée qsp .....1000 ml

(Conservation en flacon de polyéthylène à  $\pm 4^\circ$ )

-Solution alcaline de cyanure de potassium

Soude en pastille R.P. 2 g.  
Cyanure de potassium R.P. 0,10 g  
Eau bidistillée qsp 50 ml

-Solution étalon de Ca à 100 mg/l

$\text{CaCO}_3$  (pour analyse) 0,25 g  
HCl dilué au 1/5 qsp dissoudre  
Eau bidistillée qsp 1000 ml  
(conservation en flacon de polyéthylène).

-Indicateur de Patton et Reeder.

Indicateur de Patton et Reeder  
Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre  
(Triturer soigneusement au mortier)

0,10 g  
10 g

### b) Mode opératoire

-Remplir la micro burette avec la solution d'EDTA.  
-Sand 2 erlens de 50 ml. Soigneusement rincés à l'acide chlorhydrique et à l'eau bidistillée, introduire:

	ERLEN 1	ERLEN 2
	Dosage	Etalon
Solution à doser	2 ml	-
Solution étalon de Ca (100g/1)	-	2 ml
Eau bidistillée	10 ml	10 ml
Solution alcaline de KCN	1 ml	1 ml
Indicateur de Patton et Reeder	1 pointe de spatule	

Mélanger sans faire mousser e les solutions doivent être de couleur violet-rose pâle (présence de Ca libre).

Titrer successivement le mélange contenu dans l'erlen 1, puis celui de l'erlen 2, avec la solution d'EDTA placée dans la micro burette : dans les 2 erlens la coloration passe au bleu vert.

**REMARQUES** : Faire attention à la quantité de colorant ajoutée (ce colorant se dissout mal). Si cette quantité est trop grande le virage sera plus long à faire, donnant des résultats par excès.

d)Calculs des résultats

Soient :

- . n = le nombre de ml d'EDTA versé dans l'erlen 1
- . n = le nombre de ml d'EDTA versé dans l'erlen 2

Puisque n ml correspond à 0,2 mg de calcium étalon, N ml correspond à

$$\frac{0,2 \times N}{n} \text{ mg de Calcium}$$

Cette quantité est contenue dans 2ml de solution à doser. On peut donc calculer les résultats en mg/l et en g pour 100 g.

**REMARQUES** : Le codex français décrit une autre méthode de dosage du calcium par complexométrie. Le principe est le même que celui de TRONCHET mais l'indicateur utilisé est la murexide diluée dans du chlorure de sodium.

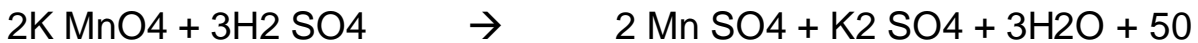
## METHODE MANGANIMETRIQUE

### a) Principe

La manganimétrie comprend l'ensemble des dosages qui peuvent être réalisés au moyen des solutions titrées de permanganate de potassium.

Le principe est le suivant : en milieu acide et en présence d'un réducteur convenable, le permanganate se réduit en donnant naissance à un sel de manganèse de valence 2 (sel manganoux).

Exemple en milieu sulfurique :



ou



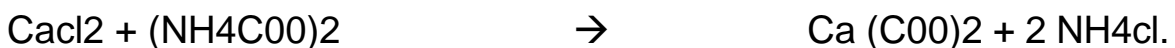
ou



L'examen de la réaction montre que le pouvoir oxydant d'une molécule-gramme de permanganate, en milieu acide correspond à celui de 5/2 atome-grammes d'oxygène c'est-à-dire à 5 équivalents.

**REMARQUES** : Le permanganate étant coloré et les produits de la réaction incolores, le permanganate est à lui-même son indicateur de fin de réaction.

Pour le dosage du calcium le principe est le suivant : l'oxalate d'ammonium en présence des ions calcium, détermine la formation quantitative d'un précipité d'oxalate de calcium à un pH supérieur à 4.



Le précipité d'oxalate de calcium est séparé et lavé trois fois par de l'ammoniaque dilué au 1/5 puis dissout dans de l'acide sulfurique dilué au 1/5. Il se forme du sulfate de calcium et de l'acide oxalique.



Sous l'action du permanganate de potassium l'acide oxalique s'oxyde quantitativement en anhydre carbonique et eau suivant la réaction :



Au début le milieu est incolore la fin de la réaction, la présence des  $\text{MnO}_4^-$  en excès donne un changement de couleur de la solution qui vire au rose persistant quelques secondes.

## METHODE PHOTOMETRIQUE DE LA FIAMME

### a) Principe

Lorsque l'on introduit un élément chimique dans une flamme, celle-ci prend une coloration caractéristique de l'élément chimique considéré. L'analyse spectrale de cette lumière colorée permet de mesurer l'intensité de l'une des raies les plus caractéristiques, sélectionnée au moyen d'un filtre interférentiel.

Si plusieurs éléments différents ont été introduits dans la flamme, chacun d'eux possède un spectre de raie caractéristique. Par le choix de filtre interférentiel convenable, on arrive à déterminer la concentration de chacun des éléments à partir de leurs raies les plus intenses sans avoir à procéder auparavant à un long processus de séparation chimique.

Ainsi, on utilise pour la détermination du sodium la double raie jaune à 589  $\mu\text{m}$ , pour le calcium la ligne rouge 616  $\mu\text{m}$ , pour le potassium la ligne rouge à 768  $\mu\text{m}$ .

## METHODES ABSORPTIOMETRIQUES

### a) Avec le glyoxal bis (hydroxy-2-anil)

On obtient un complexe rouge avec le calcium.

Le complexe est extrait à pH 12,6 par le mélange chloroforme isopentanol.

Le lecture s'effectue aussitôt à 531 nm.

Cette méthode permet de doser 15 µg de Ca en présence de 3000 µg de Mg 2000 µg de Fer et beaucoup de Al. Mais la plupart des ions gênent y compris Ba et Sr, les fluorures citrate.

En présence de cyanure CO, Ni, Ti, Cd, Cu ne gênent pas.

La sensibilité est de 6 µg.

### b) Avec la murexide

La murexide donne avec le calcium, dans des conditions convenables, une coloration jaune-rouge. Le maximum d'absorption a lieu à 506 nm. Le réactif seul a son maximum à 537 nm. La coloration disparaît lentement.

Le Mg ne gêne pas. La plupart des ions gênent en donnant des colorations ou des précipités avec le réactif.

Parmi les méthodes de dosage décrites, nous avons choisi les méthodes colorimétriques (Ca kit) et complexométrique de TRONCHET pour deux raisons : leur spécificité pour le calcium et la facilité de leurs manipulations.

Les autres méthodes ont été écartées soit pour des raisons matérielles : c'est le cas de la méthode photométrique de flamme et des méthodes absorptiométriques ; soit pour des raisons de difficulté de manipulations, tel est le cas de la méthode manganimétrie qui nous a paru trop longue, pouvant entraîner beaucoup de pertes.

## RESULTATS TROUVES

Le calcium est dosé dans les cendres des fractions suivantes :

- poudre de feuille totale
- extrait aqueux lyophilisé
- mucilage
- marc (résidu des feuilles après centrifugation).

Un dosage direct dans l'extrait aqueux non lyophilisé et non calciné a été également effectué après dilution de cette solution au 1/10.

Les résultats sont consignés dans le tableau III

	POUDRE TOTALE		MUCILAGE		MARC		EXTRAIT AQUEUX LYOPHILISE		EXTRAIT AQUEUX NON LYOPHILISE	
	Colorimétrie	Complexométrie	COLO	COMPL	COLO	COMPL	COLO	COMPL	COLO	COMPL
Calcium en g p. 100 g de produit sec	3,515	3,01	3,162	3,034	3,301	2,987	2,310	2,060	2,4	2,205
Calcium par rapport au Calcium total g%	100	100	11	12	63,20	67	21	22	21,6	23

**TABLEAU III – DOSAGE DU CALCIUM DANS LA POUDRE DE FEUILLE TOTALE ET DANS LES FRACTIONS**

## **COMMENTAIRES DES RESULTATS**

Le dosage donne à peu près les mêmes résultats pour l'extrait aqueux non lyophilisé que pour l'extrait aqueux lyophilisé et calciné. Ceci signifie que le mucilage ne gêne pas le dosage du calcium.

Le dosage par la méthode colorimétrique donne des résultats légèrement supérieur à ceux obtenus par la complexométrie sauf pour la poudre de feuille où la différence atteint 0,5g. Cette différence remarquable serait peut être liée à la méthode.

## **CONCLUSION**

Ce tableau nous permet de tirer les conclusions suivantes :

Le calcium extrait en même temps que le mucilage ne représente que 21 à 22% du calcium total.

Le mucilage a une forte teneur en calcium, ce qui n'est pas surprenant car celui-ci sert à neutraliser les acides uroniques entrant dans la structure du mucilage. Le marc qui ne renferme pas (ou alors très peu de mucilage) reste riche en calcium par rapport aux autres sources végétales du calcium (voir tableau IV page 59).

## CHAPITRE DEUXIEME

### RAPPELS SUR L'IMPORTANCE ALIMENTAIRE DU CALCIUM

#### A) ABSORPTION & EXCRETION.

Le calcium se trouve dans le squelette, le sang, la lymphe et les tissus.

##### 1) L'absorption.

Le calcium libéré des aliments par la digestion et solubilisé, est absorbé dans l'intestine grêle. Cette absorption ne représente que 20% des ingesta.

##### a) Facteurs favorisant l'absorption

- Un pH un peu acide est nécessaire à l'absorption du calcium. Or le pH intestinal est alcalin. L'absorption se fait dans la partie du duodénum où le pH n'est pas encore très alcalin. La décomposition des aliments peut le modifier.
- Le rapport Ca/p qui doit être compris entre 0,5 et 1 selon JACQUOT et entre 1 et 1,3 selon RANDOUIN.
- La vitamine D assure une bonne absorption et régularise le rapport Ca/P s'il est défectueux.
- L'augmentation des ingesta augmente la rétention.

##### b) Facteurs d'inhibition

- L'acide oxalique de certains légumes et fruits forme des oxalates de calcium insolubles qui ne sont pas absorbés
- L'acide phytique des céréales forme aussi avec le calcium un sel insoluble qui est rejeté.

## **2) Excrétion**

L'excrétion du calcium se fait pour 57 à 80%, dans les fèces ou elle a une double origine : le défaut d'absorption du calcium et l'excrétion due au renouvellement du calcium, dans l'organisme. Une faible quantité est excrétée dans l'urine.

## **B) ROLE PHYSIOLOGIQUE DU CALCIUM DAN L'ORGANISME**

### **1) Rôle plastique du calcium : formation des os, rigidité du squelette**

99% du calcium et 80% du phosphore du corps se trouvent dans les os sous forme d'un complexe d'apatite à base de phosphate tricalcique et de carbonate de calcium qui donne aux os leur rigidité. On trouve aussi du phosphate de magnésium, des citrates et des lactates de calcium.

Au cours du rachitisme, la teneur des os en calcium s'abaisse et celle du magnésium augmente, et les os ramollissent. (10)

### **2) Rôle Du Calcium Dans Le Sang**

Le taux du calcium du sang est de 10mg/100cm<sup>3</sup> dont à peu près la moitié est ionisée et le reste sous forme de protéinates de calcium. Le calcium sanguin est indispensable à la coagulation.

### **3) Rôle Du Calcium Dans La Contraction Musculaire Et Le Rythme Cardiaque**

Le calcium joue un rôle dans l'excitabilité musculaire. Si la calcémie tombe à 4mg/100cm<sup>3</sup>, il se produit des phénomènes anormaux de contraction musculaire tétanie tandis qu'un excès des ions calcium peut altérer la fonction musculaire et provoquer la défaillance cardiaque ; le cœur s'arrête en systole.

## C) LES BESOINS EN CALCIUM

Un groupe d'experts a été réuni par la F.A.O. et l'O.M.S. en Mai 1961 précisément pour étudier les besoins en calcium.

Antérieurement, on avait déjà bien défini ces besoins, mais on devait constater que bien des populations vivaient sur apport de calcium nettement inférieur aux chiffres indiqués, sans présenter aucun trouble imputable à un déficit calcique.

Le comité a donc réexaminé le problème, il a adopté l'expression « ration » proposée dans la pratique plutôt que le terme besoin, en précisant qu'on peut la considérer comme une ration de sécurité au-dessous de laquelle des manifestations pathologiques peuvent toujours apparaître, à la longue, dans une population.

### Ration proposée dans la pratique

Enfant de 0 à 12 mois	500-600mg
Enfant de 1 à 9 ans	400-700mg
Enfant de 16 à 19 ans	500-600mg
Pour l'adulte	400-500mg

Pour les enfants entre 0 et 12 mois, il s'agit de des enfants nourris au biberon car pour ceux , nourris au sein, la question ne se pose pas.

La femme qui allaite a un besoin supplémentaire de 300mg par jour ce qui représente pour elle un besoin total de 700 à 800mg. La ration proposée en pratique est de 1 000 à 1200 mg par jour.

Tous ces chiffres sont sensiblement plus faibles que ceux qu'il était d'usage d'indiquer avant la publication des travaux du comité F.A.O./O.M.S.

## D) AUTRES SOURCES VEGETALES DE CALCIUM

TABLEAU IV –Taux de calcium p.100g de produits secs.

Légumes	Taux de calcium en g p. 100g
Feuilles de haricot niébé *	0,205
Feuilles de manioc *	0,379
Feuilles d'amaranthus caudatus *	0,320
Feuilles de cassia tora *	0,630
Feuilles d'uénalobata *	0,558
Feuilles de nevedié *	0,630
Feuilles de Hibiscus sabdarifa **	1,400
Feuilles d'Amaranthus hybridis **	2,047

\* Les méthodes de dosage n'ont pas été précisées par les auteurs

\*\* La méthode utilisée est la spectrophotométrie d'absorption atomique.

## CONCLUSION GENERALES

Adansonia digitata ou Baobab est très répandu. en Afrique subsaharienne où il recèle divers intérêts : domestique, textile, alimentaire et en médecine traditionnelle.

Toutes les parties de cet arbre sont utilisées l'écorce, le fruit ou pain de singe 7 les racines et surtout les feuilles.

Du point de vue chimique : les racines et l'écorce du tronc renferment un principe actif appelé adansonine . La pulpe du fruit est très riche en vitamine B1 et, lorsqu'elle est consommée crue, en vitamine C. Elle renferme également du calcium (221mg à 55mg p. 100g) les graines constituent une importante source de protéine (31g à 37,8g p. 100g) et de vitamine B1 (1800mg p. 100g).

Les feuilles fraîches contiennent les vitamines A et B et surtout la vitamine C. Les feuilles sèches renferment surtout du calcium (1160mg p. 100g à 3080mg p. 100g).

L'étude pharmacologique de la poudre de feuille révèle une action anti-asthmatique. L'adansoniaflavonoside isolé est peu toxique.

L'action de la poudre de feuille sur le bronchospasme est peu significative.

Ces feuilles renferment du mucilage qui aurait des effets néfastes sur la digestion par deux mécanismes entraînant des éléments hydrosolubles vers le rejet fécal et inhibition des enzymes hydrolytiques. Il se pose ici le problème de savoir si le calcium des feuilles de baobab est même utile à l'organisme compte tenu de ces effets.

Pour contribuer à l'étude de cette importante source de calcium, nous avons extrait le mucilage de la poudre de feuille et recherché si le calcium lui est lié en totalité.

Une phase aqueuse, très visqueuse, légèrement jaune a été isolée par centrifugation après homogénéisation de la poudre de feuille avec de l'eau bidistillée. Cette phase représente 31,7g p. 100g de poudre de feuille (en poids sec).

Le mucilage est extrait de cette phase par précipitation par l'alcool à 95°. Il représente 12g p. 100g de poudre de feuille totale.

Le dosage du calcium dans la poudre de feuille et les extraits par les deux méthodes colorimétriques et complexométrique nous a donné respectivement les résultats suivants pour 100g de produit sec.

- la poudre de feuille totale :	3,515g et 3,010g
- l'extrait aqueux total :	2,340g et 2,060g
- le mucilage :	3,162g et 3,034g
- le marc :	3,301g et 2,987g

Ces résultats confirment l'extraordinaire richesse de la poudre de feuille de baobab en calcium.

L'extraction du mucilage n'entraîne seulement que 21 à 22% du calcium total. Quant au mucilage, il est presque aussi riche en calcium que la poudre de feuille totale ; cependant la fraction de calcium qui lui est liée ne représente que 11 à 12% du calcium total.

Par ailleurs, le marc privé du mucilage reste très riche en calcium.

Pour prendre en compte l'étude de Mark L. selon laquelle l'acidité, la température et la dilution diminuent la viscosité du mucilage, nous pensons que l'addition d'autres légumes comme Hibiscus sabdarifa dans la poudre de feuille de baobab avant la cuisson du couscous pourrait être judicieuse.

Le mucilage serait ainsi dilué acidifié et la cuisson ferait le reste.

Il serait d'ailleurs intéressant de savoir si l'utilisation traditionnelle des feuilles de baobab ne remplit pas toutes ces conditions c'est à dire si ces feuilles ne sont pas associées à d'autres légumes de manière à supprimer le rôle gênant du mucilage dans la digestion.

Enfin, le marc qui contient presque autant de calcium que la poudre de feuille totale ne serait-il pas, en améliorant l'aspect physique, une importante source de calcium sans inconvénients sur la digestion.