

## Influence de la feuille de *Hemizygia bracteosa* (Benth) sur la qualité de la bière du sorgho "tchakpalo" produite au Bénin

### [ Influence of *Hemizygia bracteosa* (Benth) sheet on the quality of sorghum beer "tchakpalo" produced in Benin ]

Christian T. R. KONFO<sup>1</sup>, Nicodème W. CHABI<sup>2</sup>, Jonas AGBADJIZO<sup>3</sup>, Edwige DAHOUEONON-AHOUSI<sup>1</sup>,  
Mohamed M. SOUMANOU<sup>1</sup>, and Dominique C.K. SOHOUNHLOUE<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie Appliquée,  
Ecole Polytechnique d'Abomey Calavi, Université d'Abomey Calavi,  
01 P.O.B: 2009 Cotonou, Benin

<sup>2</sup>Laboratoire d'Enseignement et de Recherche en Microbiologie Alimentaire,  
Département du Génie de Technologie Alimentaire,  
Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi, 01P.O.B: 2009 Cotonou, Benin

<sup>3</sup>Laboratoire de Microbiologie et des Technologies Alimentaires,  
Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi/Cotonou, Benin

---

Copyright © 2014 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**ABSTRACT:** This study aims to value the traditional manufacturing process of "tchakpalo" produced with sorghum (*Sorghum bicolor* (L) Moench) and its stabilization by *H. bracteosa* (Benth) sheet. A survey was conducted to identify the different manufacturing processes of tchakpalo in Benin. Major chemical groups characterizing the *H. bracteosa* (Benth) leaves were identified by technique using suitable solvents. The antifungal properties of aqueous extract of *H. bracteosa* (Benth) leaves were evaluated by the agar diffusion method against strains responsible of the rapid spoilage of the drink. Tannins, the catechic tannins, flavonoids, anthocyanins, leucoanthocyanes, saponins and mucilage are the predominant compounds of *H. bracteosa* (Benth) leaves. Antifungal activities of this plant varied depending on the test mold. The addition of the powder during the pasting showed its effect on physico-chemical parameters providing a slightly sweet drink, less acidic, with low alcohol content and makes stable drink with 64% inhibition on total aerobic mesophilic bacteria, 100% and 61% inhibition on mold and coliforms respectively, counted in the drink. In addition, the *Hemizygia bracteosa* (Benth) powder seems to have no effect on beneficial yeasts for fermentation that were eliminated by pasteurization.

**KEYWORDS:** Sorghum, tchakpalo, antifungal activities, stabilization, *Hemizygia bracteosa* (Benth).

**RESUME:** Cette étude vise la valorisation du procédé traditionnel de fabrication de la boisson « tchakpalo » produite avec du sorgho (*Sorghum bicolor* (L) Moench) et sa stabilisation par utilisation de la feuille de *H. bracteosa*. Une enquête a été réalisée afin de recenser les différentes technologies de production du tchakpalo au Bénin. Les grands groupes chimiques caractérisant les feuilles de *H. bracteosa* (Benth) ont été identifiés par des techniques utilisant des solvants appropriés. Les propriétés antifongiques de l'extrait aqueux des feuilles de *H. bracteosa* (Benth) ont été évaluées par la méthode de diffusion en agar contre les souches responsables de l'altération de cette boisson. Les tanins, les tanins cathéchiques, les flavonoïdes, les anthocyanes, les leucoanthocyanes, les saponosides et les mucilages sont les composés prépondérants des feuilles de *H. bracteosa* (Benth). Les activités antifongiques exhibées par cette plante ont varié en fonction de la moisissure

testée. L'adjonction de la poudre de *H. bracteosa* (Benth) au cours de la phase d'empâtage a engendré une modification des paramètres physico-chimiques, rendant ainsi la boisson légèrement sucrée, moins acide avec un faible degré d'alcool. Les paramètres microbiologiques évalués ont montré une augmentation significative de sa stabilité avec 64 % d'inhibition sur la flore aérobie mésophile totale, 100 % d'inhibition sur les moisissures et 61 % sur les coliformes. Par ailleurs, les feuilles pulvérisées de *H. bracteosa* (Benth) semble ne pas avoir un effet sur les levures utiles mais qui ont été éliminées à la fin de la fermentation par pasteurisation.

**MOTS-CLEFS:** Sorgho, tchakpalo, activités antifongiques, stabilisation, *Hemizygia bracteosa* (Benth).

## 1 INTRODUCTION

Le tchakpalo est une boisson très appréciée par la population. Souvent attachée aux traditions d'hospitalité et de convivialité, cette boisson fait partie du savoir-vivre de la plupart des familles et sert à sceller des relations entre les individus [1]. Dans sa technologie traditionnelle de production, intervient une double fermentation : une fermentation alcoolique à laquelle s'associe une fermentation lactique naturelle. Au fil du temps, les conditions de production et de stockage n'ont pas évolué. Le séchage des grains germés de sorgho se fait toujours en plein air, en bordure des voies. De plus, le processus de production souffre d'un manque crucial d'instruments de mesure et de précision, de bonnes pratiques d'hygiène et les mouls sucrés sont inoculés avec le ferment issu de la fermentation précédente dont la qualité hygiénique n'est souvent pas garantie [2]. La boisson ainsi obtenue est instable. Il s'avère alors important de chercher à améliorer sa technologie de production afin d'augmenter sa plus-value. Mais les conservateurs chimiques (les benzoates, les sulfites, l' $\alpha$ -tocophérol, le chlorure de calcium et l'acide citrique) couramment utilisés pour la conservation des aliments [3] peuvent se révéler très toxiques avec des risques de mutagénicité, d'aberrations chromosomiques et de cancers [4]. L'utilisation des extraits végétaux comme agents conservateurs du tchakpalo pourrait cependant constituer une alternative crédible par ce que garant de la préservation de la santé des consommateurs [5]. En effet, les extraits végétaux possèdent des activités antimicrobiennes, antioxydantes et antiradicalaires et présentent des risques plus ou moins négligeables sur l'environnement et la santé humaine [6]. La référence [7] a rapporté les activités antimicrobiennes de *Hemizygia bracteosa* (Benth) sur 60 de 72 isolats fongiques testés. La présente étude vise alors la valorisation des agro ressources à travers le suivi et l'amélioration de la technologie artisanale de production de la bière de sorgho « tchakpalo » puis sa stabilisation par la poudre de *Hemizygia bracteosa*(Benth).

## 2 MATERIEL ET METHODES

### 2.1 COLLECTE ET TRAITEMENT DU MATERIEL VEGETAL

Le matériel végétal utilisé est constitué de sorgho de variété rouge (*Sorghum bicolor* (L) Moench) acheté au marché Dantokpa de Cotonou et des feuilles fraîches de *Hemizygia bracteosa* (Benth) récoltées à Savalou et identifiées par les spécialistes de l'Herbier National du Bénin.

### 2.2 ANALYSES PHYTOCHIMIQUES DE *HEMIZYGIA BRACTEOSA* (BENTH)

Cette étude est effectuée sur la drogue végétale sèche (extrait aqueux) selon la méthodologie décrite par [8]. Le tableau 1 indique les différents groupes chimiques recherchés et les réactifs spécifiques utilisés.

**Tableau 1. Réactifs spécifiques et réactions du criblage phytochimique**

	Réactifs	Résultats positifs
Tanins	FeCl <sub>3</sub>	coloration bleu-foncée, verte ou noire
Tanins cathéchiques	réactif de STIASNY	Précipité rose
Flavonoïdes	Shinoda (réaction à la cyanidine)	Coloration orangée, rouge ou violette
Anthocyanes	Acide chlorhydrique dilué à 5%	coloration rouge qui s'accroît et vire au bleu violacée ou verdâtre
Leucoanthocyanes	Alcool chlorhydrique à 5%	coloration rouge cerise ou violacée

## 2.3 IDENTIFICATION DES MOISSURES ET TESTS ANTIFONGIQUES

Des aliquotes de 0,1ml des boissons et de leurs dilutions décimales ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ ) ont étéensemencées en surface sur la gélose Sabouraud + Chloramphénicol, initialement préparée et coulée dans des boîtes de Pétri de 9cm de diamètre. Le dénombrement des moisissures qui se présentent sous forme poudreuse a été effectué après 5 jours d'incubation à 25°C selon la norme [9]. Ces analyses ont été reprises par ensemencement sur les milieux PDA et Yeast Extract Agar afin de confirmer les germes isolés au cours des identifications. Chaque colonie de moisissures obtenues a été isolée des levures, purifiée, identifiée et réisolée en touche sur une nouvelle boîte de gélose Sabouraud + Chloramphénicol et incubée à 25°C jusqu'à purification complète des souches. Les souches purifiées ont été isolées en touche sur les deux milieux d'identification Malt Extract Agar et Czapeck Yeast autolysate Agar avant leur identification basée sur leurs caractères culturaux, macroscopiques et microscopiques selon [10] et [11]. L'activité antifongique de l'extrait a été évaluée *in vitro* par la méthode décrite par [12].

## 2.4 PRODUCTION DU TCHAKPALO

Trois (03) différentes productions ont été effectuées pour chaque échantillon. Le diagramme traditionnel identifié au cours des enquêtes a été utilisé pour la production de la boisson témoin. Afin d'évaluer l'effet de *H. bracteosa* (Benth) sur les qualités physico-chimique, microbiologique et organoleptique de la boisson, 25g de la poudre ont été incorporés a 15L de maische au cours de l'empattage.

## 2.5 ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

Les échantillons prélevés à chaque étape de la production ont été évalués en recherchant par des méthodes standards les paramètres microbiologiques de qualité. Il s'agit de la flore mésophile totale à 30°C [13], des coliformes totaux, des coliformes thermotolérants [14], de *Staphylococcus aureus* à 37°C [15] et des levures et moisissures [9].

## 2.6 ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

Le pH a été mesuré avec un pH-mètre (HANNA HI 98129) ; le degré Brix et la teneur en alcool ont été déterminés respectivement à l'aide d'un réfractomètre portable (ATAGO, Japan) et d'un alcoomètre (ATAGO, Japan). L'acidité exprimée en pourcentage d'acide citrique par unité de volume a été déterminée par dosage avec de l'hydroxyde de sodium 0,1 mol/L en présence de la phénolphtaléine comme indicateur coloré [16]. Les teneurs en sucres totaux et en matière sèche ont été déterminées respectivement selon les méthodes [17] et [18].

## 2.7 ANALYSES ORGANOLEPTIQUES

Les caractéristiques organoleptiques ont pris en compte : le goût et l'arôme des échantillons. Cette évaluation a été faite grâce à un panel de trente (30) dégustateurs composé de consommateurs de tchakpalo interrogés sur les lieux de production.

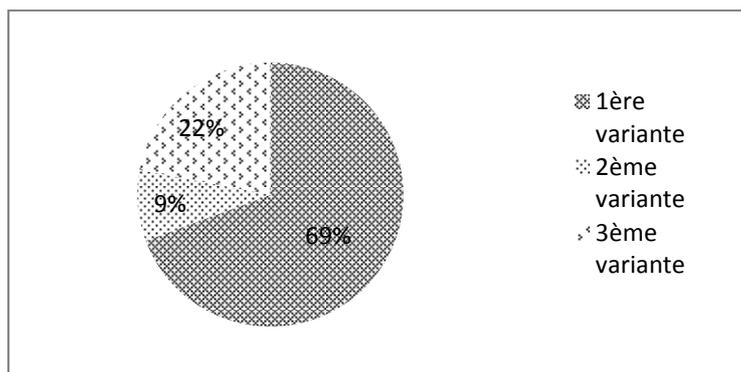
## 2.8 ANALYSES STATISTIQUES

Les résultats ont été organisés à l'aide du classeur Microsoft Excel 2007 et traités avec le logiciel Minitab 16. Ces derniers ont servi à l'analyse des données pour la comparaison des moyennes et pour l'analyse de la variance (ANOVA). Le test a été considéré statistiquement significatif si  $p < 0,05$ .

# 3 RESULTATS

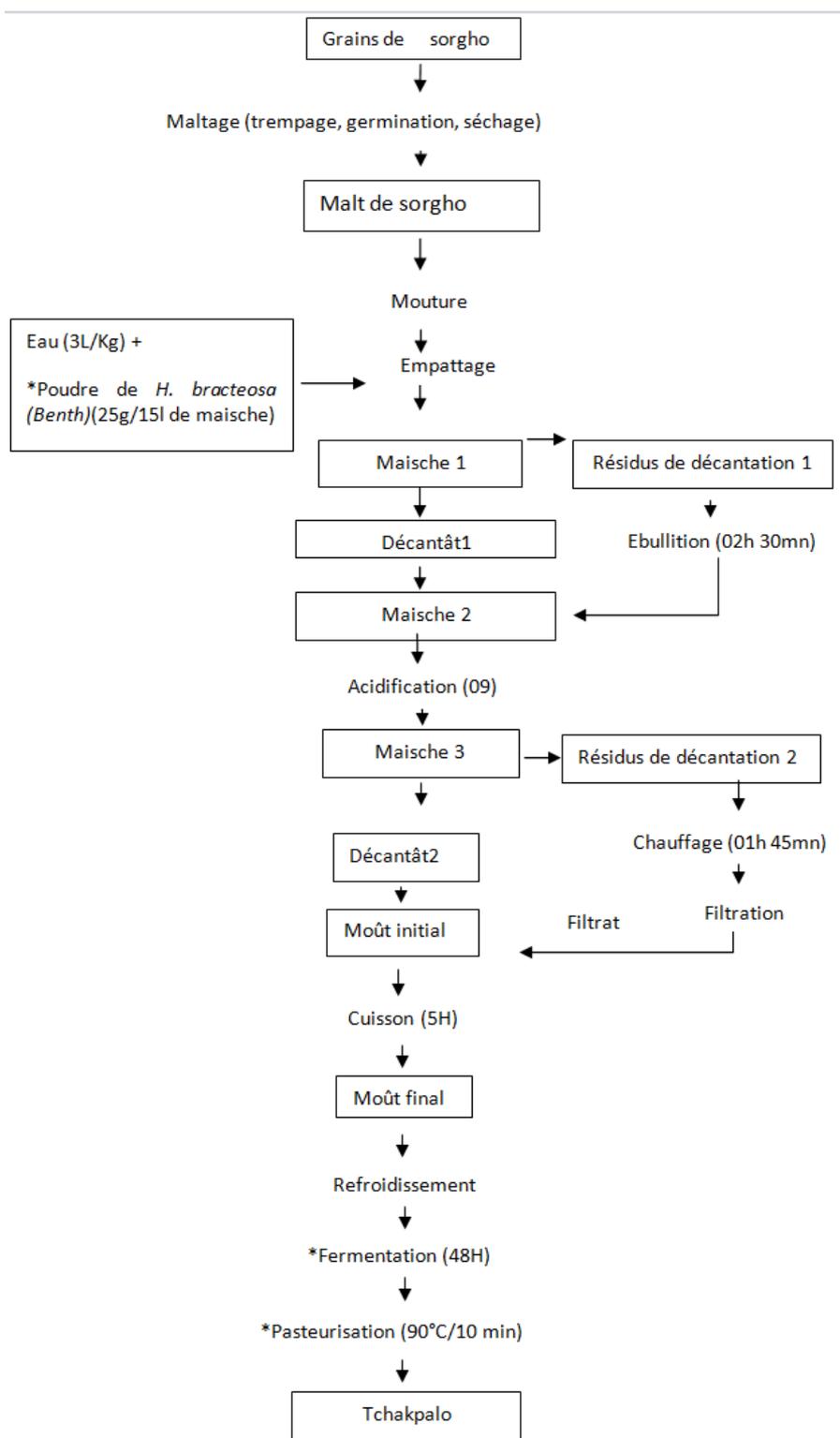
## 3.1 TECHNOLOGIE DE PRODUCTION DU TCHAKPLO

A l'issue de l'enquête, trois différents procédés ont été obtenus: le diagramme technologique traditionnel (1<sup>ère</sup> variante), le diagramme technologique traditionnel modifié (2<sup>ème</sup> variante) et le diagramme technologique en zone urbaine (3<sup>ème</sup> variante). La figure ci-dessous présente le spectre de répartition des différents diagrammes de production du tchakpalo.



**Fig. 1. Spectre de répartition des différents diagrammes de production du tchakpalo**

La figure 1 montre la répartition des différents procédés de production du tchakpalo. Ces résultats révèlent que 69% des femmes productrices du tchakpalo au Bénin utilisent le diagramme technologique traditionnel tandis que 9% et 22% utilisent respectivement le diagramme de production en zone urbaine et celui de production traditionnelle modifiée. Le diagramme traditionnel (1<sup>ère</sup> variante (figure 2)) a été retenu comme variante type de production de la boisson compte tenu de son originalité et du grand nombre de femmes qui l'utilisent dans les zones d'origine de la boisson. Ce diagramme est similaire à celui rapporté par [19] au Bénin, et s'apparente également aux technologies rapportées par [20], [21], et [22] respectivement sur le doro du Zimbabwe, le Bili-bili du Tchad et le Ikagage du Rwanda.



\*Concerne les opérations du diagramme amélioré de production du tchakpalo.

Fig. 2. Diagramme traditionnel amélioré de production du tchakpalo

### 3.2 ANALYSE PHYTOCHIMIQUE DE *HEMIZYGIA BRACTEOSA* (BENTH)

Les résultats de l'analyse phytochimique sont présentés dans le tableau 2. Il ressort de l'analyse de ce tableau que sept groupes de composés chimiques ont été identifiés. Il s'agit des tanins, des tanins catéchiques, des flavonoïdes, des anthocyanes, des leucoanthocyanes, des saponosides, et des mucilages. Les dérivés quinoniques n'ont pas été retrouvés dans cette plante. L'abondance en principes actifs de cette plante lui confère des propriétés pharmacologiques remarquables, ce qui pourrait justifier les multiples indications thérapeutiques pour lesquelles elle est utilisée et son intérêt pour cette étude.

Tableau 2. Grands groupes chimiques de *Hemizygia bracteosa* (Benth)

Groupes chimiques	Résultats
Tanins	+
Tanins catéchiques	+
Flavonoïdes	+
Anthocyanes	+
Leucoanthocyanes	+
Dérivés quinoniques	-
Saponosides	+
Mucilages	+

+ = Présence ; - = absence

### 3.3 MOISSURES IDENTIFIEES ET ACTIVITE ANTIFONGIQUE

Les analyses microbiologiques réalisées sur les boissons prélevées au cours de l'enquête ont permis d'isoler et d'identifier trois souches de moisissures à savoir : *Penicillium citrinum* Thom, *Penicillium italicum* Wehmer et *Aspergillus oryzae* (Ahlburg) Cohn. Les figures 3, 4 et 5 montrent les résultats de l'évaluation de l'activité antifongique de *H. bracteosa* (Benth) sur ces souches. Ces résultats révèlent que sur *Penicillium citrinum*, le taux d'inhibition décroît les quatre (04) premiers jours de 100% à 10% aux doses de 1,5 µL/mL et 1µL/mL et à 25% à la dose de 0,5µL/mL. Il croit les deux derniers jours de ces valeurs à 46,66% aux doses de 1et 1,5 µL/mL et à 33,33% à la dose de 0,5 µL/mL. Par contre, sur *Aspergillus oryzae*, quelle que soit la concentration testée, le taux d'inhibition est croissant les cinq (05) premiers jours où il atteint un pic de 65,20% avant de décroître à 35,89% le sixième jour. Sur *Penicillium italicum*, le taux d'inhibition est resté constant à 100% durant les six (06) jours d'expérimentation.

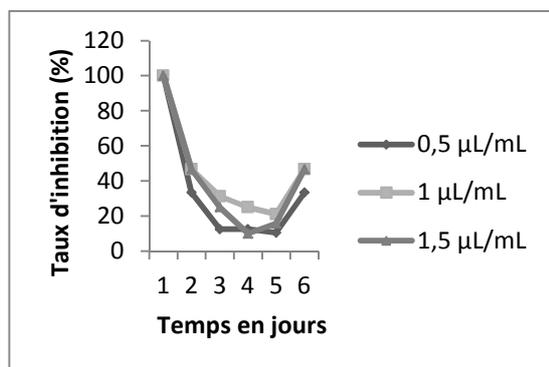


Fig. 3. Inhibition de *Penicillium citrinum* Thom en fonction du temps

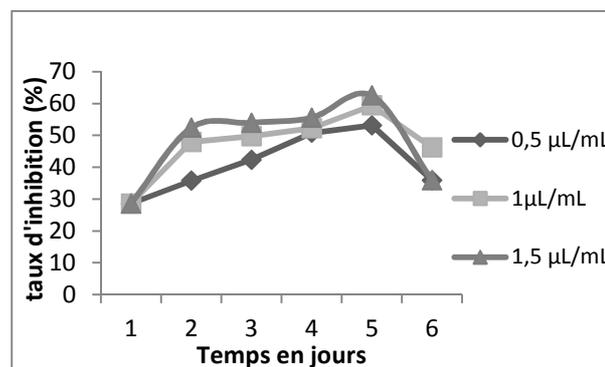


Fig. 4. Inhibition de *Aspergillus oryzae* (Ahlburg) Cohn en fonction du temps

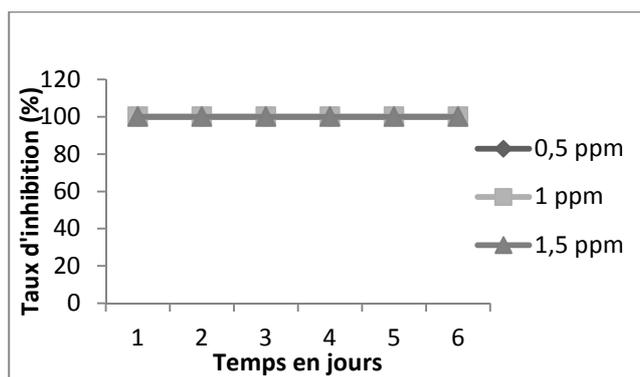


Fig. 5. Inhibition de *Penicillium italicum* Wehmer en fonction du temps

### 3.4 CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DU TCHAKPALO

Les résultats de l'évolution du degré Brix, des sucres totaux et du taux d'alcool des différentes fractions des échantillons sont mentionnés dans le tableau 3. On observe une augmentation considérable des taux de matières sèches solubles et des sucres totaux dans le résidu de décantation cuit ; soit 7,6% et 6,3% de matières sèches solubles dans le témoin et l'essai respectivement, puis de 7,4% et 5,9% de sucre dans les deux échantillons. Ces valeurs varient légèrement au cours des phases d'acidification et après la cuisson du moût ; on obtient une nouvelle augmentation de ces valeurs qui s'élèvent à 13,4% et 12,4% respectivement pour les mêmes échantillons. Ces taux sont de 10,4% et 10,1% dans ces mêmes échantillons pour le taux de sucres. La fermentation alcoolique finale du tchakpalo réduit fortement ces valeurs et permet d'obtenir des boissons avec des taux d'alcool respectifs de 9,2% et 6,5%.

Tableau 3. Caractéristiques physico-chimiques des échantillons

Paramètres	Phase liquide des fractions												
	MSH1	Dec1	Dec2	RD	RDC	MSH2	MSH3	Dec FA	RDFAC	Mo I	Mo F	T	
Brix (%)	T-	1,2±0,1a	00±0,1a	0,1±0,1a	1,2±0,1a	7,6±0,1a	6,5±0,1a	7,2±0,1a	6,6±0,1a	7,2±0,1a	7,0±0,1a	13,4±0,1a	12±0,1a
	T+	1,0±0,1a	00±0,1a	00±0,1b	0,8±0,1a	6,3±0,1b	5±0,1b	6,2±0,1b	5,8±0,1b	6,1±0,1b	6,0±0,1b	12,4±0,1a	11,5±0,1b
Ethanol (%)	T-	00±0,0a	9,2±0,5a										
	T+	00±0,0a	6,5±0,7a										
Taux de sucre (%)	T-	3,2±0,2a	3,3±0,2a	4,1±0,2a	4,4±0,2a	7,4±1,2a	8,2±0,2a	8,5±1,2a	8,3±1,3a	8,3±0,2a	8,4±2,2a	10,4±3,2a	6,5±1,4a
	T+	3,0±0,2a	3,1±0,2a	3,6±0,2a	3,9±0,2a	5,9±3,2a	6,7±0,2b	7,5±0,2a	7,5±0,4a	7,6±1,5a	7,6±1,2a	10,1±2,2a	5,6±3,2a

Les résultats portant la même lettre dans la même colonne pour le même paramètre ne sont pas significativement différents au seuil de 5% ( $p < 0,05$ )

Avec : T+ = Tchakpalo+ poudre de *Hemizygia bracteosa* ; T- = Tchakpalo sans poudre de H. b ; T+= Tchakpalo avec poudre de H.b. MSH1= maische fin empattage-macération ; Dec1= Décantât fin séparation ; Dec2= Décantât fin attente ; RD= Résidu de décantation ; RDC= Résidu de Décantation Fin Cuisson ; MSH2= Maische fin assemblage ; MSH3= Maische fin acidification ; DecFA= Décantat fin acidification ; DFAC= Résidu de Décantation Fin Acidification Cuisson ; MoI= Mout Initial; MoF= mout Final ; MoR= Mout Refroidi.

### 3.5 ANALYSES MICROBIOLOGIQUES AU COURS DES DIFFERENTES PHASES DE LA PRODUCTION

L'analyse microbiologique révèle une absence totale de *Staphylocoques* dans les différentes fractions lors de la production. Les coliformes totaux ont été dénombrés dans les moûts finaux au début de la fermentation et leur nombre est plus élevé (49ucf/ml) dans le moût témoin que dans celui de la boisson ayant reçu la poudre de *Hemizygia bracteosa* (Benth) (30ucf/ml), soit une inhibition de 61%. Il faut également noter que le nombre de colonies de coliformes totaux devient inférieur au seuil détectable vers la fin de la fermentation et après la pasteurisation.

Le tableau 4 montre que les moisissures sont quasi absentes dans les différentes fractions de l'échantillon additionné de la poudre mais se retrouvent dans les différentes fractions de l'échantillon témoin avec un taux d'inhibition de 100%, et sont éliminées par la pasteurisation. Il est également noté une absence totale de levures dans les différentes fractions des deux échantillons sauf dans le tchakpalo et lors de la fermentation où elles sont dénombrées et sont sans doute apportées par la fermentation naturelle qui se produit après l'obtention du moût final. Les germes aérobies mésophiles sont présents dans toutes les fractions des deux échantillons mais sont en nombre réduit dans les fractions de l'essai que dans le témoin avec un taux d'inhibition de 64%.

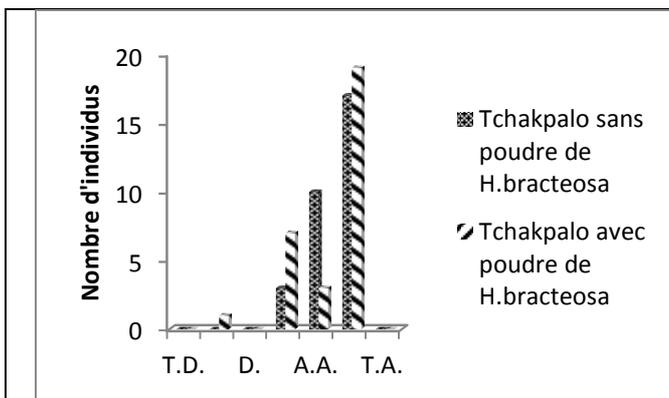
**Tableau 4. Evolution de la flore microbienne au cours de la production des différents échantillons de tchakpalo.**

Germes	F.A.M.T. 10 <sup>3</sup> . (UFC/ml)		Levures 10 <sup>3</sup> . (UFC/ml)		Moisissures 10 <sup>3</sup> . (UFC/ml)	
	Témoin	Essai	Témoin	Essai	Témoin	Essai
Farine	34		-		09	
MSH1	12	04	-	-	-	-
Dèc1	25	16	-	-	04	-
Dèc2	55	50	-	-	06	-
RD	30	15	-	-	01	-
RDC	02	-	-	-	02	-
wsMSH2	07	02	-	-	-	-
MSH3	48	30	-	-	-	-
DècFA2	255	130	-	-	03	-
RDFAC	04	-	-	-	-	-
MoI	124	95	-	-	01	-
MoF	07	-	-	-	-	-
tchakpalo	189	12	21	23	05	-
fermentation	> 300	> 300	> 300	> 300	10	-
Pasteurisation	-	-	-	-	-	-
Critères FAO/OMS	≤10 <sup>6</sup>		≤10 <sup>4</sup>		≤10 <sup>4</sup>	

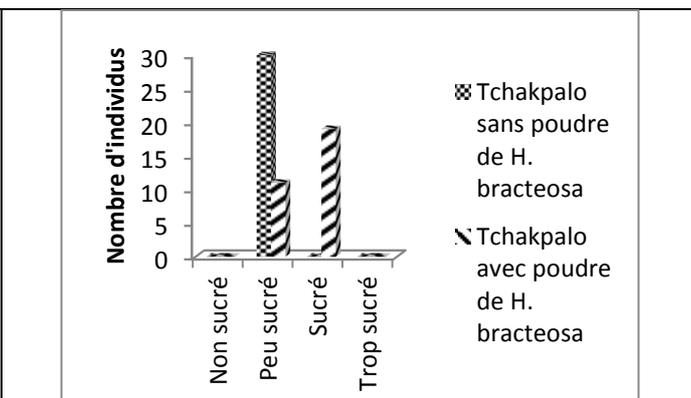
- =Absence, F.A.M.T.=Flore Aérobie Mésophile Total

**3.6 ANALYSES ORGANOLEPTIQUES**

Les résultats de l'analyse organoleptique sont représentés sur les figures 6 et 7. Il ressort de ces résultats que le tchakpalo témoin est légèrement sucré (100% des dégustateurs) alors que l'essai est sucré (63,33% des dégustateurs). 56,67% de dégustateurs apprécient l'arôme du tchakpalo témoin tandis que 63,33% apprécient celui de l'essai. En somme le tchakpalo additionné de la poudre de *Hemizygia bracteosa* (Benth) est mieux apprécié que le témoin.



**Fig. 6. Appréciation de l'arôme des échantillons de tchakpalo**



**Fig. 7. Appréciation du goût des échantillons de tchakpalo**

T.D. = Très Désagréable ; A.D. = Assez Désagréable ; D. = Désagréable ; I. = Indifférent ; A.A. = Assez Agréable ; A. = Agréable ; T.A. = Très Agréable

#### 4 DISCUSSION

L'extrait aqueux de *Hemizygia bracteosa* (Benth) détient, aux concentrations testées, une activité modérée sur *Penicillium citrinum* et *Aspergillus oryzae* mais une forte activité sur *Penicillium italicum* avec une concentration minimale inhibitrice inférieure à toutes les concentrations testées. L'augmentation du taux de réduction explique l'inhibition de la croissance mycélienne par l'extrait alors que la diminution de celui-ci traduit la croissance mycélienne de la moisissure testée [23]. Cette propriété inhibitrice que détient l'extrait sur ces moisissures pourrait être attribuée aux métabolites secondaires (polyphénols, anthocyanes ...) identifiés dans celui-ci, et qui agiraient par une action synergique, soit isolément [24], [25]. En effet, les extraits naturels de plantes contiennent une variété de composés phénoliques auxquels sont attribuées diverses activités biologiques [26]. Selon ces mêmes auteurs [26], l'activité antibactérienne sur *Staphylococcus aureus* des extraits organiques et de l'extrait aqueux, préparés à partir de la partie comestible de *Crataegus monogyna* pourrait s'expliquer par la présence de différents constituants, notamment les flavonoïdes, les tanins, les acides phénoliques, les terpènes et les pectines. Ces observations ont été confirmées par les résultats obtenus au cours de la production du tchakpalo car dans ces différentes fractions et pour tous les microorganismes dénombrés, on note une présence plus élevée des germes dans les fractions de l'échantillon témoin que dans celles de l'essai. Cela pourrait s'expliquer par le fait que la plante possède une propriété stabilisante. Cependant, on note une absence d'inhibition de la poudre de *Hemizygia bracteosa* (Benth) sur les levures ; ce qui représente un effet bénéfique pour la qualité organoleptique du tchakpalo. En effet, les études faites sur les bières traditionnelles de sorgho en Afrique de l'ouest montrent que ces boissons constituent un biotope complexe composé de plusieurs genres et espèces de levures jouant un rôle essentiel dans la qualité organoleptique finale du produit [27]. Dans ces types de boissons, les levures constituent la flore dominante [28]. Leur prédominance est probablement due au fait qu'elles sont apportées par inoculation du ferment traditionnel dans le moût sucré pour assurer la fermentation alcoolique [29],[30] alors que les bactéries lactiques sont apportées par l'environnement et le matériel utilisé. La qualité nutritionnelle de la bière produite dépend étroitement des conditions de fermentation du moût.

L'inhibition des coliformes vers la fin de la fermentation pourrait s'expliquer par l'action des levures et des bactéries lactiques qui secrètent des substances (alcool, acide lactique, acide acétique, diacétyl...), rendant ainsi le milieu défavorable à la multiplication de ces derniers [31], [32]. Ces résultats se rapprochent également de ceux obtenus par [33] qui ont noté une stabilité au niveau des bières additionnées d'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* à une concentration de 1ml/L. Cette stabilité des échantillons indique une inhibition de la flore d'altération et confirme l'efficacité de l'extrait de *Hemizygia bracteosa* (Benth) dans la conservation du tchakpalo. En effet, les risques inhérents à l'utilisation des produits chimiques de synthèse dans la lutte contre les pathogènes des denrées alimentaires sont manifestes et ces produits chimiques deviennent de plus en plus inefficaces avec le développement de souches résistantes [34]. Ainsi, l'utilisation des extraits de plantes (produits naturels) comme alternative efficace devient alors une urgence. Les extraits sont connus à la fois pour leurs propriétés aromatisantes et antimicrobiennes et les travaux [35] et [34] ont montré que leur pouvoir antimicrobien est essentiellement dû à leur composition chimique. Bien sûr ces résultats obtenus ne constituent qu'une première étape de recherche de produits antimicrobiens nouveaux et naturels à proposer en agro-alimentaire. Des essais complémentaires doivent pouvoir confirmer les performances mises en évidence. Connaissant la toxicité de certains extraits, ces essais doivent être complétés par des tests de toxicité primaire cutanée et des tests d'allergénicité.

#### 5 CONCLUSION

La présente étude a consisté à mettre en évidence le pouvoir conservateur de la poudre de *Hemizygia bracteosa* (Benth). Les résultats issus de ce travail révèlent que l'extrait aqueux de *Hemizygia bracteosa* (Benth) contient des composés chimiques qui lui confèrent ses propriétés antifongiques. L'adjonction de cette poudre au cours de l'empattage a permis de constater qu'elle a un effet sur les paramètres physico-chimiques et microbiologiques et permet d'obtenir une boisson légèrement sucrée, moins acide, avec un faible degré d'alcool.

#### REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient M. Christophe GBAGUIDI, Herboriste Phytothérapeute pour sa collaboration dans la collecte du matériel végétal utilisé au cours de cette étude. Ils remercient aussi M. CAKPO-CHICHI T. Martial pour sa contribution à l'amélioration du manuscrit.

## REFERENCES

- [1] A.P.P. Kayodé, J.D. Hounhouigan, M.J.R. Nout, and A. Niehof, "Household production of sorghum beer in Benin: technological and socio-economic aspects", *International Journal of Consumer Studies*, Vol. 33, pp. 258-264, 2007.
- [2] C. Konfo, E. Ahoussi-Dahouénon, P. Sessou, B. Yèhouénoù, S. Djènonatin, C. de Souza, and D. Sohounhloué, "Stabilization of Local Drink "Tchakpalo" produced in Benin by addition of Essential Oil Extracted from Fresh leaves of *Cymbopogon citrates*". *International Research Journal of Biological Sciences*, Vol. 1, pp. 40-49, 2012.
- [3] W.O. Jatto, and G.O. Adegoke, "Storage studies on cashew juice preserved with water extracted *Aframomum danielli*". *Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemist*, Vol. 9, pp.1351-1359, 2010.
- [4] P. Sessou, S. Farougou, and D. Sohounhloué, "Major component and potential applications of plant essentials oils as natural food preservatives: a short review research results", *International Journal of Biosciences*, Vol. 2, pp. 45-57, 2012.
- [5] S. A. Bankolé, "Effect of essential oil from Nigerian medicinal plants (*Azadirachta indica* and *Mrindalucida*) on growth and aflatoxin B1 production in maize grain by toxigenic *Aspergillus flavus*", *Letters in Applied Microbiology.*, Vol. 24, pp.190-192, 1997.
- [6] S. Burt, "Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods". *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 94, pp. 223-253, 2004.
- [7] W. Y. Tong, I. Darah, and Z. Latiffah, " Antimicrobial activities of endophytic fungal isolates from medicinal herb *Orthosiphon stamineus* Benth", *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 5, pp 831-836, 2011.
- [8] P. J. Houghton and A. Raman, "Laboratory handbook for the fractionation of natural extracts," New York, Ed Chapman and Hall, 208p, 1998.
- [9] NF V08-059, "Food Microbiology. Enumeration of Yeasts and Molds by Counting Colonies at 25°C", Routine method, 2002.
- [10] A. Samson, E. Hoekstra, J. C. Frisvad, and O. Filtenborg, "Introduction to food-borne fungi," Central bureau voor Schimmel cultures, 322p, 1995.
- [11] J.I. Pitt and A.D. Hoking, " Fungi and Food Spoilage", Blackie Academic & Professional, London- Weinheim-NewYork-Tokyo-Melbourne- Madras, 1997.
- [12] B. Yèhouénoù, V. Wotto, H. Bankolé, P. Sessou, J.P. Noudogbèssi, and D. Sohounhloué, "Chemical study and antimicrobial activities of volatile extracts from fresh leaves of *Crassocephala lumrubens* (Juss & Jack) S. Moore against food-borne pathogens", *Scientific Study & Research*. Vol. 11, pp.343- 351, 2010.
- [13] NF V08-051, "Food Microbiology. Enumeration of Microorganisms by Counting the Colonies Obtained at 30°C", Routine method, 1999.
- [14] NF V08-050, "Food microbiology. Coliform counts by counting the colonies obtained at 30°C", Routine method, 1999.
- [15] NF EN ISO 6888-1/A1, "Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) " - Partie 1 : technique utilisant le milieu gélosé de Baird-Parker-Amendement 1 : inclusion des données de fidélité, 2004.
- [16] AOAC, "Official methods of analysis" 17th edition Arlington Washington D.C., pp 882-883, 1990.
- [17] M. Dubois, K. Gilles, J. Hamilton, P. Rebers and F. Smith, "Colorimetric method for determination of sugar and related substances", *Anal. Chemical*, Vol. 28, pp. 350-356, 1965.
- [18] AOAC, Official methods of analysis, "18 th edition Arlington", Washington", 16p.
- [19] A.D. Atègbo, "Contribution à l'étude Biochimique et technologique du chakpalo. Influence de quelque paramètre sur la qualité et l'aptitude à la conservation de cette boisson », Thèse d'ingénieur agronome, Faculté des Sciences agronomique (FSA), Université d'Abomey-Calavi, Abomey –calavi, 83p, 1985.
- [20] A.T. Chamunorwa, S.B. Feresu and A.N Mutukumira, "Identification of lactic acid bacteria isolated from opaque beer (Chibuku) for potential use as a starter culture", *The Journal of Food Technology in Africa*, Vol. 7, pp. 93-97, 2002.
- [21] N. Maoura, M. Mbailao, C. Gaillardin et J.I.X, "Pourquoi suivi technique, analytique et microbiologique de la « bilibili », bière traditionnelle tchadienne" *Journal Afrique Science*, Vol 2, pp69 – 82, 2006.
- [22] F. Lyumugabe, G. Kamaliza, E. Bajyana and P.H. Thonart, "Microbiological and physico-chemical characteristic of Rwandese traditional beer "Ikigage", *African Journal of Biotechnology*, Vol. 9, pp .4241-4246, 2010.
- [23] Y.A. Koudoro, G.A. Alitonou, J. Sossou-Dangou, B. Yèhouénoù, F. Avlessi, C. Menut and D. Sohounhloué, "Chemical Composition and biological activities of essential oil from Benin *Diplolophium africanum* Turez stem leaves", *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, Vol. 32, pp 1-8, 2011.
- [24] S.G. Deans, G. Ritchie, "Antibacterial properties of plant essential oils", *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 5, pp. 165-180, 1987.
- [25] V.K. Bajpai, A. Rahman, S.C. Kang, "Chemical composition and inhibitory parameters of essential oil and extracts of *Nandina domestica*. Thumb to control food-borne pathogenic and spoilage bacteria", *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 125, pp. 117-122, 2008.

- [26] W. Bouzid, M. Yahia, M. Abdeddaim, M.C. Aberkane et A. Ayachi, "Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de *Aubepine Monogyne*", *Lebanese Science Journal*, Vol. 12, pp. 59-69, 2011.
- [27] F. Lyumugabe, J. Gros, J. Nzungize, E. Bajyana, and P. Thonart "Characteristics of African traditional beers brewed with sorghum malt: a review", *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, Vol. 16, pp. 509-530, 2012.
- [28] D.R. Djoulde, "Mise au point d'un ferment mixte destiné à la bioconversion des tubercules de manioc cyanogène". Thèse de doctorat/Ph.D, Ecole Nationale Supérieure des Sciences Agro-industrielles (ENSAI) de l'université de Ngaoundéré, Cameroun, 234p, 2004.
- [29] A. K. Yao, N. Kadio, A. Coulibaly and G. N. Agbo, "In processing and industrial utilization of sorghum and related cereal in Africa", Proceeding of the OUA/STRCSAFGRAD Regional symposium, Ouagadougou, Burkina Faso, pp. 55-60, 1995.
- [30] A. K. N'da et S. Coulibaly, "Etude comparative de procédés traditionnels de préparation d'une bière locale appelée tchapalo", 2ème journées annuelles de la SOACHIM, Dakar-Sénégal, pp. 40-46, 1996.
- [31] D. J. Hounhouigan, "Fermentation of maize (*Zea mays L.*) meal for mawè production in Benin", Thesis Wageningen, 99p, 1994.
- [32] S. Haggblade and H. Holzapfel, "Industrialization of Africa's indigenous beer brewing". In: Streinrous K.H. Industrialization of indigenous fermented foods. (2<sup>nd</sup> ed). New York, USA: CRC Press, 2004.
- [33] E. Dahouénon-Ahoussi, R.G. Dègnon, E.S. Adjou et D.C.K Sohounhloué, "Stabilisation de la bière produite à partir de matières amylacées locales (*Sorghum bicolor* et *Musa acuminata*) par adjonction de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*", *Journal of Applied Biosciences*, Vol. 51, pp. 3596 -3607, 2012.
- [34] B. Yèhouénou, J.P. Noudogbèssi, P. Sessou, F. Avlessi et D. Sohounhloué, "Etude chimique et activités antimicrobiennes d'extraits volatils des feuilles et fruits de *Xylopiæ aethiopicæ* (Dunal) A. Rich. contre les pathogènes des denrées alimentaires". *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, Vol. 029, pp 19-27, 2010.
- [35] E. Dahouénon-Ahoussi, P. Sessou, V. Wotto, B. Yèhouénou, E. Kinsoudé, B. Kpatinvoh, M. Soumanou et D. Sohounhloué, "Mise au point d'une technologie de production d'une boisson "Africa Drink" à base de Menthe poivrée et de Menthe vert", *Bulletin de la Société Ouest Africaine de Chimie*, Vol. 45, pp. 98-103, 2010.