### UNIVERSITÉ CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR



École doctorale : Santé, Vie, Environnement

### FACULTÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES

Année: 2020 N° d'ordre: 202007

#### THÈSE DE DOCTORAT UNIQUE

Spécialité: Chimie et Biochimie des Produits Naturels Présentée par

#### Aïssatou Alioune GAYE

Étude phyto et biochimique de trois variétés de Carica papaya L. cultivées au Sénégal : Potentiel de valorisation de leurs sous-produits

Soutenue publiquement le 31 Octobre 2020 devant le jury composé de :

Présidente Mme Moussoukhoye Sissokho DIOP Professeur Titulaire, FST/UCAD

Rapporteurs M. Mady CISSÉ Professeur Titulaire, ESP/UCAD

M. Moussa NDONG Maître de conférences, UGB

M. Cheikhou KANE Maître de conférences ESP/UCAD

Examinateurs M. Issa SAMB Maître de conférences, SATIC/UAD

M. Bassirou NDOYE Maître de conférences, USSEIN

Directeur de Thèse M. Nicolas AYESSOU Maître de conférences, ESP/UCAD

La théorie, c'est quand on sait tout et que rien ne fonctionne. La pratique, c'est quand tout fonctionne et que personne ne sait pourquoi.

Ici, nous avons réuni théorie et pratique : Rien ne fonctionne... et personne ne sait pourquoi!

Albert Einstein

## In memoriam

À mon grand-père feu Alioune Gaye À mon grand-père feu Bassirou Seck À mon oncle feu Magatte Gaye À ma grand-mère feue Adja Ndiéréby Kane À mon oncle feu Médoune Gaye Et son épouse feue Fatou Dianko À mon oncle feu Abdourakhmane Gaye À ma grand-mère feue Astou Dial Bousso À ma grand-mère Ndèye Fatou Kane À ma tante feue Catherine Duchesse Diagne À ma tante feue Oulimata Lo À ma tata feue Ndèye Fatou Seck À vous tous partis trop tôt, Que votre lumière continue d'éclairer la route De ceux que vous avec laissés derrière vous. Amine.

## Remerciements

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été menés en alternance entre le Centre d'Études Alimentaire et les Molécules Fonctionnelles (CESAM) de l'École Supérieure Polytechnique de l'Université Cheikh Anta DIOP de Dakar (Sénégal) et du Département de Chimie de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université Cheikh Anta DIOP de Dakar (Sénégal). Ces travaux ont été dirigés par Monsieur Nicolas AYESSOU, Professeur au département de Génie Chimique de l'École Supérieure Polytechnique de l'Université Cheikh Anta DIOP de Dakar.

Je tiens à lui exprimer tous mes remerciements pour m'avoir permis de mener cette thèse à bon port en m'encourageant fréquemment et surtout pour la confiance qu'il m'a accordée tout au long de ces années de formation. Je voudrais vous exprimer toute ma reconnaissance pour la rigueur, les conseils et surtout pour le temps que vous avez pris pour lire et corriger ce manuscrit. Vos multiples compétences m'ont permis d'associer la biochimie, la chimie, la chimie analytique et les applications industrielles. Que le TOUT PUISSANT vous garde aussi longtemps que possible avec une santé infaillible pour vous et pour toute votre famille.

Je remercie très chaleureusement le Professeur Alassane SY, Directeur de l'UFR SATIC et le Professeur Issa SAMB, Chef du Département de Chimie de l'UFR SATIC de l'Université Alioune DIOP de Bambey qui m'ont autorisée à bénéficier des vendredis pour pouvoir venir effectuer mes travaux à Dakar. Sans leur compréhension, cette thèse aurait eu beaucoup de mal à se faire. Merci chers Professeurs.

Mes remerciements vont également à l'endroit du Professeur Ousmane DIOUF Chef du Département de Chimie de la Faculté des Sciences et Techniques (UCAD) qui m'a permis de suivre toutes les formations sur les appareils nouvellement acquis par le Département de Chimie et qui m'a autorisée à effectuer toutes les analyses dont j'ai eu besoin.

Mes remerciements vont également à l'endroit du professeur Moussoukhoye Sissokho DIOP pour avoir bien voulu présider ce jury malgré son emploi du temps chargé. Nous la remercions particulièrement de nous avoir fait bénéficier de sa grande expérience et de ses multiples conseils.

Notre reconnaissance va également à l'endroit du professeur **Mady CISSÉ**, de **l'ESP** qui intervient en tant que rapporteur. Nous vous remercions de nous avoir fait bénéficier de vos conseils éclairés.

Monsieur, Moussa NDONG, Professeur à l'Université Gaston Berger de Saint-Louis, qui

a accepté de participer à ce jury en qualité de rapporteur externe. Nous lui exprimons toute notre gratitude.

Nos remerciements vont à l'encontre de Monsieur Cheikhou KANE, professeur à l'ESP qui a pris de son temps précieux pour évaluer ce rapport.

Monsieur, Issa SAMB, Professeur à l'Université Alioune DIOP de Bambey, qui a accepté de participer à ce jury en qualité d'examinateur. Nous le remercions profondément.

Monsieur, Bassirou Ndoye, Professeur à l'Université du Sine Saloum El Hadj Ibrahima Niasse, qui a accepté de participer à ce jury en qualité d'examinateur. Nous le remercions particulièrement pour sa contribution et le bénéficie de sa grande expérience.

#### Je remercie très sincèrement :

- 🖊 Tous les membres du laboratoire CESAM
- **↓** Tous les docteurs et doctorants pour leur soutien, leur disponibilité et leurs conseils.
- ♣ Tous mes camarades des différents laboratoires de l'UCAD pour tous les séjours agréables lors des rencontres de la SOACHIM et du CSC
- **♣** Tous ceux qui m'ont encouragée et soutenue.
- **↓** Tout le personnel du CESAM que j'ai côtoyé pendant tout le temps.
- ♣ Tout le personnel du département de chimie et de la scolarité de la Faculté des Sciences et Techniques de l'UCAD.
- ♣ Tout le personnel de l'Université Alioune DIOP de Bambey pour l'ambiance chaleureuse de travail.

#### À ma famille,

Je tiens vous remercier pour votre soutien et pour avoir été présents à mes côtés tout au long de mes années d'études même pendant les moments de doute et de peur. Sachez que vos encouragements et votre réconfort m'ont permis d'arriver à achever cette thèse. Je vous en remercie sincèrement.

A mère, merci d'avoir toujours été présente et d'avoir su trouver les mots pour me remonter le moral chaque fois que tu détectais le stress en moi. Ton aide maternelle précieuse et ton soutien tout au long de ces années m'ont permis de tenir. Bien qu'il soit impensable de compenser l'amour d'une mère, je te dis avec toute la puissance de mon cœur que je t'aime maman.

À ma tante Aminata GAYE qui passe chaque vendredi matin au laboratoire pour s'enquérir de l'état d'avancement de mes travaux. Merci Tata pour ton soutien et ta sollicitude.

Je tiens à adresser une attention toute particulière à mon père. Je te dis simplement merci

papa et merci pour m'avoir accompagnée durant toutes mes études.

#### À mes amis,

Mes années d'étude m'ont donné l'occasion de rencontrer des personnes merveilleuses avec qui j'ai vécu des moments inoubliables, que ce soit dans les locaux de l'Université ou en dehors des cours.

Merci à Ariane, Éva, Solène, Bénédicte et Gwen mes amies de la première heure ; on en a passé des heures à comprendre l'utilité de la Biochimie.

Merci à Adeline et Marion mes deux grandes amies avec qui le contact est resté permanent, malgré les milliers de kilomètres qui nous séparent.

Merci à Djiby Lo, Mamour Sarr, Modou Lo, Cheikh Ndoye, Yaye Seybatou et tous les membres de la LCCO pour ces merveilleux moments passés.

Merci pour tous ces moments merveilleux et pour le soutien dans mes moments de stress.

# Abrébiations

°C degré Celsius

μL microlitre

A Adénine

Å Angstrom

**ABTS** acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

**ACP** Acyl Carrier Protein

**ADN** Acide désoxyribonucléique

**ADP** Adénosine diphosphate

**AMP** Adénosine Monophosphate

**ARN** Acide ribonucléique

**ARNm** ARN messager

**ARNmi** ARN micro

**ARNr** ARN ribosomique

**ARNsn** ARN nucléaires

**ARNt** ARN de transfert

atm Atmosphère

**ATP** Adénosine triphosphate

**BM** Bleu de Méthylène

C Cytosine

**CAT** Capacité Antioxydante totale

**CDK** Cyclin dependant kinase

CFI Cleavage factor I

**CFII** Cleavage factor II

**CG** Corps gras

CI50 Concentration inhibitrice à 50%

**CoASH** Coenzyme A

**CPG** Chromatographie en Phase Gazeuse

**CPSF** cleavage and polyadenylation specificity factor

**CS** Concentration en saponines

**CstF** Cleavage Stimulating Factor

**CTD** C-terminal domain

CTF Concentration totale en flavonoïdes

CTP Concentration totale en polyphénols

CTPa Concentration totale en proanthocyanidines

**CUPRAC** CUPric Reducing Antioxidant Capacity

**Da** Dalton

**DPPH** 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

**DRB** 5,6-Dichloro-1-β-d-ribofuranosylbenzimidazole

**DRX** Diffraction aux rayons X

**DSC** Differential Scanning Calorimetry**DSIF** DRB Sensitivity Inducing Factor

**EAe** Équivalent aescine

**EAG** Équivalent acide gallique

**EC** Équivalent catéchine

**EDX** Energy-dispersive X-Ray

**EP** Épluchures

EQ Équivalent quercétine ETr Équivalent TROLOX

**FAD** flavine adénine dinucléotide

FAO Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

**FB** Fuchsine Basique

FT-IR Fourier Transform InfraRed spectroscopy

G Guanineg gramme

g/L gramme par litre

**GCP** Graine de *Carica papaya* 

GCPD Graine de Carica papaya délipidée

**GDP** Guanosine diphosphate

**GRD** Graines délipidées

**GTP** Guanosine triphosphate

IR Infrarouge

**IUCN** International Union for Conservation of Nature

J Joules

**JF** Jeunes feuilles

**kV** kilovolts

L litres

M molaire (mol par litre)

mA milliampères mg milligramme

mg/L milligramme par litre

mg/mL milligramme par millilitre

mL millilitre

**mM** millimolaire (mmol par litres)

mm millimètreN Normalité

**NAD** nicotinamide adénine dinucléotide

**NADPH** nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

**NELF** Negative Elongation Factor

nm nanomètre

**PABP** Poly (A) Binding Protein

PAP Polymerase poly APC Pouvoir calorifique

**PPi** Pyrophosphate

**P-TEFb** Positive Transcription Elongation Factor

PZC Point Zero Charge rpm rotations par minute

**SAA** Spectromètre d'absorption atomique

SAM S-Adénosyl Méthionine SDS Sodium Dodécyl Sulfate

**SEM** Scanning electron microscopy

TBP TATA binding proteinTF Transcription factor

**TROLOX** acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylique

U Uracile

UV Ultraviolet

VF Vieilles feuilles λ longueur d'onde

# Liste des figures

Figure 1: Classification phylogénétique simplifiée des Caricacées	7
Figure 2 : Plant de papayer et fruits © Aïssatou A. GAYE	8
Figure 3 : fruits et Graines de Carica papaya L. © AAG	9
Figure 4: Métabolisme du Carbone conduisant à la synthèse des métabolites secondaire	es [22]
	13
Figure 5 : Structures de certains composés alcaloïdes	14
Figure 6 : Structure des alcaloïdes vrais (a), proto-alcaloïdes (b) et pseudo-alcaloïde (c)	15
Figure 7: Structures de certains composés terpéniques	16
Figure 8 : Structures du Spirostane et de ses dérivés	17
Figure 9 : Structures de quelques saponines stéroïdiques	18
Figure 10 : Structuration des saponines triterpéniques et exemples	19
Figure 11 : Classification des Polyphénols Naturels	20
Figure 12: L'acide benzoïque et ses dérivés	20
Figure 13 : L'acide cinnamique et ses dérivés	21
Figure 14 : Structure de base des flavonoïdes	22
Figure 15 : Structure de base des chalcones et exemple	22
Figure 16 : Squelette de base des flavanones	23
Figure 17 : Squelette des flavonols et exemple	24
Figure 18 : Structure des Flavan-3-ols et exemples	25
Figure 19 : Structures des anthocyanines et exemples	26
Figure 20 : Structures d'anthocyanines glycosylées	27
Figure 21 : Structures de certains tanins hydrolysables	28
Figure 22 : Synthèse des grandes lignes de la biosynthèse des polyphénols	30
Figure 23 : Biosynthèse des acides hydroxycinnamiques	31
Figure 24 : Biosynthèse des flavonoïdes	32
Figure 25 : Formation de la liaison peptidique	40
Figure 26 : Structuration d'une chaîne polypetidique	40
Figure 27 : Liaison peptidique des acides aminés	42
Figure 28 : Code génétique	44
Figure 29 : Structure cristalline de TBP/TATA-box de la levure (RSCB : 1YTB) [39]	46

Figure 30 : Structure de la coiffe en 5'	48
Figure 31 : Reconaissance intron/exon par le spliceosome	49
Figure 32 : Mécanisme d'export des ARNm d'après M. Miller – MeNicoll et al. [41]	50
Figure 33 : Reconnaissance codon-anticodon	52
Figure 34 : Modèle de circularisation de l'ARNm lors de l'initialisation	53
Figure 35 : Synthèse de la liaison peptidique par la peptidyltransfèrase	54
Figure 36 : Glycérol	56
Figure 37 : structure générale des MG	57
Figure 38 : Structure de base des DG	57
Figure 39 : Structure des TG	57
Figure 40 : Structure des GPL	58
Figure 41 : Structure de la sphingosine	58
Figure 42 : Structure des céramides	59
Figure 43 : Structure de la sphingomyéline	59
Figure 44 : Structure d'un cérébroside	60
Figure 45 : Structure du cholestérol	60
Figure 46 : Relation entre Anabolisme et Catabolisme des acides gras	61
Figure 47 : Activation des AG	62
Figure 48 : Fonctionnement de la navette carnitine	63
Figure 49 : Dégradation des AcylCoA en AcétylCoA	64
Figure 50 : Isomérisation des doubles liaisons cis	65
Figure 51 : Processus d'isomérisation de plusieurs doubles liaisons	65
Figure 52 : Structures ACP et Coenzyme A	66
Figure 53 : Export de l'acétylCoA vers le cytoplasme via la navette citrate	67
Figure 54 : Carboxylation de l'acétyl-CoA en malonyl-CoA	68
Figure 55 : Synthèse du palmitate	69
Figure 56 : Synthèse du Stéaryl-CoA à partir du palmitate	70
Figure 57 : Classification des Glucides	71
Figure 58 : Cyclisation des oses	72
Figure 59 : Phénomène de mutarotation	72
Figure 60 : Exemples d'oligosaccharides	73
Figure 61 : Structuration du glycogène	74
Figure 62 : Exemples d'osamines	74
Figure 63 : Structure de l'acide glucuronique	74

Figure 64 : Exemples de polyols	75
Figure 65 : Mécanisme de la glycolyse	76
Figure 66 : Première réaction de la néoglucogenèse	76
Figure 67 : Conversion du Fructose-1,6-bisphosphate	77
Figure 68 : Isomérisation du Glucose-6-phosphate	77
Figure 69 : Organes de papayer étudiés . © AAG	78
Figure 70 : Appareillage UV-Visible Lambda 365 . © AAG	80
Figure 71 : Mécanisme d'action du radical ABTS <sup>+</sup>	82
Figure 72 : Montage de l'extraction au Soxhlet . © AAG	84
Figure 73 : Bombe calorimétrique Parr . © AAG	88
Figure 75 : Méthode d'extraction des protéines	91
Figure 76 : Colonne de Chromatographie © AAG	93
Figure 77 : Appareillage Électrophorèse © AAG	94
Figure 78 : Structures chimiques des colorants testés où (A) est le bleu de méthylène et	(B) la
fuchsine basique.	99
Figure 79 : Spectromètre d'absorption atomique © AAG	100
Figure 80 : Optimisation des paramètres d'extraction des polyphénols	101
Figure 81 : Structure du complexe Cuivre-Néocuproïne	106
Figure 82 : Structure du TROLOX	106
Figure 83 : Mécanisme d'action du radical DPPH•	107
Figure 84: Évolution de l'activité antioxydante des extraits aqueux des différents organ	es de
papayer. (A : Variété 1 ; B : Variété 2 ; C : Variété 3)	110
Figure 85 : Évolution de l'activité antioxydante avec le radical ABTS*+ (A : Variété 1	; B:
Variété 2; C: Variété 3)	114
Figure 86 : Spectre IR de l'huile de la variété 2	118
Figure 87 : Cinétique réactionnelle de l'huile de Carica papaya par le radical DPPH•	120
Figure 88 : Chromatogramme de l'huile de Carica papaya V1	121
Figure 89 : Chromatogramme de l'huile de Carica papaya V2	122
Figure 90 : Formes polymorphiques suivant la température.	125
Figure 91 : Thermogramme du comportement de l'huile de la variété I de Carica Papay	va.126
Figure 92 : Structures des stérols rencontrés dans l'huile de papaye	128
Figure 93 : IR Globuline	133
Figure 94 : IR Albumine	134
Figure 95 : Chromatogrammes de suivi de l'élution des fractions protéiques sur Sepha	ıdex

G100	136
Figure 96: Chromatogrammes de suivi de l'élution sur DEAE-Sephadex	138
Figure 97 : Électrophorèse des protéines. Alb : Albumines; Glb : Globulines	140
Figure 98 : Courbes de titrage des protéines par HCl : mesure du pH et de la conduc	ctivité142
Figure 99 : Spectres UV des protéines selon le pH	145
Figure 100 : Évolution de la longueur d'onde en fonction du pH	147
Figure 101 : Spectres FT-IR de graines de Carica papaya non délipidées (GCP)	ND) (a),
graines de Carica papaya délipidées (GCPD) (b) GCPD chargées de BM (c), GCP	D chargées
de FB (d).	151
Figure 102 : Diagramme DRX du GCPD	152
Figure 103 : Image de la microscopie électronique à balayage de GCPD à di	vers
grossissements	153
Figure 104 : Distribution des éléments chimiques	154
Figure 105 : Détermination du point zéro charge de GCPD	155
Figure 106 : Optimisation du temps pour l'élimination des colorants	156
Figure 107 : Optimisation de la dose d'adsorbant pour l'élimination des colorants	157
Figure 108 : Optimisation du pH pour l'élimination des colorants	158
Figure 109 : Modèle cinétique du pseudo-premier ordre pour BM	161
Figure 110 : Modèle cinétique du pseudo-premier ordre pour FB	161
Figure 111 : Modèle du pseudo-second ordre pour BM	162
Figure 112 : Modèle du pseudo-second ordre pour FB	163
Figure 113 : Modèle de diffusion intraparticulaire pour BM	164
Figure 114 : Modèle de diffusion intraparticulaire pour FB	164
Figure 115 : Elovich pour BM	165
Figure 116 : Elovich pour FB	166
Figure 117: Isothermes d'adsorption des colorants BM et FB	169
Figure 118 : Effet du temps de contact sur la capacité d'adsorption de FCP	172
Figure 119 : Effet de la dose d'adsorbant sur la capacité d'élimination des ions m	étalliques
	173
Figure 120 : Effet de la concentration initiale des métaux sur la capacité d'adsorpti	on de FCP
	174
Figure 121: Modèles cinétiques des quatre métaux	179
Figure 122 : Isothermes d'absorption des métaux	184

# Listes des tableaux

Tableau 1 : Les genres de Caricacées et quelques exemples d'espèces	8
Tableau 2 : Composition de la pulpe de papaye crue [16]	10
Tableau 3 : Formation des tanins condensés à partir de ces quatre polyflavonoïdes	29
Tableau 4 : Classification des protéines	34
Tableau 5 : Classification des protéines selon le groupement prosthétique	35
Tableau 6 : Liste des 20 acides aminés	36
Tableau 7 : Structure des acides aminés classés en fonction de leur propriété chimique	37
Tableau 8 : pKa des fonctions ionisables de certains acides aminés	41
Tableau 9 : Flottement de l'appariement codon-anticodon	52
Tableau 10 : Exemples d'acides gras associés aux membranes cellulaires [49]	56
Tableau 11 : Conditions d'analyse des acides gras en CGP-FID.	89
Tableau 12 : Conditions d'analyse des stérols en CGP-FID	90
Tableau 13 : Protocole de mise en œuvre de l'étude des protéines par Spectrophotométrie	UV.
	96
Tableau 14 : Contenu total en polyphénols des 3 variétés de papaye étudiées	102
Tableau 15 : Contenu total en flavonoïdes des trois variétés de papaye étudiées	103
Tableau 16 : Contenu total en proanthocyanidines des 3 variétés de papaye étudiées	104
Tableau 17 : Contenu total en saponines des trois variétés de papayer	105
Tableau 18 : Capacité antioxydante totale de trois variétés de papayer par la méthodo	e
CUPRAC	107
Tableau 19 : Capacité antioxydante des trois variétés de papayer par le radical DPPH•	108
Tableau 20 : Capacité antioxydante totale de trois variétés de papayer par le radical AB	TS*+
	111
Tableau 21 : CI50 totale de trois variétés de papayer par le radical ABTS*+	112
Tableau 22 : Teneur en lipides des graines de Carica papaya et taux d'humidité des hui	iles.
	115
Tableau 23 : Différentes huiles	117
Tableau 24 : Composition en acides gras des huiles de papaya des variétés 1 et 2	123
Tableau 25 : Teneurs des différents phytostérols exprimées en mg.100 g <sup>-1</sup> d'huile	127
Tableau 26 : Contenu en protéine (mg/g) de poudre de graines déshuilées	130

Tableau 27 : Profils des acides aminés dans les différentes fractions extraites de la graine.	131
Tableau 28 : Résumé des résultats pour la Gel-filtration	135
Tableau 29 : Résumé des résultats pour la Chromatographie échangeuse d'ions	137
Tableau 30 : Groupes acides/g de protéines et protéines/groupes acides	143
Tableau 31 : Paramètres cinétiques de l'adsorption de BM et FB sur GCPD	160
Tableau 32 : Isothermes d'adsorption de BM et FB sur GCPD	168
Tableau 33 : Paramètres cinétiques de l'adsorption de Fe, Ni, Cu et Zn sur FCP	180
Tableau 34 : Isothermes de l'adsorption de Fe, Ni, Cu et Zn sur FCP	185

# Table des matières

Introduction	<i>1</i>
Étude bibliographique	6
I. Présentation du papayer Carica papaya L	6
I.1 Famille des Caricacées	
I.2 Carica papaya L.	
I.3 Données économiques liées à la production de <i>Carica papaya</i> L	
II. La phytochimie des végétaux	11
II.1 Alcaloïdes	
II.2 Composés terpéniques	15
II.3 Saponines	16
II.4 Polyphénols	
II.4.1 Généralités	19
II.4.2 Acides phénoliques	20
II.4.2.1 Dérivés de l'acide benzoïque	20
II.4.2.2 Dérivés de l'acide cinnamique	21
II.4.2.3 Remarques	21
II.4.3 Flavonoïdes	21
II.4.3.1 Chalcones	22
II.4.3.2 Flavanones	23
II.4.3.3 Flavonols	23
II.4.3.4 Flavan-3-ols	24
II.4.3.5 Anthocyanines	25
II.4.3.6 Tanins	27
II.4.4 Biosynthèse des polyphénols	30
II.4.4.1 Synthèse des acides hydroxycinnamiques	30
II.4.4.2 Synthèse des flavonoïdes	31
III. Les métabolites primaires des végétaux	33
III.1 Protéines	33
III.1.1 Diversité des protéines	33
III.1.2 Les acides aminés	35
III.1.2.1 Propriétés chimiques	37
III.1.2.1.1 Acides aminés hydrophobes	38
III.1.2.1.2 Acides aminés polaires	38
III.1.2.1.3 Acides aminés chargés à pH 7	39
III.1.2.2 Propriétés physiques	39

III.1.2.3 Liaison peptidique	39
III.1.3 Structure protéique	41
III.1.3.1 Structure primaire	41
III.1.3.2 Structure secondaire	42
III.1.3.2.1 Hélice α	42
III.1.3.2.2 Feuillet plissé β	42
III.1.3.2.3 Structures secondaires irrégulières	42
III.1.3.3 Structure tertiaire	43
III.1.3.4 Structure quaternaire	43
III.1.4 Biosynthèse des protéines	43
III.1.4.1 Élucidation du code génétique	43
III.1.4.2 Redondance du code génétique	44
III.1.4.3 Synthèse des protéines	44
III.1.4.3.1 Transcription	45
III.1.4.3.1.1 Spécificités de la transcription chez les Eucaryotes	45
III.1.4.3.1.2 Action de l'ARN polymérase II	45
III.1.4.3.2 Traduction	50
III.1.4.3.2.1 Ribosomes	50
III.1.4.3.2.2 ARNt	51
III.1.4.3.2.3 Traduction	52
III.2 Lipides	55
III.2.1 Propriétés des lipides	55
III.2.2 Classification des lipides	55
III.2.2.1 Acides gras	55
III.2.2.2 Acylglycérols	56
III.2.2.2.1 Monoacylglycérols	57
III.2.2.2.2 Diacylglycérols	57
III.2.2.2.3 Triacylglycérols	57
III.2.2.2.4 Glycérophospholipides	58
III.2.2.2.5 Sphingolipides	58
III.2.2.2.5.1 Sphingosine	58
III.2.2.2.5.2 Céramides	58
III.2.2.2.5.3 Phosphosphingolipides	59
III.2.2.2.5.4 Glycosphingolipides	59
III.2.2.2.6 Cholestérol	60
III.2.3 Métabolisme lipidique	61
III.2.3.1 La β-oxydation des acides gras	
III.2.3.1.1 Activation des acides gras	61
III.2.3.1.2 β-oxydation des acides gras saturés	63
III.2.3.1.3 β-oxydation des acides gras insaturés	64

III.2.3.2 Synthèse des acides gras	66
III.2.3.2.1 Transport de l'acétylCoA	66
III.2.3.2.2 Carboxylation de l'acétylCoA	67
III.2.3.2.3 Synthèse des acides gras	68
III.2.3.2.3.1 Synthèse du palmitate	68
III.2.3.2.3.2 Élongation et désaturation du palmitate	70
III.3 Glucides	71
III.3.1 Structures et propriétés des glucides	71
III.3.2 Classification	71
III.3.2.1 Monosaccharides	72
III.3.2.2 Oligosaccharides	72
III.3.2.3 Polysaccharides	73
III.3.2.4 Dérivés d'oses	74
III.3.2.4.1 Osamines	74
III.3.2.4.2 Acides uroniques	
III.3.2.4.3 Polyols	
III.3.3 Métabolisme du Glucose	75
III.3.3.1 Description de la glycolyse	75
III.3.3.2 Néoglucogenèse	76
Partie expérimentale	
I. Matériel et Méthodes	78
I.1 Matériel végétal	78
I.2 Méthodes	78
I.2.1 Évaluation phyto et biochimique	
I.2.1.1 Polyphénols, saponines et activité antioxydante	
I.2.1.1.1 Optimisation des paramètres d'extraction	
I.2.1.1.1.1 Température	79
I.2.1.1.1.2 Durée	79
I.2.1.1.1.3 Ratio	79
I.2.1.1.2 Dosage des polyphénols	79
I.2.1.1.3 Dosage des flavonoïdes	80
I.2.1.1.4 Dosage des proanthocyanidines	80
I.2.1.1.5 Détermination de la capacité antioxydante totale,	de l'activité antioxydante et de la
CI50: méthode DPPH*	80
I.2.1.1.6 Détermination de la capacité antioxydante totale,	de l'activité antioxydante et de la
CI50 : méthode ABTS*+	81
I.2.1.1.7 Détermination de la capacité antioxydante : métho	ode CUPRAC83
I.2.1.1.8 Dosage des Saponines	83
I.2.1.2 Lipides	83

I.2.1.2.1	Ext	traction de l'huile à partir des graines de Carica papaya L	83
I.2.1.2.2	Dé	termination des indices	84
I.2.1.2	2.2.1	Indices d'acidité (I <sub>A</sub> )	84
I.2.1.2	2.2.2	Indice de saponification (I <sub>S</sub> )	84
I.2.1.2	2.2.3	Indice d'iode (I <sub>I</sub> )	85
I.2.1.2	2.2.4	Indice de peroxyde (I <sub>P</sub> )	86
I.2.1.2.3	Ext	traction et dosage des polyphénols et flavonoïdes de l'huile de papayo	e de Red
Lady			86
I.2.1.2	2.3.1	Extraction des polyphénols et flavonoïdes	86
I.2.1.2	2.3.2	Dosage des polyphénols totaux	86
I.2.1.2	2.3.3	Dosage des flavonoïdes totaux	86
I.2.1.2.4	Me	sure de l'activité antioxydante des huiles par DPPH*	87
I.2.1.2.5	Dé	termination de la capacité calorifique des huiles	87
I.2.1.2	2.5.1	Étalonnage	87
I.2.1.2	2.5.2	Mesure des capacités calorifiques des huiles des variétés 1 et 2	88
I.2.1.2.6	Do	sage des acides gras	89
I.2.1.2.7	Do	sage des stérols	89
I.2.1.2.8	An	alyse DSC de l'huile	90
I.2.1.2.9	An	alyse IR de l'huile	90
I.2.1.3 Pro	otéine	S	91
I.2.1.3.1	Ext	traction des protéines de réserve	91
I.2.1.3.2	Do	sage des protéines par la méthode de Bradford	92
I.2.1.3.3	Ch	romatographies	92
I.2.1.3	3.3.1	Préparation des gels	93
I.2.1.3	3.3.2	Mise en œuvre	94
I.2.1.3.4	Éle	ctrophorèse SDS-PAGE	94
I.2.1.3	3.4.1	Préparation du gel d'électrophorèse	94
I.2.1.3	3.4.2	Préparation et dépôt des protéines	95
I.2.1.3	3.4.3	Migration des protéines	95
I.2.1.3	3.4.4	Coloration et séchage du gel	95
I.2.1.3.5	Lec	cture spectrométrique UV des protéines	96
I.2.1.3.6	Do	sage acide/base	96
I.2.2 Voies	de va	lorisation des sous-produits du papayer	97
I.2.2.1 Uti	lisati	on des graines de papayer dans l'adsorption des colorants	97
I.2.2.1.1	Pré	paration de l'adsorbant	97
I.2.2.1.2	Dé	termination du point zéro charge (pH <sub>PZC</sub> )	97
I.2.2.1.3	Ca	ractérisation de l'adsorbant par la méthode de Boehm	97
I.2.2.1.4	Ca	ractérisation de l'adsorbant par SEM et DRX	98
I.2.2.1.5	Tes	sts d'adsorption par Batch	98
1221	5.1	Effet du contact temporel	98

I.2.2.1.5.2 Effet de la dose d'adsorbant sur la capacité d'élimination	99
I.2.2.1.5.3 Effet du pH de la solution sur la capacité d'élimination	99
I.2.2.2 Utilisation des feuilles de papayer dans l'élimination des métaux lourds	99
I.2.3 Analyse statistique	100
II. Résultats et Discussion	101
II.1 Composants phytochimiques et activités antioxydantes	101
II.1.1 Détermination des conditions optimales d'extraction des polyphénols	
II.1.2 Teneurs des polyphénols dans les sous-produits de <i>Carica papaya</i> L	102
II.1.2.1 Détermination du contenu total en polyphénols	102
II.1.2.2 Teneur total en flavonoïdes	103
II.1.2.3 Détermination du contenu total en proanthocyanidines	104
II.1.2.4 Teneur en saponines	104
II.1.3 Étude de l'activité antioxydante des extraits aqueux	105
II.1.3.1 Capacité antioxydante totale déterminée par la méthode CUPRAC	105
II.1.3.2 Capacité antioxydante et CI50 par la méthode DPPH•	107
II.1.3.2.1 Capacité antioxydante par la méthode DPPH*	108
II.1.3.2.2 Détermination de la CI50	108
II.1.3.2.3 Cinétique réactionnelle	109
II.1.3.3 Résultats de l'activité antioxydante par la méthode ABTS <sup>+</sup>	111
II.1.3.3.1 Capacité antioxydante totale	111
II.1.3.3.2 Détermination de la CI50	112
II.1.3.3.3 Cinétique réactionnelle	112
II.2 Caractérisation des huiles	115
II.2.1 Rendement d'extraction, détermination des indices et des pouvoirs calorifiques	de l'huile
	115
II.2.2 Analyse IR de l'huile extraite de la variété Red Lady	117
II.2.3 Détermination du contenu total en polyphénols et flavonoïdes	118
II.2.4 Activité antioxydante de l'huile de papaye	119
II.2.5 Composition en acide gras	120
II.2.6 Résultats de la calorimétrie différentielle de l'huile de Carica papaya L	124
II.2.7 Composition en stérols	126
II.3 Protéines de réserve des graines de papayer	128
II.3.1 Extraction et dosage des protéines	129
II.3.2 Composition en acides aminés des deux classes majoritaires de protéines	130
II.3.3 Analyse infrarouge	132
II.3.3.1 IR globulines	133
II.3.3.2 IR albumines	134
II.3.4 Étude des chromatographies	134
II.3.4.1 Chromatographie gel-filtration	134
II.3.4.2 Chromatographie échangeuse d'anion	136

II.3.5 Analyse de l'électrophorèse	139
II.3.6 Titrage acide/base	140
II.3.7 Étude des spectres UV en fonction du pH	143
II.4 Élimination des colorants	148
II.4.1 Caractérisation de l'adsorbant	149
II.4.2 Optimisation des paramètres d'extraction	156
II.4.3 Aspects cinétiques	158
II.4.3.1 Modèle de pseudo-premier ordre	158
II.4.3.2 Modèle de pseudo-second ordre	162
II.4.3.3 Modèle de diffusion intraparticulaire	163
II.4.3.4 Modèle Elovich	165
II.4.4 Isothermes	166
II.5 Élimination des métaux lourds	170
II.5.1 Optimisation des paramètres de réduction des métaux lourds en milieu aqueux	171
II.5.2 Cinétiques d'adsorption	174
II.5.3 Isothermes d'adsorption	182
Conclusion et perspectives	186
Bibliographie et webographie	188

# Introduction générale

### Introduction

Depuis que l'espèce humaine est apparue sur Terre, l'Homme a dû trouver des moyens de se prémunir de son environnement. Pour cela, l'Homme a étudié les plantes de son environnement dans le but de savoir lesquelles lui sont bénéfiques et lesquelles lui sont nocives.

De la préhistoire à l'ère moderne, en passant par l'Antiquité, le moyen-âge, la Renaissance et l'ère industrielle, l'Homme s'est appuyé sur les plantes pour améliorer sa santé, se nourrir et éloigner les prédateurs.

Dès la Grèce Antique, l'humanité a eu des médecins qui soignaient leurs patients grâce à des décoctions de plantes. L'un d'entre eux était Hippocrate de Cos (460 av. J.C-377 av. J.C). Dans le corpus hippocratique qu'il a rédigé et qui a été complété par ses étudiants, on voit qu'il préconisait l'utilisation de Saule (*Salix alba* L.) pour son caractère antalgique. L'écorce de saule était donc utilisée pour les douleurs liées à l'enfantement [1].

Abandonné pendant plusieurs siècles, le saule est redécouvert au XVIIIème siècle. Il aura fallu attendre 1825 et les prémices de la chimie pour isoler pour la première fois la salicine grâce à un pharmacien italien nommé Fantana. Treize années plus tard, Raffaelle Piria a isolé l'aldéhyde salicylique par distillation en chauffant la salicine pure avec un mélange sulfo-chromique. En ajoutant de la potasse à l'aldéhyde salicylique, Piria a ainsi obtenu l'acide salicylique [1].

L'utilisation des plantes comme bases de soins est communément acceptée dans les pays en voie de développement. L'emploi des plantes dans la médecine traditionnelle et complémentaire serait, d'après le Docteur Margaret Chan, (ancienne directrice de L'OMS de 2007 à 2017) de qualité, sécuritaire et d'une efficacité avérée. De nos jours, des millions de personnes à travers le monde utilisent la médecine traditionnelle pour se soigner face à la flambée des frais de santé [2]. La phytothérapie très répandue en Afrique connaît un renouveau exceptionnel en occident en raison des effets secondaires induits par les médicaments et dans le traitement des maladies chroniques telles que l'arthrite, l'asthme, le cancer etc. Cependant, l'organisme accepte bien souvent la phytothérapie associée aux traitements classiques [3].

Le commerce international des fruits tropicaux est une filière récente en plein développement grâce à la mise en place de moyens logistiques qui permettent de transférer des produits fragiles, aussi bien physiquement que biologiquement, des sites de production vers des sites de consommation très éloignés. Ces fruits ont réussi à s'imposer dans de nouveaux marchés qui ne les connaissaient pas il y'a seulement quelques décennies. Parmi ces fruits se trouvent la mangue, la banane, l'avocat, la papaye... Ils constituent une bonne source de devises pour certains pays producteurs qui ont su développer une industrie dans ce secteur. Pour

d'autres pays comme le Sénégal, malgré la production très importante en termes de tonnage, la filière des fruits se développe difficilement et on assiste à la détérioration d'une bonne partie des récoltes chaque année. Au Sénégal, le marché local reste le principal consommateur et les producteurs éprouvent beaucoup de difficultés à transférer les récoltes des zones rurales vers les zones urbaines. Ces faits doivent interpeller les responsables afin que des solutions soient trouvées pour que cette filière des fruits locaux puisse se développer à l'instar de certains pays d'Amérique latine. Dans cette filière, la papaye est le fruit tropical le moins exporté mais qui est fortement produit et très consommé localement, notamment au Sénégal. Originaire d'Amérique latine, la plante *Carica papaya* L. qui a besoin de chaleur et d'humidité est actuellement cultivée en toutes saisons dans toutes les régions du Sénégal. Il existe trois variétés principales qui sont présentes au Sénégal. Les variétés Sunset et Sunrise qui sont cultivées à côté de la variété Solo qui est la plus répandue. Elles présentent pratiquement les mêmes caractéristiques. Ces plantes, faciles à cultiver et à entretenir, peuvent produire aux environs de 40 kg de fruits entre huit et 10 mois après la plantation.

De par le monde, le papayer est essentiellement cultivé pour son fruit mûr qui a bon goût et une excellente valeur nutritive [5]. Consommé telle quelle, la papaye peut aussi subir différentes transformations en industrie alimentaire. On voit ainsi, de plus en plus, l'apparition de confitures, liqueurs, sorbets et nectars [6]. Toutefois, les feuilles de papayer pour conserver et attendrir les viandes crues [7]. Aussi, en médecine traditionnelle asiatique, l'utilisation des feuilles comme remède dans le traitement de l'asthme, des vers intestinaux, de la dysenterie et pour contrôler la fièvre [5]. Une étude ethnobotanique menée en 1983 par Alain et Sylvie Epelboin [8] au sein des peuplades Fulbe-Bandé et Nyokholonké du Sénégal oriental a montré l'utilisation d'autres organes associés ou non à d'autres plantes, hors fruits, du papayer dans le traitement de diverses affections telles que la bilharziose urogénitale, la constipation ou les colites [8].

Un article publié en 1993 [9] fait état de l'utilisation par les philippins des fruits, feuilles, tiges et racines de *Carica papaya* L. pour traiter les excroissances cancéreuses, pour augmenter le flux sanguin dans la région pelvienne et l'utérus dans le but de traiter la dysménorrhée et l'aménorrhée. C'est dans cette optique que les auteurs de cet article ont étudié les activités antibactériennes des fruits du papayer immature [9]. Ils ont ainsi démontré l'utilité de la papaye dans le traitement des maladies gastro-intestinales causées par des bactéries entéropathogènes. Dans une autre enquête ethnobotanique menées dans cinq marchés de Douala (Cameroun) en 2012 [10], il a été reporté que les feuilles et les racines du *Carica papaya* L. étaient utilisées dans le traitement des maladies infectieuses mais aussi pour les désordres digestives et

stomacales.

Cette utilisation importante du papayer génère une quantité importante de sous-produits considérés actuellement comme déchets. Ces sous-produits constitués des feuilles, des tiges, des écorces, des racines, des pelures et des graines sont une source importante de substances naturelles très diversifiées classées en métabolites primaires et secondaires. Ces derniers ont des fonctions physiologiques souvent originales et utilisables aussi bien dans la phytothérapie, dans la filière alimentaire [11] que dans le traitement des effluents industriels. Parmi ces métabolites secondaires on peut citer les polyphénols avec leur propriété antioxydante, les anthocyanidines, les tannins, les flavonoïdes, les caroténoïdes, la vitamine C et la vitamine E etc. Ils sont tous dotés de vertus thérapeutiques et interviennent souvent dans la protection contre certaines affections chroniques telles que les cancers et les maladies cardiovasculaires. Ces métabolites secondaires jouent également un rôle important dans la protection des plantes [12], [13].

C'est dans ce contexte de développement de la filière du papayer que nous avons décidé d'insérer notre étude. L'objectif principal est d'identifier les voies de valorisation des sous-produits, le potentiel des molécules fonctionnelles et l'élaboration de produits à haute valeur ajoutée à destination des consommateurs et des industriels. Pour ce faire, le contenu en métabolites secondaires et le pouvoir antioxydant de certaines parties de ces sous-produits sont évalués. Des essais de valorisation des sous-produits dans la filière de traitement des eaux polluées par des colorants industriels et des métaux lourds ont été conduits. Enfin, la qualité de l'huile des graines de papaye et les protéines contenues dans le résidu de la graine délipidée sont étudiées afin de pouvoir proposer leur insertion dans la filière alimentaire.

Le présent mémoire de thèse est divisé en deux grandes parties : une mise au point bibliographique et une présentation du travail réalisé. Cette deuxième partie est subdivisée en deux sous-parties : une description des méthodes expérimentales et une analyse des résultats obtenus.

# ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

## Étude bibliographique

Dans ce chapitre, on fera la synthèse sur la phytochimie des végétaux et les métabolites primaires en plus d'effectuer la présentation de notre objet d'étude le *Carica papaya* L.

### I. Présentation du papayer Carica papaya L.

Le papayer est un arbuste originaire d'Amérique latine qui a été introduit en Afrique depuis le XVIIIème siècle. Il appartient à la famille des Caricacées. C'est une plante pluriannuelle [5]. En effet, une fois le papayer arrivé à maturité, il donne des fruits en toute saison.

### I.1 Famille des Caricacées

Les Caricacées ou Papayacées appartiennent au clade des Angiospermes ou Magnoliophytes qui regroupe toutes les plantes à fleurs donc les plantes donnant des fruits [14] en six genres. À partir des données botaniques [15] il est possible d'établir la figure 1 ci-après qui donne la classification phylogénétique des Caricacées.

Les Caricacées constituent une famille de l'ordre des Brassicales qui sont des plantes ligneuses et/ou herbacées.

Les Papayacées constituent une famille de plantes dicotylédones très répandues de par la culture dans les zones tropicales à cause du fruit charnu comestible qu'elles produisent. La chair ferme du fruit englobe des graines nombreuses incrustées dans la pulpe. Les arbres de 3 à 10 mètres possèdent un tronc cylindrique évasé à la base portant des feuilles regroupées au sommet de la plante. Ces feuilles sont alternes, pétiolées avec cinq à onze lobes et sont dépourvues de stipules. Les mâles donnent des fleurs dioïques en corymbes alors que les femelles portent des fleurs dioïques en grappes. Ils ressemblent à des petits palmiers, des arbustes ou à des plantes herbacées. L'incision pratiquée sur le fruit sur pied permet de recueillir un latex blanc capable de fournir deux enzymes intéressantes telles que la papaïne et la chymopapaïne. Le latex peut être obtenu également à partir des feuilles, du tronc ou des pétioles. La famille des *Caricacées* est composée de 6 genres : *Carica, Cylicomorpha, Jacaratia, Jarilla, Horovitzia et Vasconcella* (Tableau 1).

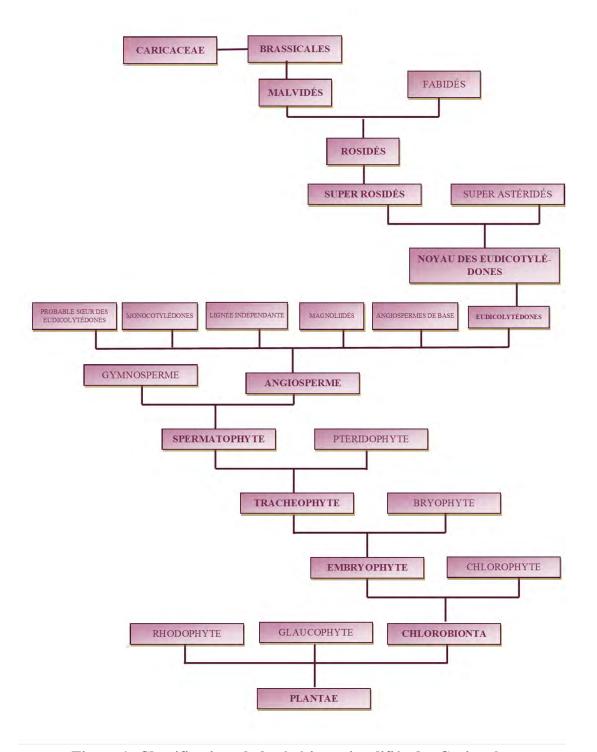


Figure 1: Classification phylogénétique simplifiée des Caricacées

Tableau 1 : Les genres de Caricacées et quelques exemples d'espèces.

Genre	Exemples d'Espèces		
Carica	Carica papaya		
Cylicomorpha	Cylicomorpha parviflora, Cylicomorpha solmsii		
Jacaratia	Jacaratia corumbensis, Jacaratia digitata		
Jarilla	Jarilla nana, Jarilla caudata		
Horovitzia	Horovitzia cnidoscoloides,		
Vasconcella	Vasconcella chilensis, Vasconcellea cauliflora		

## I.2 Carica papaya L.

Selon Carvalho et *al.*, [15] le genre Carica contient une seule espèce : *Carica papaya*. Toujours selon Carvalho et *al.*, [15], *C. papaya* a divergé de ses clades sœurs il y a environ 27 millions d'années durant l'Oligocène. Il y a 25 millions d'années il a divergé de ses sœurs Horovitzia et Jarilla.

Le papayer ou *C. papaya* (Figure 2) est une plante dioïque (ayant des plants mâles ou femelles). Certaines plantes sont quant à elles hermaphrodites. C'est un arbre tropical, on le retrouve dans les régions humides tropicales et subtropicales.



Figure 2 : Plant de papayer et fruits © Aïssatou A. GAYE

C'est une plante originaire d'Amérique latine qui a été naturalisée en Afrique et en Asie.

La papaye, fruit du papayer, a diverses appellations. En Australie, on l'appelle « paw paw », ou encore papaya.

Le papayer est un arbuste ressemblant au palmier. Son tronc est marqué par des motifs en losange qui correspondent aux anciennes feuilles qui sont tombées. Les feuilles sont retrouvées au sommet de l'arbre. Elles sont supportées par de très longs pédoncules pouvant atteindre le mètre. Les feuilles sont divisées en lobes souvent comprises entre sept et neuf.

Le fruit de la papaye (Figure 3) est un des fruits qui ont le plus faible apport énergique. Avec une valeur de l'ordre de 33 kcal / 100 g c'est l'un des meilleurs fruits pour un régime hypocalorique. C'est également l'un des fruits les plus riches en vitamine C avec un apport de l'ordre de 65 mg / 100 g [16]. La présence de carotène à un taux supérieur à la plupart des taux des autres fruits, la présence de vitamines B, la faible teneur en lipide, une répartition variée des glucides (saccharose, fructose et glucose) et la présence de fibres rendent ce fruit très précieux pour certains types de régimes alimentaires. Ce fruit apporte également des minéraux et oligo-éléments en quantité non négligeable. Un taux intéressant de potassium et la présence de calcium, de magnésium et de fer est noté (Tableau 2).



Figure 3 : fruits et Graines de Carica papaya L. © AAG

Tableau 2 : Composition de la pulpe de papaye crue [16]

Constituants	Teneur moyenne	Constituants	Teneur moyenne
Eau	87,8 g/100g	Magnésium	21,5 mg/100g
Protéines	0,58 g/100g	Manganèse	0,026 mg/100g
Glucides	9,9 g/100g	Phosphore	10,2 mg/100g
Dont sucres	7,46 g/100g	Potassium	190 mg/100g
Lipides	0,28 g/100g	Sodium	6 mg/100g
Amidon	0 g/100g	Zinc	0,077 mg/100g
Fibres alimentaires	1,9 g/100g	β-carotène	274 μg/100g
Cendres	0,45 g/100g	Vitamine D	0 μg/100g
Alcool	0 g/100g	Vitamine E	0,3 mg/100g
Acides gras saturés	0,087 g/100g	Vitamine K1	2,6 μg/100g
Acides gras monoinsaturés	0,077 g/100g	Vitamine C	61,4 mg/100 <sup>g</sup>
Acides gras polyinsaturés	0,062 g/100g	Vitamine B1	0,025 mg/100g
Cholestérol	0 mg/100g	Vitamine B2	0,03 mg/100g
Sel	0,013 g/100g	Vitamine B3	0,35 mg/100g
Calcium	22,3 mg/100g	Vitamine B5	0,2 mg/100g
Cuivre	0,031 mg/100g	Vitamine B6	0,029 mg/100g
Fer	0,48 mg/100g	Vitamine B9	47,5 μg/100g
Iode	0,8 μg/100g	Vitamine B12	0 μg/100g

## I.3 Données économiques liées à la production de Carica papaya L.

Selon les données récoltées par la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) [4], on a ainsi pu découvrir que la production mondiale de *Carica papaya* L. est estimée en 2018 à 13 290 320 tonnes. Des cinq continents, l'Asie en est le producteur majeur avec 7 651 737 tonnes soit 57,57% de la production mondiale suivi des Amériques avec 4 182 922 tonnes (31,47%), de l'Afrique avec 1 441 973 tonnes (10,85%) et enfin de l'Océanie avec une production estimée à 13 688 tonnes (0,10%). L'Europe du fait de sa situation climatique est le seul continent à ne pas produire le *Carica papaya* L.

Ainsi, on constate que l'Afrique est la troisième productrice mondiale de papayer avec l'essentielle de sa production concentrée en Afrique de l'Ouest avec 923 907 tonnes (64,07%), Afrique de l'Est avec 287116 tonnes (19,91%) et en Afrique Centrale avec 217 796 tonnes (15,10%). Les conditions climatiques opérant en Afrique du Nord et du Sud expliquent leur faible production avec respectivement 245 et 12 909 tonnes soit moins de 1% de la production africaine en 2018.

Cinq des seize pays constituant l'Afrique de l'Ouest cultivent le papayer avec plus de 90% de la production assurée par le Nigéria (Figure 1c). Malheureusement, le Sénégal, bien qu'il cultive aussi le papayer, n'a aucune donnée disponible au niveau de la FAO.

## II. La phytochimie des végétaux

Pour assurer notre survie, la nature nous a octroyé un bienfait majeur que sont les plantes. Elles ont la capacité de produire une diversité de substances naturelles. Celles-ci sont classées selon leur importance. On distingue donc les métabolites primaires des métabolites secondaires [17]–[19].

Les métabolites primaires sont des composés que l'on trouve dans toutes les cellules. Ils permettent ainsi d'en assurer la survie. Ceux-ci sont au nombre de quatre à savoir : les glucides, les lipides, les protéines et les acides nucléiques.

Les métabolites secondaires regroupent eux un certain nombre de composés ayant des groupements fonctionnels variés tels que les alcaloïdes, les terpènes ou encore les composés phénoliques. Ces composés sont inégalement répartis dans la plante elle-même et plus largement dans le règne végétal. Pour deux plantes sœurs (appartenant donc au même clade), on peut observer une inégalité dans la répartition de ces métabolites secondaires.

Le terme de "métabolite secondaire" a été donné à ce type de composé à cause des observations ayant été faites [20] qui sont notamment :

- (1) Une incapacité à attribuer à ces métabolites une fonction utile au sein de la physiologie des plantes ;
- (2) Une répartition inégale au sein du règne végétal ;
- (3) Une "inertie biochimique" car ce sont des composés que la plante accumule mais ne réutilise pas.

Le terme "secondaire" n'est plus d'actualité au vu des résultats obtenus ces dernières années : les métabolites secondaires étaient impliqués dans la défense de la plante contre les agressions extérieures.

Depuis quelques décades, les métabolites secondaires sont très largement étudiés eu égard de leur intérêt dans les industries agro-alimentaires, cosmétiques mais surtout pharmaceutiques.

L'industrie pharmaceutique, toujours à la recherche de nouvelles molécules, continue d'utiliser la nature comme source d'approvisionnement de matières premières, notamment chez les plantes.

De l'antiquité jusqu'au début de l'essor de l'industrie pharmaceutique, les plantes ont été la première source de médicament pour effectuer les soins. La séné (*Senna alenxadrina*) est un exemple de plantes qui a été utilisé comme purgatif [21].

Les différentes familles de métabolites secondaires retrouvés dans la plante sont :

- Les terpènes
- Les composés phénoliques
- ♣ Les alcaloïdes
- **↓** Les mucilages, etc.

Les métabolites secondaires, chez la plante, sont issus du métabolisme du CO<sub>2</sub> (Figure 4).

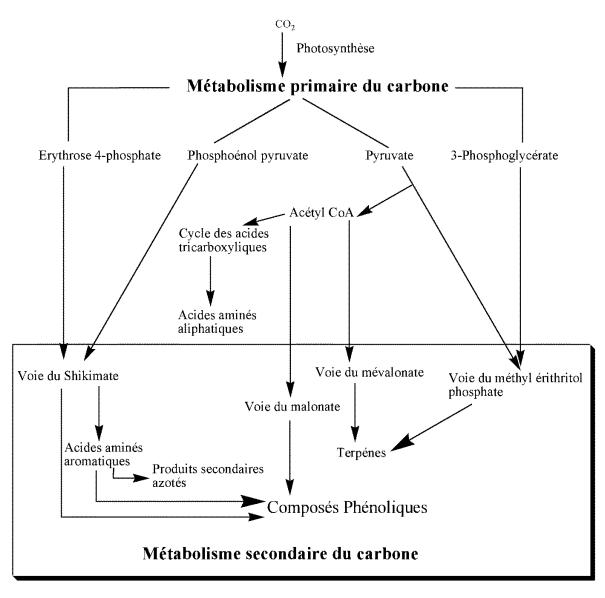


Figure 4: Métabolisme du Carbone conduisant à la synthèse des métabolites secondaires [22]

### II.1 Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés d'origine végétale ayant le plus souvent une structure hétérocyclique; comme tout composé, certains d'entre eux sont toxiques. Néanmoins, beaucoup d'entre eux ont un effet curatif tel que la quinine qui est un antipyrétique et un antipaludique, ou la morphine qui est un analgésique ou bien le taxol qui est un agent anticancéreux (Figure 5).

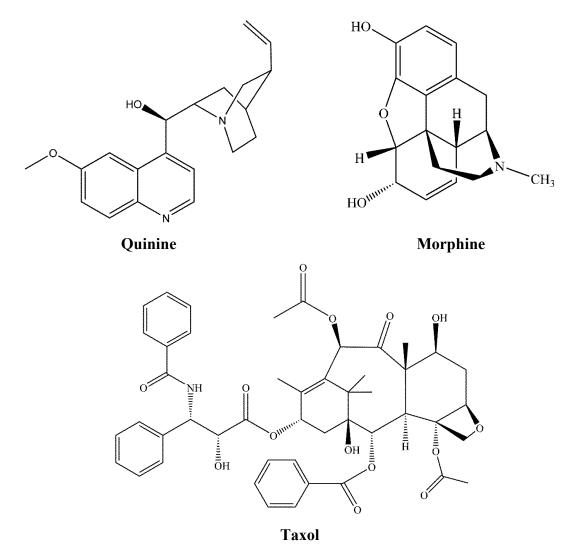


Figure 5 : Structures de certains composés alcaloïdes

C'est au XIXème siècle que les substances à réaction alcaline des plantes sont caractérisées. La première à être caractérisée a été la morphine extraite de l'opium en 1804 par A. Seguin [23] puis décrite en 1817 par F.W. Sertümer [24] sous le nom de *morphium*. La même année a eu lieu la découverte de l'émétine et de la strychnine. En 1819, W. Meissner [25] donna le nom d'alcaloïdes à ces composés. Aujourd'hui, on peut estimer à plus de 6000 le nombre d'alcaloïdes.

Trois types d'alcaloïdes sont répertoriés :

- Les alcaloïdes vrais : ils sont synthétisés à partir d'acides aminés et présentent au moins un hétérocycle. Ex : la strychnine qui est un dérivé du tryptophane (Figure 6a).
- Les proto-alcaloïdes (Figure 6b) : ils dérivent aussi des acides aminés mais l'atome d'azote n'est pas inclus dans le cycle. Ex : colchicine
- Les pseudo-alcaloïdes (Figure 6c) : eux ne dérivent pas d'acides aminés. Ex : la caféine

Les alcaloïdes sont très étudiés à cause de leur intérêt économique. Ils possèdent une amertume qui leur confère une qualité anti-nutritionnelle. Cette qualité participe à la défense de la plante face aux pressions biotiques.

Les alcaloïdes sont peu volatils exception faite de la coniine qui est extraite des feuilles de cigüe et possède une odeur de souris.

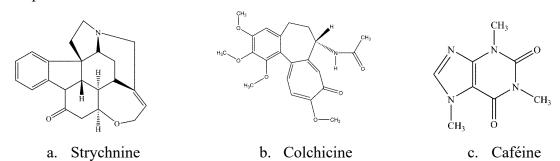


Figure 6 : Structure des alcaloïdes vrais (a), proto-alcaloïdes (b) et pseudo-alcaloïde (c).

# II.2 Composés terpéniques

Les composés terpéniques ou terpénoïdes ou isoprénoïdes sont des composés formés par l'assemblage de molécules d'isoprènes. L'isoprène est l'un des quatre isomères du pentadiène (2-méthyl-1,3-diène).

Il a été découvert en 1860 et isolé à partir de la décomposition thermique du caoutchouc naturel par Charles Gréville Williams [26].

La condensation des unités isoprènes donne lieu à de nombreux composés cycliques ou non classés comme suit :

**♣** C15 : sesquiterpènes

♣ C20 : diterpènes

C30 : triterpènes

**↓** C40 : tétraterpènes

Figure 7: Structures de certains composés terpéniques

# **II.3** Saponines

Du latin "sapo" qui veut dire savon, les saponines sont des composés qui moussent lorsqu'on les agite en présence d'eau. On ne connaît pas exactement leur fonction mais on les soupçonne d'être synthétisés par les plantes dans le but de se protéger contre les dommages causés par leur environnement (insectes, bactéries, champignons). En effet des activités antimicrobiennes [27] insecticides [28], et molluscicides [29] leurs sont connues. Ils ont également des propriétés pharmacologiques telles que des effets antalgiques [30], antidépresseurs [31], [32] et hémolytiques [30].

Les saponosides ou saponines sont des composés synthétisés par les plantes ou les animaux avec des taux variables d'une espèce à l'autre. Ce sont des hétérosides c'est-à-dire qu'ils possèdent une partie aglycone liée à un ou plusieurs sucres. La partie aglycone est un dérivé soit des stéroïdes, des triterpénoïdes ou un stéroïde alcaloïde. Ils sont divisés en deux groupes

principaux selon la structure de la partie aglycone.

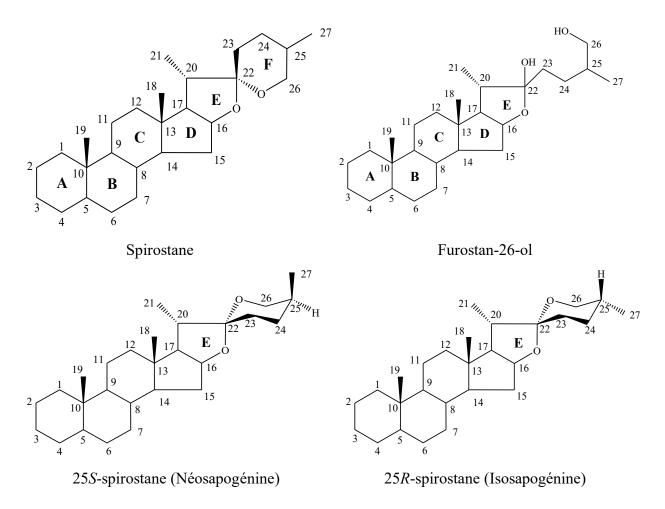
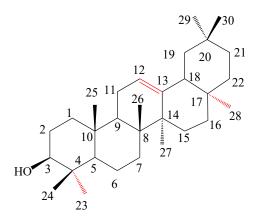


Figure 8 : Structures du Spirostane et de ses dérivés

Le premier groupe est composé des saponosides dits stéroïdiques issus principalement des angiospermes monocotylédonés. Dans ce groupe la partie aglycone est un squelette en C27 constitué généralement de six cycles et appelé spirostane (Figure 8) si le groupement hydroxyle présent en C26 conduit à une liaison glycosidique qui donne un cycle à partir du furostan-26-ol pour qui le cycle F est ouvert (Figure 8). Les cycles E et F sont issus de la cétalisation intramoléculaire après oxydation en C16, C22 et C26 d'un précurseur cholestanique. On peut observer des variations stéréo-structurales avec une configuration absolue en C25 : R et S ou après la réduction de la double liaison C5/C6 qui conduit à la fusion en cis ou en trans des cycles A et B (Figure 8).

Figure 9 : Structures de quelques saponines stéroïdiques

Dans le deuxième groupe on trouve les saponines triterpéniques issus principalement des angiospermes dicotylédonées et chez quelques animaux marins. La partie aglycone de de ces saponosides est composée d'un squelette en C30 dans lequel on trouve une structure pentacyclique. Ces différents squelettes en C30 sont issus principalement de la cyclisation du 3S-2,3-époxy-2,3-dihydrosqualène et très rarement du squalène lui-même (Figure 10). Ces métabolites sont généralement caractérisés par l'existence d'une double liaison en C12/C13 et la fonctionnalisation des méthyles en 23 et 28. On peut citer les exemples de la gypsogénine et de l'acide madécassique.



Squelette général des triterpénoïdes issus du 3S-2,3-époxysqualène

Figure 10 : Structuration des saponines triterpéniques et exemples

# II.4 Polyphénols

### II.4.1 Généralités

Les polyphénols sont des composés organiques qui possèdent un ou plusieurs groupes aromatiques portant des groupements hydroxyles. Ils sont largement représentés dans le règne végétal. Plus de 8000 composés ont été caractérisés à ce-jour. [33]

Toutefois, la répartition de ces composés dans les différents tissus de la plante est aléatoire.

Certaines études ont démontré que la consommation de polyphénols a un effet bénéfique sur le contrôle de certaines maladies chroniques telles que les cancers, les maladies inflammatoires, le diabète *mellitus* [34].

Les polyphénols apportés par l'alimentation sont l'un des sujets de prédilection des scientifiques ces dernières décennies. Ils intéressent aussi bien les chercheurs que l'industrie agro-alimentaire et les consommateurs. Les recherches effectuées sur ce sujet ont démontré que les polyphénols avaient un rôle important pour la prévention de certaines maladies dégénératives (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies neurodégénératives, diabète, ...).

Du fait de leur fort pouvoir antioxydant et combinés aux vitamines ayant une fonction antioxydante (exemple : Vitamines C et E) et aux enzymes, ils sont capables de constituer une défense contre les espèces réactives de l'oxygène qui sont les actrices principales du stress oxydant.

Les polyphénols apportés par la consommation des fruits et légumes sont le but de cet investigation. Ils sont répartis en 2 grandes catégories : les flavonoïdes et les non-flavonoïdes (Figure 11). La catégorie des non-flavonoïdes regroupe les acides phénoliques simples, les stilbènes et les lignanes.

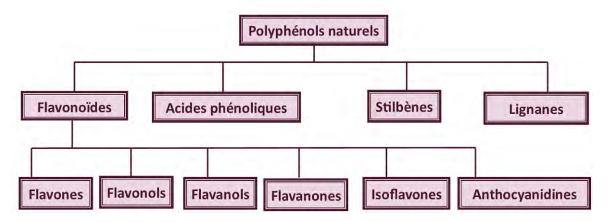


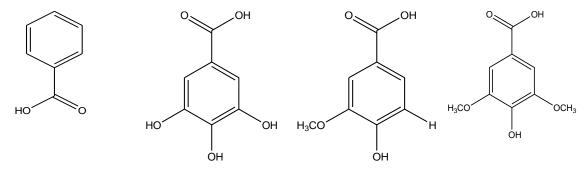
Figure 11 : Classification des Polyphénols Naturels

# II.4.2 Acides phénoliques

### II.4.2.1 Dérivés de l'acide benzoïque

Les acides phénoliques font partie de la classe des polyphénols. Ce sont les composés les plus simples que l'on puisse rencontrer dans cette famille. On distingue deux catégories : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique.

Les dérivés de l'acide benzoïque appelés acide hydroxybenzoïque ont un schéma en C<sub>6</sub> - C<sub>1</sub> (Figure 12). Ils sont composés d'un seul noyau aromatique portant une fonction acide carboxylique et un ou plusieurs groupements hydroxyles. L'acide gallique est la molécule la plus représentative de ce groupe.



Acide benzoïque Acide gallique Acide vanillique Acide syringique

Figure 12: L'acide benzoïque et ses dérivés

### II.4.2.2 Dérivés de l'acide cinnamique

Les dérivés de l'acide cinnamique appelés acide hydroxycinnamique ont un schéma en C6 – C<sub>3</sub> (Figure 13). Ils sont composés d'un seul noyau aromatique et d'une chaîne 2-énoïque. Les composés les plus représentatifs sont les acides caféique, coumarique et férulique. (Figure 14)

Acide cinnamique Acide caféique Acide coumarique Acide férulique

Figure 13 : L'acide cinnamique et ses dérivés

### II.4.2.3 Remarques

Les acides phénoliques simples sont retrouvés dans toutes les parties de la plante. On les retrouve souvent impliqués dans des liaisons esters.

Exemple 1 : L'acide gallique est retrouvé sous formes d'esters pour donner les tannins hydrolysables. Ces esters portent le nom de gallate.

Exemple 2 : En formant une liaison ester avec l'acide (L)- quinique, l'acide caféique donne l'acide chlorogénique.

Chez les végétaux consommables par les humains et les animaux, il y a une faible concentration des dérivés de l'acide benzoïque contrairement à ceux de l'acide cinnamique qui eux sont très présents.

# II.4.3 Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent les composés majoritaires des polyphénols. Ils sont composés de deux cycles benzéniques notés A et B reliés par un chaînon de trois atomes de carbones qui peut évoluer en hétérocycles (Figure 14). Par la diversité des structures, on distingue plus de dix groupes dont les plus importants sont les flavonols, les flavones, les flavan-3-ols, les anthocyanidines, les flavanones et les isoflavones.

Pour différencier les catégories de flavonoïdes, on se base sur la structure et le niveau d'oxydation du l'hétérocycle central.

Pour chaque type de flavonoïdes, il peut exister des variations sur le squelette :

- (1) Le niveau d'hydroxylation
- (2) Le niveau de méthoxylation

(3) Le niveau de glycosylation ; exception faite de certains flavonoïdes existant sous forme libre. La majorité des flavonoïdes sont liés à un ou plusieurs oses.

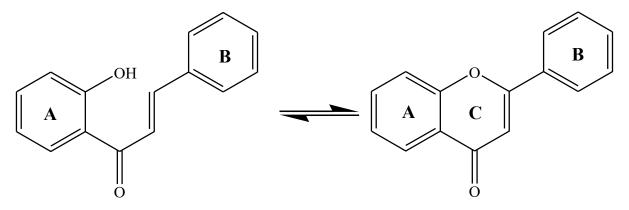
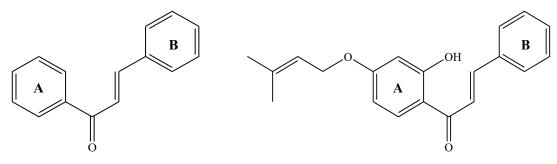


Figure 14 : Structure de base des flavonoïdes

### II.4.3.1 Chalcones

Chez les chalcones (Figure 15), l'hétérocycle n'est pas formé. C'est un métabolite secondaire synthétisé par plusieurs plantes et c'est également un intermédiaire de synthèse pour les flavonoïdes. Elle apporte une contribution dans la coloration des plantes.



Squelette de base des chalcones

Cordoïne

Figure 15 : Structure de base des chalcones et exemple

### II.4.3.2 Flavanones

Les flavanones sont caractérisés par la formation d'un hétérocycle saturé (Figure 16). Ils sont principalement trouvés dans les agrumes.

Figure 16 : Squelette de base des flavanones

### II.4.3.3 Flavonols

Les flavonols ont une structure similaire à celle des flavanones mais l'hétérocycle est insaturé (Figure 17). Ils différent des flavones par la présence de groupement(s) hydroxyle(s). On peut les retrouver sous leur forme libre (aglycone) comme la quercétine ou liés à un ou plusieurs sucres (hétérosides) comme la rutine (Figure 17). Ils sont majoritairement trouvés dans les oignons, le poireau, le chou ou les baies.

$$\begin{array}{c|c} & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\$$

Squelette de base des flavones

Flavonols (Quercétine :  $R_1 = R_2 = -OH$ )

**Rutine** 

Figure 17 : Squelette des flavonols et exemple

### II.4.3.4 Flavan-3-ols

Les flavan-3-ols constituent la classe de flavonoïdes ayant les structures les plus complexes. Ils peuvent être composés de monomère tel que la catéchine ou de polymères comme les proanthocyanidines. Ils peuvent être estérifiés par l'acide gallique et/ou subir d'autres réactions d'hydroxylation conduisant ainsi à des structures de plus en plus complexes telles que les gallocatéchines ou les épigallocatéchines (Figure 18).

#### Squelette de base des flavan-3-ol

Figure 18: Structure des Flavan-3-ols et exemples

Épicatéchine gallate

On retrouve les flavan-3-ols dans les fruits comme l'abricot, dans le chocolat noir et principalement dans le thé noir.

# II.4.3.5 Anthocyanines

Catéchine gallate

Les anthocyanes ou anthocyanines (du grec anthos = fleur, kyáneos = pourpre) sont des pigments naturels solubles dans l'eau avec des couleurs allant du rouge au bleu. Elles sont présentes dans les fruits, dans les feuilles et les racines de diverses plantes terrestres mais absents des animaux et des plantes aquatiques. Dans ce type de flavonoïdes l'hétérocycle formé

est doublement insaturé donnant ainsi à l'oxygène un caractère déficitaire en électron mais stabilisé par la résonance. Ce sont des pigments naturels qui sont stables surtout quand ils sont liés avec des oses. Dans cette catégorie on trouve la cyanine, la delphinidine, la péonidine et la malvidine (Figure 19). Ces composés sont largement présents dans le vin rouge, les oignons rouges et l'oseille rouge.

Les anthocyanines sont caractéristiques pour leurs propriétés antioxydantes. Les anthocyanines sont favorables au maintien de la bonne santé et notamment contre le vieillissement cellulaire. Ils permettent également aux plantes de se protéger des radiations ultraviolettes.

Péonidine Malvidine

Figure 19: Structures des anthocyanines et exemples

La différentiation des anthocyanines se fait par leur degré d'hydroxylation et d'O-méthylation et par le nombre et la position des oses branchés sur le squelette. Dans beaucoup d'espèces on trouve des anthocyanines monoglucosylées ou diglucosylées en forte teneur (Figure 20).

Malvidine-3-glucose

Péodinine-3,5-diglucose

Figure 20 : Structures d'anthocyanines glycosylées

### **II.4.3.6** Tanins

Les formes condensées des polyphénols sont représentées par les tanins et les lignines. Elles sont obtenues par la condensation des formes simples (acides phénoliques et flavonoïdes) des polyphénols. Cette réaction permet d'avoir des composés beaucoup plus complexes qui peuvent présenter encore une hydro solubilité (tanins) ou avoir un caractère lipophile (lignines).

Les tanins sont utilisés depuis l'antiquité pour leur faculté à tanner et/ou brunir les peaux d'animaux. Ils sont responsables de l'astringence de certains fruits et des produits transformés qui en découlent comme le vin. On distingue deux types de tanins : les hydrolysables et les condensés. Ils sont différents par leurs compositions et leurs propriétés physico-chimiques.

• Les tanins hydrolysables (Figure 21) sont formés par la condensation de l'acide gallique ou d'un de ses dimères comme l'acide éllagique avec un ose ou de l'acide quininique. Ces tanins peuvent subir une hydrolyse chimique alcaline ou acide ou bien une hydrolyse enzymatique.

Figure 21 : Structures de certains tanins hydrolysables

Casuarictine

Acutissimine

• Les tanins condensés ou proanthocyanidines résultent de la condensation de 2 à plusieurs flavan-3-ols, parfois d'unités flavan-3,4-ols. Les unités monomériques formant les tanins condensés sont des dérivés de la catéchine ou d'un de ses isomères. Les tanins condensés ne sont hydrolysables que sous des conditions chimiques très agressives. Les unités de base des tanins condensés peuvent se lier de manière linéaire par des liaisons C-C ou se ramifier par des liaisons C-O-C. Ce sont donc des mélanges de plusieurs polyflavonoïdes (Tableau 3) On les trouve en grandes quantités dans certains fruits (pommes, raisins, prune, ...) et dans certaines boissons fermentées ou non (thé, cidre, bissap, vin...).

Les tannins condensés sont toujours constitués d'un mélange en proportions variées des quatre types de polyflavonoïdes définis dans le tableau 3 ci-dessous.

Tableau 3 : Formation des tanins condensés à partir de ces quatre polyflavonoïdes

Noyau A	Noyau B	Flavonoïde	Polyflavonoïdes
Résorcinol	Catéchol	HO OH OH OH Fisetinidol	HO 7 A OH  Profisetinidin
Résorcinol	Pyrogallol	HO OH OH OH OH OH Robinetinidol	HO 7 A OH
Phoroglucinol	Pyrogallol	OH OH OH OH Gallocatéchine	HO 7 A 3 OH
Phoroglucinol	Catéchol	HO OH OH OH OH Catéchine	HO 7 A OH OH OH OH OH OH

## II.4.4 Biosynthèse des polyphénols

Le phosphoénol pyruvate et l'érythrose-4-phosphate sont des intermédiaires réactionnels lors de la glycolyse et la voie des pentoses phosphates respectivement. Ils sont impliqués dans la voie du Shikimate qui va produire les deux acides aminés aromatiques qui sont la phénylalanine et la tyrosine (Figure 22).

Le malonyl-CoA est issu de l'acétyl-CoA qui est le produit final de la glycolyse et de la β-oxydation des acides gras. La carboxylation de l'acétyl-CoA par l'acétyl-CoA carboxylase va former le malonyl CoA qui est aussi un intermédiaire réactionnel de la biosynthèse des acides gras (Figure 22).

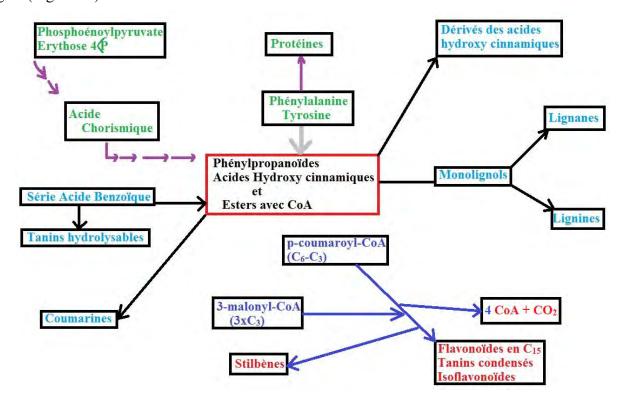


Figure 22 : Synthèse des grandes lignes de la biosynthèse des polyphénols.

La biosynthèse de la plupart des composés phénoliques démarre avec deux acides aminés aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés aromatiques sont formés à partir de sucres simples à travers la voie du Shikimate.

La synthèse de la majorité des composés phénoliques chez les végétaux commence avec la désamination de la phénylalanine avec le PAL (Phénylalanine ammonialyase) [20].

### II.4.4.1 Synthèse des acides hydroxycinnamiques

Après la désamination de la phénylalanine par le PAL, on forme l'acide cinnamique qui est le précurseur de tous les phénylpropanoïdes [20] (Figure 23).

Les phénylpropanoïdes simples (p-coumarine, caféique, férulique, et sinapique) sont des dérivés de l'acide trans-cinnamique par hydroxylation, méthylation et réduction [35].

Figure 23 : Biosynthèse des acides hydroxycinnamiques

Lors de la synthèse des acides hydroxy cinnamiques, il existe une seconde voie faisant appel à la tyrosine. Ainsi, c'est l'acide p-coumarique qui est directement synthétisé en faisant appel à la TAL (Tyrosine ammonialyase). L'acide 5-férulique synthétisé est juste un intermédiaire réactionnel pour la synthèse de l'acide sinapique. Il n'est pas accumulé dans les cellules.

# II.4.4.2 Synthèse des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules en C15 ayant une structure C6-C3-C6. Ils sont synthétisés grâce à la combinaison du p-coumaroyl-CoA, ester de l'acide coumarique, et de trois unités malonyl-CoA pour former la chacone [20]. Plusieurs réactions complexes sont

nécessaires pour construire chacun des sous-groupes contenus dans les flavonoïdes (hydroxylation, méthylation, oxydation, réduction, glycosylation,...) (Figure 24) [20].

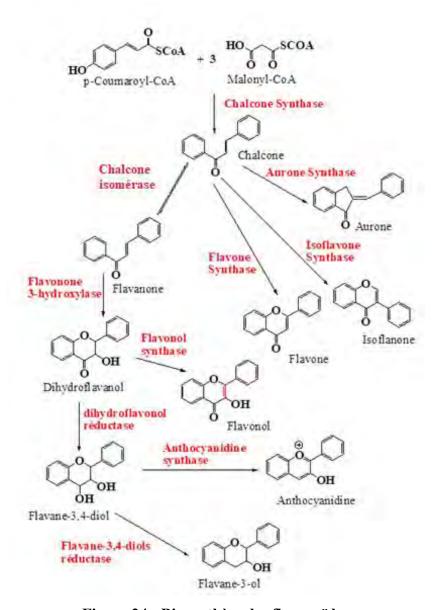


Figure 24 : Biosynthèse des flavonoïdes

# III. Les métabolites primaires des végétaux

# III.1 Protéines

# III.1.1Diversité des protéines

Du grec ancien πρωτειον, *prôteion*, qui signifie « tout premier », le chimiste suédois Jons Jakob Berzelius [36], [37] a jugé adéquat de donner le nom de protéine à ces produits isolés supposément présents dans tout le règne animal et végétal pour souligner leur abondance dans les organismes vivants.

Mais que sont donc les protéines?

Les protéines sont constituées d'un enchaînement linéaire d'acides aminés, ayant une longueur variable pouvant aller de quelques dizaines à quelques milliers d'aminoacides.

Après traduction de l'ARNm par le ribosome, dans le cytoplasme, les protéines néosynthétisées peuvent subir des modifications post-traductionnelles (Tableau 4). Ces modifications peuvent éventuellement concerner les chaînes latérales de certains acides aminés, mais aussi, la combinaison de la protéine avec d'autres molécules.

Tableau 4 : Classification des protéines

Catégorie	Fonction générale	Exemple	Rôle biologique
Enzymes	Catalyse des réactions	Anhydrase	Accélération des
		carbonique	échanges de CO <sub>2</sub>
Protéines de	Organisation,	Collagène	Constituant des tendons,
structure	consolidation ou		du cartilage, des os
	protection des tissus		
Protéines de	Faciliter le transport des	Lactose perméase	Assure le passage et
transport	ions/molécules à travers		l'accumulation du
	les membranes		lactose dans les bactéries Escherichia coli
Protéines de défense	Reconnaissance et neutralisation des	Immunoglobulines	Fixe spécifiquement les structures étrangères
	structures étrangères		(antigènes) et favorise leur élimination
Protéines de réserve	Nutrition des embryons	Ovalbumine	Source énergétique et protection de l'embryon
Moteurs	Conversion énergie	Myosine	Contraction musculaire
moléculaires	chimique →énergie		
	mécanique		
Récepteurs	Détection et	Rhodopsine	Captage des photons
	transduction de signaux		dans les disques
	chimiques, électriques,		rétiniens
	mécaniques, lumineux		
Régulateurs de	Modulation de	Gcn4p	Contrôle du
transcription	l'expression des gènes		métabolisme des
			molécules azotées chez
			la levure Saccharomyces cerevisiae
Hormones	Communication	Insuline	Entrée et consommation
	chimique entre les tissus		du glucose dans les
	et les organes		tissus des vertébrés

Les protéines peuvent donc être classées en deux catégories : les holoprotéines et les hétéroprotéines.

Les holoprotéines sont uniquement composées d'acides aminés tandis que les hétéroprotéines sont quant à elles liées à d'autres molécules. Ces hétéroprotéines peuvent, elles être classées en 6 catégories selon la nature des molécules liées (Tableau 5).

Tableau 5 : Classification des protéines selon le groupement prosthétique

Classe	Groupement prosthétique	Exemple		
Glycoprotéines	Glucides	Immunoglobulines		
Lipoprotéines	Lipides	Lipoprotéines du sang		
Phosphoprotéines	Phosphate	Caséine du lait		
Hémoprotéines	Hème	Hémoglobine		
Flavoprotéines	Coenzymes flaviniques	Succinate déshydrogénase		
	FMN, FAD			
Métalloprotéines	Fe <sup>II</sup>	Aconitase		
	Fe <sup>III</sup>	Transferrine		
	$Cu^{II}$	Céruloplasmine		
	Ca <sup>II</sup>	Calmoduline		
	$Zn^{II}$	Anhydrase carbonique		
	$Mn^{II}$	Catalase		
	$Ni^{II}$	Uréase		
	$ m Mo^{VI}$	Nitrate réductase		

### III.1.2Les acides aminés

Sachant que les protéines sont constituées d'acides aminés, on peut se demander quels sont donc ces éléments.

Les acides aminés retrouvés dans les protéines sont au nombre de vingt (Tableau 6), ils sont tous de conformation L. En plus de ces vingt acides aminés deux autres aminoacides sont aussi retrouvés (très rarement) dans les protéines : la sélénocystéine et la pyrrolysine.

Ces vingt aminoacides ont des caractéristiques communes. Ils possèdent tous une fonction amine primaire (sauf la proline qui a une fonction amine secondaire) et une fonction carboxyle. Seule leur chaîne latérale permet de faire la différence. C'est donc cette chaîne latérale ou radical qui confère à l'acide aminé ses propriétés physico-chimiques.

Tableau 6 : Liste des 20 acides aminés

Acide aminé	Codes		Masse moléculaire	pK1 (α	pK2	pK3	nI	
Acide amine	3 lettres	1 lettre	(Da)	СООН)	(α NH <sup>+</sup> 3)	(R)	pΙ	
Glycine	Gly	G	75	2,3	9,6		5,9	
Chaîne latérale (R) apolaire aliphatique								
Alanine	Ala	A	89	2,3	9,7		6,0	
Valine	Val	V	117	2,3	9,6		5,9	
Leucine	Leu	L	131	2,4	9,6		6,0	
Isoleucine	Ile	Ι	131	2,4	9,7		6,0	
Proline	Pro	P	115	2,0	11,0		6,5	
Méthionine	Met	M	150	2,3	9,2		5,7	
		Chaîne lat	érale (R) aromati	que				
Phénylalanine	Phe	F	165	1,8	9,1		5,4	
Tyrosine	Tyr	Y	181	2,2	9,1	10,46	5,6	
Tryptophane	Trp	W	204	2,4	9,4		5,9	
	Chaîne	latérale (R	) polaire non chai	rgée à pH=	<b>-</b> 7			
Sérine	Ser	S	105	2,1	9,2	>13,0	5,6	
Thréonine	Thr	T	119	2,1	9,7	>13,0	5,7	
Cystéine	Cys	C	121	2,0	10,25	8,2	6,4	
Asparagine	Asn	N	132	2,0	8,8		5,4	
Glutamine	Gln	Q	146	2,2	9,1		5,6	
	Chaîr	ne latérale (	R) polaire chargé	e - à pH=7				
Aspartate	Asp	D	132	1,9	9,6	3,8	2,8	
Glutamate	Glu	Е	146	2,2	9,7	4,2	3,2	
	Chaîn	ie <mark>latérale</mark> (l	R) polaire chargée	e à + pH=7	1			
Lysine	Lys	L	147	2,2	9,2	10,6	9,9	
Arginine	Arg	R	175	2,2	9,0	12,5	10,7	
Histidine	His	Н	155	1,8	9,2	6,0	7,6	

# III.1.2.1 Propriétés chimiques

Les acides aminés retrouvés dans les protéines se distinguent les uns des autres par leur radical R. C'est ce radical qui donne aux acides aminés leurs propriétés chimiques à savoir : leur hydrophobicité, leur polarité et leur charge. On parle d'acide  $\alpha$  aminés car les fonctions amines et carboxylates sont sur le carbone central nommé  $\alpha$  (Tableau 7).

Tableau 7 : Structure des acides aminés classés en fonction de leur propriété chimique

	Nom	Forlmule	Code 1 lettre	Code 3 lettres
	Sérine	HO OH	S	Ser
	Thréonine	H <sub>3</sub> C—OH NH <sub>2</sub>	Т	Thr
Acides aminés	Asparagine	H <sub>2</sub> N OH NH <sub>2</sub>	N	Asn
non chargés	Glutamine	H <sub>2</sub> N — OH	Q	Gln
	Cystéine	H <sub>2</sub> N—OH	C	Cys
	Tyrosine	O OH	Y	Tyr
	Glycine	H <sub>2</sub> N OH	G	Gly
	Alanine	H <sub>2</sub> N OH	A	Ala
Acides aminés	Valine	H <sub>3</sub> C OH	V	Val
non polaires (hydrophobes)	Leucine	H <sub>3</sub> C OH OH	L	Leu
	Isoleucine	HO NH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	I	Ile
	Proline	CH OH	P	Pro

	Méthionine	H <sub>3</sub> C S OH	M	Met
	Phénylalanine	NH <sub>2</sub> OH	F	Phe
	Tryptophane	OH NH <sub>2</sub>	W	Trp
	Lysine	H <sub>2</sub> N O OH	K	Lys
Acides aminés chargés positivement	Arginine	H <sub>2</sub> N H NH O	<sup>он</sup> R	Arg
	Histidine	N OH	Н	His
Acides aminés	Aspartate	O NH <sub>2</sub>	D	Asp
chargés négativement	Glutamate	o NH <sub>2</sub>	Е	Glu

III.1.2.1.1 Acides aminés hydrophobes

L'hydrophobicité de ces acides aminés est due à leurs radicaux qui sont apolaires et interagissent très peu ou pas du tout avec l'eau.

Les acides aminés à chaîne aliphatique (Leu, Ala, Val, Ile, Phe), la Méthionine, le Tryptophane et la Proline font partie de ce groupe. La méthionine et le tryptophane ont des atomes capables de former les liaisons hydrogènes (S de la méthionine et le groupement NH du tryptophane) ils sont tous les deux totalement hydrophobes.

Les acides aminés se trouvent au cœur des protéines ou en interaction avec d'autres groupements hydrophobes afin de s'isoler du milieu cellulaire.

### III.1.2.1.2 Acides aminés polaires

Les acides aminés ayant des groupements hydroxyles (Ser, Thr, Tyr), thiols (Cys) amides (Asn, Gln) ou un cycle polaire imidazole (His) font partie de ce groupe de même que la glycine.

Les acides aminés se retrouvent à la surface des protéines et on peut les retrouver à l'intérieur dès lors qu'ils peuvent établir des liaisons hydrogènes.

La glycine se trouve dans ce groupe car elle n'est ni hydrophobe, ni chargée.

#### III.1.2.1.3 Acides aminés chargés à pH 7

Quatre acides aminés forment ce groupe. Il s'agit de l'aspartate, le glutamate, la lysine et l'arginine. A pH physiologique, l'aspartate et le glutamate sont chargés négativement alors que la lysine et l'arginine sont chargés positivement.

### III.1.2.2 Propriétés physiques

La solubilité des acides aminés est dépendante de leur chaîne latérale et du pH de la solution. Ils sont solubles dans l'eau exceptés les acides aminés à longues chaînes (Val, Ile, Leu). Globalement les acides aminés sont peu solubles dans les solvants organiques sauf la proline qui a une bonne solubilité dans l'éthanol.

Les acides aminés n'absorbent pas la lumière visible (380-780 nm) mais ils peuvent absorber en UV en dessous de 230 nm. Seuls les acides aminés aromatiques absorbent dans l'UV proche (250-280 nm). (Phénylalanine : 257 nm ; Tyrosine : 275 nm ; Tryptophane : 280 nm). Cette faculté des acides aminés aromatiques à absorber en UV est utilisée pour doser les protéines.

Excepté la glycine, les acides aminés possèdent un centre chiral (carbone asymétrique). La présence d'un centre chiral permet de distinguer les isomères optiques L et D. Les dix-neuf acides aminés ont la capacité de dévier la lumière polarisée avec un angle de rotation spécifique du plan de la lumière polarisée.

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{angle\ de\ rotation\ \alpha}{l\ x\ C}$$

l : longueur du tube en dm et C concentration en acide aminé en g/mL Les acides aminés formant les protéines sont tous de configuration L.

## III.1.2.3 Liaison peptidique

Les acides aminés des protéines se polymérisent en condensant la fonction amine d'un acide aminé avec la fonction carboxyle d'un autre en éliminant une molécule d'eau (Figure 25).

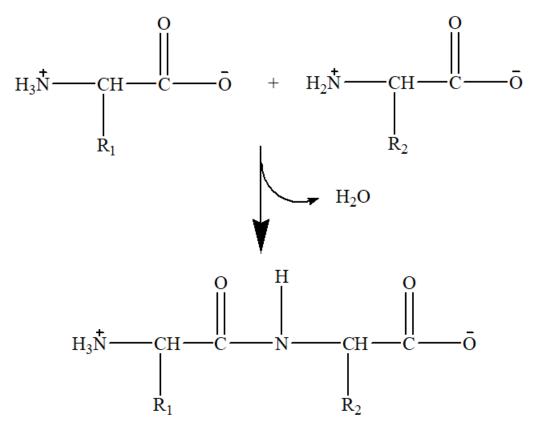


Figure 25 : Formation de la liaison peptidique

La liaison amide est appelée liaison peptidique chez les protéines.

*In vivo* ou *in vitro*, les liaisons peptidiques peuvent être rompues par hydrolyses ou par les enzymes (les endo et exopeptidases).

Pour faciliter la lecture on distingue les deux côtés d'une chaîne polypeptidique (Figure 26) :

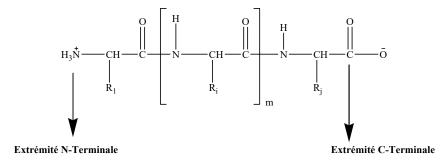


Figure 26: Structuration d'une chaîne polypetidique

La charge générale de la chaîne polypeptidique est donc donnée par les radicaux des résidus aminés. Les pKa des différentes fonctions ionisables des polypeptides sont donnés dans le tableau ci-dessous (Tableau 8).

Tableau 8 : pKa des fonctions ionisables de certains acides aminés

	Groupement	pKa
C-Terminal	О С——ОН	3,5
Aspartate	СH <sub>2</sub> С—ОН	3,9
Glutamate	СH <sub>2</sub> С—ОН	4,1
Histidine	$$ CH <sub>2</sub> $ \stackrel{H}{\overset{N}{\overset{N}{\overset{N}{\overset{N}{\overset{N}{\overset{N}{\overset{N}{\overset$	6,0
Cystéine	——CH <sub>2</sub> ——SH	8,4
N-Terminal		9,0
Tyrosine	—СН2—ОН	10,5
Lysine	$ CH_2$ $CH_2$ $CH_2$ $CH_2$ $CH_3$	10,5
Arginine	NH <sub>2</sub>	12,5
	$ \underline{\hspace{1cm}} CH_{\overline{2}} \underline{\hspace{1cm}} CH_{\overline{2}} \underline{\hspace{1cm}} CH_{\overline{2}} \underline{\hspace{1cm}} NH \underline{\hspace{1cm}} \underline{\hspace{1cm}} NH_{\overline{2}}^+ $	

La majorité des chaînes polypeptidiques sont constitués entre 100 et 1000 résidus aminoacides. Comme il existe 20 acides aminés, les polypeptides ayant une taille identique peuvent être considérablement différents. Il existe 20<sup>n</sup> possibilités avec n représentant le nombre de résidus.

# III.1.3Structure protéique

Il existe quatre niveaux de structurations des protéines

# III.1.3.1 Structure primaire

La structure primaire des protéines est définie comme l'enchaînement linéaire des acides aminés *via* la liaison peptidique. Cette structure est rarement adoptée par les polypeptides dans les conditions physiologiques. Avec cette structuration, on détermine les structures N et C terminales ((N à gauche, C à droite) comme convention de lecture.

#### III.1.3.2 Structure secondaire

La structure secondaire des protéines est soumise à la liaison peptidique (délocalisation des électrons). Ce sont des enchaînements N-C $_{\alpha}$ -C des acides aminés qui forment un plan peptidique (Figure 27).

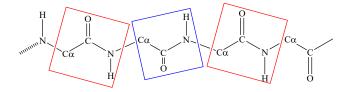


Figure 27 : Liaison peptidique des acides aminés

Le squelette peptidique peut subir une rotation limitée autour des liaisons N-C $_{\alpha}$  et C $_{\alpha}$ -C. Il existe deux types de structurations majoritaires.

#### III.1.3.2.1 Hélice α

Grâce à Linus Pauling [38] et ses constructions de modèles on a pu identifier les hélices  $\alpha$ . L'hélice  $\alpha$  est une hélice droite. Le squelette peptidique s'enroule sur lui-même. Chaque tour d'hélice incorpore 3,6 résidus d'acides aminés et s'élève de 5,4 Å le long de son axe.

Dans ce type de structure les liaisons hydrogène sont formées entre l'atome d'oxygène du groupement carbonyle et le groupement NH du squelette situé quatre résidus plus loin. Les hélices α font généralement 12 résidus de long. Les radicaux sont tournés vers l'extérieur.

#### III.1.3.2.2 Feuillet plissé β

Les feuillets plissés  $\beta$  ont eu droit à leur modèle en même temps par Linus Pauling et Robert Corey [38]. Les feuillets plissés  $\beta$  sont constitués de brins alignés (séquence polypeptidique). Les chaînes polypeptidiques des feuillets  $\beta$  plissés sont liés entre eux par des liaisons hydrogène intramoléculaires (intra chaînes) formées entre le groupement carbonyle d'un brin et les groupements amides de la chaîne adjacente. Les feuillets  $\beta$  peuvent être parallèles ou antiparallèles. Les brins constituant les feuillets  $\beta$  parallèles ont la même polarité alors que les brins constituants les feuillets  $\beta$  antiparallèles sont de polarités opposées.

Les feuillets  $\beta$  plissés contiennent au moins deux brins  $\beta$  et peuvent en avoir plus de douze. En moyenne on trouve six brins et dans chacun d'eux, il y a six résidus d'acides aminés.

### III.1.3.2.3 Structures secondaires irrégulières

Les feuillets plissés  $\beta$  et les hélices  $\alpha$  sont considérés comme des structures secondaires régulières. Ils sont identifiables dans la structure tertiaire. En considérant l'identité des chaînes latérales et des autres groupes présents, les hélices  $\alpha$  et les feuillets  $\beta$  peuvent être déformées

par rapport à leurs conformations idéales. Les hélices  $\alpha$  sont légèrement étirées au niveau de la dernière spire, à ce niveau, ils sont plus fins et plus long.

Les éléments de structures secondaires régulières sont reliés par des boucles polypeptidiques. Les boucles peuvent être des couches simples en forme d'épingle à cheveux ou elles peuvent être assez longues quand elles relient des brins β parallèles.

#### III.1.3.3 Structure tertiaire

L'organisation spatiale des protéines est connue comment étant la structure tertiaire. C'est grâce à cet arrangement spatial que la protéine acquiert ses fonctions.

Dans la structure tridimensionnelle on inclut les structures secondaires régulières et irrégulières. Cette structure est stabilisée par des liaisons covalentes (ponts disulfures), des interactions électrostatiques, des interactions de van der Waals et des interactions avec le milieu. Lorsque ces interactions sont rompues, la protéine perd sa fonction.

Les acides aminés éloignés dans la structure primaire peuvent se rapprocher lors du repliement de la chaîne polypeptidique dans le but de former un site de fixation ou actif.

Dans la structure tridimensionnelle, les acides aminés polaires sont retrouvés en surface alors que les résidus hydrophobes se retrouvent au cœur de la structure.

## III.1.3.4 Structure quaternaire

Certaines protéines, surtout celles dont la masse molaire dépasse 100 kDa, sont constituées de plusieurs chaînes polypeptidiques que l'on appelle sous-unité. Elles peuvent être identiques ou non.

Lorsque ces sous unités s'arrangent spatialement on obtient la structure quaternaire. Les sous-unités sont maintenues entre elles par les mêmes phénomènes impliqués dans la structure tertiaire

# III.1.4Biosynthèse des protéines

Les protéines représentent plus de 50% de notre poids sec. Elles sont issues de la traduction de notre information génétique encodée dans l'ADN.

# III.1.4.1 Élucidation du code génétique

C'est dans les années 1960 que le code génétique (Figure 28) a été élucidé, grâce à des expérimentations sur des extraits d'*Escherichia coli* qui contenait un mélange de ribosomes, d'ARN, et des enzymes solubles. Quand on met ce mélange en contact d'un polymère d'acide uridylique (UUUU...) on synthétise un polymère phénylalanine. Grâce à cela on a démontré

que le triplet UUU encode la phénylalanine. Cette première expérience a permis de faire correspondre les acides aminés avec des codons un utilisant les ARNm de synthèse.

				2è	me Nucl	ıcléotide du codon					
U			С			A		G			
		UUU	Phe	UCU		UAU	Т	UGU	Cys	U	
	U	UUC	riie	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC		C	
		UUA	Leu	UCA	Sei	UAA	Ston	UGA	Stop	A	
		UUG	Leu	UCG		UAG	Stop	UGG	Trp	G	ယ္န
<b>=</b>		CUU		CCU		CAU	His	CGU	Arg	U	me Z
l <sup>er</sup> Nucléotide du codon	С	CUC	Leu	CCC CCA	Pro	CAC	HIS	CGC		С	ucl
		CUA	Leu		-	CAA	Gln	CGA		A	3 <sup>ème</sup> Nucléotide du codon
de c		CUG		CCG		CAG	Gili	CGG		G	de
éoti		AUU		ACU	Thr	AAU	Asn Lys	AGU	Ser Arg	U	du (
ncl	A	AUC	Ile	ACC		AAC		AGC		C	boc
Z .	A	AUA		ACA		AAA		AGA		A	)n
1		AUG	Met	ACG		AAG		AGG		G	
	G	GUU		GCU		GAU	Asp	GGU	Gly	U	
		GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Glu	GGC		C	
		GUA	v ai	GCA		GAA		GGA		A	
		GUG		GCG		GAG	Giu	GGG		G	

Figure 28 : Code génétique

## III.1.4.2 Redondance du code génétique

Les ARNm sont constitués de 4 nucléotides U, A, C et G répétés pour composer la séquence à déchiffrer. Si lors de la traduction, la cellule n'utilisait qu'un seul nucléotide ou deux on ne pourrait pas encoder les 20 acides aminés. Alors que lorsqu'on utilise trois nucléotides, on obtiendrait 64 combinaisons, donc suffisamment de possibilités pour encoder les 20 acides aminés. Le code génétique est redondant car plusieurs triplets codent pour le même acide aminé. Dans le code génétique, 3 codons (UAA, UAG, UGA) n'encodent pas pour les acides aminés, mais pour des codons-stop.

# III.1.4.3 Synthèse des protéines

La synthèse protéique est divisée en deux parties :

- 4 la transcription de l'ADN en ARNm qui a lieu dans le noyau
- ♣ la traduction de l'ARNm qui se déroule dans le cytoplasme.

#### III.1.4.3.1 Transcription

La transcription de l'ADN en ARNm est le mécanisme par lequel le gène est exprimé : donc l'information génétique (ADN) est convertie en une forme active l'ARN.

La transcription de l'ADN en ARN est identique à la réplication de l'ADN car elle consiste en la polymérisation des ribonucléotides. La transcription est répartie en trois phases : initiation, élongation et terminaison.

#### III.1.4.3.1.1 Spécificités de la transcription chez les Eucaryotes

Contrairement aux procaryotes, la transcription se déroule dans le noyau

Chaque gène code pour une protéine unique.

Les gènes sont éclatés entre séquences codantes (exons) et non codantes (introns). La transcription du gène donne lieu à un pré—ARN qui subira une étape supplémentaire : l'épissage pour enlever les introns et donner l'ARNm.

La transcription est effectuée par trois types d'ARN polymérase distinctes.

- **♣** ARN polymérase I → transcription des ARNr sauf ARN 5S
- **♣** ARN polymérase II → transcription des ARNm et ARNmi
- **♣** ARN polymérase III → transcription des ARNr, ARN 5S et ARNsn

#### III.1.4.3.1.2 Action de l'ARN polymérase II

L'ARN polymérase II est constituée de 12 sous-unités.

La plus grosse d'entre elles Rpb1 possède un domaine C-terminal : le CTD (C-terminal domain)

**♣** Initiation de la transcription.

Afin d'initier la transcription, on aura besoin des facteurs généraux de transcription qui reconnaissent les promoteurs au niveau de l'ADN. Ces facteurs généraux de transcription recrutent, orientent la polymérase et l'aident durant ses premiers pas.

Les polymérases ont besoin de la TBP (Tata – Binding Protein) qui va se placer avant le site initiateur pour courber l'ADN à 90°.

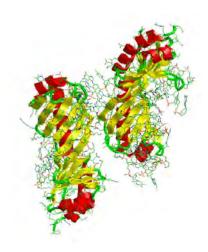


Figure 29: Structure cristalline de TBP/TATA-box de la levure (RSCB: 1YTB) [39]

Chez les eucaryotes, ces facteurs généraux de transcription sont au nombre de sept :

TFIIA, TFIIB, TFIIC, TFIID, TFIIE, TFIIF et TFIIH

Avant de démarrer la transcription, on a besoin de former un complexe contenant l'ARN polymérase II et le promoteur minimal (plus petite unité nécessaire et suffisante à l'initiation de la transcription).

Cette pré-initiation nécessite la coopération de TFIIA, TFIIB et TFIID pour pouvoir positionner correctement l'ARN polymérase II.

L'ARN polymérase II est associée à TFIIF et est recrutée pour former le complexe de préinitiation fermé. Ce complexe est favorisé par la présence d'un assemblage multiprotéique : le médiateur qui va former un pont entre les activateurs de la transcription et l'ARN polymérase II *via* son CTD (C-Terminal Domain) non phosphorylé. Le CTD de l'ARN polymérase II est contenu dans la plus grosse sous unité de celle-ci nommée Rpb1. Le CTD est un domaine flexible qui contient un heptapeptide répété 52 fois (Y1 – S2 – P3 – TU – S4 – P6 – S7).

#### **Complexe pré-initiation**

Pour démarrer la transaction, la double hélice d'ADN doit s'ouvrir sur 10 à 15 nucléotides afin de former la bulle de transcription. TFIIH est le facteur qui permet cette action grâce à son activité hélicase ATP-dépendante. TFIIH est engagé jusqu'à arriver en aval du site initiateur par TFIIE. On insère les premiers nucléotides néanmoins, tant que quatre nucléotides ne sont pas incorporés, la synthèse peut être avortée.

TFIIH possédant une activité kinase CDK 7 va phosphoryler les sérines en 5 du CTD pour permettre le décrochage de la polymérase de son promoteur. Les 5 autres facteurs et le médiateur sont dissociés de l'ARN polymérase II.

#### **Les Elongation de la transcription**

L'élongation de la transcription est comparable à celle des procaryotes.

L'ARN polymérase permet l'addition des ribonucléotides de 5' en 3' en utilisant la complémentarité du brin matrice. L'ARN polymérase s'associe avec des facteurs d'élongation. Cette élongation nécessite un réarrangement des histones et des nucléosomes de l'ADN.

Une fois que l'ARN polymérase s'est échappée du promoteur il va recruter un complexe de pause (NELF + DSIF à travers son CTD – Ser 5 (P)). Le complexe va stopper la synthèse du transcrit après 20 à 25 nt. Le complexe permet aussi de mettre en place la coiffe.

Une fois la mise en place de la coiffe terminée, il va y avoir une déphosphorylation du résidu Ser 5P de CTD.

Les facteurs d'initiation vont perdre leur place au profit des facteurs d'élongation P-TEFb et TFIIS. P-TEFb en phosphorylant le résidu Ser 2 du CTP, et en phosphorylant de même NELF et DSIF. NELF sera relâché et DSIF sera activé puis recruté comme facteur d'élongation. TFIIF va aider la polymérase en pause et reprendre l'élongation.

La vitesse d'élongation est dépendante des facteurs d'élongation. Celle-ci est d'environ 3-4 kb / min.

#### **4** Terminaison.

C'est un mécanisme qui est encore très mal connu.

La terminaison de la transcription indique l'arrêt de l'ARN polymérase, la libération du transcrit d'ARN et enfin la séparation de l'ARN polymérase et du brin matrice d'ADN.

Du fait de l'imprécision de la terminaison, l'explication donnée par [40] que les gènes codant pour les protéines des eucaryotes possèdent des signaux indéfinis dans leur séquence. Donc, pour pallier cette imprécision, l'ARN polymérase ferait des arrêts périodiques au cours de l'élongation pour donner une chance (opportunité) à l'arrêt de la transcription. Les signaux conduisant à la pause de l'ARN polymérase se trouvant à la suite des signaux de polyadénylation.

Une hypothèse souvent retrouvée c'est qu'une exonucléase va dégrader l'ARN en cours de synthèse à partir de son extrémité 5' jusqu'à aller à la rencontre de l'ARN polymérase et la décrocher de l'ADN matriciel.

#### Maturation des pré-ARNm

Chez le procaryotes, transcription et traduction vont de paire alors que chez les eucaryotes ce sont des processus séparés. L'ARN polymérase II synthétise un pré – ARNm qui va subir des modifications post-transcriptionnelles pour donner lieu à l'ARNm nature. On compte tois types de modifications :

- (1) Addition d'une coiffe en 5S'
- (2) Adition d'une queue poly A en 3'
- (3) Épissage.

C'est bien avant la fin de la transcription que la maturation de l'ARNm débute.

#### Addition de la coiffe en 5'

C'est presque dès le début de la transcription que la coiffe est ajoutée après addition d'une vingtaine de nucléotides.

La coiffe consiste en une guanine modifiée par méthylation (Figure 30). La guanine méthylée est liée au premier nucléotide par une 5'-5' triphosphate. Le méthyle greffé en N7 de la guanine provient d'une SAM.

Les 2'-OH des riboses des deux premiers sont méthylés grâce aux SAM.

Grâce à cette modification, la réactivité de l'extrémité 5' est limitée. Cette modification protège l'ARNm des exonucléases qui risquent de la dégrader.

Figure 30 : Structure de la coiffe en 5'

#### Addition de la queue poly A.

Pour l'addition de la queue poly A, l'extrémité 3'-OH de l'ARNm est concernée. L'addition de la queue se fait après la terminaison de la transcription. Six complexes sont impliqués pour catalyser cette addition CFI (cleavage factor I), CFII (cleavage factor II), CPSF (cleavage and polyadénylation specificity factor), PAP (polymerase pol A), CstF (cleavage stimulating factor), PABP (poly A binding protein).

Le signal de polyadénylation (AAUAAA) est fortement conservé dans la séquence d'ADN. C'est le complexe PAP qui catalyse l'addition lente d'environ douze résidus adénylates. L'addition de la queue poly A se fait sans le brin nature d'ADN.

Le PABP va se fixer sur cette séquence d'adénylate dans le but de stimuler la PAP jusqu'à l'addition de 200 à 300 résidus d'adénylation.

#### **4** Épissage

Les pré-ARNm sont une combinaison de région non codante (introns) et de régions codants (exons). L'épissage est le mécanisme qui va permettre d'éliminer les introns et de lier les exons entre eux pour former l'ARNm. Le mécanisme démarre bien avant la fin de la transcription.

L'épissage est accompli par un complexe de cinq sn RNP (small nuclear ribonucleoprotein) appelé spliceosome. Chacun des sn RNP est composé d'un petit ARN nucléaire (snRNA) noté U1–U2–U4–U5 et U6.

Les séquences des snRNA sont les complémentaires partielles des séquences conservées lors de l'épissage. C'est l'association des snARN avec plusieurs protéines qui forment le snRNP U1– U2–U4–U5 et U6.

Le spliceosome va jouer sur la reconnaissance des séquences conservées à la limite introns 5'exon et un résidu A conservé dans la séquence de l'intron.

L'association entre les bases conservées de l'ARNm et les séquences de snARN permet la reconnaissance.

Le spliceosome effectue une réaction de transestérification en deux étapes.

Lors de ces réactions, le nucléophile (OH du ribose) et un groupement phosphoryle sont impliqués.

Les réactions sont catalysées par le Mg<sup>2+</sup> qui va augmenter la nucléophilie du OH et stabiliser le groupement phosphoryle.

Figure 31: Reconaissance intron/exon par le spliceosome

Les introns peuvent être longs, ils peuvent aller jusqu'à 90 % du gène transcrit.

#### **Exportation des ARN**

La transcription ayant lieu dans le noyau, les ARNm matures doivent être exportés dans le cytoplasme de la cellule pour être traduits par les ribosomes. Seuls les ARNm, ayant été contrôlés et correctement maturés peuvent être exportés à travers les pores nucléaires (Figure 32).

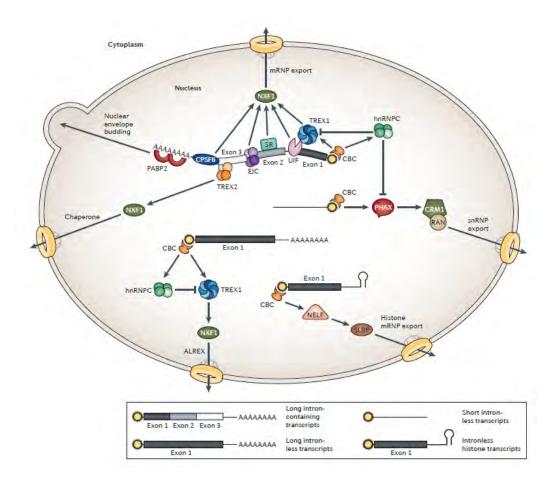


Figure 32 : Mécanisme d'export des ARNm d'après M. Miller – MeNicoll et al. [41]

#### III.1.4.3.2 Traduction

#### III.1.4.3.2.1 Ribosomes

Les ribosomes constituent la machinerie de la traduction des protéines chez les eucaryotes et chez les procaryotes. On les trouve libres dans le cytoplasme ou liés aux membranes du réticulum selon la nature de la protéine synthétisée [42].

Les ribosomes eucaryotes ont un coefficient de sédimentation de 80 Svedberg (S) et une masse molaire de 4,6 10<sup>6</sup> Da. Les ribosomes sont constitués de l'assemblage de deux sous-unités : une petite ayant un coefficient de 40 S et une grande ayant un coefficient de 60 S. les sous-unités sont sous forme d'un mélange d'ARN et de protéines. La petite sous-unité possède

une ARNr de 18 S et de 33 protéines tandis que la grande sous unité est constituée de 3 ARN (18S; 5,8 S; 5S) et de 49 protéines. Ces deux sous-unités du ribosome sont adaptables entre elles mais forment un renfoncement pour laisser passer l'ARNm [43].

Les ribosomes portent 3 sites qui sont situés à la jonction entre les deux sous-unités. Ces sites accueillent les ARNt : site A (pour Aminoacyl-ARNt) qui accueille l'ARNt porteur de l'acide aminé actif ; site P (peptidyl-ARNt) et site E (exit ou sortie pour l'expulsion de l'ARNt n'ayant plus l'acide aminé.

Les ribosomes catalysent la formation de la liason peptidique par la peptidyl transférase que l'on trouve dans la grande sous-unité [42], [44].

#### III.1.4.3.2.2 ARNt

Sans les ARNt, il serait impossible de déchiffrer le code génétique Ce sont les clés adaptatrices entre acide aminé et ARNm.

Les ARNt ont une taille comprise entre 70 et 100 nucléotides et ont une structure en feuille de trèfle. Ils possèdent 4 boucles et une extrémité acceptatrice.

- ♣ Extrémité acceptatrice en 3' qui lie l'acide aminé (5'-CCA-3')
- ♣ Boucle D pour sa composition en dihydro-uridine
- ♣ Boucle anticodon qui possède en son centre 3 bases qui forment l'anticodon
- ♣ Boucle TΨC qui a une base modifiée : la pseudo-uridine
- ♣ Boucle variable position en TΨC et la boucle anticodon.

Il n'y a pas d'appariement strict entre codon et anticodon car si cela avait été le cas cela supposerait qu'il existe 61 ARNt différents ; ce qui n'est pas le cas. Le même anticodon peut reconnaître plusieurs codons différents d'où la notion de flottement (Wobble). Les deux premières bases s'apparient classiquement (appariement de type Watson-Crick) alors qu'il existe un flottement pour la troisième base. Un ARNt peut reconnaître deux codons. Si l'inosine qui est une base modifiée se retrouve en position 1 de l'anticodon, la tolérance de l'appariement est augmentée. Donc le même ARNt peut reconnaître 3 codons différents (Tableau 9).

Tableau 9 : Flottement de l'appariement codon-anticodon

Base en première position (5') du	Base en troisième position (3') de l'anticodon	
codon		
C	G	
A	U	
U	A ou G	
G	C ou U	
I	C, A ou U	

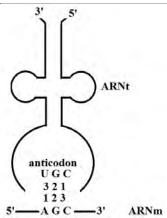


Figure 33: Reconnaissance codon-anticodon

#### III.1.4.3.2.3 Traduction

Tout comme la transcription la traduction est un processus en trois étapes distinctes : initiation, élongation et terminaison.

La synthèse protéique se fait de l'extrémité N'-terminale à l'extrémité C'-terminale.

#### 4 Initiation

Chez les procaryotes, le recrutement de la petite sous-unité du ribosome s'effectue grâce à la présence d'une séquence Shine-Dalgarno. Chez les eucaryotes, ce processus est bien plus complexe ; l'initiation est dépendante de la présence de la coiffe en 5' et de la queue poly A en 3'[45]. On forme ainsi un complexe circulaire avec l'ARNm (Figure 35). La petite sous-unité 40 S va circuler sur l'ARNm afin de repérer le codon AUG (codant pour la Méthionine) qui sert d'initiateur. Ce codon AUG se trouve après une séquence KOZAK (région riche en G/C avec une purine conservée en 3 de l'AUG) [44]. Cette recherche de l'AUG nécessite de l'énergie sous forme d'ATP.

Le facteur de transcription eIF2 (eucaryote Initiation factor) fixé à la petite sous-unité 40 S hydrolyse le GTP qui lui est associé afin de se dissocier de la 40 S et ainsi permettre le recrutement de la grande sous-unité 60 S pour former un ribosome complet.

Seul l'ARNt initiateur est capable de se fixer sur la petite sous-unité. La séquence d'ARN située entre l'extrémité 5' et le codon initiateur AUG n'est pas traduite. Cette région est nommée 5'UTR (Untranslated region).

Lors de l'initiation, l'action d'une hélicase est nécessaire pour supprimer la structure secondaire de l'ARNm [46].

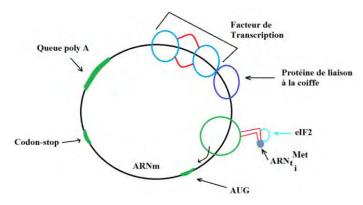


Figure 34 : Modèle de circularisation de l'ARNm lors de l'initialisation.

L'ARNt initiateur portant la méthionine est le seul à être placé directement dans le site P du ribosome [42].

## **L**Élongation

À chaque étape de l'élongation on incorpore au niveau du site A un aminoacyl-ARNt. Les aminoacyl-ARNt sont appelés au site A du ribosome complexé au facteur d'élongation eEF1α qui est lui-même lié à un GTP [46]. Si l'eEF1α a apporté le bon ARNt (appariement codon/anticodon fort), le GTP est hydrolysé en GDP et il y'a formation de la liasson peptidique entre le –COOH de l'acide aminé du site P et le –NH2 de celui du site A; ceci a lieu en même temps que le départ de l'eEF1α. Le facteur d'élongation eEF1α teste plusieurs aminoacyl ARNt avant de trouver celui qui a l'appariement le plus fort; c'est l'étape limitante de la phase d'élongation. Un second facteur d'élongation eEF2 va déplacer l'acide aminé du site P vers le site E et celui qui est dans le site A vers le site P. L'ARNt qui se trouve au site E est séparé de l'ARNm et peut être repris en charge. La synthèse de la liaison peptidique est due à l'activité du peptidyltransfèrase de la grande sous-unité. Ces différentes étapes vont se succéder jusqu'à l'apparition d'un codon stop au niveau du site A (Figure 35).

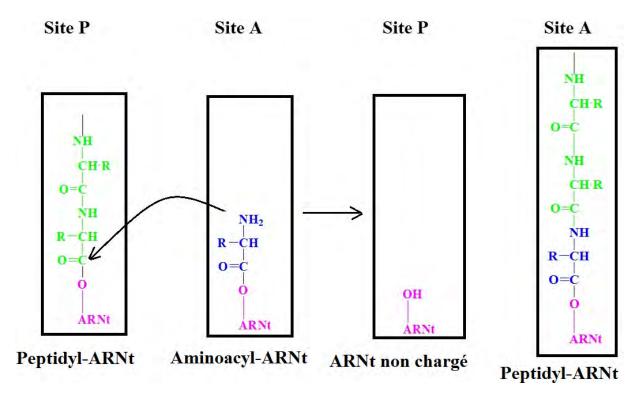


Figure 35 : Synthèse de la liaison peptidique par la peptidyltransfèrase.

Il existe au sein de la grande sous-unité du ribosome, un tunnel par lequel le peptide en cours de synthèse va s'échapper.

#### **4** Terminaison

Dans le code génétique, il existe trois codons qui signent l'arrêt de la synthèse protéique à savoir : UAA, UAG et UGA.

Lorsqu'un codon stop est trouvé dans le site A aucun ARNt ne peut y être fixé. Un facteur de terminaison eRF (eucaryote Release factor) lié à la GTP est placé au site A. Le dernier acide aminé est séparé de son ARNt par hydrolyse. Le polypeptide néo synthétisé est libéré et les deux sous-unités du ribosome se disloquent et l'ARNm est libéré.

#### **Remarques**

- (1) Chez les eucaryotes, la synthèse protéique est faite par plusieurs ribosomes sur le même ARNm. On parle de polysomes.
- (2) Le bilan énergétique de la traduction est considérable ; Chaque cycle d'élongation nécessite 4 molécules à haut potentiel énergétique (2 ATP et 2 GTP) en plus de la GTP utilisée lors de l'initialisation.

Certaines protéines nécessitant d'incorporer la sélénocystéine vont utiliser le codon-stop UGA comme celui les codant. C'est une ARNt dite suppresseur (anticodon 3'ACU5') qui va le reconnaître. Dans l'environnement immédiat de ce codon, une séquence nucléotidique

particulière qui donne une structure tridimensionnelle de l'ARN en tige-boucle qui sera reconnue par un facteur de traduction spécifique [42].

## III.2 Lipides

Les lipides (du grec, *lipos* : gras et *eidos* : apparence) font partie des quatre métabolites primaires essentiels à la survie de tout organisme. Ils sont caractérisés par leur faible solubilité dans l'eau et leur forte solubilité dans les solvants organiques.

## III.2.1Propriétés des lipides

Les lipides sont insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques. Toutefois certains lipides sont amphotères (ils possèdent une tête polaire et une autre apolaire) et peuvent donc s'associer pour former des monocouches ou bicouches lipidiques en présence d'eau. Les groupements et les insaturations présents dans les lipides influencent leur réactivité.

Dans un organisme vivant, les lipides jouent plusieurs rôles

- ♣ Réserve énergétique : les triacylglycérols stockent l'énergie dans les cellules animales
- ♣ Constituants membranaires : 40 % des membranes cellulaires sont constitués des différentes classes de lipides. Les phospholipides constituent la bicouche membranaire.
- ♣ Signalisation cellulaire : la dégradation enzymatique de certains lipides conduit à la synthèse de messagers. Certains acides gras insaturés sont les précurseurs d'une classe de molécules appelées les eicosanoïdes dont le mode de fonctionnement est proche de certaines hormones [47], [48].

## III.2.2Classification des lipides

## III.2.2.1 Acides gras

Les acides gras sont les constituants les plus simples des lipides. Ce sont des chaînes aliphatiques ayant un groupement carboxylique. Ils peuvent posséder des insaturations ou non. Les acides gras sont souvent à nombre pair de carbone ; ceux que l'on retrouve le plus souvent chez les plantes et les animaux sont ceux à 16 et 18 atomes de carbone (Tableau 10). Les acides gras insaturés possèdent au moins une insaturation dans leur chaîne carbonée. L'insaturation est souvent en configuration cis.

Tableau 10 : Exemples d'acides gras associés aux membranes cellulaires [49]

Nombre de Carbones	Nombre de double liaison	Nom commun de l'acide gras	Point de fusion (°C)	Symbole
12	0	Laurique	44,2	C12:0
14	0	Myristique	53,9	C14:0
16	0	Palmitique	63,1	C16:0
18	0	Stéarique	69,6	C18:0
20	0	Arachidique	76,5	C20:0
22	0	Béhénique	80,0	C22:0
16	1	Palmitoléique	- 0,5	C16:1
18	1	Oléique	13,4	C18:1 $\Delta^9$
18	2	Linoléique	-5,0	C18:2 Δ <sup>9,12</sup> ω6
18	3	α-linolénique	-11,0	C18:3 $\Delta^{9,12,15}$ $\omega 3$
18	3	γ-linolénique	-11,0	C18:3 Δ <sup>6,9,12</sup> ω6
20	4	Arachidonique	-49,5	C20:4 $\Delta^{5,8,11,14}$ $\omega 6$

## III.2.2.2 Acylglycérols

Les acides gras sont peu retrouvés libres dans les systèmes biologiques ; ils sont souvent estérifiés avec le glycérol (Figure 36) qui est un dérivé du glycéraldéhyde.

Figure 36 : Glycérol

Les trois groupes -OH du glycérol peuvent être estérifiés ou non par les acides gras. Dans ce cas, on distingue les monoacylglycérols, des diacylglycérols et des triacylglycérols.

## III.2.2.2.1 Monoacylglycérols

Les monoacylglycérols (Figure 37) possèdent un seul acide gras qui peut s'estérifier sur l'un des OH.

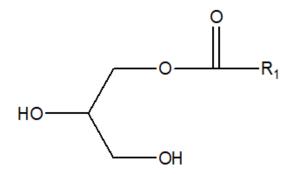


Figure 37 : structure générale des MG

## III.2.2.2.2 Diacylglycérols

Deux acides gras s'estérifient avec le glycérol (Figure 38). 3 positions peuvent exister (1,2); (1,3); 2,3) mais souvent un acide gras saturé se positionne au niveau de l'alcool primaire et l'acide gras insaturé sur le secondaire.

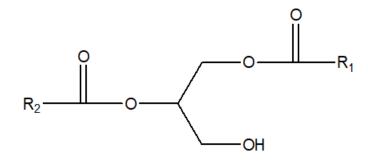


Figure 38 : Structure de base des DG

## III.2.2.2.3 Triacylglycérols

On différencie les TG par la nature des AG qui sont estérifiés (Figure 39).

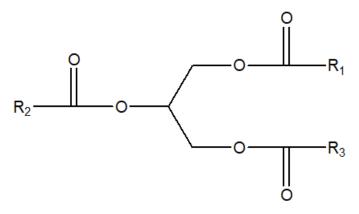


Figure 39 : Structure des TG

Les TG représentent la quasi-totalité (95 – 98 %) des lipides de notre alimentation. C'est

sous cette forme que les AG sont stockés dans les adipocytes.

## III.2.2.2.4 Glycérophospholipides

Les glycérophospholipides (Figure 40) forment la bicouche lipidique des membranes. Ils proviennent tous de l'acide phosphatidique (AP). L'AP est un glycérol estérifié en 1 et 2 par des acides gras en 3, possédant un groupement phosphate. Le groupe OH du phosphate peut être estérifié par un alcool aminé (serine, choline ou éthanolamine), ou un polyol (glycérol ou myo-inositol)

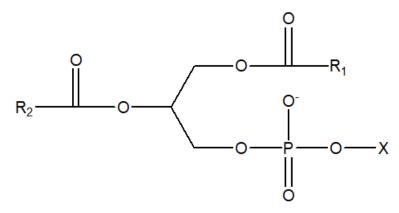


Figure 40 : Structure des GPL

## III.2.2.2.5 Sphingolipides

Les sphingolipides résultent de la formation d'une liaison amide entre la sphingosine (alcool aminé) et un acide gras. On retrouve les sphingolipides dans la composition des membranes plasmiques, notamment celles des cellules cardiaques.

#### III.2.2.2.5.1 Sphingosine

La sphingosine (Figure 41) est un amino-alcool composée de dix-huit atomes de carbones ayant deux fonctions alcools : primaire sur C1 et secondaire sur C3. En plus de ses fonctions alcools, elle a une fonction amine primaire sur le C2 et une double liaison entre C4 et C5.

Figure 41 : Structure de la sphingosine

#### III.2.2.2.5.2 Céramides

Les céramides (Figure 42) résultent de la combinaison entre une sphingosine et un acide gras à longue chaîne (C16 à C24) grâce à une liaison amide.

Figure 42 : Structure des céramides

Les céramides sont retrouvés en grande quantité dans les membranes cellulaires, ils jouent aussi un rôle dans le domaine de la signalisation. Dans l'épiderme, ils ont un rôle dans la cohésion cellulaire et l'hydratation de la peau.

#### III.2.2.2.5.3 Phosphosphingolipides

Les phosphosphingolipides sont des dérivés des céramides. Le représentant le plus connu de cette famille est la sphingomyéline (Figure 43). Sur la fonction alcool primaire de la céramide, on fixe une phosphocholine. L'acide lignocérique (C24 :0) est l'acide gras le plus souvent utilisé.

Figure 43 : Structure de la sphingomyéline

#### III.2.2.2.5.4 Glycosphingolipides

Ce sont des céramides qui fixent un glucide sur la fonction alcool primaire des céramides *via* le carbone anomérique de l'ose. Il existe deux types de glycosphingolipides :

- Les cérébrosides (Figure 44) qui fixent un ose simple (glucose ou galactose)
- Les oligoglycosylcéramides qui possèdent de deux à vingt monoholosides.

Figure 44 : Structure d'un cérébroside

#### III.2.2.2.6 Cholestérol

Le cholestérol (Figure 45) est un membre de la famille des stérols qui sont caractérisés par la présence de quatre cycles (trois cycles à 6 et un cycle à 5).

Dans le cas du cholestérol, les carbones 10 et 13 du squelette stérane sont substitués par des méthyles ; le carbone 17 possèdent une chaîne aliphatique ; un groupement hydroxyle est fixé sur le carbone 3 et une double liaison entre C5 et C6.

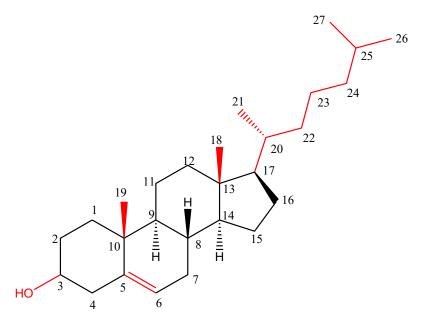


Figure 45 : Structure du cholestérol

On retrouve le cholestérol dans la face externe de la membrane plasmique au sein des phospholipides. Il permet de rigidifier celle-ci à température physiologique.

Le cholestérol est le précurseur de nombreuses hormones stéroïdiennes (aldostérone,

œstrogènes, progestérones) et des stéroïdes n'ayant aucun impact hormonal (cortisone, cortisol, vitamine D).

## III.2.3Métabolisme lipidique

Le métabolisme lipidique concerne principalement les acides gras. On distinguera donc le catabolisme des acides gras qui a pour finalité la synthèse d'acétylCoA et d'énergie sous forme d'ATP de l'anabolisme qui permet la synthèse d'acide gras [50]–[52] (Figure 46).

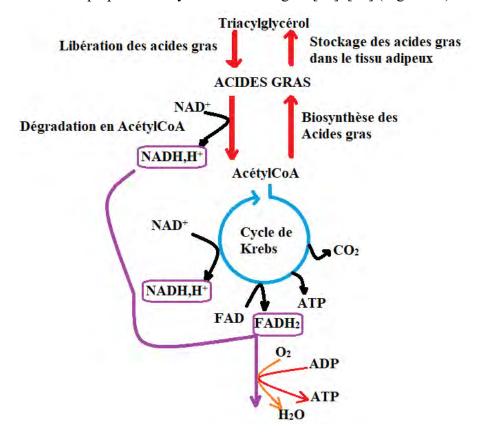


Figure 46: Relation entre Anabolisme et Catabolisme des acides gras

## III.2.3.1 La β-oxydation des acides gras

Le catabolisme des acides gras aussi connu comme la β-oxydation des acides gras est une importante source d'énergie pour l'organisme. Les acides gras stockés grâce aux triglycérides sont libérés par une lipase hormonosensible puis transportés jusqu'aux organes (muscle, cœur, foie) à travers la circulation sanguine en étant liés aux albumines (protéines sériques de 66 kD).

## III.2.3.1.1 Activation des acides gras

La fixation du coenzyme A (CoASH) sur l'acide gras va permettre son activation. C'est une réaction en deux étapes catalysées par l'acylCoA synthétase. Une molécule d'ATP est utilisée dans la première étape ; l'acide gras va fixer l'AMP et libérer une molécule de pyrophosphate

(PP<sub>i</sub>). La seconde étape va voir la fixation du CoASH et la libération de l'AMP. L'énergie nécessaire pour la fixation du CoASH sur l'acide gras est apportée par l'hydrolyse du pyrophosphate (Figure 47).

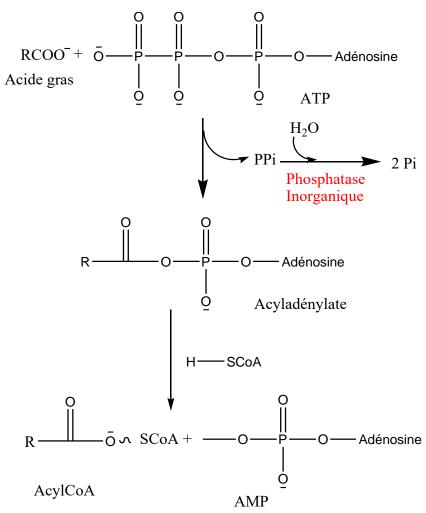


Figure 47: Activation des AG

La plupart des cellules ont un ensemble d'acylCoA synthétases pour les acides à chaîne courte (C2 à C3); moyenne (C4 à C12) et longue (> C12). L'acide gras activé ne peut plus sortir de la cellule et ne sera donc que métabolisé. L'activation des acides gras n'a lieu que dans le cytoplasme, le cycle de β-oxydation lui aura lieu dans la mitochondrie une fois que l'acylCoA y sera transporté. Le transport a lieu grâce à la carnitine : **Système navette carnitine** (Figure 48).

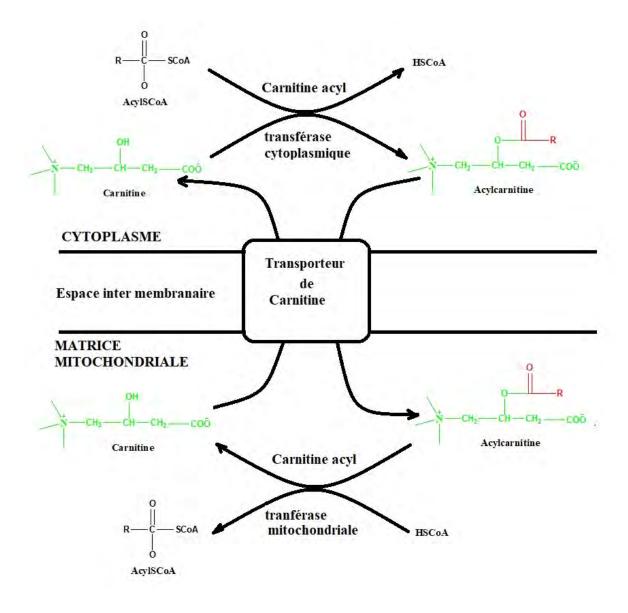


Figure 48 : Fonctionnement de la navette carnitine

## III.2.3.1.2 β-oxydation des acides gras saturés

La  $\beta$ -oxydation est la dégradation des acylCoA transportés dans la mitochondrie. Chaque tour de  $\beta$ -oxydation est composé de quatre réactions catalysées par des enzymes et va donner un acétylCoA ; l'acylCoA sera quant à lui amputé de deux atomes de carbone et sera le substrat du prochain tour.

La première étape consiste à former un énoylCoA en utilisant l'acylCoA déshydrogénase. La double liaison est formée entre C2 et C3. Après obtention de l'énoylCoA, une hydratase va transférer les atomes d'une molécule d'eau des deux côtés de la double liaison néo formée. La troisième étape utilise une déshydrogénase pour oxyder le 3-HydroxylacylCoA en cétoacylCoA. La quatrième et dernière étape est catalysée par la thiolase. Cette étape va voir la libération d'une molécule d'acétylCoA. L'acylCoA amputé de deux atomes de carbone revient

dans le cycle et recommence les étapes précédemment citées (Figure 49).

Par exemple, il faut sept tours pour oxyder totalement le palmitoylCoA en huit acétylCoA.

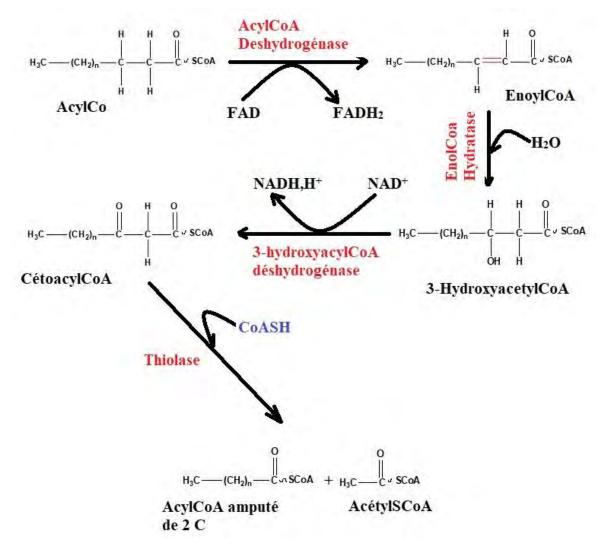


Figure 49 : Dégradation des AcylCoA en AcétylCoA

#### III.2.3.1.3 β-oxydation des acides gras insaturés

La présence de double liaison dans les acides gras est un frein à la β-oxydation précédemment décrite. Les trois premiers tours se déroulent normalement. Toutefois, l'acylCoA que l'on a au début du quatrième cycle présente une double liaison en *cis* tandis que l'énoylCoA hydratase ne reconnaît que les doubles liaisons en *trans*. Pour surseoir à cet obstacle, la double liaison *cis* est transformée en double liaison *trans* grâce à l'énoylCoA isomérase (Figure 50).

Figure 50 : Isomérisation des doubles liaisons cis

Si l'acylCoA contient plus d'une double liaison comme dans le cas du linoléate, l'acylCoA déshydrogénase donne une double liaison 2 ;3 mais la double liaison en 12 ;13 du linoléate qui est maintenant en 4 ;5 cause problème. On a donc un diénoylCoA qui n'est pas le substrat le plus adapté pour l'énoylCoA hydratase. Une étape catalysée par une réductase et dépendante du NADPH,H<sup>+</sup> va transformer les deux doubles liaisons en une double liaison 3 ;4 et une isomérase la changera en une double liaison 2 ;3 (Figure 51).

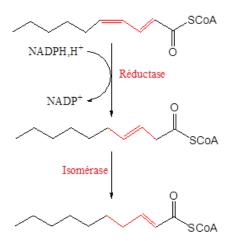


Figure 51 : Processus d'isomérisation de plusieurs doubles liaisons

Les acides gras insaturés fournissent moins d'énergie à cause des réactions court-circuitées. L'acylCoA déshydrogénase n'étant plus impliqué dans certaines réactions, le FAD n'est plus réduit en FADH<sub>2</sub> ce qui fait une perte de deux ATP et le NADPH,H<sup>+</sup> qui est un analogue au NADH, H<sup>+</sup> nous fait perdre trois ATP.

## III.2.3.2 Synthèse des acides gras

La biosynthèse des acides gras a lieu dans le cytoplasme contrairement à la β-oxydation qui elle se déroule dans la matrice mitochondriale. Le coenzyme A n'est plus le porteur de l'acide gras alors que durant la biosynthèse, l'acyle en cours de synthèse est fixé à une protéine transporteuse d'acyle (ACP : acyl carrier protein) (Figure 52).

Acyl Carrier Protein (ACP)

Figure 52: Structures ACP et Coenzyme A

#### III.2.3.2.1 Transport de l'acétylCoA

L'acétylCoA est l'unité de base dans la synthèse des acides gras. Il est retrouvé et généré dans la mitochondrie grâce au complexe de la pyruvate déshydrogénase. L'acétylCoA ne pouvant sortir de la mitochondrie pour la biosynthèse des acylCoA on va utiliser la navette citrate pour l'exporter vers le cytoplasme (Figure 53).

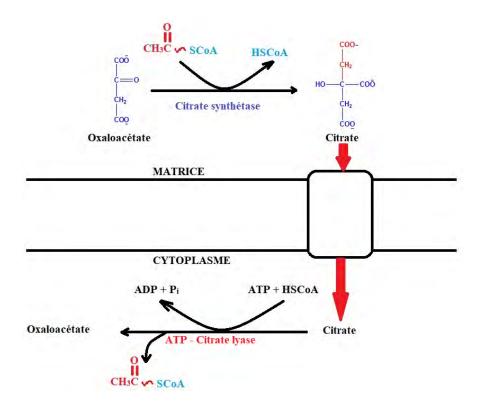


Figure 53 : Export de l'acétylCoA vers le cytoplasme via la navette citrate

## III.2.3.2.2 Carboxylation de l'acétylCoA

La carboxylation de l'acétylCoA est la première étape vers la synthèse des acides gras. Cette réaction dépendante de l'ATP est catalysée par l'acétylCoA carboxylase.

En premier lieu, on active le CO<sub>2</sub> qui est sous forme d'ion bicarbonate HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> en le fixant sur la biotine. La carboxybiotine ainsi formée va transférer le carboxylate vers l'acétylCoA et ainsi donner le malonylCoA.

Lors de la synthèse des acides gras, le malonylCoA va être le donneur de groupement acétyle (Figure 54).

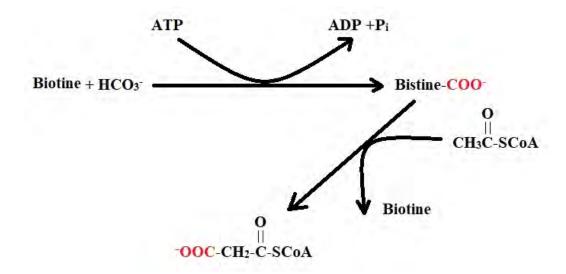


Figure 54 : Carboxylation de l'acétyl-CoA en malonyl-CoA

## III.2.3.2.3 Synthèse des acides gras

#### III.2.3.2.3.1 Synthèse du palmitate

La synthèse des acides gras est catalysée par l'acide gras synthétase (AGS). Celle-ci est une enzyme multifonctionnelle ayant six sites actifs et catalysant sept réactions.

Les réactions 1 et 2 sont catalysées par une transacylase. Le malonyle est transféré du Coenzyme A vers l'ACP tandis que l'acétyle lui est fixé sur un résidu cystéine de l'acide gras synthétase.

La troisième réaction voit la condensation des deux résidus : le malonyl-ACP est décarboxylé et le groupement acétyle est fixé à sa place grâce à la 3-cétoacyl-ACP-synthétase. On forme ainsi l'acétoacyl-ACP.

L'acétoacyl-ACP néoformé est réduit durant la quatrième réaction en hydroxybutyryl-ACP grâce à la 3-cétoacyl-ACP-réductase et en utilisant le NADPH,H<sup>+</sup> comme cofacteur.

En éliminant une molécule d'eau durant l'étape 5 et catalyser par la 3-hydroxyacyl-ACP-déshydratase, on forme le buténoyl-ACP qui sera par la suite réduit en butyryl-ACP par l'énoyl-ACP-réductase en utilisant comme co-facteur le NADPH,H<sup>+</sup>. Les étapes 3 à 6 sont répétées ; l'acyle formé est transféré sur le résidu cystéine de l'AGS et un autre groupement malonyle est fixé sur l'ACP qui a été libéré. Ces étapes sont répétées six fois pour donner le palmityl-ACP. Grâce à la thioestérase, l'ACP est libéré et on forme le palmitate (Figure 55).

La synthétase des acides gras ne produit que l'acide gras en C16 le palmitate. Pour augmenter la variété des acides gras, un transfert du palmitate vers la mitochondrie ou le réticulum endoplasmique.

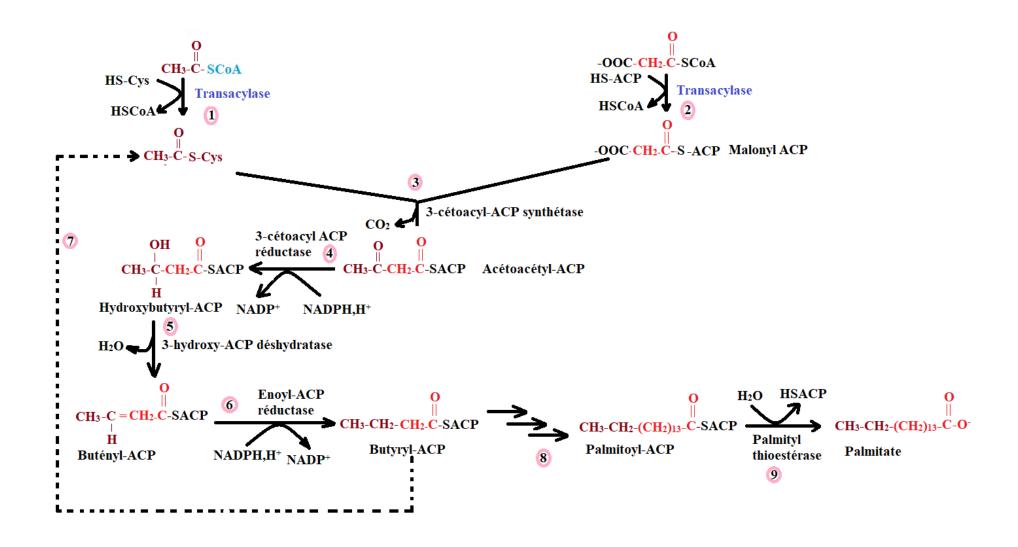


Figure 55 : Synthèse du palmitate

#### III.2.3.2.3.2 Élongation et désaturation du palmitate

Ce sont les élongases qui vont augmenter la longueur de la chaîne par l'ajout de deux atomes de carbone amenés par l'acétylCoA dans la mitochondrie ou le malonylCoA quand la réaction a lieu dans le réticulum endoplasmique. Lorsque l'élongation a lieu dans la mitochondrie, on utilise la navette carnitine pour transporter le palmitoylCoA à l'intérieur de la mitochondrie.

L'élongation du palmitoylCoA a lieu sur la face cytoplasmique du réticulum endoplasmique par l'ajout de deux atomes de carbone provenant du malonylCoA (Figure 56).

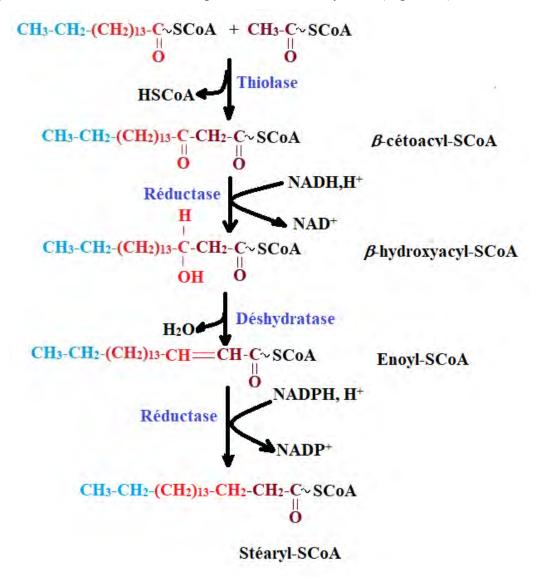


Figure 56 : Synthèse du Stéaryl-CoA à partir du palmitate

Les désaturases vont insérer une double liaison dans l'acylCoA. Elles sont situées sur la face cytoplasmique membranaire du réticulum endoplasmique. Les cellules animales ne codent que pour les désaturases  $\Delta 4$ ,  $\Delta 5$ ,  $\Delta 6$  et  $\Delta 9$ , ce qui explique pourquoi elles ne peuvent synthétiser ni l'acide linoléique, ni l'acide linolénique ; ce qui en fait des acides gras indispensables.

## III.3 Glucides

Des quatre métabolites primaires que sont les protéines, les lipides, les acides nucléiques et les glucides, ces derniers sont les plus abondants.

## III.3.1Structures et propriétés des glucides

Les glucides sont essentiellement constitués de trois atomes : C, H et O. Dans la cellule, les glucides ont différentes fonctions telles que le métabolisme énergétique ou la structuration cellulaire [53]–[55].

## **III.3.2Classification**

Les glucides sont appelés sucres ou saccharides, on les sépare en trois catégories (Figure 57).

- Les monosaccharides ou oses de formule brute  $(CH_2O)_n$  avec  $n \ge 3$
- Les polysaccharides que l'on appelle glucides complexes.

Les glucides ont des dérivés qui incorporent des groupements contenant de l'azote, du phosphore, etc.

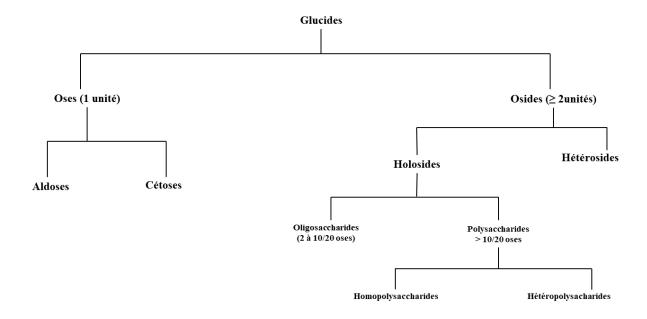


Figure 57: Classification des Glucides

## III.3.2.1 Monosaccharides

Les monosaccharides (oses simples) sont appelés aussi monoholosides.

Ils découlent soit du D-glycéraldéhyde soit de la dihydroxyacétone. Le glycéraldéhyde conduit aux oses de la série des aldoses tandis que la dihydroxyacétone conduit à la série des cétoses.

Selon le nombre d'atomes de carbone que possède un ose, on peut classifier les oses : 3C→trioses, 4C→tétroses, 5C→pentoses, 6C→hexoses.

En solution, les holosides sont sous leur forme cyclique (Figure 58). Le groupement portant la fonction carbonyle va réagir avec un des groupements –OH pour former le cycle furane ou pyrane selon la position du –OH impliqué.

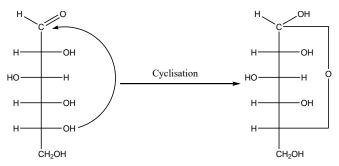


Figure 58: Cyclisation des oses

On utilise la représentation cyclique de Haworth pour représenter les oses. Lors de la cyclisation, le groupement OH porté par le C1 peut adopter deux positions :

- **↓** OH sur le plan opposé au C6 → forme  $\alpha$
- **↓** OH sur le même plan que C6 → forme β

La mutarotation est le phénomène qui va permettre l'interconversion entre les deux formes (Figure 59).



Figure 59 : Phénomène de mutarotation

## III.3.2.2 Oligosaccharides

Les oligosaccharides sont composés de 2 à 10/20 résidus d'oses. Ils proviennent de la formation de la liaison glycosidique et à l'élimination d'au moins une molécule d'eau.

Ils peuvent être constitués de la même unité ose (Maltose) ou d'oses différents (Saccharose, Lactose) (Figure 60).

$$\alpha$$
-D-glucopyranosyl (1-4), D-  $\alpha$ -D-glucopyranosyl (1-2) -β-D- galactopyranosyl (1-4)

Maltose Saccharose  $\beta$ -D- galactopyranosyl(1-4)D-glucopyranose Lactose

Figure 60: Exemples d'oligosaccharides

## III.3.2.3 Polysaccharides

Les polysaccharides aussi connus sous le nom de polyholosides sont des polymères de monoholoside (au moins 10/20 résidus) pouvant aller jusqu'à plusieurs milliers d'unités glucidiques. Ces unités glucidiques sont reliées entre elles par des liaisons O- osidiques.

Parmi les polyholosides, on distingue les homopolyosides (même unité osidique) et les hétéropolyosides (unités osidiques différentes).

Les polysaccharides, les plus connus sont l'amidon, le glycogène (Figure 61) et la cellulose. L'amidon et le glycogène jouent le rôle de stockage du glucose respectivement chez la plante et les animaux.

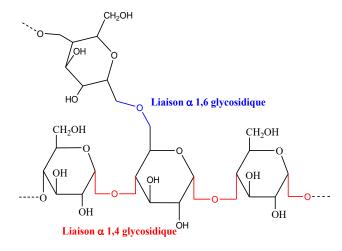


Figure 61 : Structuration du glycogène

### III.3.2.4 Dérivés d'oses

Les monosaccharides sont facilement modifiables de diverses façons afin d'accroître la diversité des glucides.

Parmi eux, on peut citer les osamines, les acides uroniques et les polyols (sucre alcool).

#### III.3.2.4.1 Osamines

Chez les osamines, la fonction alcool primaire est remplacée par une fonction aminée. Les osamines sont souvent retrouvées sous une forme N-acétylée, l'amine précédemment intégrée se lie à un acide acétique en formant une fonction amide (Figure 62).

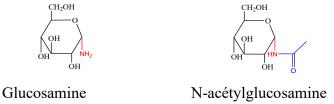


Figure 62: Exemples d'osamines

## III.3.2.4.2 Acides uroniques

Les acides uroniques dérivent de l'oxydation de la fonction alcool primaire (C6 des aldoses en fonction carboxylique (Figure 63).

Figure 63 : Structure de l'acide glucuronique

Les acides uroniques permettent la détoxification des organismes grâce à leur capacité à se

complexer à des molécules toxiques.

## III.3.2.4.3 Polyols

Pour obtenir les polyols (Figure 64) on procède à la réduction du groupement aldéhyde ou cétone d'un monosaccharide.

Dans l'industrie alimentaire, ils sont utilisés comme édulcorants.

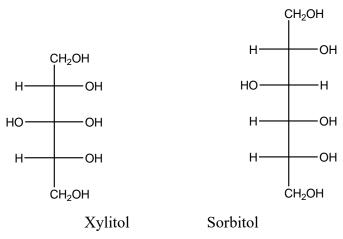


Figure 64: Exemples de polyols

## III.3.3Métabolisme du Glucose

## III.3.3.1 Description de la glycolyse

La glycolyse connue comme étant la voie d'Embden-Meyerhof-Parnas permet l'oxydation du glucose en 2 molécules de pyruvate. On considère deux phases : une consommatrice d'ATP et une récupératrice d'ATP [56]–[58].

La glycolyse, voie ancienne, ne nécessite pas d'oxygène moléculaire. Elle aurait évolué bien avant que la photosynthèse n'augmente le taux atmosphérique d'O<sub>2</sub>. Elle est constituée de 10 étapes enzymatiques.

Même en étant une voie productrice d'énergie, gain net de 2 ATP, la glycolyse n'exploite qu'une partie du potentiel du glucose. Le pyruvate synthétisé permet d'alimenter d'autres voies métaboliques.

La première phase de la glycolyse, oblige l'organisme à investir 2 ATP pour phosphoryler le Glucose en Glucose-6-Phosphate puis le fructose-6-phosphate en Fructose-1,6-bisphosphate.

La seconde phase de la glycolyse permet la production d'ADP, la réduction des molécules de NAD<sup>+</sup> qui seront utilisées par la suite dans la chaîne respiratoire ou dans d'autres voies métaboliques (Figure 65).

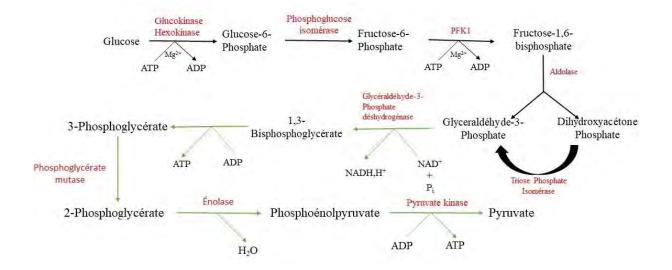


Figure 65 : Mécanisme de la glycolyse

## III.3.3.2 Néoglucogenèse

La néoglucogenèse est la voie métabolique permettant la synthèse du glucose. Chez les animaux, elle a majoritairement lieu dans le foie (90% du glucose) mais en proportion plus faible dans les reins. Elle a lieu quand le stock de glycogène, forme de stockage du glucose, est épuisé (Figures 66-68).

La néoglucogenèse est l'inverse de la glycolyse : deux molécules de pyruvates en une de glucose. Seules trois enzymes de la glycolyse catalysant des réactions irréversibles ne sont pas retrouvées dans la néoglucogenèse (hexokinase, PFK1 et pyruvate kinase). La réaction catalysée par le pyruvate kinase ne pouvant pas avoir lieu le pyruvate est d'abord transformé en oxaloacétate puis en phosphoénolpyruvate.

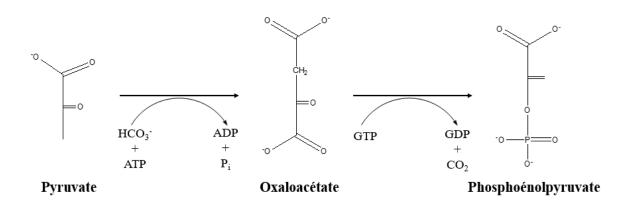
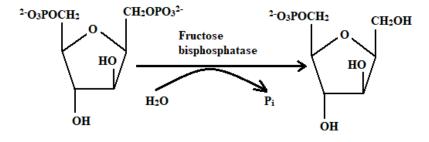


Figure 66 : Première réaction de la néoglucogenèse

Une fois que l'on a obtenu deux molécules de phosphoénolpyruvate, elles sont converties en une molécule de fructose-1,6-bisphosphate grâce aux enzymes utilisées dans la glycolyse. La conversion du fructose-1,6-bisphosphate en fructose-6-phosphate se fait grâce à la fructose bisphosphotase et non la PFK1.



Fructose - 1,6-bisphosphate

Fructose-6-phosphate

Figure 67: Conversion du Fructose-1,6-bisphosphate

La phosphoglucose isomérase va isomériser le fructose-6-phosphate en glucose-6-phosphate. Enfin, la glucose-6-phosphatase hydrolyse la liaison phosphodiester pour donner le glucose.

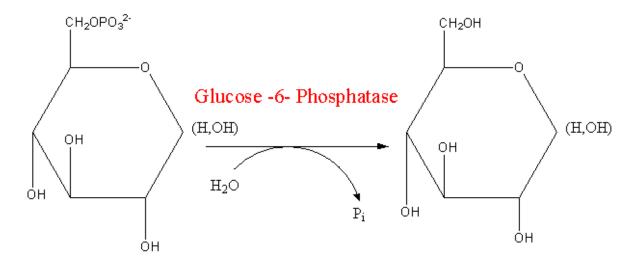


Figure 68 : Isomérisation du Glucose-6-phosphate

# PARTIE EXPÉRIMENTALE

## Partie expérimentale

## I. Matériel et Méthodes

## I.1 Matériel végétal

Pour cette étude, on travaille sur différentes parties de trois variétés de papayer à savoir les feuilles (Vieilles et Jeunes), les graines de papaye délipidées et les épluchures. Les trois variétés de papayer (V1 : Ordinaire ; V2 : Red Lady ; V3 : Sunrise) ont été cultivées et récoltées dans la Forêt Classée de Sébikhotane (14°43'14.4"N, 17°08'16.4"O). Chacune des parties est nettoyée à l'eau potable puis à l'eau distillée avant d'être séchée à l'air libre pendant une semaine puis à 55°C dans une étuve pendant 24 heures pour compléter le séchage.



Figure 69 : Organes de papayer étudiés . © AAG

## I.2 Méthodes

Dans cette partie seront décrites les méthodes utilisées. Elle est divisée en deux sous-parties. La première décrit des méthodes purement biochimiques reposant majoritairement sur le dosage par spectrophotométrie UV-visible, mais aussi des méthodes comme l'IR, l'utilisation d'une électrophorèse. La seconde partie décrit la méthode de spectroscopie d'absorption atomique (SAA).

## I.2.1 Évaluation phyto et biochimique

## I.2.1.1 Polyphénols, saponines et activité antioxydante

L'exploitation des quatre organes de *Carica papaya* L. (les feuilles (vieilles et jeunes), les épluchures et les graines délipidées) des trois variétés de papayer est effectuée dans cette partie.

## I.2.1.1.1 Optimisation des paramètres d'extraction

Les paramètres d'extraction (température, durée et ratio) sont optimisés en dosant le contenu total en polyphénols (CTP) selon la méthode décrite en (III.1.2.1.1.2).

#### I.2.1.1.1.1 Température

Afin de déterminer la température optimale d'extraction, l'extraction se fait avec 0,5 g de matériel végétal dans 50 mL d'eau distillée à différentes températures (40, 50, 60, 70, 80 et 90°C) durant 20 minutes dans un bain-marie. À l'issue de l'extraction, les extraits sont filtrés et le filtrat récupéré est conservé à 4°C jusqu'à utilisation.

#### I.2.1.1.1.2 Durée

Une fois la température optimale déterminée, la durée d'extraction optimale est le paramètre qui suit. On fixe la température et la masse d'extraction et on fait varier la durée de 5 à 30 minutes. Comme précédemment, les extraits filtrés sont conservés à 4°C jusqu'à utilisation.

#### I.2.1.1.1.3 Ratio

La température et la durée étant déterminées, la variation de la quantité de matière végétale à extraire dans 50 mL d'eau distillée est effectué pour déterminer le ratio optimal d'extraction. Les masses à étudier sont 0,5 ; 1 ; 1,25 ; 2,5 ; 3,75 et 5 g. Comme pour les deux paramètres précédents. Les filtrats récupérés sont conservés à 4°C jusqu'à utilisation.

## I.2.1.1.2 Dosage des polyphénols

Afin de doser les polyphénols totaux, un volume de 50 μL de l'échantillon est prélevé et complété à 200 μL avec de l'eau distillée. Ensuite, 150 μL du réactif de Folin-Ciocalteu, 600 μL d'une solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 20% et 2,32 mL d'eau distillée sont ajoutés successivement. L'ensemble est incubé à l'obscurité durant 30 minutes avant de lire l'absorbance à 760 nm grâce à un spectrophotomètre UV-Visible Perkin-Elmer Lambda 365. En parallèle, une gamme d'acide gallique est préparée à partir d'une solution mère à 0,1 mg/mL. La quantité de polyphénols est déterminée grâce à l'équation de la droite d'étalonnage (Annexe 1) puis exprimée en mg/g de matériel végétal.

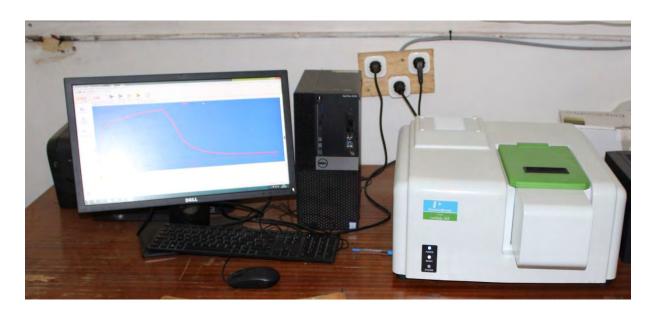


Figure 70: Appareillage UV-Visible Lambda 365. © AAG

#### I.2.1.1.3 Dosage des flavonoïdes

Pour doser les flavonoïdes totaux, on prélève un volume total de 2,5 mL d'échantillons (des dilutions sont prévues si nécessaire) auxquels, 2,5 mL d'une solution de chlorure d'aluminium à 2% sont ajoutés. Le mélange est incubé durant 1h à température ambiante avant de lire l'absorbance à 425 nm. En parallèle, une gamme de quercétine est préparée à partir d'une solution mère à 0,1 mg/mL. La quantité de flavonoïdes est déterminée grâce à l'équation de la droite d'étalonnage (Annexe 2) puis exprimée en mg/g de matériel végétal.

## I.2.1.1.4 Dosage des proanthocyanidines

Afin de doser les proanthocyanidines, un volume de 0,5 mL de chaque extrait est prélevé et mélangé à 3 mL de vanilline à 4% et 1,5 mL d'HCl concentré. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 15 minutes puis, l'absorbance est lue à 500 nm. En parallèle, une gamme de catéchine est préparée à partir d'une solution mère à 0,1 mg/mL. La quantité de proanthocyanidines est déterminée grâce à l'équation de la droite d'étalonnage (Annexe 3) puis exprimée en mg/g de matériel végétal.

## I.2.1.1.5 Détermination de la capacité antioxydante totale, de l'activité antioxydante et de la CI50 : méthode DPPH

Pour déterminer la capacité antioxydante totale (CAT), 200 μL de chaque échantillon est mélangé à 3,8 mL d'une solution méthanolique de DPPH (0,1014 mM) pendant 30 minutes à l'obscurité. L'absorbance de la solution résultante est lue à 517 nm. Le TROLOX est utilisé comme standard [59]. Le résultat est déterminé grâce à l'équation de la droite d'étalonnage

(Annexe 4).

Afin de déterminer l'activité antiradicalaire, chacun des extraits est soumis à une solution méthanolique de DPPH\* à 0,1014 mM. Pour ce faire, les solutions sont diluées en fonction de la teneur de la solution mère et 200 μL de chaque extrait sont prélevés auxquels on ajoute 3,8 mL de DPPH\*. Le mélange est incubé durant 30 minutes à l'obscurité et l'absorbance lue à 517 nm.

La CI50 des extraits est déterminée en effectuant six dilutions et en déterminant le pourcentage d'inhibition à 50% à l'aide de l'équation (1).

Une fois la CI50 déterminée, la cinétique réactionnelle du radical DPPH est suivie. Cette manipulation est faite sur 2h30. On prélève 200 µL de la solution que l'on mélange à 3,8 mL de la solution de DPPH à 0,1014 mM. L'absorbance est lue toutes les cinq minutes à 517 nm. L'inhibition est calculée grâce à la formule ci-dessous :

% Inhibition = 
$$\frac{Abs_{contrôle} - Abs_t}{Abs_{contrôle}} \times 100$$
 (1)

## I.2.1.1.6 Détermination de la capacité antioxydante totale, de l'activité antioxydante et de la CI50 : méthode ABTS<sup>++</sup>

Le radical ABTS<sup>\*+</sup> est celui qui a été utilisée de tout temps pour déterminer la capacité antioxydante totale. Elle a une couleur bleu turquoise en absence d'antioxydants pour tirer vers l'incolore en leur présence. La figure 71 représente le mécanisme d'action de l'ABTS<sup>\*+</sup>.

Figure 71 : Mécanisme d'action du radical ABTS\*+

La capacité antioxydante totale à l'origine est déterminée avec le radical ABTS<sup>+</sup>. La méthode de Thaipong et *al.* [60] est utilisée, avec quelques modifications.

Une solution stock est préparée en mélangeant à volume égal une solution à 3 mM de persulfate de potassium et une solution d'ABTS\*+ à 8 mM. L'ensemble est incubé durant 16 heures avant l'utilisation. Une solution de travail (ST) est préparée en diluant la solution stock dans du tampon phosphate (0,2 M; pH 7,4; 150 mM NaCl) afin d'avoir une absorbance de 1,2 à 734 nm.

Pour déterminer la CAT, un volume de 100 μL de l'échantillon est mélangé à 2,9 mL de la ST d'ABTS<sup>++</sup>. Après une période d'incubation de 30 minutes à l'obscurité l'absorbance est lue à 734 nm. On procède de la même manière pour déterminer la CI50 en effectuant des dilutions de l'échantillon. Le résultat est déterminé grâce à l'équation de la droite d'étalonnage (Annexe 5).

La CI50 des extraits est déterminée en effectuant six dilutions et en déterminant le pourcentage d'inhibition à l'aide de l'équation (1).

Tout comme pour le DPPH•, l'activité antioxydante est suivie sur 2h30 en enregistrant l'absorbance à 734 nm toutes les cinq minutes. L'inhibition est calculée avec l'équation (1).

## I.2.1.1.7 Détermination de la capacité antioxydante : méthode CUPRAC

Dans la méthode décrite par Apak et *al.* [61], trois solutions sont nécessaires pour la détermination de la capacité antioxydante CAT. Une solution de chlorure de cuivre à 10<sup>-2</sup> M, un tampon acétate d'ammonium à pH 7 et une solution éthanolique de néocuproïne à 7,5 mM sont préparée.

Un volume de 1 mL de chacune des solutions précédemment préparées est ajouté à 1,1 mL de l'échantillon. L'ensemble est incubé pendant une heure avant la lecture de l'absorbance à 450 nm. Une gamme de TROLOX est préparée dans les mêmes conditions à partir de la solution mère de TROLOX à 1 mM. Le résultat est déterminé grâce à l'équation de la droite d'étalonnage (Annexe 6).

## I.2.1.1.8 Dosage des Saponines

Pour doser les saponines, un volume de 0,5 mL d'extrait est additionné d'un volume 0,5 mL de vanilline à 8% et d'une quantité de 5 mL d'une solution de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 72%. Le mélange résultant est incubé à 70°C pendant 10 minutes avant d'être refroidi rapidement dans de l'eau glacée. L'absorbance est lue à 560 nm. En parallèle, une gamme d'escine est préparée à partir d'une solution mère à 1 mg/mL. La concentration est déterminée grâce à l'équation de la droite d'étalonnage (Annexe 7).

## I.2.1.2Lipides

## I.2.1.2.1 Extraction de l'huile à partir des graines de Carica papaya L.

Le protocole d'extraction suivi est la méthode normalisée du Soxhlet décrite par la norme AFNOR NF EN ISO 659. Une masse de la poudre obtenue préalablement est introduite dans une cartouche à extraction. La cartouche est bouchée par un coton pour éviter la sortie des particules végétales. Elle est placée dans l'appareil et l'extraction se fait à l'hexane pendant 6 heures pour douze cycles de siphonage de 100 mL, pour extraire la totalité de l'huile. Après évaporation du solvant sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif (40-60 °C) l'extrait obtenu est séché à l'étuve à 103 °C pendant 24 heures de même que le résidu.

Rendement en huile (%) = 
$$\frac{m_1-m_2}{m_1} \times 100$$
 (2)

Où : m<sub>1</sub> est la masse de la poudre de graine non délipidée et m<sub>2</sub> celle de la poudre après extraction de l'huile.



Figure 72: Montage de l'extraction au Soxhlet. © AAG

#### I.2.1.2.2 Détermination des indices

#### I.2.1.2.2.1 Indices d'acidité (IA)

L'indice d'acide témoigne de la « fraîcheur » d'une huile et correspond à la masse nécessaire d'hydroxyde de potassium (en milligramme) à ajouter, pour un gramme d'huile, afin de neutraliser tous les acides gras libres dans la prise d'essai. L'indice d'acide est déterminé par un dosage acide/base en retour, selon la norme AFNOR NF EN ISO 660. Un blanc est toujours effectué dans les mêmes conditions que la prise d'essai. Le corps gras réagit avec un excès connu de potasse alcoolique selon la réaction suivante :

RCOOH + 
$$HO^ \longrightarrow$$
 RCOO $^-$  +  $H_2O$ 

L'excès de potasse est alors dosé par une solution d'acide chlorhydrique. L'indice d'acide est déterminé selon la formule :

$$I_A = \frac{(V_E - V_T) \times C_{KOH} \times M_{KOH}}{m_{CG}} (3)$$

V<sub>T</sub> : volume d'acide chlorhydrique versé pour le témoin (mL)

V<sub>E</sub> : volume de HCl versé pour l'essai

C<sub>KOH</sub>: concentration de la solution de KOH

M<sub>KOH</sub>: masse molaire de KOH

m<sub>CG</sub>: masse de l'échantillon (mg).

## I.2.1.2.2.2 Indice de saponification (I<sub>s</sub>)

L'indice de saponification est déterminé par la norme NF T60-206. Il correspond au nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire pour saponifier 1 g de matière grasse.

25 mL d'hydroxyde de potassium 1 N sont ajoutés dans un ballon contenant m gramme d'échantillon de corps gras. Le tout est porté à ébullition pendant 1 h. Après ajout de quelques gouttes de phénolphtaléine, le mélangé est titré à chaud avec de l'acide chlorhydrique 0,1 N dont le titre est connu précisément jusqu'à disparition de la couleur rouge. Un essai à blanc (sans corps gras) est également réalisé. L'indice de saponification est donné par la formule suivante :

$$I_{S} = \frac{(V_{E} - V_{T}) \times C_{HCl} \times M_{KOH}}{m_{CG}}$$
(4)

V<sub>T</sub> : volume d'acide chlorhydrique versé pour le témoin (mL)

V<sub>E</sub> : volume de HCl versé pour l'essai

C<sub>HCl</sub>: molarité de l'acide chlorhydrique (0,1 M)

M<sub>KOH</sub>: masse molaire de KOH

m<sub>CG</sub>: masse de l'échantillon (mg).

#### **I.2.1.2.2.3** Indice d'iode (I<sub>I</sub>)

L'indice d'iode exprime le degré d'instaurations d'un corps gras selon la norme NF T60-200. Il peut se déterminer par dosage des doubles liaisons par du diiode (I<sub>2</sub>), et correspond alors à la masse de I<sub>2</sub>, exprimée en gramme, fixée pour 100 g de corps gras. Pour faciliter la réaction d'addition, le réactif de Wijs (ICl) est utilisé préférentiellement à I<sub>2</sub>. D'abord, ICl introduit en excès, réagit sur les doubles liaisons selon la réaction d'addition suivante :

$$R-CH=CH-R'+ICI$$
  $\longrightarrow$   $R-CHI-CHCI-R'$ 

puis, l'excès d'ICl est transformé en  ${\rm I_2}$  selon la réaction suivante :

$$ICI + I^- \longrightarrow I_2 + CI^-$$

le diiode formé est alors dosé par le thiosulfate de sodium selon la réaction :

$$I_2 + 2 S_2 O_3^{2-} \longrightarrow S_4 O_6^{2-} + 2 I^{-}$$

Le degré d'instaurations est exprimé par la formule :

$$I_{I} = \frac{(V_{T} - V_{E}) \times C_{Na_{2}S_{2}O_{3}} \times M_{I} \times 100 \times 10^{-3}}{m_{CG}}$$
(5)

V<sub>T</sub>: Volume versé pour le blanc

V<sub>E</sub>: Volume versé pour l'échantillon

 $C_{Na_2S_2O_3}$ : concentration de la solution de  $Na_2S_2O_3$ 

M<sub>I</sub>: masse molaire de l'iode (I)

m<sub>CG</sub>: masse de l'échantillon (mg).

#### I.2.1.2.2.4 Indice de peroxyde $(I_P)$

L'indice de peroxyde d'un corps gras correspond au nombre de microgrammes d'oxygène actif contenu dans un gramme de produit capable d'oxyder l'iodure de potassium avec libération d'iode. Sa détermination opérée suivant la norme AFNOR NF T 60-220 reflète l'état d'oxydation de l'huile. Entre 0,3 et 0,5 g de corps gras sont prélevés, puis dissous dans 10 mL de chloroforme. Après l'ajout de 15 mL d'acide acétique puis 1 mL de solution d'iodure de potassium, le flacon est bouché puis agité pendant une minute. Le flacon est ensuite placé à l'obscurité pendant 5 min. Après avoir rajouté 75 mL d'eau distillée, l'iode libéré est dosé en présence d'indicateur d'iode avec une solution de thiosulfate de sodium. L'indice de peroxyde est exprimé suivant la relation :

$$ImeqO_2 = \frac{1000 \times V}{m} (6)$$

m: masse de la prise d'essai en gramme

V : volume de solution de thiosulfate de sodium utilisé (mL).

## I.2.1.2.3 Extraction et dosage des polyphénols et flavonoïdes de l'huile de papaye de Red Lady

#### I.2.1.2.3.1 Extraction des polyphénols et flavonoïdes

Une prise de 1 g d'huile et un volume de 3 mL de méthanol sont introduits dans une tube. Le mélange est soumis au vortex, avant d'être centrifugé à 3000 tours par minute pendant 10 minutes. Le processus est répété deux fois en récupérant entre deux opérations le surnageant et en additionnant 3 mL de méthanol au résidu. Les trois parties surnageantes des trois opérations sont combinées et le volume obtenu est complété à 10 mL.

#### I.2.1.2.3.2 Dosage des polyphénols totaux

À un volume de 200 μL de la fraction méthanolique contenant les polyphénols extraits, est ajouté un volume de 500 μL du réactif de Folin-Ciocalteu, 5 mL d'eau distillée et 1 mL d'une solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 35 %. Le mélange obtenu est complété à 10 mL avec de l'eau distillée et éventuellement centrifugé à 4000 tours par minute, s'il apparait un précipité. L'absorbance à 760 nm est relevée après avoir incubé durant 30 minutes à l'abri de la lumière. En parallèle, une gamme d'acide gallique est préparée à partir d'une solution mère à 0,1 mg/mL. La concentration est déterminée grâce à l'équation de la droite d'étalonnage (Annexe 8).

#### I.2.1.2.3.3 Dosage des flavonoïdes totaux

À une volume de 500 µL de l'échantillon, 2 mL d'eau distillée et 150 µL de NaNO<sub>2</sub> (5 g/100 mL) sont ajoutés. La solution résultante est incubée pendant 5 minutes et additionnée par la

suite de 150 μL d'une solution de AlCl<sub>3</sub> (10 g/100 mL). Après 1 minute d'attente, 1 mL de NaOH 1M est ajouté suivi de 1,2 mL d'eau distillée. La solution est agitée vigoureusement et incubée durant une heure avant la lecture de l'absorbance est lue à 425 nm. En parallèle, une gamme de quercétine est préparée à partir d'une solution mère à 0,1 mg/mL. La concentration est déterminée grâce à l'équation de la droite d'étalonnage (Annexe 9).

#### I.2.1.2.4 Mesure de l'activité antioxydante des huiles par DPPH

Détermination de la capacité antioxydante totale : un volume de 200  $\mu$ L de l'extrait méthanolique est additionné de 3,8 mL d'une solution méthanolique de DPPH (6 × 10<sup>-5</sup> mM). Le résultat est déterminé grâce à l'équation de la droite d'étalonnage (Annexe 10). L'absorbance est lue à 517 nm après une incubation de 30 minutes à l'abri de la lumière.

#### I.2.1.2.5 Détermination de la capacité calorifique des huiles

#### **I.2.1.2.5.1 Étalonnage**

La capacité calorifique (valeur en eau) de la bombe et du réservoir est calculée à partir d'un test effectué avec de l'acide benzoïque. La tête de la bombe comprenant l'électrode à anneau sur son support est installée sur le corps de la bombe et un fil d'allumage de 10 cm est placé entre les deux électrodes de la bombe. Un volume de 10 mL d'eau distillée est versé dans la base de la bombe pour capter les vapeurs. Dans une capsule, on pèse précisément une pastille d'acide benzoïque (environ 1 g). La capsule est déposée sur l'électrode à anneau et on place le fil d'allumage de façon qu'une longueur d'au moins 2 mm trempe dans l'échantillon. On insère immédiatement la tête de la bombe sur la base puis on ferme à l'aide de l'anneau en vissant à la main. La bombe est manipulée avec soin pour éviter que l'échantillon ne s'échappe de la capsule. La bombe remplie à 12 atm d'oxygène est introduite dans le réservoir du calorimètre contenant 2 litres d'eau à l'aide des pinces. Les fils de connexion de la boîte de mise à feu sont fixés sur la tête de la bombe. Après 10 secondes, l'étanchéité de la bombe est vérifiée en s'assurant qu'aucune bulle d'oxygène ne s'échappe de la bombe. Le couvercle du calorimètre, le thermocouple et la courroie d'entraînement de l'agitateur sont mis en place. À l'aide d'un thermomètre la température initiale (Ti°) du milieu est mesurée. Après la mise à feu, la température augmente et atteint un maximum après quelques minutes. La chute de la température est relevée à des intervalles de temps réguliers, ceci permet de trouver par extrapolation la température finale qu'on devrait obtenir s'il n'y avait pas de perte thermique.





Figure 73 : Bombe calorimétrique Parr . © AAG

#### I.2.1.2.5.2 Mesure des capacités calorifiques des huiles des variétés 1 et 2

L'étalonnage du calorimètre par la combustion de l'acide benzoïque a permis de trouver une valeur en eau de 2391 J/°C. La chaleur de combustion des huiles est mesurée en faisant la combustion d'une masse d'échantillon et en procédant exactement comme pour l'étalonnage.

La température maximale (T<sub>f</sub>) dans le calorimètre juste après la combustion du corps gras est obtenue à partir de l'extrapolation de l'équation de la droite de la variation de température en fonction du temps pour le temps zéro. Elle permet la détermination du pouvoir calorifique par l'équation suivante :

$$PC = \frac{W \times Ce \times (T_f - T_i)}{m}$$
(8)

W : valeur en eau du calorimètre

Ce : capacité thermique de l'eau

T<sub>i</sub>: température initiale mesurée avant la mise à feu

T<sub>f</sub>: température finale déterminée par extrapolation après la mise à feu

m : masse de l'échantillon en gramme.

#### I.2.1.2.6 Dosage des acides gras

Une fraction de 20 mg de corps gras est prélevée et introduite dans un vial, dans lequel 1 mL de TBME (tertio-butylmethylEther) est ajouté. Après agitation, un volume de 100 µL de la solution est introduit dans un insert et complété par 50 µl de TMSH (triméthyl hydroxyde de sulfonium 0,5 M dans le méthanol). Après une douce agitation la solution obtenue est analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CPG-FID). Un chromatographe de type Perkin Elmer équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) est utilisé avec les conditions opératoires présentées dans le tableau 11. Les acides gras sont identifiés par comparaison des temps de rétention avec ceux d'un mélange des acides gras de référence. La quantification est faite avec la méthodes des aires.

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

Type de colonne	CP – Select CB for FAME fused silica WCOT 50m
Gaz vecteur	Hélium 1,2 mL/min
Température d'injection	250° C
Quantité injectée	1 μl
Température du four	185° C (40 min); 15° C/min jusqu'à 250° C, 250° C (10 min)
Température du détecteur	250° C

#### I.2.1.2.7 Dosage des stérols

La détermination de la teneur en phytostérols des huiles brutes a été réalisée selon la norme ISO 12228. La séparation complète des différents phytostérols a été obtenue par chromatographie en phase gazeuse (CPG). Le principe de l'analyse des phytostérols est basé sur un isolement de l'insaponifiable puis une silylation de la fraction insaponifiable avant l'injection directe en Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG). La quantification est faite à partir des aires des pics pour les différents phytostérols comparées à l'aire du pic correspondant à l'étalon interne (cholestanol).

Tableau 12 : Conditions d'analyse des stérols en CGP-FID

Type de colonne	CPSiL (Varian) 30m x 0,25mm x 0,25μm
Gaz vecteur	Hélium 1,2 ml/min pression : 100 KPa
Température d'injection	350° C
Quantité injectée	1μ1
Programmation température	55° C (0,5 min), 20° C/min jusqu'à 340° C, et 340° C (30 min)
d'injection	
Programmation température	160° C (0,5 min); 20° C/min jusqu'à 260° C (5,5 min), 2°C/min
du four	jusqu'à 300° C (10 min), 45° C/min jusqu'à 350° C (3 min)
Température du détecteur	365° C



Figure 74: Appareil CPG Perkin-Elmer © AAG

#### I.2.1.2.8 Analyse DSC de l'huile

Les analyses DSC ont été effectuées sur un Mettler Toledo DSC823. La précision de la température de l'instrument a été calibrée avec l'indium, et le flux de chaleur a été étalonné avec du n-heptane. L'appareil est équipé d'un IntraCooler capable de maintenir des températures de -90°C à 600 °C et des montées de température de 0,1 à 50 °C min<sup>-1</sup>. Un débit d'air de 40 mL/min<sup>-1</sup> est maintenu. Les huiles sont analysées dans la gamme de température -80°C à +40°C à raison de 5°C/min. Les thermogrammes obtenus ont été traités à l'aide d'un logiciel dédié (StarSoftware). La masse de l'échantillon de corps gras (8-10 mg) est placée dans une capsule en oxyde d'aluminium qui est ensuite placé dans le porte échantillon de l'appareil avec la programmation de la température adéquate.

#### I.2.1.2.9 Analyse IR de l'huile

L'analyse des groupements fonctionnels peut se faire avec la méthode de la spectroscopie infra-rouge par transformée de Fourrier (FT-IR). Le spectre est enregistré de 400 cm<sup>-1</sup> à 4000 m<sup>-1</sup>, avec une résolution de 4 cm<sup>-1</sup> et correction de la ligne de base. L'appareil utilisé est un spectrophotomètre Perkin Elmer Spectrum Two équipé avec un échantillonneur ATR. Les spectres sont analysés grâce au logiciel Spectrum 10<sup>TM</sup>.

#### I.2.1.3 Protéines

#### I.2.1.3.1 Extraction des protéines de réserve

Une extraction séquentielle des protéines de réserve est effectuée en se basant sur leurs différences d'affinités avec différents solvants (Figure 75). Une masse de 3 g de poudre de graines de *Carica papaya* L. délipidées et 60 mL de tampon approprié sont mélangés.

Les albumines sont extraites avec de l'eau bidistillée à pH 6,5 sous agitation pendant 30 minutes dans un bain d'eau glacée. Après centrifugation à 4°C, à 10400 rpm pendant 15 mn. Le surnageant contenant les albumine est récupéré et le résidu résultant est extrait avec du Tris-HCl 100 mM, pH 8,2 NaCl 0,5 M pour récupérer les globulines dans le surnageant dans les mêmes conditions précédentes. Le nouveau résidu est extrait avec de l'éthanol à 70 % pour isoler les prolamines dans le surnageant. Les glutélines sont extraits du dernier résidu avec de l'acide acétique 0,2 M dans les mêmes conditions.

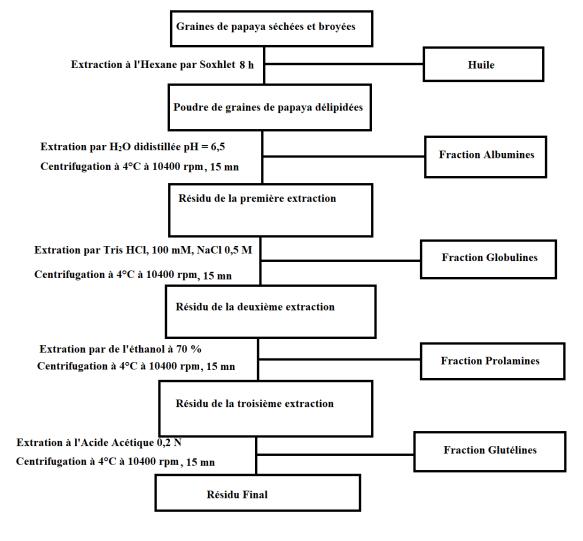


Figure 75 : Méthode d'extraction des protéines

#### I.2.1.3.2 Dosage des protéines par la méthode de Bradford

Les extraits de protéines précédemment collectés sont dosés par la méthode développée par Marion M. Bradford en 1976 [62]. À 200 µL de la solution protéique, sont ajoutés 4 mL du réactif de Bradford dilué au cinquième. L'ensemble est incubé à l'obscurité durant une trentaine de minutes avant de procéder à la lecture de l'absorbance à 595 nm. Dans les mêmes conditions, une gamme de BSA allant de 0 à 20 µg est préparée à partir d'une solution commerciale à 2 mg/mL. La quantité de protéine est déterminée grâce à l'équation de la droite d'étalonnage (Annexe 11).

#### I.2.1.3.3 Chromatographies

Deux méthodes chromatographiques ont été utilisées dans le but de caractériser les albumines et les globulines.

Tout d'abord, une chromatographie gel-filtration sur Sephadex G100 est effectuée. Ce type de chromatographie permet de séparer les protéines en fonction de leurs poids moléculaires. Les molécules de haut poids moléculaires seront les premières à sortir et celles de faibles poids moléculaires seront les dernières. La résine Sephadex G100 utilisé a un domaine de fractionnement compris entre 4 000 et 150 000 Da. Par la suite une chromatographie échangeuse d'ions sur une résine DEAE-Sephadex A25 est réalisée. Cette chromatographie va permettre de séparer les protéines selon leurs charges. La résine ayant un groupement positif utilisé dans cette analyse ne retiendra que les protéines plus ou moins chargées négativement et éluera celles ayant des charges positives ou non chargées très rapidement. Afin de décrocher les protéines ayant des charges négatives, un contre-ion négatif (Cl<sup>-</sup>) est apporté sous la forme de NaCl pour faciliter l'élution.



Figure 76 : Colonne de Chromatographie © AAG

#### I.2.1.3.3.1 Préparation des gels

20 g de Sephadex G100 en poudre très fine sont introduits dans un flacon de 500 mL en verre auxquels, 400 mL de tampon Tris-HCl pH 7,2 (eau pH 6,5) sont additionnés. La suspension est agitée légèrement pour éliminer les bulles d'air. Le récipient est laissé au repos pendant une nuit pour permettre au gel de gonfler correctement. La suspension est versée délicatement dans la colonne de 22 cm de hauteur et 1,5 cm de diamètre. Le lit de Sephadex est laissé au repos jusqu'au tassement complet. Le robinet d'arrêt au bas de la colonne est ouvert pour permettre l'écoulement du tampon surnageant avec un débit de l'ordre de 20 mL par heure. La colonne est équilibrée en ajoutant continuellement du tampon en contrôlant le pH de l'éluant jusqu'à ce que ce pH soit égal à celui du tampon de départ. À aucun moment le dessus du gel n'a été sec.

5 g de Sephadex A-25 sous forme de poudre blanche très fine sont suspendus dans le tampon Tris-HCl pH 7,2 et la suspension est stockée pendant 48 heures en agitant délicatement de temps en temps pour éviter d'endommager les particules fines. Le tampon utilisé comporte le même contre ion que le Sephadex A-25. La colonne est équilibrée en faisant passer du tampon jusqu'à ce que le pH du liquide sortant soit égal à celui de l'éluant entrant.

#### **I.2.1.3.3.2** Mise en œuvre

Pour les deux chromatographies, 5 mL de la solution protéique sont déposés sur la résine. En gel-filtration, l'élution se fait avec du Tris-HCl pH 7,2 pour les globulines ou avec de l'eau distillée à pH 6,5 pour les albumines. En ce qui concerne la chromatographie échangeuse d'ions, les mêmes tampons auxquels sont ajoutées des quantités croissantes de NaCl sont utilisés.

Des fractions de 2 mL sont récupérées et l'élution est suivie par la lecture de l'absorbance à 280 nm, des contenus des tubes. À la fin de l'élution, les pics sont rassemblés puis dosés grâce à la méthode de Bradford décrite ci-dessus.

#### I.2.1.3.4 Électrophorèse SDS-PAGE

L'électrophorèse repose sur la séparation des molécules grâce à un champ électrique. La migration se fait de la cathode à l'anode. Pour que la migration puisse se faire, les molécules doivent être chargées. Il existe de nombreuses techniques mais une seule nous intéresse : la méthode SDS-PAGE.

Dans cette méthode, toutes les molécules sont chargées de la même manière. Le SDS linéarise les molécules et leur confère des charges négatives. La séparation ne se fera alors que par la taille.

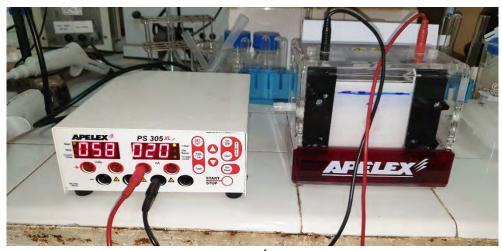


Figure 77 : Appareillage Électrophorèse © AAG

#### I.2.1.3.4.1 Préparation du gel d'électrophorèse

Un gel de séparation à 12% d'acrylamide et un gel de concentration à 4% sont préparés et coulés indépendamment l'un de l'autre.

Produits	Gel de	Gel de	
Froduits	concentration	séparation	
Eau distillée	4,35 mL	2,15 mL	
Accugel 29 :1 (Mélange	3 mL	0,35 mL	
acrylamide/bisacrylamide 40%)	3 IIIL	0,55 IIIL	
Tampon Tris-HCl 1,5 M pH 8,8	2,5 mL	-	
Tampon Tris-HCl 0,5 M pH 6,8	-	0,95 mL	
Solution SDS 10%	100 μL	37 μL	
TEMED	5 μL	3 μL	
Bleu de bromophénol 0,1%	-	20 μL	
Ammonium persulfate 10%	100 μL	37 μL	

Le gel de séparation est coulé en premier et quelques gouttes d'isopropanol sont ajoutés à la surface du gel qui se polymérise en trente minutes. Une fois la polymérisation du gel de séparation est terminée, l'isopropanol est retiré et le gel de concentration est coulé en présence d'un peigne pour former les puits.

#### I.2.1.3.4.2 Préparation et dépôt des protéines

Les protéines sont précipitées durant quarante-cinq minutes avec de l'acétone (1 : 4). Le mélange est centrifugé à 4°C à 13300 rpm durant 20 minutes et le surnageant est éliminé afin de récupérer le culot qui est ensuite séché.

Le culot est repris avec 20 μL de tampon de charge (Tris-HCl 0,05M; pH 6,8; SDS 2%; glycérol 10%; Bleu de Bromophénol 0,1%) et chauffé au bain-marie bouillant durant 5 minutes. 10μL de chaque échantillon et 5 μL du mélange de marqueur de taille sont déposés dans des puits différents du gel. Le marqueur de taille est composé de : Myosine : 200 000 Da, β-galactosidase : 116 250 Da, Phosphorylase b :97 400 Da, Sérum albumine : 66 200 Da, Ovalbumine : 45 000 Da, Anhydrase carbonique : 31 000 Da, Inhibiteur de la trypsine : 21 500 Da, Lysozyme : 14 400 Da et Aprotinine : 6 500 Da.

#### I.2.1.3.4.3 Migration des protéines

La cuve de l'électrophorèse est remplie avec le tampon de migration TGS (Tris-HCl, Glycine, SDS) 1X. Un courant de 20 mA est appliqué au niveau du générateur. La migration est stoppée dès que le front de migration marqué par le bleu de bromophénol atteint le bas du gel.

#### I.2.1.3.4.4 Coloration et séchage du gel

Une solution de bleu de Coomassie R-250 est utilisée pour colorer le gel. 100 mL de cette solution contenant le gel sont chauffés 2 fois 30 secondes ; puis une solution de décoloration (Méthanol 45%, Eau 45% et acide acétique 10%) est utilisée pour décolorer le gel durant toute

la nuit. Le gel récupéré est séché entre deux feuilles de cellophane à la température de la salle durant 24 heures.

#### I.2.1.3.5 Lecture spectrométrique UV des protéines

Les protéines sont précipitées à l'acétone et le culot est suspendu dans 500 mL d'eau distillée. L'ajout de NaOH à différentes concentrations dans 20 mL de la solution de protéine va permettre la mesure du pH et la prise du spectre UV (Tableau 13).

<u>Tableau 13 : Protocole de mise en œuvre de l'étude des protéines par Spectrophotométrie UV.</u>

	Volume protéines (mL)	Concentration NaOH (M)	Volume NaOH (mL)	Volume eau distillée (mL)	
1		0	0	5	
2			0,25	4,75	
3			1	4	
4		0,05	2	3	
5		20 3 4 5 1		3	2
6	20			4	1
7	20		5	0	
8			1	4	
9		0,5	2	3	
10			3	2	
11			4	1	
12		1	5	0	

#### I.2.1.3.6 Dosage acide/base

Les protéines sont précipitées grâce à l'acétone et le culot est repris dans 50 mL d'eau bidistillée à pH 7. 10 mL de NaOH 0,08 M sont ajoutés à cette mixture. Le pH et la conductivité sont mesurés initialement puis après l'ajout de 50  $\mu$ L de HCl 0,08M jusqu'à atteindre un volume de 15 mL final.

La relation ci-dessous est utilisée pour effectuer les calculs :

$$A = \frac{N_{NaOH} (V_{eq1} - V_{eq2})}{1000 \times m_{prot}} (9)$$

A : équivalent groupes acides/g de protéines ;  $V_{eq1}$  et  $V_{eq2}$  sont les volumes (mL) de HCl versés respectivement au premier et au deuxième point équivalent ;  $N_{NaOH}$  = normalité de la solution de NaOH utilisée pour dissoudre les protéines, et  $m_{prot}$  = masse de protéine titrée (g). L'inverse de la valeur trouvée en utilisant l'équation ci-dessus donne la masse équivalente g de protéine / équivalent de groupes acides.

### I.2.2 Voies de valorisation des sous-produits du papayer

# I.2.2.1Utilisation des graines de papayer dans l'adsorption des colorants

#### I.2.2.1.1 Préparation de l'adsorbant

Les graines de *Carica papaya* (GCP) non dégraissées sont obtenues à partir de fruits mûrs, et sont soigneusement lavées à l'eau distillée et séchées à l'ombre et à l'air pendant trois jours. Après ce processus, elles ont été séchées à 45°C pendant 48 heures dans une étuve. Les graines non dégraissées ont été broyées avec un broyeur et l'huile en a été extraite à l'hexane. Le résidu GCPD a été séché à l'air, broyé, tamisé jusqu'à l'obtention de particules fines de diamètres moyens de 0,25 mm et stocké dans un récipient en plastique.

#### I.2.2.1.2 Détermination du point zéro charge (pH<sub>PZC</sub>)

Le pH du point de charge zéro (pH<sub>PZC</sub>) pour le GCPD a été déterminé par une procédure de titrage acido-basique. À une série de onze fioles coniques de 150 mL, on a ajouté 45 mL d'une solution de KNO<sub>3</sub> (0,01 M) et le pH a été ajusté avec précision à l'aide de solutions de HCl ou de NaOH 0,01 N du pH = 2 (premier flacon) au pH = 12 (onzième flacon) et complété avec une solution de KNO<sub>3</sub> 0,01 M à 50 mL. Le pH initial (pH<sub>i</sub>) a été à nouveau mesuré avec précision et consigné. À chaque flacon on ajoute 0,1 g de GCPD; le flacon a été bouché et agité manuellement toutes les 4 heures. Après 48 heures, le pH final (pH<sub>f</sub>) dans chaque flacon a été mesuré. Le  $\Delta pH = pH_f - pH_i$  est tracé en fonction du pH<sub>i</sub>. Le point d'intersection de la courbe et l'axe des abscisses à  $\Delta pH = 0$  donne la valeur du pH<sub>PZC</sub>.

#### I.2.2.1.3 Caractérisation de l'adsorbant par la méthode de Boehm

La méthode Boehm [63], est utilisée pour caractériser la surface de l'adsorbant. 0,10 g de l'échantillon est introduit dans un flacon fermé contenant 50 mL d'une solution aqueuse 0,01 mol/L de réactif (NaOH, ou Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ou NaHCO<sub>3</sub>, ou HCl). Les suspensions ont été agités pendant 24 h à une vitesse constante : 700 tours/min et à la température ambiante. Ensuite, les suspensions ont été filtrées sur des filtres Whatman N°4. Pour déterminer le nombre de groupe acide ou basique, des titrages en retour du filtrat (10 ml) ont été réalisés avec HCl standard (0,01 mol/L) pour avoir les groupements acides. Les teneurs des groupes basiques ont été également déterminées par le titrage en retour du filtrat avec NaOH (0,01 mol/L).

#### I.2.2.1.4 Caractérisation de l'adsorbant par SEM et DRX

Un diffractomètre DRX-SEM XPERT-PRO PANalytical BV, avec un rayonnement  $CoK\alpha$  ( $\lambda$  = 1,78901 Å) est utilisé et les pics sont observés à 2 $\theta$  allant de 10° à 90°. La morphologie et la cartographie de distribution des éléments de l'adsorbant ont été caractérisées à l'aide d'un microscope électronique à balayage de champ Zeiss Ultra plus 55 (FE-SEM) à haute résolution, fonctionnant à une tension de 2,0 kV et d'un microscope électronique à transition à haute résolution JEOL JEM-2100F (HRTEM) à 200 kV. La spectroscopie photoélectronique aux rayons X (XPS, Kalpha, Thermo Fisher) a été utilisée pour analyser la composition élémentaire des matériaux avec un rayonnement Al-K $\alpha$  monochromatique.

#### I.2.2.1.5 Tests d'adsorption par Batch

Toutes les expériences ont été conduites en batch. Un échantillon de GCPD de masse connue a été mélangé avec un volume de 50 mL de solution de colorant dans des fioles coniques de 250 mL et l'agitation constante a été maintenue pendant un temps fixe à 25° C. À la fin de l'opération, la phase liquide a été séparée de l'adsorbant par filtration par gravité à travers un papier Whatman N°4. La concentration résiduelle de colorant dans le liquide a été déterminée en mesurant l'absorbance de la solution à des longueurs d'onde spécifiques en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible Perkin-Elmer Lambda 365 (max = 663,5 nm pour le bleu de méthylène (BM) et max = 517,1 nm pour la fuchsine basique (FB)) à l'aide d'un spectrophotomètre. Les données expérimentales ont été utilisées pour calculer la capacité d'élimination et la quantité de colorant adsorbé sur le GCPD selon les équations ci-dessous.

Capacité d'élimination (%) = 
$$\frac{(C_0 - C_e) \cdot V}{C_0} \times 100$$
 (7)
$$q_e = \frac{(C_0 - C_e) \cdot V}{m_0} (8)$$

où  $C_0$  et  $C_e$  sont respectivement les concentrations de colorant initiale et finale (mg/L) dans la phase liquide, V (L) est le volume de la phase liquide et  $m_0$  (g) est la masse de l'adsorbant utilisé.

#### I.2.2.1.5.1 Effet du contact temporel

Le temps d'équilibre a été déterminé en utilisant la procédure suivante. 50 mL de solution de colorant à une concentration de 50 mg/L ont été traités avec 0,25 g d'adsorbant sur une plage allant de 10 à 180 mn. Les expériences ont été effectuées au même pH et les flacons ont été agités à 500 tr / min et à une température de 25 ° C.

#### I.2.2.1.5.2 Effet de la dose d'adsorbant sur la capacité d'élimination

L'effet de la dose d'adsorbant a été étudié à l'aide de la procédure suivante. 50 mL de solution de colorant à une concentration de 50 mg/L ont été traités avec une masse d'adsorbant allant de 0,1 à 2 g. Les expériences sont conduites au même pH et les flacons ont été agités à 500 tr / min et à une température de 25 ° C pendant 180 min.

$$\begin{array}{c|c} & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & \\ & & & \\ & &$$

Figure 78 : Structures chimiques des colorants testés où (A) est le bleu de méthylène et (B) la fuchsine basique.

#### I.2.2.1.5.3 Effet du pH de la solution sur la capacité d'élimination

L'effet du pH de la solution sur les capacités d'élimination de l'adsorbant a été étudié entre le pH = 2 et le pH = 11. Les expériences ont été réalisées en ajoutant 0,4 g ou 0,3 g de poudre de GCPD (pour le BM et la FC respectivement) dans six erlenmeyers de 150 mL contenant 50 mL d'une solution de colorant à 50 mg/L et le pH de la solution a été ajusté à l'aide de solution de HCl 0,1 N ou de solution de NaOH 0,1 N. Les flacons ont été agités à 500 tours / minute et à une température de 25° C pendant 180 minutes.

# I.2.2.2Utilisation des feuilles de papayer dans l'élimination des métaux lourds

On utilise les mêmes protocoles que pour l'élimination des colorants pour optimiser l'élimination des colorants. On travaille avec une concentration en métaux de 10 mg/L. Quatre métaux sont étudiés : le cuivre, le zinc, le nickel et le fer sont testés. Les analyses ont été faites avec un Spectromètre Atomique d'absorption/flamme Thermo-Fisher iCE 3000 Series. L'acétylène est le gaz utilisé pour toutes les analyses.



Figure 79 : Spectromètre d'absorption atomique © AAG

### I.2.3 Analyse statistique

Les différentes analyses statistiques ont été effectuées grâce à l'extension XLSTAT 2019 d'Addinsoft.

### II. Résultats et Discussion

# II.1 Composants phytochimiques et activités antioxydantes

# II.1.1 Détermination des conditions optimales d'extraction des polyphénols

L'optimisation de l'extraction a été effectuée en suivant le contenu total en polyphénols chez les feuilles. Les résultats sont ainsi consignés dans la figure 80.

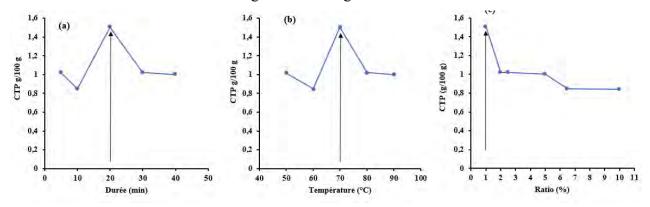


Figure 80 : Optimisation des paramètres d'extraction des polyphénols

(a) Durée; (b): Température; (c): Ratio

La figure 80 représente la variation du CTP en fonction de la température, de la durée et du ratio matériel végétal/eau (%). Cette figure nous montre que le rendement d'extraction est sensible à ces différents paramètres. Quand la température augmente, on observe une augmentation du rendement d'extraction pour atteindre une valeur optimale à 70°C ce qui est soutenu par les observations effectuées par Vuong et *al* [5]. De même, lorsque la durée de l'extraction varie en fixant la température à 70°C, le rendement d'extraction augmente et atteint une valeur maximale d'extraction à 20 minutes. Au-delà de 20 minutes, le taux d'extraction des polyphénols diminue régulièrement.

En fixant ces deux premiers paramètres aux valeurs optimales, l'influence du ratio (m/v) sur le rendement d'extraction est étudié. Dans la figure 80 c, le rendement d'extraction est maximal pour un ratio de 1/100. Ce résultat est confirmé par les constations de Gertenbach et *al*. [64] qui disent que plus bas est le ratio matériel végétal/eau, meilleur est le rendement d'extraction. En effet, il existe un gradient de concentration entre les composés phénoliques à l'intérieur des particules foliaires et ceux situés à la surface, ce qui conduit à une accélération du processus

d'extraction à forte dilution.

Dans la suite de ce travail, l'extraction est effectuée à une température de 70°C, durant 20 minutes avec un ratio 1/100 dans le but de quantifier le contenu total en polyphénol (CTP), le contenu total en flavonoïdes (CTF), le contenu en saponines (CS), le contenu total en proanthocyanidines (CTPa) et les différentes activités antioxydantes.

### II.1.2 Teneurs des polyphénols dans les sous-produits de Carica papaya L.

#### II.1.2.1 Détermination du contenu total en polyphénols

Le tableau 14 résume la teneur en polyphénols obtenue grâce à l'extraction des différents organes des trois variétés de *Carica papaya* étudiées.

Tableau 14 : Contenu total en polyphénols des 3 variétés de papaye étudiées

Contenu total en polyphénols (mg EAG/g)

	VF	JF	EP	GRD
Ordinaire V1	29,75 ± 1,22 <sup>a</sup>	$38,03 \pm 1,18^{b}$	$19,87 \pm 0,26^{\circ}$	$72,56 \pm 3,16^{d}$
Red lady V2	$53,24 \pm 3,02^{e}$	$55,24 \pm 3,14^{e}$	$15{,}53 \pm 5{,}93^{\mathrm{f}}$	$9,\!61\pm3,\!81^g$
Sunrise V3	$41{,}77 \pm 0{,}96^{\rm h}$	$38,\!56\pm1,\!61^{b,h}$	$23,64 \pm 1,29^{j}$	$38,\!28\pm1,\!34^b$

VF : vieille feuille ; JF : jeune feuille ; EP : épluchures et GRD : graines délipidées. Les données ayant des lettres en exposant sont significativement différentes pour un p-value≥0,05.

Chez la variété Ordinaire (V1), les graines délipidées (GRD) sont beaucoup plus riches en polyphénols (72,56  $\pm$  3,16 mg EAG / g) suivies des jeunes feuilles (JF) (38,03  $\pm$  1,18 mg EAG / g) et des vieilles feuilles (VF) (29,75  $\pm$  1,22 mg EAG / g); les épluchures (EP) sont deux fois moins riches en polyphénols (19,87  $\pm$  0,26 mg EAG / g) que les jeunes feuilles. Contrairement à la variété Ordinaire, le résidu des graines délipidées (GRD) de la variété Red Lady (V2) est moins riche en polyphénols (9,61  $\pm$  3,81 mg EAG / g) que toutes les autres parties de la plante ; les jeunes feuilles (JF) sont plus riches (55,24  $\pm$  3,14 mg EAG / g), suivies des vieilles feuilles (VF) (53,24  $\pm$  3,02 mg EAG / g) et des EP (15,53  $\pm$  5,93 mg EAG / g) qui sont les moins riches en polyphénols. Chez la variété Sunrise (V3), les feuilles présentent les mêmes tendances que la variété Red Lady (38,56 et 41,77 mg EAG/g) tandis que les épluchures sont les plus pauvres (23,64  $\pm$  1,28 mg EAG/g) ; les graines et les jeunes feuilles ont des taux de polyphénols comparables (38,28  $\pm$  1,34 et 38,56  $\pm$  1,61 mg EAG/g).

Les données montrent que les GRD de V1 sont deux fois plus riches en polyphénols que celles de V3 et qu'elles sont sept fois plus riches que celles de V2 qui sont pauvres en polyphénols. Chez V2, les polyphénols se trouvent principalement dans les feuilles tandis que chez V1, les graines contiennent presque autant de polyphénols que toutes les autres parties de la plante réunies. Pour V3, les polyphénols sont répartis de façon assez homogène dans les feuilles et les graines. Il est à noter que pour les variétés V2 et V3 le contenu total en polyphénols (CTP) des JF et des VF est comparable contrairement à V1 pour laquelle le CTP des JF est significativement plus élevé que celui des VF. Les trois variétés étudiées dans ce travail ont un taux de polyphénols supérieur aux résultats (23,06 mg EAG/g) trouvés par Vuong et al. [5]. Les feuilles d'une variété de C. papaya L., cultivées au Pakistan [65], donnent une valeur CTP de 49,94  $\pm$  0,60 mg EAG/g. Cette teneur est inférieure aux valeurs trouvées pour les feuilles de la variété Red Lady et supérieure à celles des feuilles des variétés Ordinaire et Sunrise. Les épluchures de cette variété du Pakistan ont une teneur de 32,23  $\pm$  0,64 mg EAG/g en polyphénols qui est supérieure à celles des trois variétés utilisées dans cette étude tandis que lesurs graines sont moins riches avec 27,94  $\pm$  0,09 mg EAG/g [65].

#### II.1.2.2 Teneur totale en flavonoïdes

Pour les trois variétés, les niveaux de flavonoïdes sont faibles (tableau 13). Cela peut s'expliquer par la faible solubilité des flavonoïdes dans l'eau qui est un solvant très polaire. En effet, les flavonoïdes qui sont des molécules faiblement polaires sont plus solubles dans les solvants organiques et les solvants peu et moyennement polaires. Pour toutes les variétés, les niveaux de flavonoïdes de VF et de JF sont comparables et varient entre 1,10 mg EQ/g et 1,50 mg EQ/g. Ces valeurs sont inférieures à la valeur rapportée dans la littérature (3,33 mg/g) pour les jeunes feuilles de la variété de papaye qui pousse en Malaisie [66].

Tableau 15 : Contenu total en flavonoïdes des trois variétés de papaye étudiées

	Contenu total en flavonoïdes (mg EQ/g)			
	VF	JF	EP	GRD
Ordinaire V1	$1,11 \pm 0,077^{a}$	$1,01 \pm 0,009^{a}$	$0.34 \pm 0.050^{b}$	$0,22 \pm 0,010^{b}$
Red Lady V2	$1,\!46\pm0,\!047^c$	$1{,}39 \pm 0{,}014^{d}$	$0,23 \pm 0,004^{e}$	$0,36 \pm 0,013^{e}$
Sunrise V3	$1{,}39 \pm 1{,}970^d$	$0.99 \pm 0.010^{\rm g}$	$0,23 \pm 0,006^{h}$	$1,01 \pm 0,030^{i}$

VF : vieille feuille ; JF : jeune feuille ; EP : épluchures et GRD : graines délipidées. Les données ayant des lettres en exposant sont significativement différentes pour un p-value≥0,05.

Le CTF d'extraits aqueux de graines dégraissées (0,22 mg EQ / g - 1,01 mg EQ / g) est supérieur au CTF d'extrait aqueux de graines de la variété malaisienne [66]. Les CTF des EP se situent entre 0,23 mg EQ / g et 0,35 mg EQ / g et sont supérieurs à la valeur rapportée (0,056 mg / g) pour la variété *Carica papaya* L. var solo 8 cultivée en Côte d'Ivoire [67].

# II.1.2.3 Détermination du contenu total en proanthocyanidines

En raison de leur faible polarité, les rendements d'extraction des proanthocyanidines dans l'eau sont faibles (Tableau 14). Les teneurs en proanthocyanidines des trois variétés ont été déterminées grâce à la droite d'étalonnage de la catéchine.

Elles sont comparables et se situent entre 2,19 et 2,51 mg EC/g et sont légèrement supérieures à celles trouvées pour JF (1,57 - 2,33 mg EC/g). Les EP et les GRD de V1 sont les plus riches en proanthocyanidines : 2,53  $\pm$  0,34 mg EC/g et 2,50  $\pm$  0,08 mg EC/g respectivement.

Tableau 16: Contenu total en proanthocyanidines des 3 variétés de papaye étudiées

Contenu total en Proanthocyanidines mg EC/g VF **GRD Ordinaire**  $2,23 \pm 0,15^{a,b}$  $2,10 \pm 0,10^{b,g}$  $2,53 \pm 0,34^{a,h}$  $2,50 \pm 0,08^{a}$ V1Red Lady  $2.51 \pm 0.03^{a,c,h}$  $2,33 \pm 0,12^{a,c,g}$  $1.68 \pm 0.16^{d}$  $1,23 \pm 0,05^{e}$ V2 Sunrise  $1,57 \pm 0,18^{\rm f}$  $1,50 \pm 0.08^{\rm f}$  $1,45 \pm 0,11^{\rm f}$  $2,19 \pm 0,06^{a}$ V3

VF : vieille feuille ; JF : jeune feuille ; EP : épluchures et GRD : graines délipidées. Les données ayant des lettres différentes en exposant sont significativement différentes pour un p-value≥0,05.

Pour V2, EP et GRD sont médiocres avec des valeurs inférieures :  $1,68 \pm 0,16$  mg EC mg/g pour EP et  $1,23 \pm 0,05$  mg EC / g pour GRD. Pour V3, les GRD contiennent beaucoup moins de proanthocyanidines  $(1,45 \pm 0,11$  mg EC / g) que toutes les autres parties étudiées de la plante. Pour V1, les quantités de proanthocyanidines sont régulièrement réparties entre les différentes parties de la plante :  $2,10 \pm 0,10$  mg. EC / g -  $2,53 \pm 0,34$  mg EC / g (Tableau 14).

### II.1.2.4 Teneur en saponines

Le tableau 15 donne les valeurs de saponines retrouvées chez les trois variétés de papayer.

Les EP et les GRD de la variété Sunrise (V3) sont les plus riches en saponines  $194,03 \pm 15,78$  et  $102,92 \pm 26,77$  mg EAe/ g respectivement (tableau 2). La même observation est notée pour la variété ordinaire (V1) mais avec des valeurs inférieures :  $87,07 \pm 6,08$  mg EAe / g pour

les EP et  $74,87 \pm 11,77$  mg EAE / g pour le DS. Pour la variété Red Lady (V2), les JF contiennent plus de saponines ( $65,88 \pm 5,70$  mg EAe / g) que toutes les autres parties étudiées de la plante alors que les VF sont les plus pauvres en saponines ( $49,73 \pm 0,92$  mg EAe / g) contrairement aux deux autres variétés (tableau 2...). Ceci est cohérent avec le fait que les saponines, légèrement polaires, sont plus compatibles avec les solvants qui sont moins polaires que l'eau. Ces résultats sont conformes à ceux rapportés pour le Carica étudié par Vuong et *al*. [5].

Tableau 17 : Contenu total en saponines des trois variétés de papayer

Contenu total en saponines mg AeE/g

	VF	JF	EP	GRD
Ordinaire V1	$38,31 \pm 5,58^{a}$	$66,38 \pm 3,36^{b}$	$87,07 \pm 6,08^{\circ}$	$74,87 \pm 11,77^{b,c}$
Red Lady V2	$49,73 \pm 0,92^{a}$	$65,88 \pm 5,70^{b}$	$55,61 \pm 7,41^{d}$	$51,79 \pm 1,34^{d}$
Sunrise V3	$66,61 \pm 1,97^{b}$	$56,35 \pm 12,39^{d}$	$194,03 \pm 15,78^{e}$	$102,92 \pm 26,77^{\rm f}$

VF : vieille feuille ; JF : jeune feuille ; EP : épluchures et GRD : graines délipidées, Les données ayant des lettres différentes en exposant sont significativement différentes pour un p-value≥0,05,

# II.1.3 Étude de l'activité antioxydante des extraits aqueux

L'étude de l'activité antioxydante a été faite avec trois méthodes différentes : CUPRAC, DPPH et ABTS ...

# II.1.3.1 Capacité antioxydante totale déterminée par la méthode CUPRAC

La méthode CUPRAC repose sur la capacité des antioxydants à réduire les ions Cu<sup>2+</sup> en Cu<sup>+</sup>. Pour cela, un agent chélatant est nécessaire : la néocuproïne (Figure 81). Les ions Cu<sup>+</sup> vont donc former un complexe avec la néocuproïne.

Figure 81 : Structure du complexe Cuivre-Néocuproïne

Cette méthode permet donc de mobiliser les antioxydants, ayant un ou plusieurs groupements thiols ainsi que des antioxydants lipophiles et hydrophiles [68]. L'étalonnage a été effectué grâce au TROLOX qui est un analogue hydrosoluble de la vitamine E (Figure 82). Les résultats sont exprimés en mg ETr/g.

Figure 82 : Structure du TROLOX

Le tableau 18 récapitule la capacité antioxydante totale (CAT) par la méthode CUPRAC des trois variétés de papayer étudiées.

Aussi bien les vieilles feuilles (VF) que les jeunes feuilles (JF) ont une excellente capacité antioxydante. Les JF de la variété Red Lady (V2) présentent la plus forte capacité antioxydante avec 72,38±0,8 mg ETr/g. Elles sont suivies des VF de la même variété et des GRD de la variété Ordinaire (V1) avec des capacités antioxydantes de 69,61±0,62 mg ETr/g et 69,37±0,63 mg ETr/g respectivement. Les JF et les VF de la variété Sunrise (V3) ont également une bonne capacité antioxydante avec 60,59±0,82 et 67,69±0,71 mg ETr/g respectivement de capacité antioxydante. Ces résultats sont en corrélation avec les teneurs en polyphénol mesurées pour ces organes.

Pour V1, les VF et les JF ont une capacité antioxydante plus faible que celle des GRD de cette variété. En effet les VF et les JF de V1 sont beaucoup plus pauvres en polyphénols que les graines de V1. Pour toutes les variétés, les épluchures ont une capacité antioxydante

inférieure à celles des feuilles correspondantes (Tableau 16) en accord avec leurs teneurs en polyphénols qui sont plus faibles que celles des feuilles correspondantes.

En comparant les organes des différentes variétés, il apparait que, les JF de V2 ont une meilleure CAT même si les GRD de V1 sont plus riches en polyphénols [69].Il apparait que les feuilles et les graines ne contiennent pas les mêmes types de polyphénols ou les mêmes proportions pour les polyphénols de même catégorie.

<u>Tableau 18 : Capacité antioxydante totale de trois variétés de papayer par la méthode</u>
<u>CUPRAC</u>

Canacité antioxydante totale (mg/g)

	cupuette unitoxyuunte totale (mg g)				
	VF JF EP GRD				
Ordinaire	49,53±0,50	57.26+0.21	40.92+0.25	(0.27+0.62	
V1	49,33±0,30	$57,36\pm0,31$	$40,83\pm0,25$	$69,37\pm0,63$	
Red Lady	60 61+0 62	72 20 10 0	21 40+0 2	20 10   0.52	
V2	69,61±0,62	72,38±0,8	31,40±0,2	$30,19\pm0,53$	
Sunrise	(7, (0) 0, 71	(0.50+0.92	46.00+0.24	25 20   0.50	
V3	$67,69\pm0,71$	$60,59\pm0,82$	$46,98\pm0,34$	$35,20\pm0,58$	

VF: vieille feuille; JF: jeune feuille; EP: épluchures et GRD: graines délipidées.

# II.1.3.2 Capacité antioxydante et CI50 par la méthode DPPH•

Le 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyl (DPPH•) est un radical stable violet qui est utilisé dans le but d'évaluer l'activité antioxydante de certains composés [70], [71]. En présence d'antioxydant, la coloration violette au départ change pour tirer vers le jaune grâce à la capture d'un électron par le radical (Figure 83).

$$O_2N$$
 $O_2$ 
 $O_2N$ 
 $O_2$ 
 $O_2N$ 
 $O_2$ 
 $O$ 

Figure 83: Mécanisme d'action du radical DPPH•

#### II.1.3.2.1 Capacité antioxydante par la méthode DPPH

Le tableau 19 récapitule les résultats inhérents à la capacité antioxydante totale déterminés grâce au TROLOX.

Tableau 19 : Capacité antioxydante des trois variétés de papayer par le radical DPPH•.

Capacité antioxydante (mg/g)

	VF	JF	EP	GRD
Ordinaire	$3,85 \pm 0,04^{a}$	$5,20 \pm 0,20^{b}$	$2,47 \pm 0,09^{\circ}$	$4,57 \pm 0,11^{d}$
V1 Red Lady				
V2	$8,92 \pm 0,21^{e}$	$8,39 \pm 0,08^{e}$	$1,96\pm0,15^{\mathrm{f}}$	$4,\!30\pm0,\!05^{\rm d}$
Sunrise V3	$5,58 \pm 0,42^{g}$	$4,01 \pm 0,09^{h}$	$3,69 \pm 0,14^{i}$	$4,06 \pm 0,12^{d}$

VF : vieille feuille ; JF : jeune feuille ; EP : épluchures et GRD : graines délipidées, Les données ayant des lettres en exposant sont significativement différentes pour un p-value≥0,05.

Les feuilles de V2 ont une capacité antioxydante plus élevée avec des valeurs comprises entre  $8,39\pm0,08$  mg/g pour les jeunes feuilles (JF) et  $8,92\pm0,21$  mg/g pour les vieilles feuilles (VF) tandis que V1 et V3 présentent des capacités antioxydantes comparables pour les différents organes. Cette tendance est surtout observée avec les GRD qui ont une capacité antioxydante qui tourne autour de 4 mg/g avec celle de V1 qui est plus forte avec  $4,57\pm0,11$  mg/g contre  $4.06\pm0,12$  mg/g pour V3. Les vieilles feuilles de V3  $(5,58\pm0,42$  mg/g) présentent une activité antioxydante bien meilleure que celle des vieilles feuilles de V1  $(3,85\pm0,04)$  alors que pour les jeunes feuilles de ces deux variétés, les résultats sont inversés  $(4,01\pm0,09$  mg/g pour V3) et  $(5,20\pm0,20$  mg/g pour V2). Pour toutes les variétés, les EP présentent une capacité antioxydante plus faible comparée aux valeurs obtenues pour les autres variétés (Tableau 17). Ces résultats sont positivement corrélés avec le contenu total en polyphénol des différents organes. En effet, les organes de la plante qui sont les plus riches en polyphénol présentent une capacité antioxydante plus élevée comme rapportée dans d'autres études [72], [73].

#### II.1.3.2.2 Détermination de la CI50

La CI50 ne peut être obtenue pour le radical DPPH• du fait de la faible capacité d'action des antioxydants contenus dans les différents organes du papayer. Seules les feuilles (VF et JF) de la variété V2 possèdent une CI50. Elles sont estimées à 72 μg/mL pour VF et 80 μg/mL pour JF. Ces deux valeurs sont comparables de la même façon que les teneurs en polyphénol de ces deux organes. Les CI50 de ces deux organes sont moins bonnes que celle d'un extrait de feuilles de papayer de la variété du Rajasthan, qui présente une CI50 de 53,68 μg/mL [74]. Les CI50

de la variété V2 sont largement meilleures que celles rapportées par Gogna et *al.* avec des valeurs respectives pour les JF et VF de 375 μg/mL et 680 μg/mL [72].

#### II.1.3.2.3 Cinétique réactionnelle

Après la détermination de la CI50, la cinétique réactionnelle est suivie. La solution méthanolique de DPPH étant stable jusqu'à 180 minutes à la température du laboratoire (23 °C), l'étude a été menée sur 150 minutes. La figure 84 donne l'évolution de l'activité antioxydante de nos extraits.

Pour toutes les variétés, une évolution rapide de la vitesse de réaction est observée durant les cinq premières minutes. Les jeunes feuilles de la variété Ordinaire et Red Lady atteignent presque 22% d'inhibition de l'activité radicalaire du DPPH\*, tandis que les vieilles feuilles des variétés Red Lady et Sunrise dépassent les 20% d'inhibition.

Pour toutes les variétés, les graines délipidées ont un pourcentage d'inhibition compris entre 13 et 20% au bout cinq minutes alors que les épluchures ont une cinétique beaucoup plus lente et n'excèdent pas 9% d'inhibition au bout de cinq minutes.

Au-delà des cinq premières minutes, la réaction évolue lentement pour tous les extraits et n'atteint pas la fin après 150 minutes.

Dans cette étude cinétique seules les feuilles de la variété 2 sont en mesure de réduire l'activité radicalaire du DPPH de plus de 50% au bout de 80 mn, comme montré par les valeurs de CI50. L'activité radicalaire du DPPH est réduite de 61,02% par VF et 69,96% par JF après 150 mn. Parmi les autres organes qui ne présentent pas de CI50 les VF de la variété 3 sont plus efficaces avec 48,75% d'inhibition de l'activité radicalaire du DPPH alors que les JF de la variété 1 donnent 48,22 % d'inhibition au bout de 150 mn. Les EP ont une activité antioxydante moins bonne que les autres organes du papayer avec un pourcentage d'inhibition compris entre 23,32% pour la variété 2 et 35,15% pour la variété 1 à la fin du processus. Les EP de la variété 3 n'inhibent que 32,41% du radical DPPH. Les GRD de la variété 1 inhibent 40,12% du radical DPPH; les JF de la variété 3 inhibent 35,14% alors que les GRD de la variété 3 inhibent seulement 27,35% du DPPH de départ au bout de 150 minutes.

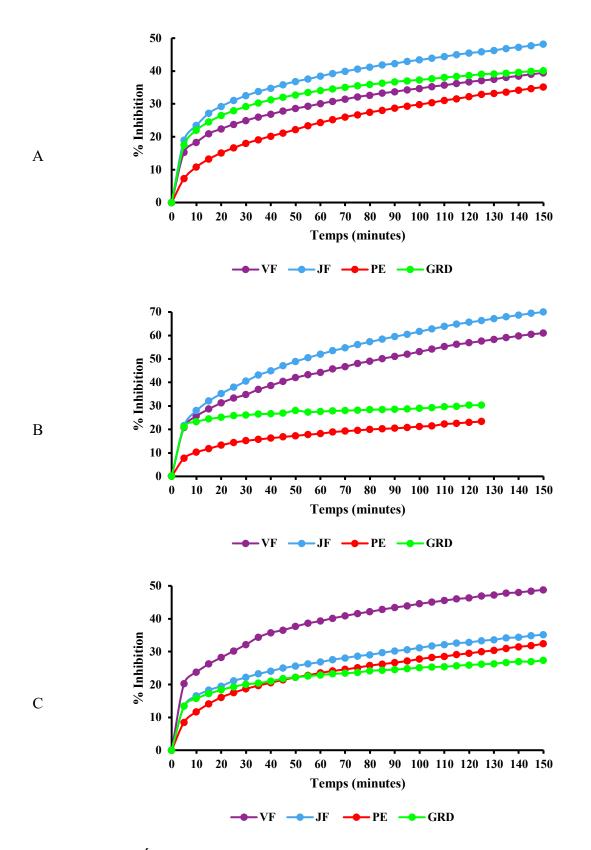


Figure 84: Évolution de l'activité antioxydante des extraits aqueux des différents organes de papayer. (A : Variété 1 ; B : Variété 2 ; C : Variété 3)

# II.1.3.3 Résultats de l'activité antioxydante par la méthode ABTS<sup>++</sup>

#### II.1.3.3.1 Capacité antioxydante totale

La capacité antioxydante totale de chacun des extraits aqueux est retrouvée dans le Tableau 20.

Tableau 20 : Capacité antioxydante totale de trois variétés de papayer par le radical ABTS<sup>++</sup>

#### Capacité antioxydante totale (mg/g)

	VF	JF	EP	GRD
V1	$46,70 \pm 2,66$	$57,26 \pm 3,10$	$27,89 \pm 0,75$	$83,21 \pm 2,67$
V2	$113,84 \pm 3,80$	$114,95\pm0,32$	$73,44 \pm 3,16$	$46,71 \pm 1,77$
V3	$56,83 \pm 4,61$	$47,97 \pm 0,86$	$39,60 \pm 1,19$	$49,26 \pm 1,13$

VF : vieille feuille ; JF : jeune feuille ; EP : épluchures et GRD : graines délipidées, Les données ayant des lettres en exposant sont significativement différentes pour un p-value≥0,05.

Les résultats consignés dans le tableau 20 montrent que les feuilles de la variété 2 présentent une capacité antioxydante largement supérieure à celles des autres variétés étudiées dans ce travail. Les capacités antioxydantes des feuilles de la variété 2 sont respectivement de 113,84±3,84 mg/g pour VF et 114,95±0,32 mg/g pour JF. Ces valeurs sont parfaitement corrélées aux teneurs en polyphénols pour ces deux organes : 53,24±3,02 mg EAG/g pour VF et 55,24±3,14 mg EAG/g pour JF. Les feuilles des variétés de V1 et V3 ont des activités antioxydantes qui varient de 46,70±2,66 mg/g à 57,26±3,10 mg/g (Tableau 18) qui sont comparables aux valeurs rapportées pour trois variétés de papaya cultivées dans l'ouest de l'Indonésie [75]. Ces activités antioxydantes sont bien corrélées aux teneurs de polyphénols des feuilles des variétés V1 et V3. Cependant, les GRD de la variété 1 qui étaient plus riches en polyphénol (72,56±3,16 mg EAG/g) présentent une activité antioxydante 83,21±2,67 mg/g largement inférieure à celle des feuilles de la variété 2. Toutefois, ces graines ont une activité antioxydante supérieure à celle d'une variété asiatique (72,57±2,67 mg/g) étudiée par Zhou et al. [76]. Ceci est probablement dû à la différence de structures des polyphénols présents dans les divers organes de la plante. Parmi les épluchures, seules celles de la variété 2 présentent une capacité antioxydante notable de 73,44±3,16 mg/g. Les EP des deux autres variétés ont des capacités antioxydantes plutôt faibles avec 27,89±0,75 pour V1 et 39,60±1,19 pour V2.

#### II.1.3.3.2 Détermination de la CI50

Le tableau 21 récapitule l'ensemble des CI50 obtenues avec le radical ABTS\*. Les meilleurs CI50 sont obtenues avec les EP de la variété 1 (0,218 mg/mL) et de la variété 3 (0,238 mg/mL). La variété 2 est celle qui possède les valeurs de CI50 les plus élevées. La variété 1 dans sa globalité possède les meilleures CI50. Les feuilles de cette variété ont des CI50 qui sont statistiquement semblables avec 0,256 mg/mL pour VF et 0,252 pour JF.

Tableau 21 : CI50 totale de trois variétés de papayer par le radical ABTS<sup>++</sup>

	C150 (mg/mL)					
	VF	JF	EP	GRD		
Ordinaire	0,256ª	0,252ª	0,218ª	0,274ª		
V1	·	•	·			
Red Lady	$0.376^{\rm b}$	$0,400^{\rm b}$	0,446 <sup>b</sup>	0,351 <sup>b</sup>		
V2	0,570	0,100	0,110	0,331		
Sunrise	0,293ª	0,281ª	0,238a	0,269ª		
V3	0,273	0,201	0,230	0,207		

VF : vieille feuille ; JF : jeune feuille ; EP : épluchures et GRD : graines délipidées, Les données ayant des lettres en exposant sont significativement différentes pour un p-value≥0,05.

#### II.1.3.3.3 Cinétique réactionnelle

Comme pour le DPPH\*, la cinétique réactionnelle est suivie aussi avec le radical monocation ABTS\*+. L'évolution de l'activité antioxydante est observée au niveau de la figure 85.

L'évolution est bien plus rapide que celle observée avec le DPPH\*. Dès les cinq premières minutes, l'inhibition dépassait les 36% pour les vieilles feuilles de la variété Red Lady tandis que pour les jeunes feuilles l'inhibition est de 34,78%. Les feuilles de la variété Ordinaire ont une inhibition bien plus faible avec 27,98% pour les vieilles feuilles et 24,95% pour les jeunes feuilles.

Pour toutes les variétés, les graines inhibent plus de 30% de l'activité radicalaire de l'ABTS\*+ avec un maxima à 36,30% pour la variété Red Lady.

Les réactions impliquant les épluchures sont bien plus lentes avec un maxima d'inhibition de 29,46% au bout de cinq minutes pour celles de la variété ordinaire.

Pour tous les organes sauf les épluchures, la vitesse réactionnelle est bien plus lente au-delà des cinq premières minutes. Les épluchures sont les seules à éliminer la quasi-totalité de l'apport en ABTS\*+ au départ. Un plateau réactionnel est observé au bout de 100 minutes de réaction avec une inhibition de 97,57 % pour la variété Ordinaire, 98,36% pour la variété Red Lady et 98,49% pour la variété Sunrise.

Pour tous les autres organes, aucun plateau réactionnel n'est observé, la réaction se poursuit mais elle est fortement ralentie. Au bout de 150 minutes, l'inhibition est comprise entre 68 et 78% pour les vieilles feuilles, entre 68 et 72% pour les jeunes feuilles ; entre 63 et 70% pour les graines délipidées.

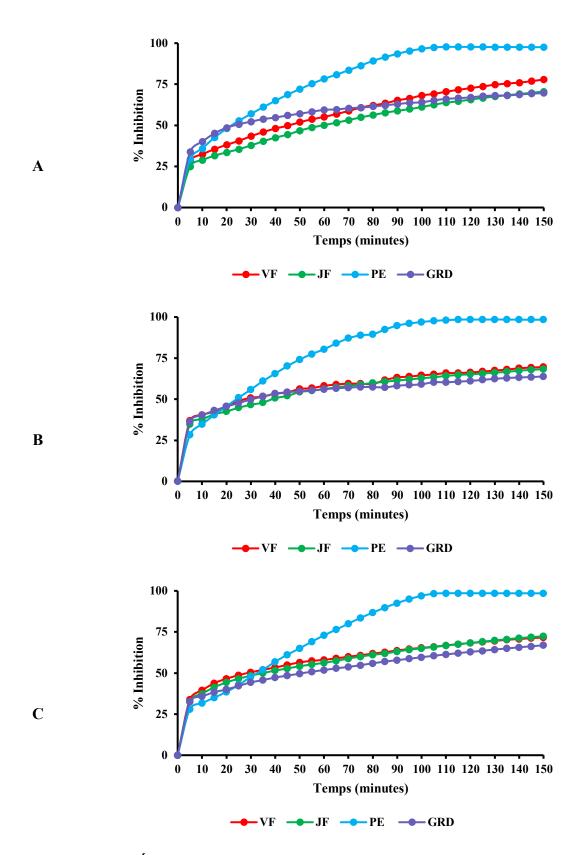


Figure 85 : Évolution de l'activité antioxydante avec le radical ABTS\*+ (A : Variété 1 ; B : Variété 2 ; C : Variété 3)

#### **II.2** Caractérisation des huiles

# II.2.1 Rendement d'extraction, détermination des indices et des pouvoirs calorifiques de l'huile

Le tableau 22 montre les différents taux d'extraction des lipides dans les graines. Parallèlement, les teneurs en eau des graines ont été déterminées et ont donné 2,66±0,04 pour la variété ordinaire et 2,83±0,03 pour la variété Red Lady. Des teneurs moyennes de lipides de 25,50±0,5 % ont été obtenues pour les graines de la variété Ordinaire et 24,95±0,07 pour celles de la variété Red Lady. La variété Sunrise n'a pas pu être étudiée à cause de la récolte de graines qui était épuisée.

Tableau 22 : Teneur en lipides des graines de Carica papaya et taux d'humidité des huiles.

Paramètres	Variété Ordinaire	Variété Red Lady
Rendement d'extraction (%)	$25,50 \pm 0,5$	$24,25 \pm 0,07$
Humidité (%)	$2,66 \pm 0,04$	$2,83 \pm 0,03$
I <sub>A</sub> (mg KOH/g)	$1,22 \pm 0,073$	$1,33 \pm 0,07$
Is (mg KOH/g)	$166,75 \pm 0,91$	$168,73 \pm 0,72$
I <sub>E</sub> (mg KOH/g)	$165,53 \pm 0,84$	$167,44 \pm 0,74$
I <sub>I</sub> (g/100 g)	$60,52 \pm 1,15$	$61,02 \pm 1,05$
I <sub>P</sub> (meq/kg)	$1,23 \pm 0,02$	$1,55 \pm 0,06$
PC (KJ/g)	$37,31 \pm 0,057$	$38,04 \pm 0,044$

Les différents indices caractéristiques de l'huile issue de nos graines de papaye sont déterminés et consignés dans le tableau 22. Ces grandeurs ont un intérêt particulier, mais non exclusif, dans l'étude des corps gras.

Les deux huiles montrent des valeurs élevées d'indice de saponification importants mais peu différents. Ces huiles sont qualifiées pour la production de savons liquides et de shampooings. Ces indices de saponification sont légèrement plus faibles que les valeurs reportées (188,03 mg KOH/g de corps gras) par Devi et *al.* [77] pour les graines de papayer [78]. Cette différence est probablement due au fait que les auteurs ont utilisé un liquide supercritique pour extraire l'huile. Cette technique donne souvent une huile de meilleure qualité.

Les indices d'iode relativement élevés reflètent ainsi un haut degré d'insaturations. Les valeurs de ces indices sont comparables à celles trouvées dans la littérature scientifique (73,48 g/100g) [79], [80]. Ces indices d'iode ont été confirmés par la composition en acides gras des

huiles présentées dans le tableau 23.

Les indices d'acides (1,22-1,33 mg KOH/g huile) et les indices de peroxyde (1,23-1,55 meq/kg) des huiles de papaye V1 et V2 ont des valeurs inférieures aux valeurs recommandées pour les huiles végétales (4-10 mg/g et 10-15 meq/kg respectivement). Ces faibles valeurs d'indices de peroxyde et d'acide impliquent une forte résistance de ces huiles de papaya à l'oxydation. Ces résultats sont conformes à ceux rapportés par d'autres auteurs [81], [82]. Le pouvoir calorifique (PC) (Tableau 22) est la quantité de chaleur dégagée par la combustion d'une masse de 1 g matière en présence de dioxygène. Les huiles sont des matières combustibles qui possèdent un PC non négligeable. Ainsi, les huiles des variétés de papaye étudiées sont soumises à la combustion en présence de dioxygène dans une bombe calorimétrique. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 20. Les huiles de papaye de la variété Ordinaire et de la variété Red Lady ont, respectivement, des PC de 37,313 kJ/g et 38,041 kJ/g. Ces huiles peuvent être qualifiées comme combustibles car leurs PC sont comparables à ceux des huiles de colza (36 kJ/g) et du gasoil (44,4 kJ/g) qui sont les matières de référence dans la filière énergétique. Les acides gras de l'huile de papaya peuvent être transformés en méthyl esters pour être utilisés comme biocarburant [83].

Les quantités d'acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés ainsi que les indices d'iode sont présentés dans le tableau 23 pour les huiles des variétés de papaye Ordinaire et Red Lady, en plus de quatre huiles de référence.

Les huiles des variétés Ordinaire et Red Lady sont plus riches en acides gras monoinsaturés que l'huile d'olive, l'huile d'arachide, l'huile de soja, l'huile de tournesol et l'huile de papaya de la variété *Tainoung* [84]. Toutefois l'huile de la variété *Batek Batu* étudiée par Puangsri *et al.* [80] est légèrement plus riche en acides gras monoinsaturés que les deux variétés étudiées dans ce travail. La quantité d'acides gras polyinsaturés des deux cultivars étudiés est excessivement plus faible (3,91 g/100g et 4,07 g/100g) que celle reportée pour les huiles d'olive (10,52 g/100g), d'arachide (32 g/100g), de soja (57,74 g/100g) et de tournesol (65,70 g/100g). Par contre les valeurs obtenues pour les deux variétés étudiées sont légèrement plus élevées que celle des variétés *Batek Batu* [80] (3,20 g/100g) et *Tainoung* [84] (3,34 g/100g). Les indices d'iode obtenus sont en accord avec les observations faites précédemment. En effet, cet indice augmente quand la quantité d'acides gras insaturés augmentent. De plus, plus les chaînes d'acides gras sont insaturées plus l'indice d'iode sera élevé. Les indices d'iode des huiles d'olive (80-88 g/100g), d'arachide (84-102 g/100g), de soja (125-138 g/100g) et de tournesol (125-144 g/100g) sont largement plus élevés que ceux des huiles des variétés de papaya Ordinaire (60,52 g/100g) et Red Lady (61,01 g/100g). Ces observations sont en accord avec les

quantités d'acides gras polyinsaturés (Tableau 23).

Tableau 23 : Différentes huiles

	Ordinaire	Red Lady	Huile d'olive	Huile d'arachide	Huile de soja	Huile de tournesol	Papaya Oil, Batek Batu [80]	Papaya Oil Tainoug [84]
Quantité d'acides gras saturés (g/100g)	19,00	18,68	13,81	16,90	15,65	10,30	19,40	29,10
Quantité d'acides gras monoinsaturés (g/100g)	75,79	76,66	72,96	46,20	22,78	19,50	77,30	67,56
Quantité d'acides gras polyinsaturés (g/100g)	3,91	4,07	10,52	32,00	57,74	65,70	3,20	3,34
Indice d'iode (g/100g)	60,52	61,01	80-88	84-102	125- 138	125-144	66,00	64,10

Le pouvoir calorifique (PC) (Tableau 21) est la quantité de chaleur dégagée par la combustion d'une matière en présence de dioxygène. Les huiles sont des matières combustibles donc on peut déterminer leur PC. Ainsi, on a déterminé celui de notre huile de papaye que l'on a référencée dans le tableau 20 avec celui de l'huile de colza et du gasoil. Les huiles de papaye des deux variétés qui ont des PC de 37,313 kJ/g et 38,041 kJ/g peuvent être utilisées dans la filière énergie comparativement aux corps gras utilisés dans cette industrie. Les acides gras de l'huile de papaya peuvent être transformés en méthyl esters pour être utilisés comme biocarburant [83].

### II.2.2 Analyse IR de l'huile extraite de la variété Red Lady

Les huiles peuvent subir plusieurs processus de dégradation tels que l'hydrolyse, l'oxydation, le rancissement ... Notamment, lors de l'extraction, l'huile peut subir une hydrolyse qui augmente la présence d'acides gras libres dans le milieu. L'analyse par spectroscopie infra-rouge de l'huile permet de contrôler la qualité de la matière.

Le spectre FTIR de l'huile de papaya de la variété 2 (Figure 86) est enregistré pour la détermination qualitative de certaines bandes caractéristiques. La bande de faible intensité pointée à 3010 cm<sup>-1</sup>, est attribuée aux vibrations d'élongation des protons éthyléniques H—C=C. On observe des bandes d'absorption dans la région 2950–2850 cm<sup>-1</sup> représentant les élongations asymétriques et symétriques des liaisons C—H des groupements —CH<sub>3</sub> (—CO—

O—CH<sub>3</sub>). Les bandes qui sont pointées entre 1465 et 1430 cm<sup>-1</sup> indiquent les vibrations d'élongation des C—H des chaines aliphatiques. La bande moyenne à 1158 cm<sup>-1</sup> est attribuée à la vibration d'élongation de l'ester –C—O. La bande très intense à 1744 cm<sup>-1</sup> est caractéristique de la liaison –C=O du groupement ester alors que la bande d'absorption de très faible intensité à 1650 cm<sup>-1</sup> est attribuée à la double liaison des oléfines —C=C—. L'absence de bandes caractéristiques de groupements acides (—COOH) montre le degré de pureté de l'huile. En effet cette observation est conforme à la faible valeur d'indice d'acidité (1,33 ± 0,07 mg KOH/g de corps gras) de l'huile étudiée.

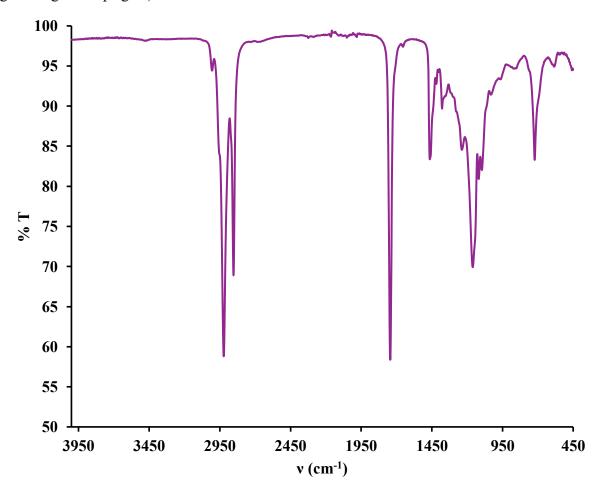


Figure 86 : Spectre IR de l'huile de la variété 2

# II.2.3 Détermination du contenu total en polyphénols et flavonoïdes

Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes obtenues pour l'huile de la variété Red Lady ont montré des tendances différentes par rapport aux autres parties de la plante. En effet la teneur en polyphénols (CTP) est de  $0,299 \pm 0,043$  mg/g alors que la teneur en flavonoïdes est de  $5,44 \pm 0,25$  mg/g (CTF). La valeur de CTP est très faible par rapport à celles des jeunes

feuilles (55,24  $\pm$  3,14 mg/g), et des graines (9,61  $\pm$  3,81 mg/g) de la variété V2 tandis que le CTF est plus élevé que ceux obtenus pour les jeunes feuilles (1,390  $\pm$  0,014 mg/g) et les graines (0,36  $\pm$  0,013 mg/g). Cette valeur de CTF est effectivement plus élevée dans l'huile que dans la graine totale à cause de la forte solubilité des flavonoïdes dans les solvants organiques utilisés pour l'extraction de ces métabolites à partir des huiles alors que nous avions utilisé l'eau pour l'extraction des GRD.

### II.2.4 Activité antioxydante de l'huile de papaye

Les insaturations dans la structure moléculaire des corps gras peuvent générer des radicaux libres par la perte d'atome. Ces radicaux accélèrent le mécanisme d'oxydation des huiles. L'élimination de ces radicaux libres est donc une priorité pour empêcher l'oxydation des lipides. Dans ces corps gras il existe des molécules capables de lutter contre ce phénomène d'oxydation. Il existe plusieurs méthodes pour mesurer la capacité antioxydante de ces corps notamment la méthode utilisant le DPPH. La solution méthanolique de DPPH étant stable jusqu'à 180 mn à la température du laboratoire (23 °C), l'étude a été menée sur 150 mn. Le piégeage des radicaux de DPPH est évalué en calculant la quantité de [DPPH·]<sub>R</sub> restante toutes les 5 mn en tenant compte de la concentration de [DPPH·]<sub>t=0</sub> de départ. La courbe de l'équation suivante est tracée % [DPPH·]<sub>R</sub> =  $\frac{[DPPH·]_t}{[DPPH·]_{t=0}}$  × 100. ([DPPH·]<sub>t</sub> désigne la concentration au temps t de la mesure) (Figure 87).

L'huile de la variété V2 étudiée est plutôt pauvre en antioxydant avec une capacité antioxydante d'une valeur de  $122,25 \pm 9$  mg/100 g d'huile. L'intervalle de temps nécessaire pour terminer la réaction dépend fortement de l'échantillon. La figure 87 montre l'évolution de la réduction de DPPH par l'huile de papaya. Immédiatement après le mélange de l'échantillon et la solution de DPPH, une réduction de 18% de la concentration en DPPH de départ est observée. La cinétique antiradicalaire est très rapide et le point de stabilisation est atteint au bout de cinq minutes. Par la suite, la décroissance est très lente et continue jusqu'à 150 mn sans atteindre 25% de la concentration de départ.

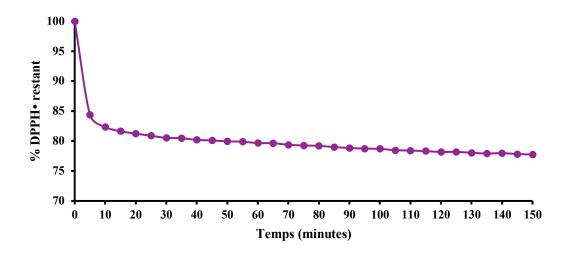


Figure 87 : Cinétique réactionnelle de l'huile de Carica papaya par le radical DPPH•

### II.2.5 Composition en acides gras

Le tableau 24 présente la composition en acides gras de l'huile des graines de papaye de deux variétés. Les résultats montrent que le principal acide gras des huiles extraites est l'acide oléique (75,79—76,55 %). Il est suivi de l'acide palmitique (13,31—14,09 %), stéarique (4,45—4,50 %) et linoléique (2,96—3,12 %). Ces résultats sont comparables à ceux qui sont obtenus pour une variété cultivée à Hong Kong : acide oléique (73,5 %), acide palmitique (15,8 %), stéarique (5,1 %) et linoléique (5 %) [85]. Ces huiles contiennent également des traces d'acides laurique, myristique, margarique, arachidique, béhénique, lignocérique, heptadécénoïque, gadoléique, érucique, nervonique, palmitoléique, α-linoléique et γ-linoléique. Plusieurs auteurs [50], [53] ont rapporté des compositions en acides gras de l'huile de papaya qui sont semblables à nos résultats avec des teneurs variables. Selon la zone de production il peut exister des différences significatives. Lee [84] a rapporté la quantité d'acides gras pour une variété cultivée en Taiwan : saturés (29,1 %), mono insaturés (67,56 %) et polyinsaturés (3,34 %). Ces valeurs sont différentes de celles que nous avons dans cette étude pour des variétés cultivées au Sénégal : saturés (18,68—19,00 %), mono insaturés (75,79—76,66 %) et polyinsaturés (3,2—3,34 %).

La plus faible teneur en acide linoléique (0,47-0,48 %) dans les huiles de nos graines de papaye indique une plus grande stabilité à l'oxydation que certaines huiles précieuses telles que l'huile d'olive (4,5-6,9 %) [86] ou l'huile d'arachide (25-40 %) [87]. L'huile extraite des graines de papaye est comparable aux huiles végétales fortement riches en acides gras C18 insaturés. La teneur élevée en acide oléique des huiles que nous avons extraites des graines de *Carica papaya* de l'ordre de  $(\approx 76 \%)$  est comparable à celle des huiles végétales riches en acide oléique telles que l'huile de tournesol  $(\approx 80 \%)$  [88] et l'huile d'olive  $(\approx 75,5 \%)$  [89]. Cette observation

est intéressante car ces huiles sont considérées comme les meilleures huiles consommées dans l'alimentation et qui ont la capacité de réduire le risque de maladie cardio-vasculaire [90]. De plus, les huiles riches en acide oléique ont une bonne stabilité qui les qualifie pour des applications exigeantes. Sur la base de ces constats, l'huile de graine de papaye, qui est riche en acide oléique, peut donc être considérée comme une alternative saine à de nombreuses autres huiles végétales comme l'huile de palme largement consommée au Sénégal et qui est plus riche en acides gras saturés (46,6 %) qu'en acides gras insaturés (43,6 %) [91].

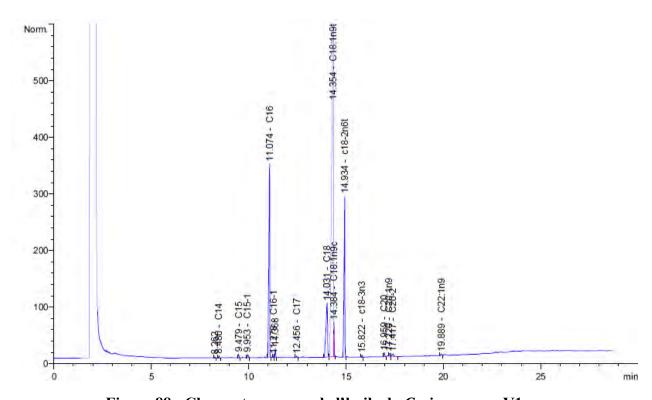


Figure 88 : Chromatogramme de l'huile de Carica papaya V1

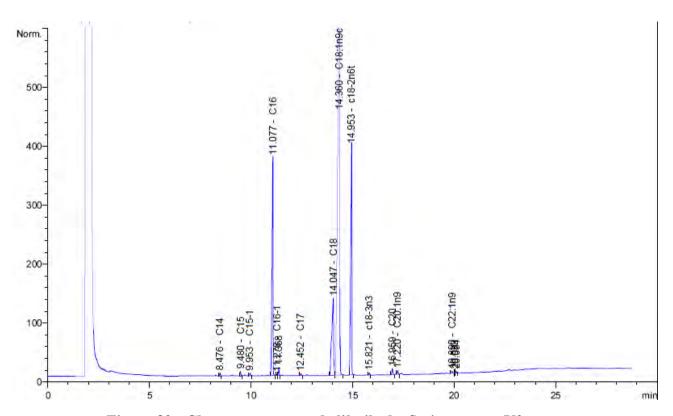


Figure 89 : Chromatogramme de l'huile de Carica papaya V2

Tableau 24 : Composition en acides gras des huiles de papaya des variétés 1 et 2.

Nomenclature normalisée	Nom usuel	Ordinaire	Red lady					
		Composition en	acides gras (%)					
Acides gras saturés								
C12:0	Acide laurique	0,07	0,08					
C14:0	Acide myristique	0,21	0,18					
C16:0	Acide palmitique	14,09	13,31					
C17:0	Acide margarique	0,18	0,15					
C20:0	Acide Arachidique	0,045	0,048					
C22:0	Acide Béhénique	0,035	0,036					
C24:0	Acide Lignocérique	0,05	0,07					
	Acides gras mono-ins	saturés						
C16:1	Acide palmitoléique	0,56	0,46					
C17:1	Acide ginkgolique	0,16	0,16					
C18:1(9) [C18:1 ω–9]	Acide oléique	75,79	76,45					
C20:1(9) [C20:1 ω–11]	Acide gadoléique	0,34	0,34					
C22:1(13) [C22:1 ω–9]	Acide érucique	0,038	0,04					
C24:1(15) [C24:1 ω–9]	Acide nervonique	0,07	0,05					
	Acides gras poly-insa	aturés						
C18:2(9,12) [C18:2 ω–6]	Acide linoléique	2,96	3,12					
C18:3(9,12,15) [C18:3 ω–3]	8:3(9,12,15) Acide		0,48					
C18:3(6,9,12) [C18:3 ω–6]	Acide γ-linolénique	0,48	0,47					
Total Acides gras saturés (	19,13	18,37						
Total Acides gras mono ins	saturés (%)	76,96	77,5					
Total Acides gras polyinsa	Total Acides gras polyinsaturés (%)							

# II.2.6 Résultats de la calorimétrie différentielle de l'huile de Carica papaya L.

Les triglycérides qui sont des triesters avec différentes chaînes grasses sont principalement responsables des transitions polymorphiques à différentes températures. En effet la température de fusion dépend de plusieurs paramètres tels que le degré d'insaturations, la longueur de la chaîne etc. L'huile de la variété V1 de Carica papaya est analysée dans la gamme de température (-80 à +40 °C) à raison de 5°C/min. La cristallisation de l'huile étudiée donne deux pics. Un premier pic peu profond P2' (4,4°C) qui indique la cristallisation des triglycérides avec des acides gras saturés et un pic très profond P1' (-33,1 °C) qui concerne les triglycérides avec des acides gras insaturés (Figures 90 et 91). Ceci est en accord avec le profil d'acides gras de l'huile qui contient plus de 76% d'acides gras insaturés. Comparés aux données obtenues par Puangsri et al. [80] nous constatons que nos résultats sont légèrement différents de ceux rapportés pour d'autres variétés de papaya et d'autres méthodes d'extraction. Ces observations indiquent que la qualité de l'huile de Carica papaya peut être influencée par la zone de culture et les méthodes d'extraction [82]. Le thermogramme de fusion de la figure 90 représente six pics endothermiques. Un très petit pic (P6) à -32,133 °C; un petit pic (P1) à -8,900 °C; un pic profond (P2) à -3,467 °C suivi d'un épaulement (P3) à +1,233 °C et un pic profond (P4) à +7,833 °C suivi d'un petit pic (P5) à +16,833 °C. Ces pics correspondent à la fusion progressive des différentes formes polymorphiques. Les pics (P1), (P2), (P3), (P4) et (P6), sont endothermiques et montrent une grande perturbation de la matière. À partir de la température de +16,833 °C (P5), le milieu devient totalement limpide indiquant une fusion totale de tous les cristaux de triglycérides.

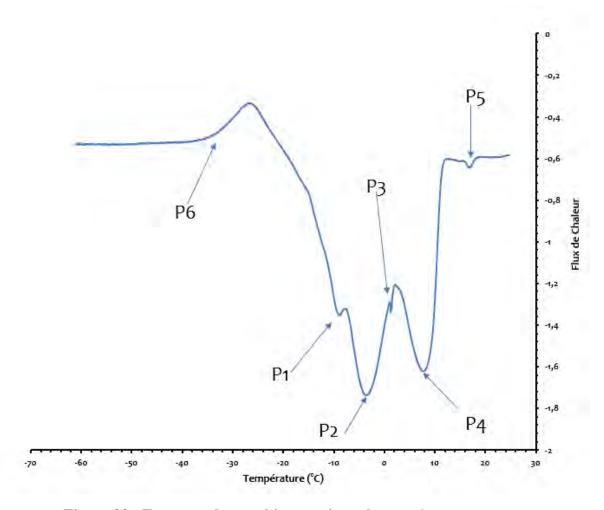


Figure 90 : Formes polymorphiques suivant la température.

L'huile de *Carica papaya* de la variété V2 comporte cinq formes polymorphiques dont la plus stable notée est en très faible quantité avec la température de fusion la plus élevée (+16,833 °C). La forme polymorphique possédant le point de fusion le plus bas (-8,900 °C) est en très faible quantité et est la moins stable. Les propriétés globales de l'huile dépendent de la composition en formes polymorphiques.

L'analyse de la composition en acides gras montre que l'huile de *Carica papaya* L. de la variété V2 est composée à plus de 76 % en acides gras insaturés qui ont tendance à être liquides contrairement aux acides gras saturés qui sont solides aux températures proches de l'ambiante. Ceci est conforme aux observations faites dans l'analyse DSC qui donne une température de fusion assez basse.

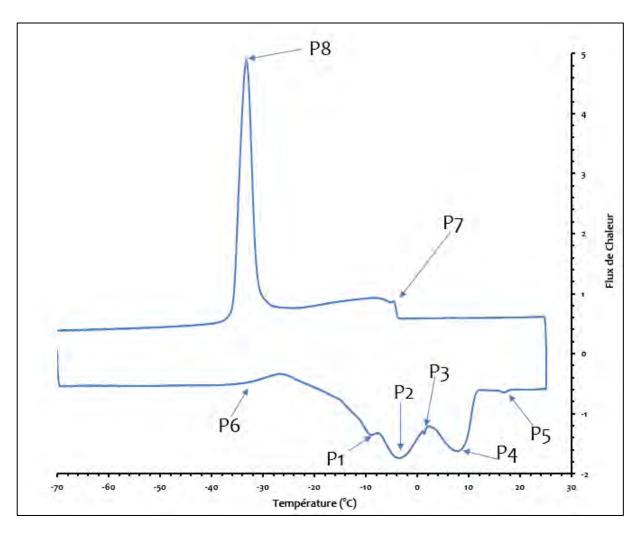


Figure 91 : Thermogramme du comportement de l'huile de la variété I de *Carica Papaya* 

#### II.2.7 Composition en stérols

Les stérols des plantes qui sont également appelés phytostérols, sont des alcools stéroïdiens qui appartiennent à la famille des terpènes. Leurs structures chimiques sont très proches de celle du cholestérol qui est un assemblage tétracyclique cyclopentaphénanthrénique (A, B, C, D) comprenant un groupement hydroxyle en position 3 du cycle A et une chaîne latérale. On les trouve dans les plantes oléagineuses, dans les huiles végétales et dans beaucoup de formulations industrielles.

Ces molécules ont un effet certain sur la santé. Elles permettent de contrôler la souplesse des membranes cellulaires et elles sont impliquées dans la régulation des hormones. Elles ont également un pouvoir d'action pour baisser la cholestérolémie grâce à leurs propriétés amphiphiles. Leur pouvoir émulsifiant et pénétrant en font de bons candidats pour les formulations en cosmétiques.

Dans cette huile on trouve quatre composés :  $\Delta^5$ -avénastérol,  $\beta$ -sitostérol, stigmastérol et du

campestérol. Les teneurs en phytostérols répertoriées dans le tableau 25, sont exprimées en mg par 100 g d'huile. Les huiles de *Carica papaya* L. sont plus riches en  $\beta$ -sitostérol (79,70-80,10 %) devant le  $\Delta^5$ -Avénastérol (13-14 %) suivi du campestérol (2,75-2,85 %) et du stigmastérol (0,7-0,8 %). Le  $\beta$ -Sitostérol qui est le composé majoritaire est connu pour ses effets très bénéfiques sur la santé.

Quand on compare ces teneurs en phytostérols à celles obtenues pour d'autres huiles végétales on constate que les huiles de *Carica papaya* L. sont plus riches en β-Sitostérol que l'huile de soja (53 %) [92], l'huile de tournesol (60 %) [93], l'huile d'arachide (64 %) [94] et l'huile de cassis canadien (72 %) [95]. La teneur en β-Sitostérol de nos huiles est comparable à celle de l'huile d'olive (85,9 %) [96].

Tableau 25: Teneurs des différents phytostérols exprimées en mg.100 g<sup>-1</sup> d'huile.

Stérols	Variété 1	Variété 2	Référence méthode
Campestérol	2,79 %	2,83 %	NF EN ISO 12228-1
Stigmastérol	0,75 %	0,72 %	NF EN ISO 12228-1
β-Sitostérol	79,7 %	80,06%	NF EN ISO 12228-1
Δ <sup>5</sup> Avénastérol	13,4 %	13,7 %	NF EN ISO 12228-1
Teneur en Stérol (mg/100g)	194,5	193,8	NF EN ISO 12228-1

Figure 92 : Structures des stérols rencontrés dans l'huile de papaye

### II.3 Protéines de réserve des graines de papayer

Les protéines végétales contribuent pour une grande part dans l'apport alimentaire en protéines des populations. Cet apport est principalement assuré par trois céréales qui sont le riz, le blé et le maïs selon la FAO [97]. D'autres céréales tels que le mil et le sorgho sont également très utilisés en Afrique. Dans certaines régions en voie de développement on note une malnutrition protéino-énergétique connue également sous le nom de protéino-calorique [98]. Il est donc important de chercher des alternatives en essayant de valoriser les déchets de certaines filières agricoles.

Les graines de papaya constituent un sous-produit peu exploité et sont considérées comme des déchets. Elles sont riches en huile. En effet l'huile contenue dans les graines étudiées précédemment a montré des qualités nutritives très importantes et un bon potentiel énergétique. Elle peut être intégrée aussi bien dans la filière alimentaire que dans la filière biodiesel. Il s'agit ici de trouver une possibilité de valoriser le résidu de graine après délipidation. Actuellement les protéines de réserves constituent une part importante de l'alimentation humaine. Le besoin journalier est de l'ordre 0,8 à 0,85 g de protéines par kg de masse corporelle pour une personne, dont les 30 à 50 % doivent être d'origine animale [99]. Le complément doit être apporté par les protéines de réserves d'origine végétale. Cette portion est constituée d'un mélange de plusieurs classes de protéines en fonction de leurs origines. Les légumineuses sont plus riches en

albumines et en globulines et contiennent de 20 à 40 % de protéines totales par rapport à la masse sèche [100]. Ces protéines sont également plus riches en lysine qui est un acide aminé essentiel. Les protéines des céréales qui n'en renferment que 10 à 15 % sont plutôt constituées de prolamines et de glutélines [101]. Les protéines des céréales contiennent plus d'acides aminés soufrés. Au Sénégal la principale source de protéines végétales dans les zones urbaines provient du riz qui est consommé tous les jours par la très grande majorité des ménages. Souvent c'est la seule source de protéines végétales et il est consommé de la même façon. Dans les zones rurales les sources végétales sont légèrement plus diversifiées. Le mil et le sorgho qui y sont majoritairement consommés sont accompagnés du riz et les formes de préparations sont plus variées sous formes de bouillies, de couscous, etc. L'arachide et le niébé contribuent également à l'apport de protéines végétales dans les zones rurales principalement [102].

Afin de les intégrer dans la filière alimentaire nous avons cherché à mesurer le contenu en protéines des graines délipidées.

#### II.3.1 Extraction et dosage des protéines

Les différentes classes de protéines sont extraites et dosées selon les méthodes décrites précédemment. C'est le classement effectué par Osborne [103] qui est basé sur la différence de solubilités des protéines en fonction du type utilisé. La méthode de Bradford [62] nous a permis de doser les différents extraits obtenus à partir du processus séquentiel. Le tableau 26 rassemble les résultats obtenus.

À partir du tableau 26 on note que les graines de *Carica papaya* L. délipidées contiennent un peu moins de 16 % de protéines par rapport au poids sec. L'extraction séquentielle a montré que les globulines constituent la classe majoritaire avec plus de 74 % des protéines totales. Les albumines et les prolamines représentent 11,72 % et 8,88 % respectivement des protéines totales. La classe que représente les glutélines est la plus pauvre et ne représente que 4,48 % des protéines totales. Ces observations sont en accord avec les résultats obtenus pour des graines de papaya déshuilées [104].

Tableau 26 : Contenu en protéine (mg/g) de poudre de graines déshuilées

Milieux d'extraction	Classes de protéines	Protéines (mg)	Quantité par rapport à la masse de graines (mg/g)	% Protéines totales extraites	% Protéines par rapport à la masse de la graine
Eau distillée	Albumines	56,04	18,68	11,72	1,87
Tris-HCl 100mM, NaCl 0,5M pH 8,1	Globulines	358,37	119,46	74,92	11,95
Éthanol 70%	<b>Prolamines</b>	42,49	14,16	8,88	1,42
Acide acétique 0,2 N	Glutélines	21,41	7,14	4,48	0,71
Total		478,31	159,44	100	15,94

# II.3.2 Composition en acides aminés des deux classes majoritaires de protéines

Compte tenu de l'importance des protéines dans l'alimentation, la composition en acides aminés des fractions majoritaires que sont les globulines et les albumines a été déterminée.

Les acides aminés qui sont les composants de bases des protéines jouent un rôle fondamental dans la vie. Ils remplissent de nombreuses fonctions dans la biosynthèse, le métabolisme, la physiologie... Il en existe plusieurs dans la nature mais généralement seuls 20 d'entre eux entre dans la synthèse des protéines. Il existe quelques exceptions dans la synthèse des protéines dans lesquelles quelques acides aminés dits protéinogènes sont légèrement modifiés.

La composition séquentielle en acides aminés des deux fractions majeures (globulines et albumines) obtenues lors de l'extraction des protéines à partir des graines de papaye délipidées est présentée dans le tableau 27.

Tableau 27: Profils des acides aminés dans les différentes fractions extraites de la graine

Acide Aminé	Albumines	Globulines	Total AA	Recommandation de l'OMS
Alanine	$0,127 \pm 0,002$	$0,246 \pm 0,004$	0,373	
Arginine	$0,244 \pm 0,001$	$0,485 \pm 0,003$	0,729	
Asparagine	$0,100 \pm 0,001$	$0,166 \pm 0,003$	0,266	
Aspartate	$0,017 \pm 0,001$	$0,028 \pm 0,002$	0,045	
Cystéine	$0,030 \pm 0,001$	$0,350 \pm 0,008$	0,380	15 <sup>†</sup>
Glutamate	$0,037 \pm 0,002$	$0,099 \pm 0,002$	0,136	
Glutamine	$0,052 \pm 0,001$	$0,104 \pm 0,001$	0,156	
Glycine	$0,356 \pm 0,004$	$0,806 \pm 0,004$	1,162	
Histidine	$0,105 \pm 0,005$	$0,151 \pm 0,004$	0,256	10 <sup>†</sup>
Isoleucine*	$0,093 \pm 0,001$	$0,163 \pm 0,002$	0,256	20 <sup>†</sup>
Leucine*	$0,281 \pm 0,002$	$0,490 \pm 0,004$	0,771	39 <sup>†</sup>
Lysine*	$0,073 \pm 0,001$	$0,285 \pm 0,004$	0,358	30 <sup>†</sup>
Méthionine*	$0,077 \pm 0,001$	$0,161 \pm 0,004$	0,238	
Phénylalanine*	$0,128 \pm 0,006$	$0,323 \pm 0,004$	0,451	25 <sup>†</sup>
Proline	$0,056 \pm 0,005$	$0,029 \pm 0,001$	0,085	
Sérine	$0,121 \pm 0,001$	$0,231 \pm 0,006$	0,352	
Thréonine*	$0,114 \pm 0,006$	$0,147 \pm 0,001$	0,261	
Tyrosine	$0,074 \pm 0,002$	$0,115 \pm 0,002$	0,189	15 <sup>†</sup>
Tryptophane*	$0,077 \pm 0,001$	$0,130 \pm 0,001$	0,207	4 <sup>†</sup>
Valine*	$0,069 \pm 0,002$	$0,113 \pm 0,002$	0,182	26 <sup>†</sup>
Total AA	2,231	4,622	6,853	
Total AAE	0,912	1,812	2,724	
Total AANE	1,319	2,812	4,129	
% AAE	40,88	39,20	39,75	
% AANE	59,12	60,80	60,25	

AA: Acide Aminé; \*AAE: Acide Aminé Essentiel; AANE: Acide Animé Non Essentiel.

TWHO values are the minimum daily intakes recommended for adults by WHO, expressed as mg per kg body weight

Les protéines de la fraction albumine comportent 20 acides aminés dont huit essentiels et douze non essentiels. Les valeurs obtenues après analyse sont relativement faibles par rapport aux valeurs rapportées pour les protéines totales de la graine. Dans cette fraction la glycine est l'acide aminé la plus présente avec 15,96 % de la totalité des acides aminés. Parmi les acides aminés essentiels, la leucine est le plus abondant dans cette fraction et représente 12,60 % des acides aminés totaux. Les acides aminés essentiels représentent 40,88 % alors que les acides aminés non essentiels représentent 59,12%. Ces valeurs sont supérieures aux valeurs rapportées pour la graine totale [105].

En faisant la comparaison avec les protéines de la fraction majoritaire, les globulines, on

observe les mêmes tendances. Ainsi, la glycine est toujours l'acide aminé majoritaire et elle représente 17,44% des acides aminés comptabilisés. La leucine, elle-aussi est l'acide aminé essentiel le plus abondant parmi les essentiels dans une proportion de 10,60 %. Les acides aminés essentiels représentent 39,20 % et les non essentiels 60,80 %.

Parmi les deux fractions, l'aspartate est le moins représenté avec 0,76% chez les albumines et 0,61% parmi les globulines.

Si on compare les deux fractions, on constate que les globulines sont plus riches en acides aminés avec 4,622 % alors que les albumines ne contiennent que 2,231 %. Toutefois, les acides aminés essentiels sont bien plus abondants chez les albumines tandis que pour les globulines ce sont les acides aminés non essentiels qui sont majoritaires en représentant un peu moins des <sup>2</sup>/<sub>3</sub> des acides aminés totaux.

# II.3.3 Analyse infrarouge

Deux techniques sont utilisées très souvent pour classer les protéines selon les motifs de structure secondaire. Il s'agit du dichroïsme circulaire qui est plus sensible à la forme hélicoïdale et de la spectroscopie infra-rouge par transformé de Fourrier qui est plus sensible aux feuillets β [106], [107]. La spectroscopie infrarouge FT-IR, largement utilisée dans les études des structures secondaires des protéines, est choisie dans cette étude pour tenter de caractériser les différentes classes de protéines [108], [109]. Les spectres IR sont enregistrés de 4000 à 400 cm<sup>-1</sup> en utilisant la poudre de protéine.

La bande amide A qui se situe dans la région 3200 cm<sup>-1</sup> - 3300 cm<sup>-1</sup> est associée à la vibration N-H du groupement amide. Ce mode de vibration est très sensible à la force des liaisons hydrogène.

Les liaisons hydrogènes, impliquant les groupes C=O et N-H de la liaison peptidique et la conformation de la molécule, influencent fortement la fréquence de la vibration de l'amide I. La bande amide I qui représente la vibration de la liaison C=O couplée aux liaisons N—H et C—N de la fonction amide est, par conséquent, sensible à la conformation de la protéine et apparaît à des endroits différents selon le type de repliement de la macromolécule. En effet les protéines sont des macromolécules non symétriques pouvant se présenter sous forme de feuillets, d'hélices, de tours et/ou de brins désordonnés.

#### II.3.3.1 IR globulines

Le spectre de la fraction globuline (Figure 93) qui est la plus importante en proportion montre une bande intense à 1632,10 cm<sup>-1</sup> et une bande à 1542,38 cm<sup>-1</sup> (Figure 101). La première bande est attribuée à la composante amide I qui est composée principalement de la vibration C=O de la liaison peptidique alors que la deuxième bande est typique de la composante amide II [110]. La bande amide I qui apparaît dans la région [1630-1640 cm<sup>-1</sup>] est caractéristique des structures en feuillets (brins)  $\beta$  [111]–[114]. Cette observation est conforme à la valeur de la bande de  $\beta$ -lactoglobuline [108]. La bande à 1542,38 cm<sup>-1</sup> est attribuée à la fréquence amide II. L'absence d'une bande dans la zone 1293-1328 cm<sup>-1</sup> attribuable à l'amide III et la présence de la bande à 1233,6 cm<sup>-1</sup> confirment que la structure est sous forme de feuillets  $\beta$  et non en hélice  $\alpha$  [115]. Par conséquent on peut noter que les relations protéine-protéine conduisent à des structures qui absorbent à des fréquences IR typiques pour la structure secondaire en feuillets  $\beta$  à savoir 1632,10 cm<sup>-1</sup> (amide I) et 1233,6 cm<sup>-1</sup> (amide III). Le spectre infra rouge de la fraction contenant les globulines montre que les protéines ont une structure en feuillets  $\beta$ .

De plus, la bande large à 3282,83 cm<sup>-1</sup> est associée à la présence des fonctions acides associées à la protéine. Ceci est confirmé par la bande à 1080 cm<sup>-1</sup>, qui est caractéristique de la vibration du C—O pour les groupes phénoliques ou acides.

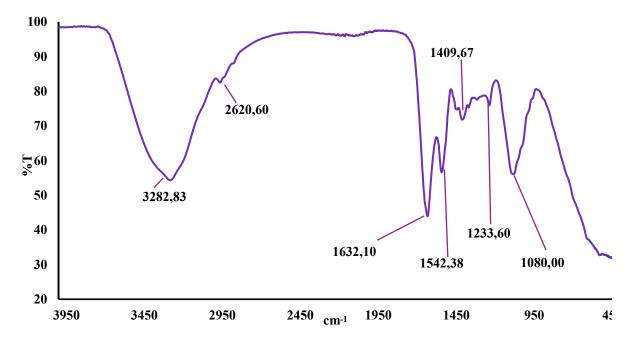


Figure 93: IR Globuline

#### II.3.3.2 IR albumines

Le spectre infrarouge par transformée de Fourrier de la fraction (Figure 94) contenant les albumines qui est le deuxième groupe de protéine le plus important dans les graines de *Carica papaya* présente une bande intense à 1637,90 cm<sup>-1</sup>. Aucune bande n'est observée aux environs de 1500 cm<sup>-1</sup> (Figure 102).

La bande large à 3280,6 cm<sup>-1</sup> est associée à la présence des fonctions acides alors que la bande caractéristique de la vibration du C—O est pointée à 1108,3 cm<sup>-1</sup>. Par conséquence on peut dire que les albumines sont présentes sous forme de feuillets *β*.

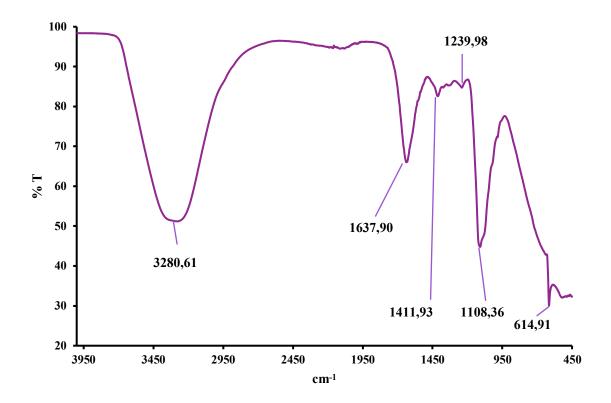


Figure 94: IR Albumine

# II.3.4 Étude des chromatographies

### II.3.4.1 Chromatographie gel-filtration

La chromatographie gel filtration est une technique de séparation basée sur la taille des molécules de protéines. Elle est généralement appliquée dans le fractionnement d'un échantillon en gammes de tailles particulières, ou pour retirer le sel d'un mélange de macromolécules. C'est pour cette raison que la chromatographie gel filtration est utilisée pour séparer les peptides contenus dans les fractions obtenues après une extraction séquentielle des protéines de la graine déshuilée de *Carica papaya* L.

La fraction contenant les albumines est soumise à la chromatographie gel filtration en utilisant le SEPAHDEX G100. Comme le montre la figure 95 la fraction albumine donne trois pics mal séparés. Les fractions A1, A2 et A3 sont regroupés du fait de leur mauvaise séparation pour être dosées afin de connaître la proportion globale en protéines. Ceci permet de calculer le rendement de la colonne. La chromatographie gel-filtration repose entièrement sur l'exclusion par la taille. Les protéines dont la masse molaire est supérieure à la limite supérieure du domaine de fractionnement sortent en premier, toutes les protéines dont le poids moléculaire est compris à l'intérieur du domaine sortent les unes après les autres selon leur taille.

Le chromatogramme des albumines (figure 95) montre une mauvaise séparation des protéines. Du fait de cette mauvaise séparation, il est impossible de déterminer la masse de protéines récupérée dans chaque fraction. Donc, on récupère le taux de récupération de la colonne en fusionnant les trois pics. Le rendement de la séparation est de 28,46% ce qui implique une mauvaise diffusion des protéines dans la matrice.

Tableau 28 : Résumé des résultats pour la Gel-filtration

	Albumines			Globulines		
Fractions	A1	A2	A3	G1	G2	
Masse récupérée (mg)	_	_	_	3,41	0,59	
Taux de récupération de la colonne	28,46 %		18,49 %			

Le chromatogramme des globulines nous montre une bonne séparation des globulines par la résine G100. On distingue deux pics. Le pic G1 qui rassemble les protéines de haut poids moléculaires contient le plus de protéines (3,41 mg) bien qu'il ait une plus faible intensité que le pic G2 qui contient bien moins de protéines. Cette différence d'intensité peut s'expliquer par une plus grande présence d'acides aminés aromatiques dans le pic G2. Le taux de récupération de la colonne est de 18,49 % et est bien plus faible que celui des albumines.

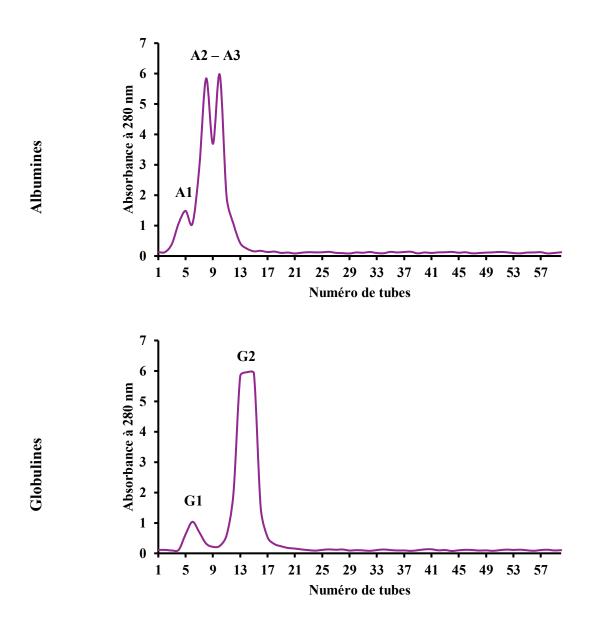


Figure 95 : Chromatogrammes de suivi de l'élution des fractions protéiques sur Sephadex G100

#### II.3.4.2 Chromatographie échangeuse d'ions

La chromatographie échangeuse d'ions permet de séparer les protéines d'un mélange en fonction de leur charge. En fonction, de la résine utilisée on peut avoir deux types de séparation possible. Dans notre travail, on a utilisé une résine DEAE-Sephadex qui est cationique. Le DEAE, va retenir toutes les protéines chargées négativement.

Dans un premier temps, toutes les protéines non chargées et celles ayant une charge positive sont éluées dans un tampon dépourvu de NaCl. En augmentant la force ionique par ajout de NaCl, on décroche les protéines chargées plus ou moins négatives. Plus la force ionique est forte, plus la protéine sera chargée négativement.

La figure 96 montre la séparation des albumines. En absence de NaCl nous avons un pic

intense suivi d'un épaulement. Ce pic représente les protéines chargées positivement ou neutres. En éluant avec une concentration en NaCl de 0,15 M, un pic intense apparaît et contient toutes les protéines ayant une charge négative peu intense.

Tableau 29 : Résumé des résultats pour la Chromatographie échangeuse d'ions

	Albu	lbumines Globulines				
Fractions	A1'	A2'	G1'	G2'	G3'	G4'
Charge des protéines	+/0	_	+/0			
Masse récupérée (mg)	5,36	1,16	1,66	2,13	1,78	0,43
Taux de récupération de la colonne	79	,40	27,60			

Le taux de récupération de la colonne est de 79,4 % ce qui veut dire que la quasi-totalité des protéines contenues dans le mélange a été éluée.

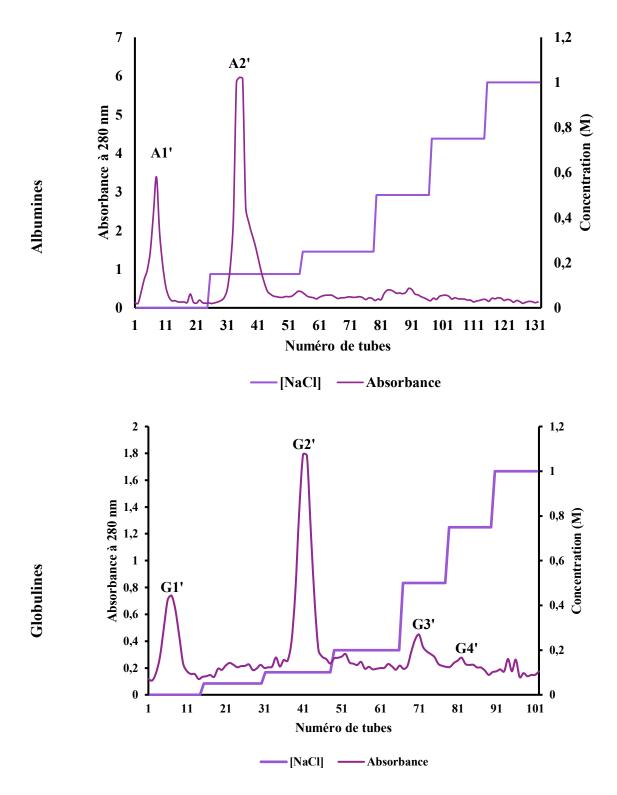


Figure 96: Chromatogrammes de suivi de l'élution sur DEAE-Sephadex

Le chromatogramme des globulines (figure 96) montre quatre pics bien distincts ayant des charges bien différentes. On remarque qu'il n'y aucun retour de la ligne de base ce qui explique le mauvais taux de récupération de la colonne qui est de 27,60 %.

#### II.3.5 Analyse de l'électrophorèse

Comme consigné dans le tableau 26, on observe que la quantité de protéine récupérée après extraction est de 159,44 mg/g de graines délipidées. Ce résultat est conforme à celui obtenu sur des graines délipidées par Marfo et *al*. [104]. L'extraction des protéines par fractionnement et le dosage par la méthode de Bradford [62] a permis de voir que les albumines solubles dans l'eau représentent 11,72 %, les globulines solubles dans le tampon Tris-HCl en présence de NaCl représentent la majorité des protéines avec 74,92 %. Les prolamines solubles dans l'éthanol à 70 % et les glutines solubles dans l'acide acétique 0,2 N représentent les fractions minoritaires avec 8,88% et 4,48% respectivement. Compte tenu de la faible masse de protéine recueillie nous avons concentré nos efforts sur les globulines qui constituent près de 75 % des protéines totales et les albumines qui contribuent pour 11,72 %.

L'électrophorèse SDS-PAGE (Figure 97) a permis de déterminer la masse moléculaire des sous-unités composant les globulines. Six bandes sont mises en évidence. Cinq de ces six unités ont des masses moléculaires non négligeables allant de 44 kDa à 112 kDa. Une des sous-unités a un poids moléculaire plus faible de 13,26 kDa. Les bandes à 44,85 et 77,61 kDa ont des intensités assez fortes tandis que toutes les autres bandes sont de très faibles intensités. Marfo et al. [104] ont trouvé des résultats qui confirment ce qui est observé dans cette étude pour les fortes masses molaires. En effet pour des graines de papaya, les protéines extraites avec une solution à 5 % en NaCl, qui donne les globulines, révèle en électrophorèse SDS-PAGE, cinq bandes dont les masses sont entre 37,6 kDa et 106 kDa. La distribution des masses moléculaires de ces protéines sont similaires à celle observée pour les protéines des graines de Moringa oleifera, composée de polypeptides dont la majorité a une masse molaire dans une gamme de masse moléculaire inférieure à 0,9 kDa et le reste a une masse entre 12 kDa et 66 kDa [116]. On observe la même tendance avec les globulines obtenues avec des graines de pignon. En effet, l'électrophorèse des globulines obtenues par extraction des graines de pignon donne des masses molaires allant de 10 kDa à 150 kDa [117] avec des bandes de très faibles intensités pour les fortes masses molaires. Aussi bien pour les graines de moringa que pour les graines de pignon on trouve la majorité des sous-unités dans la gamme de masse moléculaire de 0,9 à 12 kDa contrairement aux globulines des graines de Carica papaya dont les bandes représentant les masses à 44,85 kDa et 77,61 kDa sont les plus intenses.

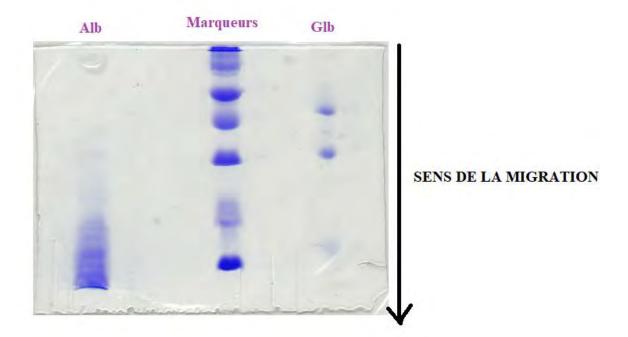


Figure 97 : Électrophorèse des protéines. Alb : Albumines; Glb : Globulines

L'électrophorèse montre pour les albumines des bandes de faibles intensités dans la gamme de masse allant de 11 à 45 kDa. On observe cinq sous-unités à 44,85 kDa; 25,92 kDa; 19,11 kDa; 15,92 kDa et 12, 48 kDa. Comme observé souvent dans les graines, les albumines qui sont des protéines hydrosolubles sont présentes à des taux plus bas par rapport aux globulines et sont en général de faibles masses molaires. En effet pour les graines de *Moringa oleifera* Baptista et *al*. [116] ont montré que les albumines sont moins présentes que les globulines et que les sous-unités des albumines se répartissent comme suit : 61,58 % des protéines ont une masse inférieure à 0,9 kDa; 29,46 % ont une masse entre 12,4 et 0,9 kDa; 7,07 % ont une masse dans l'intervalle 29-66 kDa et seuls 1,89 % des protéines ont une masse au-dessus de 66 kDa.

# II.3.6 Titrage acide/base

La figure 98 représente les graphiques de suivi de l'évolution du pH et de la conductivité des protéines (albumines, globulines et glutélines).

La courbe de titrage pH-métrique des protéines (Figure 98) montre deux points d'inflexion clairement définis qui indiquent les volumes équivalents. Le premier point correspond au volume de HCl utilisé pour la neutralisation des ions OH<sup>-</sup> libres alors que le deuxième point donne le volume de HCl nécessaire pour neutraliser la totalité des ions OH<sup>-</sup> en solution. La différence entre les volumes de titrant correspondant à ces deux points indique le volume de HCl 0,08 N nécessaire pour neutraliser les groupements OH<sup>-</sup> liés à la protéine, ce qui permet de

déterminer l'équivalent des groupements acides présents dans la quantité de la protéine titrée.

Pour la courbe de titrage conductimétrique, trois régions sont clairement présentes. La première région montre une décroissance lente de la conductivité en fonction du volume versé. Dans cette zone, il se produit la neutralisation des ions OH⁻ libres en excès par rapport à la protéine selon une réaction très simple (HCl + NaOH→ H₂O + Na⁺,Cl⁻). Les ions chlorure produits lors de cette réaction influencent très peu la conductivité en raison de leur très faible mobilité.

La deuxième région montre un léger changement de la pente de la courbe qui indique que ce sont les ions OH<sup>-</sup> liés à la protéine qui sont neutralisés par HCl.

La troisième région montre une croissance nette de la conductivité de la solution. En effet dans cette partie tous les ions OH<sup>-</sup> à faible mobilité sont déjà neutralisés et l'ajout de HCl génère des ions H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> qui ont une forte mobilité.

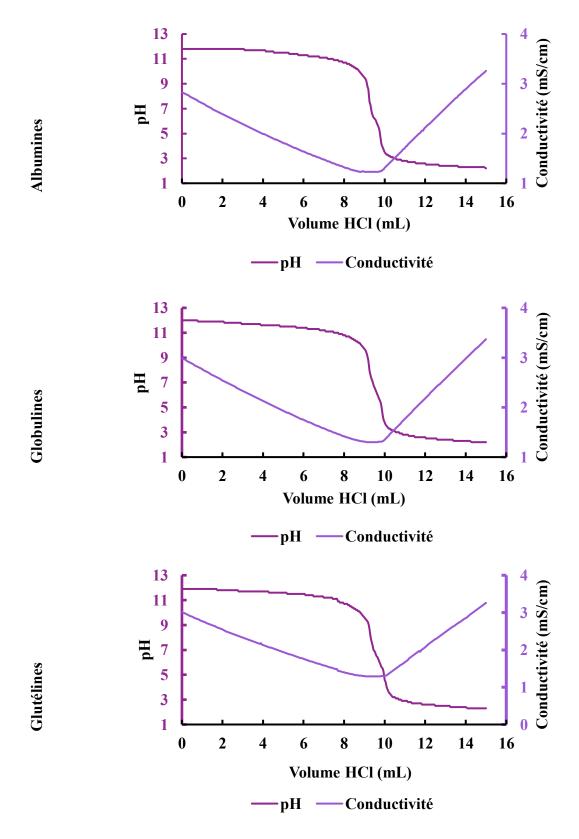


Figure 98 : Courbes de titrage des protéines par HCl : mesure du pH et de la conductivité

Aux deux points de la courbe de conductivité où se produisent les changements de pente on relève les volumes équivalents  $V_{eq1}$  et  $V_{eq2}$  qui correspondent respectivement aux volumes de HCl nécessaires pour neutraliser les ions  $OH^-$  libres ( $V_{eq1}$ ) et la totalité des groupes  $OH^-$  présents au départ ( $V_{eq2}$ ). Comme pour le dosage pH-métrique la différence entre  $V_{eq1}$ - $V_{eq2}$  fournit le volume de HCl qui permet de neutraliser les groupes  $OH^-$  liés aux molécules de protéine. L'équation 9 est utilisée pour effectuer les calculs (Tableau 30).

Tableau 30 : Groupes acides/g de protéines et protéines/groupes acides

Protéines	Paramètres	m <sub>protéine</sub> (mg)	N <sub>NaOH</sub> (éq/L)	N <sub>HCI</sub> (éq/L)	V <sub>éq1</sub> (mL)	V <sub>éq2</sub> (mL)	A	A-1		
Albumines	pH (8,80 et 4,10)				9,10 <sup>a</sup>	9,82 <sup>b</sup>	0,002133°	468,75 <sup>d</sup>		
Albur	Λ (1,23 et 1,24)	0,027			9,12ª	9,85 <sup>b</sup>	0,002163°	462,33 <sup>d</sup>		
Globulines	pH (9,10 et 5,0)	0,030	0,030	0.00	0.00	9,11 <sup>e</sup>	9,80 <sup>f</sup>	0,001813 <sup>g</sup>	543,71 <sup>h</sup>	
Glob	Λ (1,30 et 1,32)			0,08	0,08	,030 0,08	0,08	9,15°	9,85 <sup>f</sup>	0,001867 <sup>g</sup>
Glutélines	pH (10 et 5,2)					9,28 <sup>i</sup>	9,75 <sup>j</sup>	0,001880 <sup>k</sup>	531,911	
Gluté	Λ (1,29 et1,30)	0,020			9,30 <sup>i</sup>	9,78 <sup>j</sup>	0,001800 <sup>k</sup>	520,931		

 $\Lambda : Scm^2 eq^{-1}$ 

A : équivalent groupes acides / g de protéine

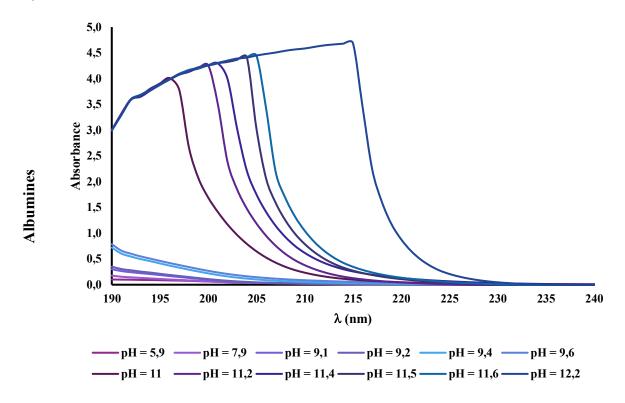
A-1: g de protéine / équivalent de groupes acides

# II.3.7 Étude des spectres UV en fonction du pH

Les différentes catégories de protéines isolées en fonction de leur solvant spécifique sont précipitées. Une étude complémentaire est réalisée en fonction du pH de la solution. Les différents spectres électroniques (Figures 99-100) sont enregistrés pour pouvoir observer de possibles changements conformationnels en fonction du pH. En effet, l'utilisation de ces protéines purifiées dépendent de leur stabilité structurale.

Comme le montre la figure 99, les albumines qui sont solubles dans l'eau présentent des

spectres dont la longueur d'onde maximale est autour de 192 nm entre un pH = 5,9 et un pH = 9,6. Cette longueur d'onde d'absorption attribuée à une transition  $\pi \to \pi^*$  est caractéristique des liaisons peptidiques. Au-delà du pH = 10 un effet bathochromique est observé et l'absorption maximale est déplacée de 192 nm à  $\lambda_{max}$  = 215 nm pour un pH = 12,2. On observe également un effet hyperchrome pour toute la gamme de pH étudiée. Ce comportement est mieux perçu en examinant le graphe représentant les longueurs d'ondes maximales en fonction du pH. En effet il apparaît clairement sur la figure 100 que le changement est spectaculaire à partir d'un pH supérieur à 10. Le déplacement de la longueur d'onde  $\lambda_{max}$  passant de 190 nm à 215 nm.



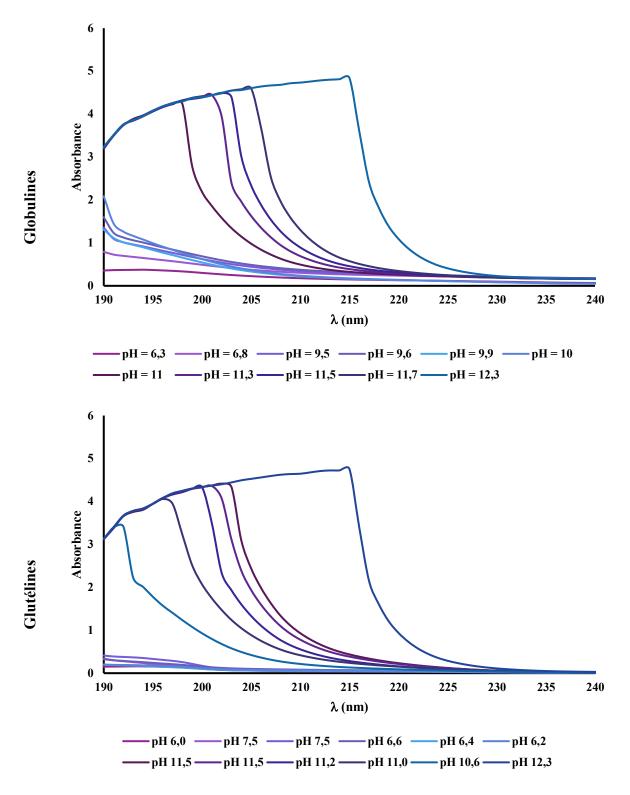


Figure 99 : Spectres UV des protéines selon le pH

Le même comportement est observé en examinant les figures 99 et 100, qui représentent les enregistrements des spectres UV = f(pH) pour les globulines qui sont recueillies à partir de la fraction TRIS·HCl et les glutélines isolées à partir de la fraction acide acétique. Aussi bien l'effet hyperchromique que l'effet bathochromique observés pour les albumines sont observés

pour les globulines et les glutélines.

Une protéine extraite de la graine de *Moringa oleifera*, pour laquelle une structure en hélice α a été proposée grâce aux données de l'infrarouge (FT-IR) et du dichroisme circulaire [118], a eu le même comportement en milieu aqueux. Ces protéines ne montrent aucun changement de comportement avant d'avoir atteint un pH de 10. Pour des valeurs de pH supérieures à 10, les auteurs ont conclu à un changement dans la structure secondaire en raison des maxima de longueur d'onde d'absorption.

Les changements observés pour toutes ces protéines précipitées (figures 99-100) sont généralement attribués aux changements conformationnelles qui induisent une évolution de structure des protéines. On passe d'une structure secondaire en feuillets β observée dans les spectres FT-IR, vers des structures désordonnées, en passant par des structures laminaires. Ces changements conformationnels peuvent se produire sous l'effet de la température, de la force ionique dans le milieu, du type de solvant, du pH... Plusieurs exemples sont reportés dans la littérature [119]–[121].

Selon les observations obtenues à partir des spectres infrarouge et des spectres UV on peut considérer que ces différentes catégories de protéines présentent une structure secondaire dominante en feuillets  $\beta$  et que les effets bathochromes observés dans les spectres UV-visibles associés aux transitions  $\pi \rightarrow \pi^*$  peuvent être attribués à l'apparition de transitions conformationnelles qui modifient la structure en feuillets  $\beta$  des protéines.

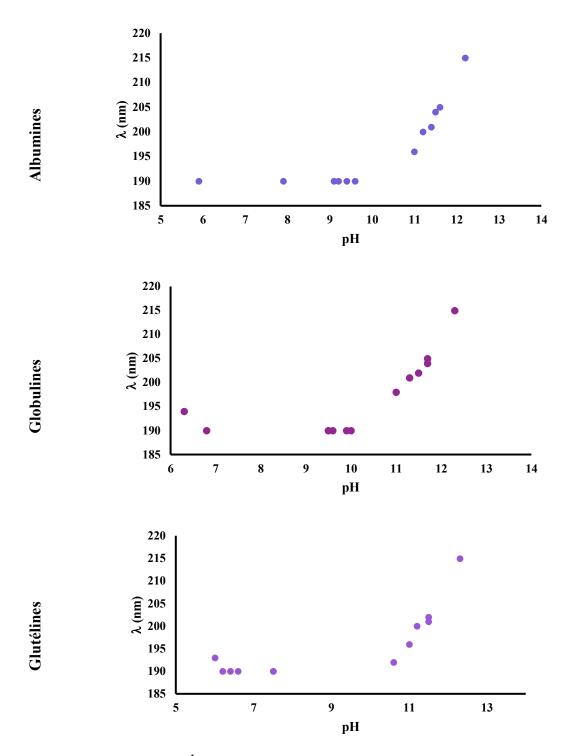


Figure 100 : Évolution de la longueur d'onde en fonction du pH

## II.4 Élimination des colorants

Les colorants synthétiques et naturels sont largement utilisés dans les fabriques chimiques, pharmaceutiques, textiles et alimentaires et peuvent causer des dommages dramatiques à l'environnement [122]–[124] et produire des quantités considérables d'eaux usées [125], [126]. Les eaux usées polluées par des colorants organiques sont difficiles à purifier, en raison de la bonne stabilité de ces molécules due à leurs structures aromatiques [127].

Le bleu de méthylène est un colorant cationique à caractère récalcitrant très utilisé dans l'industrie. Ce colorant est toxique et entraîne plusieurs risques pour l'environnement et la santé. Une anémie hémolytique, une hyberbilirubinémie et une insuffisance rénale aiguë ont été rapportées comme conséquence de l'exposition du nouveau-né au bleu de méthylène [128].

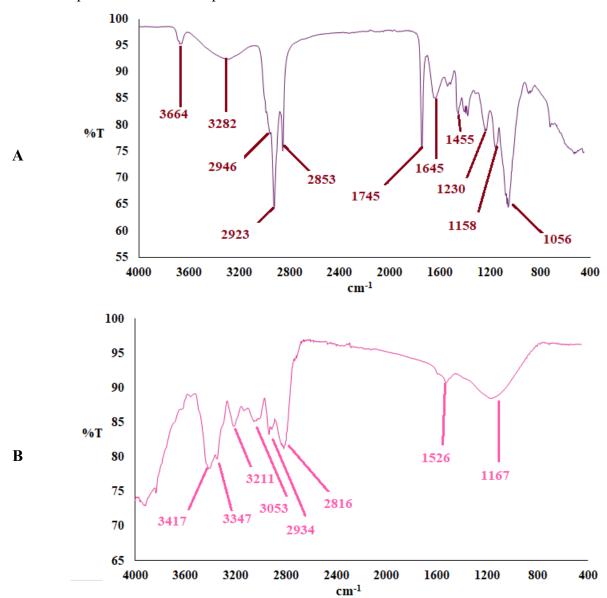
La fuchsine basique est un colorant cationique largement utilisé dans les industries du textile et du cuir. L'exposition à la fuchsine basique peut causer des dommages considérables à la santé, tels qu'irritation des voies respiratoires, des yeux et de la peau, nausées, vomissements et diarrhée [129]. Des dommages à la thyroïde, au foie et à la rate sont également rapportés [130], [131]. L'élimination de ces colorants des eaux usées est essentielle à la fois pour la santé et pour l'environnement. Les technologies traditionnelles de traitement des eaux usées se sont révélées inefficaces pour purifier les eaux usées polluées par certains types de colorants [132]. Plusieurs méthodes ont été utilisées pour éliminer les colorants des eaux usées. La mise en œuvre de processus physico-chimiques et biologiques tels que la séparation [133], l'oxydation [134], l'osmose, la photodégradation [135], la biodégradation microbienne [136]–[138] sont difficiles et coûteuses. Certains de ces procédés ont un inconvénient principal en raison de la formation de composés inconnus différents de la molécule de colorant d'origine [139], [140]. Ces intermédiaires peuvent avoir une toxicité différente [141] et rester en solution après le traitement des eaux polluées. La méthode d'adsorption est la plus facile à mettre en œuvre avec un faible coût par rapport aux autres processus utilisés dans l'industrie. Un grand nombre d'adsorbants tels que des nanoparticules, des argiles, des zéolithes, des sous-produits de la cellulose, du charbon actif, des déchets agro-industriels, etc. sont appliqués pour éliminer les colorants des eaux usées [142], [143]. Le processus d'adsorption est également la technologie la plus efficace pour éliminer le colorant des eaux usées. Aucun intermédiaire issu de la dégradation des molécules de colorant n'est apparu car les molécules de colorant ont été directement transférées de la solution à la phase solide de l'adsorbant. De plus, les quantités d'adsorbant utilisées sont assez faibles. À la fin du processus, le colorant chargé d'adsorbant peut être stocké en phase sèche sans dommage pour l'environnement. La phase solide peut être régénérée plus tard pour être réutilisée dans le processus.

Dans ce contexte, nous avons proposé l'utilisation du résidu des graines de *Carica papaya* L. délipidées (GCPD), qui est un absorbant à très faible coût pour éliminer les colorants (BM et FC) des effluents industriels. Les mécanismes de biosorption de ces colorants sur la graine dégraissée ont été étudiés en déterminant l'influence de paramètres tels que le pH, la concentration, le rapport colorant / adsorbant et le temps de contact.

#### II.4.1 Caractérisation de l'adsorbant

La surface de l'adsorbant peut être caractérisée en utilisant des techniques telles que la méthode de Boehm [63], la mesure du pH de charge nulle, par la spectroscopie infrarouge at par la spectroscopie X. La méthode de Boehm donne des concentrations d'acides totaux, carboxyliques, phénoliques et des sites lactoniques qui sont de 9,02; 3,71; 3,20 et 1,95 meq/g, respectivement, et la concentration des sites basiques de 0,05 meq/g. Ainsi, la surface des GCPD a un caractère acide car elle a une concentration de groupes acides, principalement de type carboxylique et phénolique. Les groupes phénoliques font partie de la structure moléculaire de la lignine et la cellulose.

Les spectres FT-IR (figure 101) des GCP, GCPD, GCPD chargé au BM et GCPD chargé à la FB ont été enregistrés sur le spectrophotomètre Perkin Elmer Two dans la plage de 4000 à 400 cm<sup>-1</sup>. Dans le spectre des GCPD, la bande large pointée vers 3417 cm<sup>-1</sup> est caractéristique de la vibration d'un groupe -OH [144] associé. Par comparaison, le spectre GCP montre deux bandes attribuables au groupe -OH à 3664 cm<sup>-1</sup> et 3282 cm<sup>-1</sup>. Le groupe -OH est présent dans les fractions phénoliques et carboxyliques. La bande à 3664 cm<sup>-1</sup> peut également être attribuée aux molécules d'eau adsorbées à la surface du GCP solide. Pour les GCPD, les bandes de faible intensité situées dans la plage allant de 3053 à 2816 cm<sup>-1</sup> sont dues aux modes d'élongation et de flexion du -CH des groupes méthylène et méthyle. Pour les GCP, des bandes intenses apparaissent dans la région 2925–2853 cm<sup>-1</sup> en raison des –CH des squelettes présents dans les lipides, la cellulose, l'hémicellulose et la lignine. Les GCP non délipidées présentent une bande très intense vers 1745 cm<sup>-1</sup> et une bande moyenne vers 1645 cm<sup>-1</sup>. Ces deux bandes sont dues à la présence des triesters avant le dégraissage des graines [145]. Ces bandes disparaissent du spectre de GCPD obtenu après dégraissage. Les bandes situées dans la plage allant de 1600 à 1400 cm<sup>-1</sup> sont attribuées à C=C dans les cycles aromatiques. Des vibrations multiples dues au fragment C-O attribué au phénol sont indiquées dans la région 1285-1000 cm<sup>-1</sup>. Ces multiples vibrations indiquent la présence de différents types de phénols [146]. Tous les changements d'intensité et de position dans les pics du spectre IR du GCPD chargé de colorant confirment que différents groupes fonctionnels présents dans le GCPD sont impliqués dans l'adsorption des colorants. De plus, les spectres FT-IR de GCPD chargé de colorant montrent des bandes caractéristiques de BM et FB respectivement.



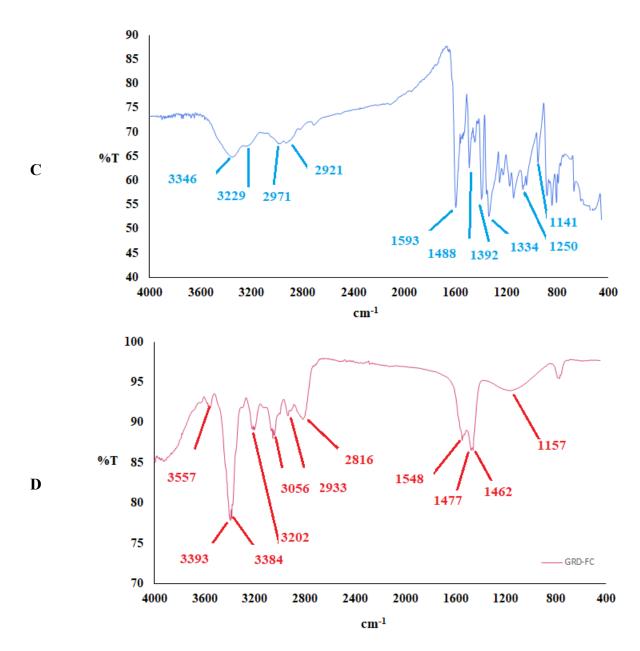


Figure 101 : Spectres FT-IR de graines de *Carica papaya* non délipidées (GCPND) (a), graines de *Carica papaya* délipidées (GCPD) (b) GCPD chargées de BM (c), GCPD chargées de FB (d).

La cristallinité de la poudre de graine de papaya déshuilée a été déterminée par diffraction des rayons X en utilisant un diffractomètre (Rigaku, D / Max-IIIA) fonctionnant à 40 kV et 50 mA. La portée et la vitesse de numérisation étaient de 5° à 70° et 15°/ min, respectivement, en utilisant un rayonnement  $K_{\alpha}$  Al. Le diagramme DRX (figure 102) de la poudre de graine de papaya déshuilée a montré un spectre typique de matériau cellulosique. On observe un pic principal à 20 de 19,4° et des pics secondaires à 20 de 10,2°; 12,7°; 25,4°; 29,6° et 30° respectivement. Le pic principal est considéré comme indiquant la présence de cellulose cristalline très organisée, tandis que les pics secondaires de faibles intensités indiquent une

structure polysaccharidique moins organisée. Ces faits sont conformes à l'analyse par spectroscopie FT-IR.

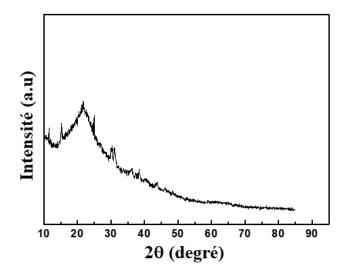


Figure 102: Diagramme DRX du GCPD

Les photographies de la poudre de graine de *Carica papaya* L. non délipidée et celle de la poudre délipidée sont représentées dans la figure 103. Les images indiquent un léger changement de la couleur après l'extraction de la partie grasse. Cela est dû à l'élimination des matières lipidiques qui sont accompagnées de certaines molécules telles que les insaponifiables. La morphologie de la surface de l'adsorbant GCPD a été étudiée par la microscopie électronique à balayage. La structure de la surface du bio adsorbant (GCPD) est rugueuse et irrégulière (figure 103). Ceci est considéré comme important pour l'accessibilité des ions aux sites actifs. Cependant, en augmentant le grossissement (figure 103 c-d) il apparaît clairement que le matériau adsorbant est doté de pores. La présence de ces pores confirme la capacité de l'adsorbant à retenir les ions présents dans une solution aqueuse.

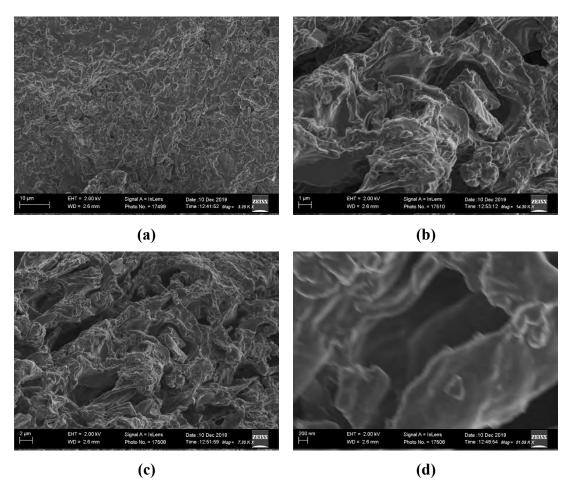
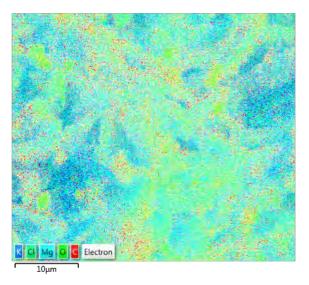


Figure 103 : Image de la microscopie électronique à balayage de GCPD à divers grossissements.

Le spectre EDX a permis de déterminer la composition chimique de l'adsorbant (figure 104). Le spectre EDX a révélé la présence de carbone, azote, oxygène, magnésium, aluminium, silicium, phosphore, soufre, chlore, potassium et calcium dans le bio-adsorbant. Ainsi, l'analyse SEM/EDX confirme que le bio-adsorbant GCPD a la capacité d'éliminer les ions présents dans une solution aqueuse [147].



Cartographie de la composition en éléments chimiques

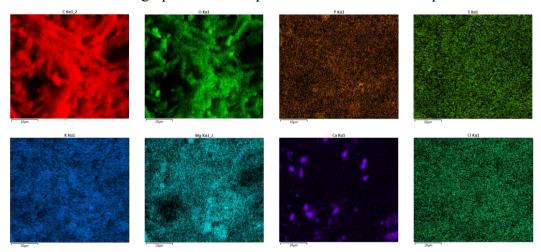


Figure 104 : Distribution des éléments chimiques

Le point zéro charge (pH<sub>PZC</sub>) de GCPD (figure 105) a été déterminé et vaut 6,40. C'est la valeur du pH pour laquelle la surface de l'adsorbant est nulle. Au-delà de ce point, la surface est chargée négativement tandis qu'en-deçà de ce point, elle est chargée positivement.

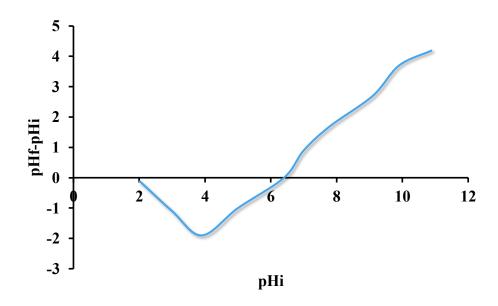


Figure 105 : Détermination du point zéro charge de GCPD

#### II.4.2 Optimisation des paramètres d'extraction

Le contact temporel est le premier paramètre étudié en raison de son rôle important dans l'équilibre de l'adsorption. Comme le montre la figure 106, à t=10 min, une capacité d'élimination élevée est observée : 94,62% pour le BM et 82,79% pour le FB. En augmentant le temps de contact, la capacité d'extraction augmente très lentement et se stabilise à 97,85% pour le BM et à 93,60% pour le FB à t=180 min. Dans la suite du travail, le temps de contact est fixé à t=60 min. Le taux d'adsorption rapide des colorants est probablement dû au grand nombre de sites d'adsorption inoccupés à la surface de l'adsorbant. Le taux d'adsorption est considérablement réduit après t=10 min en raison du faible nombre de sites inoccupés restant sur la surface de l'adsorbant et de la force de répulsion induite par les molécules de colorant adsorbées [148].

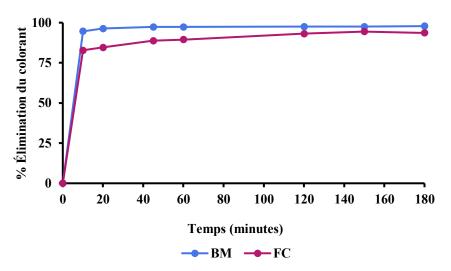


Figure 106 : Optimisation du temps pour l'élimination des colorants

Le second effet étudié est l'influence de la dose d'adsorbant sur la capacité d'élimination (figure 107). La masse d'adsorbant utilisée est comprise entre 0,1 et 1 g, la concentration initiale du colorant est fixée à 50 mg/L et le temps de contact reste constant à 60 min. Le pH de la solution est supérieur au pH<sub>PZC</sub>. La capacité d'élimination la plus élevée est observée à 0,4 g avec une élimination de BM de 97,44% et à 0,3 g avec une élimination de FB de 96,70%. Il a été observé que, pour les deux colorants, les capacités d'élimination dépendaient de la dose d'adsorbant : 93,58 à 97,44% pour le BM et 95,7 à 96,7% pour le FB. Ce fait pourrait s'expliquer par l'augmentation de la surface spécifique de l'adsorbant, ce qui est compatible avec l'augmentation du nombre de sites d'adsorption disponibles pour les molécules de colorant.

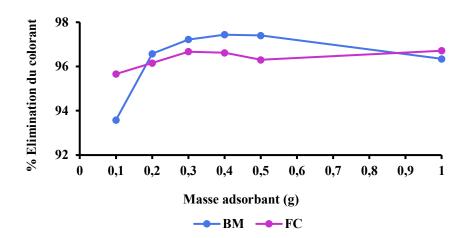


Figure 107 : Optimisation de la dose d'adsorbant pour l'élimination des colorants

Le troisième paramètre étudié est le pH (figure 108). L'influence du pH sur les capacités d'élimination du colorant est importante en raison de son effet sur la surface de l'adsorbant et sur la protonation ou la déprotonation des molécules de colorant [149]. Lorsque le pH de la solution est supérieur au pH<sub>PZC</sub>, le pH auquel la charge de la surface de l'adsorbant est nulle, la surface de l'adsorbant est chargée négativement et les molécules de colorant cationiques sont facilement fixées par l'adsorbant. Au contraire, lorsque le pH de la solution est inférieur au pH<sub>PZC</sub>, la surface de l'adsorbant est chargée positivement et les molécules de colorant cationiques interagissent moins facilement avec l'adsorbant [150]. Les capacités d'élimination de l'adsorbant pour les colorants sont plus faibles en milieu acide : 93,23% pour le BM et 88,34% pour FB lorsque le pH = 2,2. La faible capacité d'élimination en solution acide peut s'expliquer par la compétition entre le colorant cationique et les ions H<sup>+</sup>. En fait, les ions H<sup>+</sup> peuvent être adsorbés sur la surface de l'adsorbant, ce qui entraîne une diminution du nombre de sites actifs disponibles pour l'adsorption des molécules de colorant cationiques. Les capacités d'élimination restent quasi constantes lorsque le pH augmente de 3 à 11 : 97,21 à 97,42% pour le BM et 95,05 à 95,94% pour le FB. Le maximum est atteint pour un pH = 9 pour le BM et pour un pH = 11 pour le FB (figure 108). Lorsque le pH augmente, le nombre d'ions H<sup>+</sup> diminue rapidement, la compétition avec les molécules de colorant disparaît et le nombre de sites d'adsorption disponibles pour les molécules de colorant augmente.

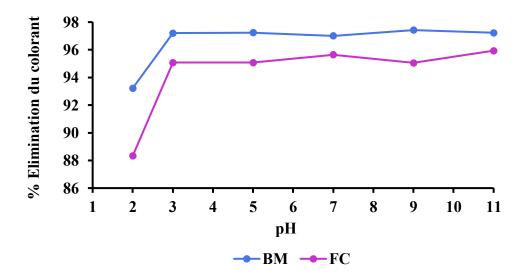


Figure 108 : Optimisation du pH pour l'élimination des colorants

# II.4.3 Aspects cinétiques

Les études cinétiques de l'adsorption de BM et de FB sur du GCPD ont été réalisées à pH = 7, à une température de 25° C et à une concentration fixe d'adsorbant de 8 g/L pour le BM et de 6 g/L pour le FB. Différentes concentrations initiales de colorant ont été utilisées (25 ppm à 100 ppm). Les concentrations aqueuses de colorants ont été mesurées de manière similaire, en fonction du temps de contact. La quantité de colorant adsorbée, qt (mg/g), par l'adsorbant au temps t est calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$q_t = \frac{(C_0 - C_t) \cdot V}{m_0} (10)$$

où  $C_t$  (mg/L) est la concentration aqueuse de colorant au temps t,  $C_o$  (mg/L) est la concentration initiale de colorant, V est le volume (L) et  $m_0$  (g) est le poids de l'adsorbant.

Quatre modèles cinétiques : pseudo-premier ordre [151], pseudo-deuxième ordre [152], modèle de diffusion intra-particule [153] et modèle Elovich [154] ont été examinés afin de comprendre le mécanisme d'adsorption sur le GCPD. L'adéquation de chaque modèle a été vérifié par la corrélation des paramètres de l'équation de la régression linéaire sur les données et les valeurs fournies expérimentalement. Tous les paramètres de chaque modèle sont présentés dans le tableau 27.

### II.4.3.1 Modèle de pseudo-premier ordre

Le modèle de pseudo-premier ordre, décrit par l'équation 11, permet d'estimer les performances d'adsorption de l'adsorbant à partir de la solution aqueuse de l'adsorbat. Ce modèle suppose que le nombre de sites occupés par les molécules adsorbées est proportionnel

au nombre de sites actifs libres.

$$ln(q_e - q_t) = lnq_e - k_1 t$$
(11)

où  $q_e$  (mg/g) est la quantité de colorant adsorbée à l'équilibre,  $q_t$  (mg/g) est la quantité de colorant adsorbée au temps t et  $k_1$  (mn<sup>-1</sup>) est la constante de vitesse.

En traçant l'équation 11 (figures 109-110), les paramètres  $q_{e,cal}$ ,  $k_1$  et  $R^2$  ont été calculés et rapportés dans le tableau 31 pour les deux colorants. Les valeurs  $q_{e,cal}$  ne correspondent pas aux valeurs expérimentales  $q_{e,exp}$  et les valeurs  $R^2$  sont très faibles. Ces faits indiquent que le modèle de pseudo-premier ordre n'est pas applicable au processus d'adsorption de BM ou de FB.

Tableau 31 : Paramètres cinétiques de l'adsorption de BM et FB sur GCPD.

Ø			Modèle	Modèle de pseudo-premier ordre			Modèle de pseudo-second ordre			de diffus articulai		Modèle cinétiques d'Elovich			
Colorants	$C_0$ (mg/L)	$q_{ m e,exp} \ ({ m mg/g})$	$\operatorname{Ln}(q_{\mathrm{e}})$	$\operatorname{Ln}(q_{\mathrm{e}} - q_{\mathrm{t}}) = \operatorname{Ln} q_{\mathrm{e}} - k_{1} \mathrm{t}$			$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t$			$q_t = k_i t^2 + I$			$q_t = \frac{1}{\beta} \ln \alpha \beta + \frac{1}{\beta} \ln t$		
Co]			$k_1 \pmod{mn^{-1}}$	q <sub>e,cal</sub> (mg/g)	$R^2$	k <sub>2</sub> (g/mg/mn)	$q_{ m e,cal} \choose ({ m mg/g})$	$R^2$	k <sub>i</sub> (mg/g/mn)	I	$R^2$	$\beta$ (g/mg)	α (mg/min)	$R^2$	
	25	3,06	0,0332	0,058	0,4401	1,9975	3,0619	0,9999	0,0117	2,9724	0,6535	35,5872	$3,26 \times 10^{45}$	0,7453	
ВМ	50	6,10	0,0302	0,032	0,4125	4,5586	6,0976	1,0000	0,0087	6,034	0,6733	46,7290	$1,015 \times 10^{122}$	0,8018	
B	75	9,13	0,0276	0,117	0,8324	1,1850	9,1408	1,0000	0,0243	8,9573	0,8139	17,3913	$1,074 \times 10^{67}$	0,8991	
	100	12,17	0,0895	0,283	0,9916	0,6987	12,2100	1,0000	0,0356	11,936	0,8999	11,9617	$3,993 \times 10^{61}$	0,9786	
	25	2,98	0,0401	0,0388	0,6955	20,4777	2,9797	1,0000	0,0045	2,9498	0,4067	88,4955	$8,04 \times 10^{112}$	0,504	
FB	50	6,01	0,0531	0,0554	0,263	1,6701	6,0241	1,0000	0,0168	5,8988	0,5833	24,0963	10,81 × 10 <sup>61</sup>	0,7026	
<u> </u>	75	9,01	0,1350	0,5324	0,9511	0,5446	9,0744	1,0000	0,0582	8,6516	0,7744	7,0872	1,59 × 10 <sup>26</sup>	0,9002	
	100	12,00	0,1363	1,2672	0,9704	0,2164	12,1507	1,0000	0,1318	11,182	0,7986	3,1427	6,77 × 10 <sup>14</sup>	0,9191	

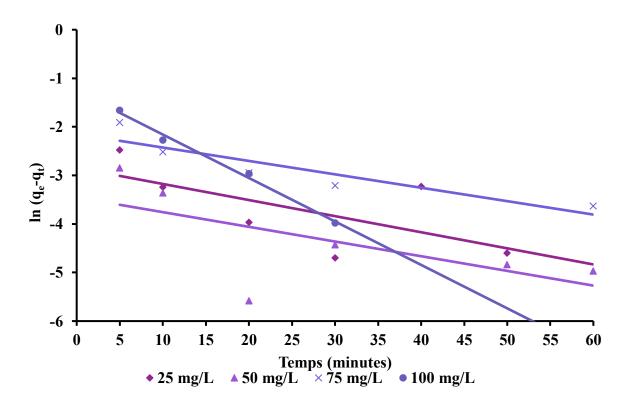


Figure 109 : Modèle cinétique du pseudo-premier ordre pour BM

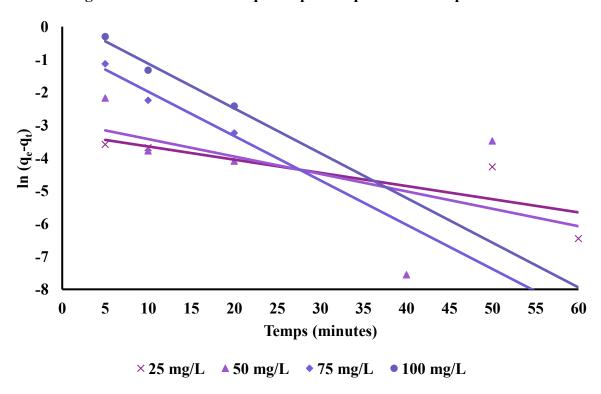


Figure 110 : Modèle cinétique du pseudo-premier ordre pour FB

## II.4.3.2 Modèle de pseudo-second ordre

Le modèle est décrit par l'équation 12 et suppose que le nombre de sites occupés est fonction du carré du nombre de sites actifs libres sur l'adsorbant.

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} (12)$$

En traçant l'équation 12 (figures 111-112), des lignes droites sont observées pour les colorants BM et FB à différentes concentrations initiales de colorant (25 mg/L à 100 mg/L). Les paramètres  $q_{e,cal}$ ,  $k_2$  et  $R^2$  ont été calculés et indiqués dans le tableau 31 pour les deux colorants. Les valeurs  $q_{e,cal}$  correspondent aux valeurs expérimentales  $q_{e,exp}$  et les valeurs  $R^2$  sont proches de l'unité. Ces faits indiquent que le modèle de pseudo-second ordre décrit très bien le processus pour les colorants BM et FB.

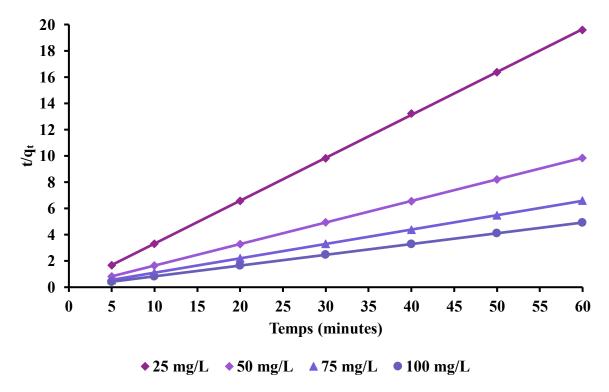


Figure 111: Modèle du pseudo-second ordre pour BM

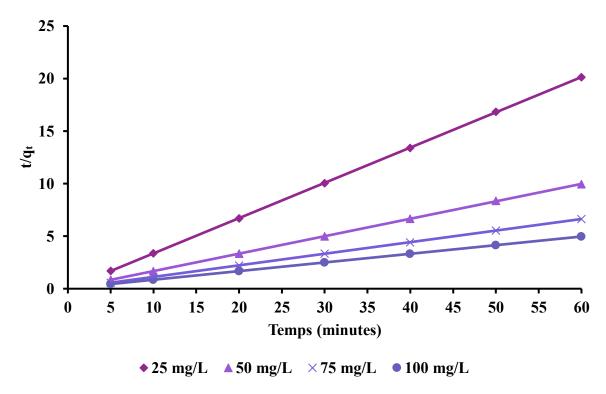


Figure 112 : Modèle du pseudo-second ordre pour FB

#### II.4.3.3 Modèle de diffusion intraparticulaire

Le modèle de diffusion intra-particulaire est décrit par l'équation 13.

$$q_t = k_i t^2 + I \tag{13}$$

Comme indiqué dans la littérature [155], le graphique de l'équation 13 devrait être linéaire si la diffusion intra-particulaire est impliquée dans le mécanisme d'adsorption. De plus, la diffusion intra-particule constitue l'étape de contrôle de la vitesse si la ligne droite passe par l'origine. Si la ligne droite ne croise pas l'origine, cela indique que la diffusion intra-particulaire n'est pas la seule étape de contrôle de la vitesse d'adsorption. Les figures 113-114 montrent les tracés de l'équation 13 pour les colorants BM et FB à différentes concentrations initiales de colorants (25 mg/L à 100 mg/L). Toutes les courbes sont linéaires et ne passent pas par l'origine et les coefficients de corrélation  $R^2$  sont faibles. Ces observations indiquent que la diffusion intra-particulaire n'est pas la seule étape de contrôle de la vitesse et qu'elle fonctionne dans les deux cas simultanément avec le modèle de pseudo-second ordre [156].

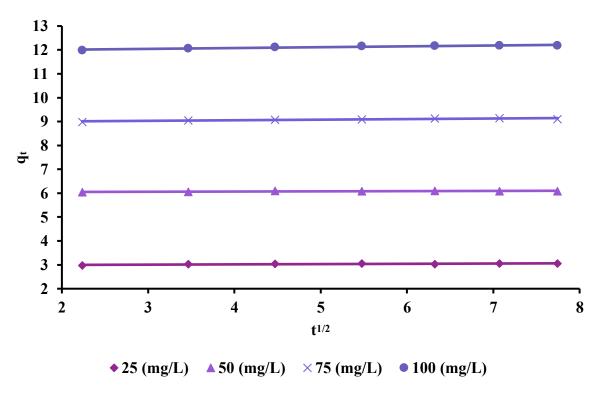


Figure 113 : Modèle de diffusion intraparticulaire pour BM

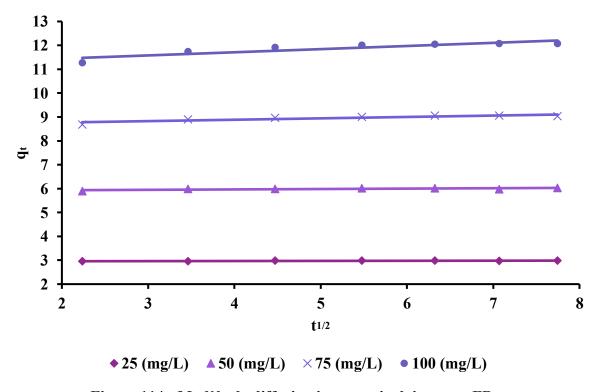


Figure 114 : Modèle de diffusion intraparticulaire pour FB

#### II.4.3.4 Modèle Elovich

Le modèle cinétique nommé Elovich, illustré par l'équation mathématique 14, décrit la chimisorption sur des surfaces hétérogènes.

$$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(\alpha \beta) + \frac{1}{\beta} \ln t$$
 (14)

où  $q_t$  est la quantité de colorant adsorbé (mg/g) au temps (t),  $\alpha$  représente le taux de sorption initial (mg g<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>) et est lié à la surface et à l'énergie d'activation de la chimisorption (g/mg). En traçant l'équation 14 (figures 115-116), des lignes droites sont observées pour les deux colorants pour les différentes concentrations initiales. Les paramètres  $\alpha$ ,  $\beta$  et les coefficients de corrélation  $R^2$  sont calculés à partir des courbes linéaires et consignés dans le tableau 31. Tous les coefficients de corrélation sont inférieurs à l'unité. Ce modèle ne convient pas pour étudier la sorption de BM et de FB sur le GCPD.

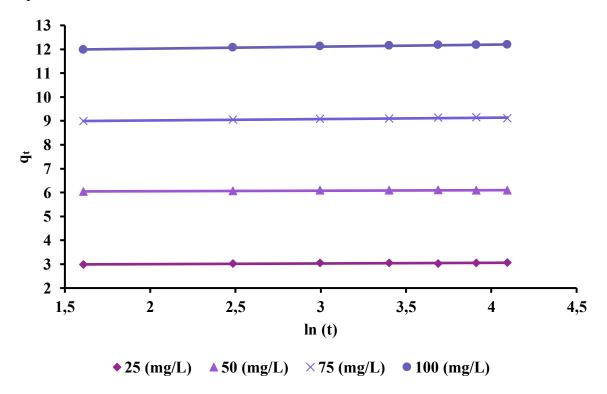


Figure 115: Elovich pour BM

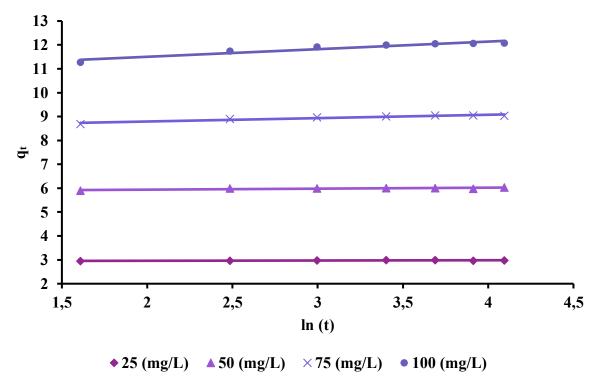


Figure 116: Elovich pour FB

Le processus de sorption de BM et de FB sur GCPD est complexe et implique plusieurs mécanismes. Elle est mieux décrite par le modèle de pseudo-second ordre, comme le montrent les valeurs de paramètres présentées dans le tableau 31. La diffusion intra particulaire, qui n'est pas l'étape qui contrôle la vitesse, intervient également dans le mécanisme de sorption.

#### II.4.4 Isothermes

Pour comprendre comment les molécules adsorbées sont réparties entre la phase liquide et la phase solide constituée de l'adsorbant, les isothermes d'adsorption sont étudiées à l'équilibre. Les données expérimentales sont analysées en les ajustant avec différents modèles. Pour trouver le meilleur modèle à des fins de conception, des modèles d'isothermes nommés Langmuir, Freundlich et Tempkin ont été utilisés dans cette étude [157].

Le modèle de Langmuir suppose que l'adsorbant comporte des sites actifs homogènes spécifiques. Ce modèle suggère que lorsqu'un site est occupé, il ne peut plus y avoir d'adsorption sur ce site. Tous les sites sont énergétiquement équivalents et il n'y a pas d'interactions entre les molécules adsorbées sur les sites voisins. C'est une sorption monocouche sur des sites actifs homogènes.

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{K_L Q_0} + \frac{C_e}{Q_0}$$
 (15)

(Q<sub>0</sub> (mg.g-1): taux maximum d'adsorbat par unité de masse de l'adsorbant en vue de former

une monocouche complète sur la surface;  $K_L$  (L.mg<sup>-1</sup>): constante de l'isotherme d'adsorption de Langmuir;  $C_e$ : concentration à l'équilibre (mg/L);  $q_e$  (mg/g): quantité adsorbée à l'équilibre.

D'autre part, dans le modèle de Freundlich, on suppose que la surface de l'adsorbant est hétérogène avec une distribution non uniforme de la chaleur d'adsorption sur la surface. Ce modèle suggère une sorption multicouche avec des sites non équivalents associés aux énergies d'adsorption résultant de l'interaction entre les espèces adsorbées.

$$lnq_e = lnK_F + \frac{1}{n} lnC_e$$
 (16)

 $(K_F \text{ (mg g}^{-1}): \text{ constante de l'isotherme de Freundlich; n: une constante dépendant de la nature et de la température dont la valeur encadrée selon <math>0.3 < n < 0.5$  pour une bonne vérification du modèle;  $C_e$ : concentration à l'équilibre (mg/L),  $q_e$ : quantité adsorbée à l'équilibre (mg/g)).

Le modèle Temkin est plus particulièrement utilisé pour la détermination de la variation d'énergie d'adsorption. L'isotherme Temkin suppose que la diminution de la chaleur de sorption est linéaire. L'isotherme Temkin peut être exprimé sous la forme linéaire suivante, comme dans l'équation 7.

$$q_e = \frac{RT}{b_t} ln K_T + \frac{RT}{b_t} ln C_e$$
 (17)

 $(b_t$ : constante de Temkin liée à la chaleur de sorption (J/mol),  $K_T$ : constante de l'isotherme de Temkin (L/mg), R: constante des gaz parfaits (8,314 J/mol K), T: température (K),  $C_e$ : concentration à l'équilibre (mg/L),  $q_e$ : quantité adsorbée à l'équilibre (mg/g)).

La figure 117 représente les différents isothermes linéarisés tels que Langmuir, Freundlich et Temkin. Les paramètres estimés ( $Q_0$ ,  $K_L$ , 1/n,  $K_F$ ,  $b_t$  et  $K_T$ ) de l'ensemble des isothermes sont consignés dans le tableau 28. Les valeurs du coefficient de corrélation de  $R^2$ , qui sont importantes pour estimer la qualité de l'ajustement, figurent également dans le tableau 3.

Les données du tableau 32 montrent que le BM et le FB ne suivent pas le même modèle. Le modèle de Langmuir était le moins adapté pour correspondre aux données expérimentales d'équilibre d'adsorption pour les deux colorants. Le coefficient de corrélation  $R^2$  est si bas, avec des valeurs de 0,8373 pour BM et de 0,4130 pour FB.

Les données expérimentales de BM ont été ajustées par le modèle de Freundlich avec un très bon coefficient de corrélation de 0,9981. L'adsorption est un processus d'adsorption multicouche sur des sites hétérogènes. Des interactions entre les molécules adsorbées se produisent, entraînant différentes énergies de la réaction d'adsorption. La valeur de n de 1,206 indique un mécanisme d'adsorption multimoléculaire. La valeur  $K_F$  de 5,34 indique que l'absorption de BM n'est pas très facile comparée aux résultats obtenus avec BM lorsque le tissu

de la tige de maïs est utilisé comme adsorbant. Dans ce cas, les  $K_F$  varient dans la plage 10-320 en fonction du pH de la solution [158].

Tableau 32: Isothermes d'adsorption de BM et FB sur GCPD.

Š		Langmuir			Freundlic	h	Tempkin				
Colorants	$\frac{C_e}{q_e}$	$=\frac{1}{\kappa_L Q_0}+\frac{c_e}{Q_0}$	lnq <sub>e</sub> =	$= lnK_F +$	$\frac{1}{n} lnC_e$	$q_e = \frac{RT}{b_t} \ln K_T + \frac{RT}{b_t} \ln C_e$					
C	<i>Q</i> <sub>0</sub> (mg/g)	K <sub>L</sub> (L/mg)	$R^2$	n	<i>K</i> <sub>F</sub>	$R^2$	b <sub>t</sub> (J/mol)	K <sub>T</sub> (L/mole)	$R^2$		
BM	42,372	0,145	0,8373	1,206	5,34	0,9981	469,97	3,1917	0,9426		
FB	-14,92	-0,123	0,4130	0,735	2,0739	0,9546	352,7	1,3215	0,9912		

Pour FB, le modèle Temkin s'est avéré être le meilleur modèle pour l'ajustement des données expérimentales, montrant une très bonne valeur du coefficient de corrélation de 0,9912 malgré la valeur faible de  $b_t$  qui est de 0,352 KJ mol<sup>-1</sup>. En effet il est connu que la valeur de  $b_t$  dans l'intervalle 8—16 KJ mol<sup>-1</sup> indique une excellente vérification du modèle de Temkin [159].

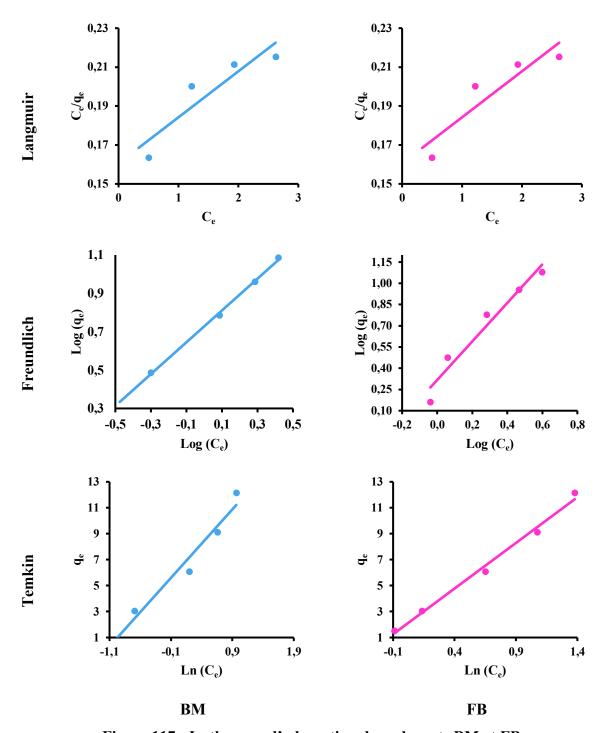


Figure 117: Isothermes d'adsorption des colorants BM et FB

# II.5 Élimination des métaux lourds

La sauvegarde de l'environnement est un sujet d'intérêt majeur aussi bien pour les scientifiques que pour le grand public. De plus en plus les pouvoirs publics et les organisations de citoyens agissent pour juguler l'ampleur de la problématique de pollution de nos ressources en sols et en eaux par les métaux lourds. Les substances répertoriées et qui sont les plus toxiques tels que le plomb, le chrome, le zinc, le cuivre, le nickel, l'arsenic le cadmium, le mercure l'argent et l'uranium sont de plus en plus présents dans les eaux et les sols à des teneurs élevées. La dangerosité de ces éléments est aggravée par leur rémanence indéfinie dans l'environnement en raison de leur nature. Le coût très élevé pour l'élimination de ces types de polluants dans les sols et les eaux par des méthodes physico-chimiques classiques telles que la précipitation chimique [160], la récupération par électrolyse [161], l'utilisation de résines échangeuses d'ions [162], l'extraction par solvant [163] ou la filtration membranaire [164], poussent les industriels qui sont les principaux pollueurs à ignorer le problème. En effet ces méthodes sont excessivement chères et ne donnent que des rendements faibles pour des concentrations en métal inférieures à 100 mg/L [165]. En plus ces méthodes génèrent des quantités importantes de boues après traitement. Dans les pays en développement, les petites installations industrielles ne peuvent pas mettre en œuvre ces procédés classiques de dépollution. Par conséquent, il est urgent de développer des technologies alternatives d'élimination ou de réduction des teneurs en métaux lourds dans l'environnement avec des coûts plus faibles.

Les matériaux considérés comme déchets agricoles, urbain et/ou industriels qui n'ont aucun coût financier peuvent être utilisés dans la phytoremédiation ou bioremédiation. Ces technologies sont prometteuses au regard des résultats enregistrés ces dernières années [166], [167]. La mobilité des métaux lourds dans les écosystèmes aquatiques et leurs fortes toxicités font de ces ions des polluants majeurs. Ils ne peuvent pas être détruits par les systèmes biologiques, mais peuvent être oxydés ou réduits. Ces réactions redox peuvent changer la solubilité de l'ion en question dans l'eau et le rendre plus ou moins biodisponible [168].

La phytoremédiation ou bioremédiation est une nouvelle technologie qui consiste en l'utilisation des plantes vertes pour éliminer les polluants ou pour réduire leur effet négatif sur l'environnement [169], [170]. Cette technologie est largement utilisée à la fois pour éliminer aussi bien les polluants organiques que les polluants inorganiques. La capacité des plantes à accumuler les métaux lourds dépend de plusieurs paramètres tels que la différence des espèces végétales, les méthodes et les conditions de culture de ces végétaux. Plusieurs parties des plantes peuvent être utilisées selon les polluants : les feuilles selon leurs âges, les racines, les

écorces etc. Le maïs est une plante particulièrement adaptée pour accumuler le plomb principalement dans ses racines mais également dans ses feuilles et son tronc [171]. Certaines plantes sont également capables de rendre les polluants des sols inoffensifs en réduisant leur biodisponibilité. En effet elles peuvent immobiliser certains métaux en les transformant en composés minéraux dans les racines. Le plomb peut être sous forme de chloro-phosphate anhydre de plomb ou pyromorphite de formule Pb<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>Cl [172]. La plupart des sous-produits agricoles sont largement disponibles et n'ont aucune valeur financière et ils posent également un problème de stockage et d'élimination. Ces matériaux peuvent être utilisés pour la dépollution ou la récupération des métaux lourds dans les flux industriels [173]. Après élimination des polluants la biomasse peut être facilement régénérée et recyclée [174], [175]. L'origine et le traitement de la biomasse influencent également la qualité de la dépollution et la quantité de polluants éliminée. La séquestration des métaux peut impliquer plusieurs mécanismes complexes, comme l'échange ionique, la complexation, l'adsorption sur les surfaces par des interactions physiques ou chimiques. Plusieurs mécanismes sont décrits pour la biosorption [176], [177].

C'est dans ce contexte que nous essayons de valoriser les feuilles du papayer dans la filière de décontamination des eaux polluées par des métaux lourds.

# II.5.1 Optimisation des paramètres de réduction des métaux lourds en milieu aqueux

La figure 118 montre le pourcentage d'élimination du fer, du nickel, du cuivre et du zinc en fonction du temps. La dépendance de l'adsorption du métal avec le temps est étudiée avec une concentration initiale en métal de 10 mg/L et une masse fixe de 250 mg de feuilles de papayer (FCP). Pour tous les ions on observe une augmentation rapide du taux d'élimination qui atteint le maximum au bout de 10 mn pour le fer et le zinc et 20 mn pour le nickel et le cuivre. Pour le fer on a un taux d'élimination à 84 % au bout de 10 mn. Quand on prolonge le temps on observe une décroissance du taux d'élimination jusqu'à 70 % vers 45 mn. Ce taux reste stable jusqu'à 120 mn de contact. Pour le cuivre, le nickel et le zinc le maximum est de 16% au bout de 10 minutes et reste stables jusqu'à 120 minutes. Pour le nickel et le cuivre, le taux maximum est de 24% et 30% respectivement au bout de 20 minutes. Ces taux décroissent et atteignent au bout de 120 minutes 12,5% et 26% respectivement pour le nickel et le cuivre. Il apparaît ici que les FCP sont plus efficaces pour l'élimination du fer.

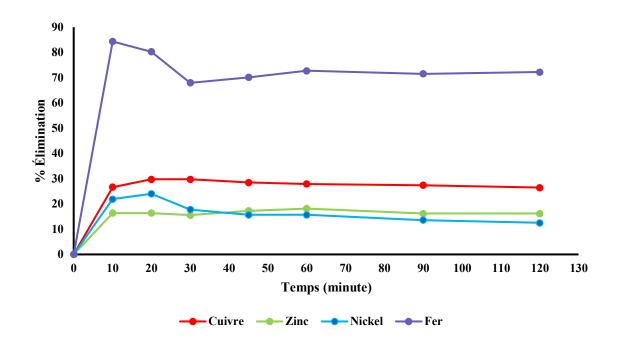


Figure 118 : Effet du temps de contact sur la capacité d'adsorption de FCP

L'influence de la dose de FCP sur le taux d'élimination des métaux lourds dans les solutions aqueuses a été étudiée pour des masses allant de 0,1 à 1 g avec un pH = 7 et des solutions de métaux de 10 mg/L de concentration. Le taux d'élimination des métaux est montré dans la figure 119. En augmentant la dose de CFP de 2 à 20 g/L on note que pour le fer le taux d'élimination augmente rapidement et atteint un maximum 68 % à une dose 6 g/L. Entre 6 g/L et 20 g/L on note un relargage du métal dans la solution et le taux d'élimination se stabilise à 54 % pour une dose de 20 g/L. La dose optimale pour éliminer le fer de la solution aqueuse est 6 g/L. Cependant, pour le nickel, le cuivre et le zinc le taux d'élimination atteint le maximum à 10 g/L avec 45 % pour le nickel et le cuivre et 47 % pour le zinc. Pour ces métaux, la dose optimale est de 10 g/L pour ces trois éléments. Au-delà de cette dose et jusqu'à 20 g/L on note une lente décroissance du taux d'élimination qui se stabilise à 42 % pour le nickel, 38 % pour le cuivre et 44% pour le zinc.

Comme attendu, une forte dose d'adsorbant réduit la saturation des sites d'adsorption. Les espèces chimiques sont plus partagées en raison de l'augmentation de la surface d'adsorbant et de la disponibilité des sites d'adsorption. En effet, la concentration des ions d'adsorbat par rapport à l'adsorbant chute et le système atteint l'équilibre pour des valeurs de taux d'élimination inférieures : les sites d'adsorption restent insaturés. En revanche, quand la dose est faible les espèces chimiques peuvent facilement accéder aux sites d'adsorption et s'y fixer ce qui rend le taux d'élimination meilleur avec des sites d'adsorption saturées. Un comportement similaire a été observé dans le cas de l'élimination du nickel, du cuivre et du

zinc par *Moringa oleifera* [174] et dans le cas de l'élimination du cuivre et du plomb par le *thé noir* [178].

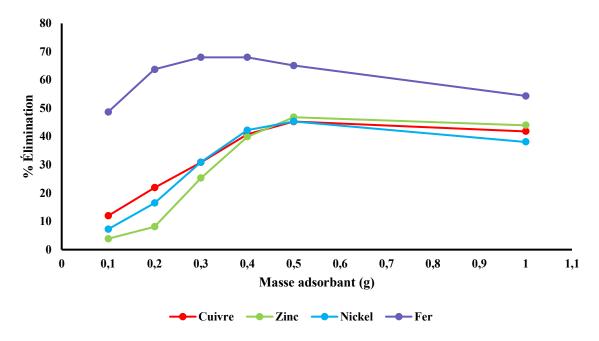


Figure 119 : Effet de la dose d'adsorbant sur la capacité d'élimination des ions métalliques

La capacité d'adsorption est fortement liée à la concentration initiale du métal en solution. Dans la figure 120, on note que pour le cuivre, la capacité d'adsorption atteint son maximum pour une concentration de 2,5 ppm et diminue fortement quand on fait varier la concentration initiale en métal de 2,5 ppm à 20 ppm. Pour le zinc et le nickel, l'adsorption est maximale pour 10 ppm. Toutefois, on observe un phénomène de relargage entre 5 et 10 ppm pour le nickel et entre 5 et 7,5 ppm pour le zinc. Le maximum d'adsorption pour le fer est atteint à 10 ppm. On constate qu'à une faible concentration tous les ions atteindraient les sites d'adsorption spécifiques, ce qui facilite l'élimination du polluant. Cependant, à forte dose, il se produit un phénomène de saturation des sites spécifiques et les sites d'échanges se remplissent. Ces sites d'échange qui sont énergétiquement moins favorables pour l'adsorption sont impliqués dans l'élévation de la concentration en métal de la solution. Cette observation est rapportée plusieurs fois dans des travaux de recherche [179], [180]. Pour le fer qui est le mieux éliminé par l'adsorbant, on note que la capacité d'adsorption passe de 187,61 mg/g à 1668,8 mg/g quand on fait passer la concentration initiale de 2,5 ppm à 20 ppm. Cela peut être dû à une plus grande disponibilité des ions de fer dans la solution. En plus, selon Basha et al., [180] une forte concentration en ions dans la solution entraîne une force motrice pour vaincre les résistances aux transferts de masse de la solution vers l'adsorbant. La probabilité de collusion entre les ions en solution et l'adsorbant se trouve ainsi augmentée fortement. Pour les trois autres ions, on note également une augmentation de la capacité d'adsorption de 55 mg/g à 103 mg/g pour le nickel, de 121 mg/g à 469 mg/g pour le cuivre et de 103 mg/g à 352 mg/g pour le zinc.

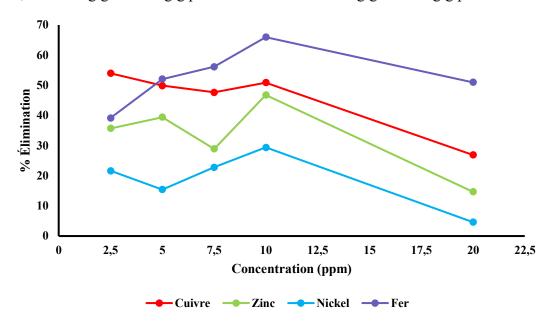


Figure 120 : Effet de la concentration initiale des métaux sur la capacité d'adsorption de FCP

La jacinthe d'eau est une plante endémique qui est utilisée en phytoremédiation pour éliminer de nombreux métaux lourds comme le chrome, le cadmium, le plomb, mais également le zinc, le cuivre, le fer et le nickel [181]. L'accumulation de ces métaux lourds se fait essentiellement par les racines de la jacinthe d'eau sur des durées longues pouvant aller jusqu'à une quinzaine de jours [182] pour de faible concentrations de chrome par exemple 0,5-2 ppm permettant la croissance de la plante. Quand la concentration atteint 5 ppm, la jacinthe d'eau commence à faner et n'adsorbe plus les métaux qu'à de très faibles concentrations.

L'utilisation de notre méthode pour éliminer les métaux lourds est meilleure, car d'une part on peut travailler à des concentrations plus élevées de métal sur une durée plus courte avec des faibles doses d'adsorbant. L'adsorbant utilisé ne se retrouvera jamais dans le circuit alimentaire d'autre part ; contrairement aux plantes utilisées en phytoremédiation qui elles peuvent s'y retrouver.

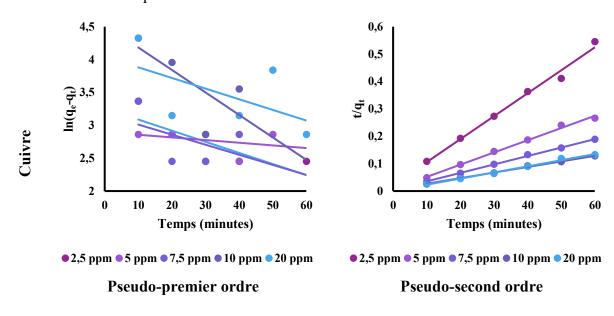
# II.5.2 Cinétiques d'adsorption

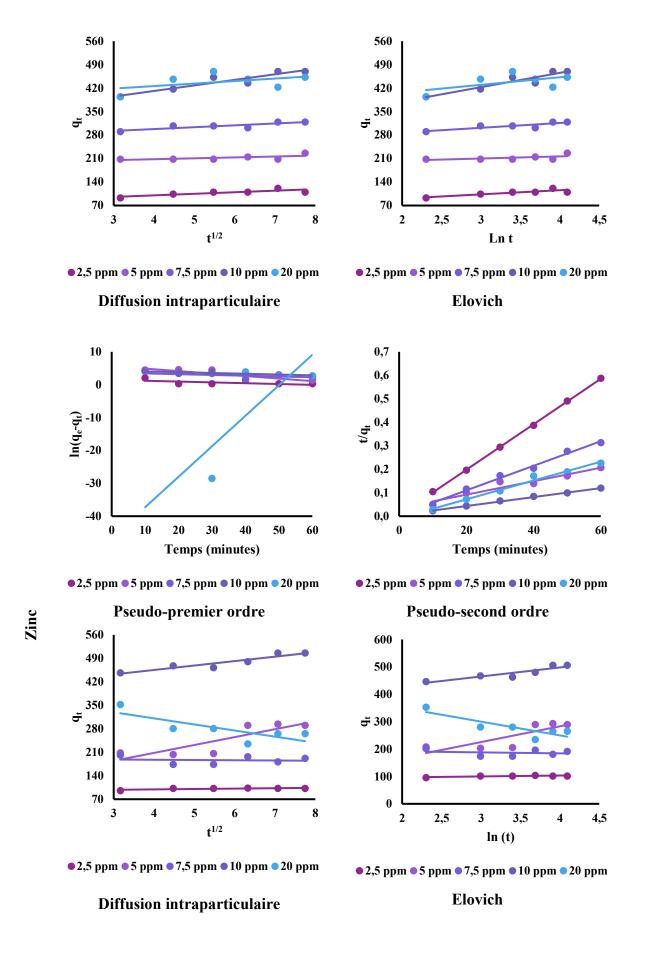
Les études cinétiques de l'adsorption des ions métalliques, de fer, de nickel, de cuivre et de zinc sur du FCP ont été réalisées à pH = 7, à une température de 25° C et à une concentration fixe d'adsorbant de 6 g/L pour le fer et de 10 g/L pour le nickel, le cuivre et le zinc. Différentes

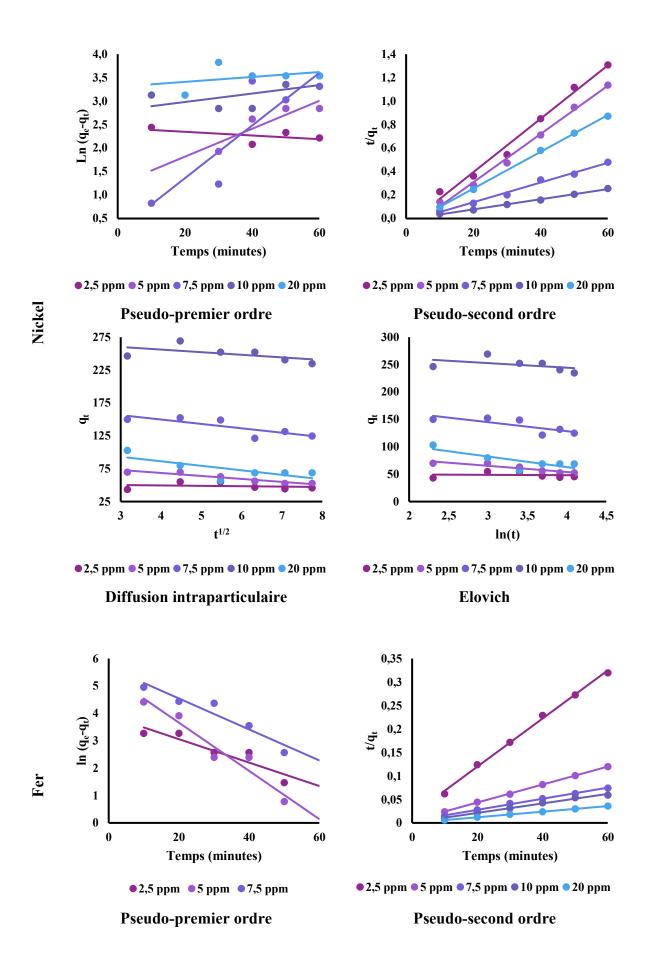
concentrations initiales de métal ont été utilisées (2,5 ppm à 20 ppm). Les concentrations aqueuses de métal ont été mesurées de manière similaire, en fonction du temps de contact. La quantité de q<sub>t</sub> (mg/g) adsorbée par l'adsorbant au temps t est calculée à l'aide de l'équation 10.

Comme dans le cas des colorants, quatre modèles cinétiques : pseudo-premier ordre, pseudo-second ordre, modèle de diffusion intra-particule, et modèle Elovich (tableau 33) ont été examinés afin de comprendre le mécanisme d'adsorption sur les FCP. L'adéquation de chaque modèle a été vérifiée par la corrélation des paramètres de l'équation de la régression linéaire sur les données et les valeurs fournies expérimentalement. Tous les paramètres de chaque modèle sont présentés dans le tableau 29.

Afin d'étudier la cinétique d'adsorption des ions Fe<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> et Zn<sup>2+</sup> sur le FCP, quatre modèles cinétiques différents sont utilisés pour corréler les données obtenues à partir des expériences d'élimination de ces ions. Il s'agit des modèles du pseudo-premier ordre, du pseudo-second ordre, de la diffusion intra-particulaire et du modèle d'Elovich. Le tableau 33 rassemble les paramètres obtenus à partir des résultats des études des cinétiques d'adsorption. Quand on utilise l'équation du modèle du pseudo-premier ordre, les résultats de  $q_{e,cal}$  obtenus pour tous les ions étudiés divergent des valeurs expérimentales de  $q_{e,exp}$  de façon significative. En plus de cela tous les coefficients de corrélation sont très inférieurs à l'unité (tableau 33). Ces observations indiquent clairement que le modèle du pseudo-premier ordre ne décrit aucune des cinétiques d'adsorption du fer, du nickel, du cuivre ou du zinc. Quand on utilise l'équation du modèle du pseudo-second ordre, on observe une bonne corrélation des données par ce modèle. Pour tous les ions étudiés et pour toutes les concentrations initiales en métal, les coefficients de corrélation sont très proches de l'unité quand on utilise l'équation cinétique du modèle de pseudo-second ordre (Figure 121). Les valeurs de  $q_{e,cal}$  calculées concordent également avec les données expérimentales dans le cas de la cinétique de pseudo-second ordre avec de faibles écarts (Figure 121, Tableau 33). Ces observations indiquent que les données d'adsorption sont bien représentées par une cinétique de pseudo-second ordre dans le cas des ions de fer, de nickel, du cuivre et de zinc. On observe également que la valeur de la constante de vitesse d'adsorption  $k_2$  diminue avec l'augmentation de la concentration initiale en métal. Ce comportement peut être attribué à la faible compétition pour les sites d'adsorption en surface à une concentration plus faible. Pour les fortes concentrations en cuivre, la forte compétition des sites actifs en surface et la répulsion entre les ions adsorbés et les ions en solution donnent des vitesses d'adsorption faibles. Des comportements similaires ont été observés dans l'adsorption de certains métaux de transition sur d'autres matériaux adsorbants issus de la biomasse [177], [179], [183]. Les autres modèles cinétiques donnent des valeurs très faibles pour le coefficient de corrélation et ne peuvent pas décrire le mode d'adsorption du fer et cuivre. En effet quand on observe les données consignées dans le tableau 31, il apparaît que les coefficients de corrélation issus du modèle de pseudo-premier ordre sont très faibles et inférieurs à 0,80 et que les valeurs de  $q_{e,cal}$  calculées sont différentes de  $q_{e,exp}$  avec des écarts très grands. Cela indique que l'adsorption de ces ions ne suit pas la cinétique de pseudo-premier ordre (figure 130, Tableau 33). Les coefficients de corrélation dans le cas du modèle de diffusion intra particulaire (Figure 121) et du modèle d'Elovich (figure 121) sont également très loin de l'unité. En effet on observe sur la figure 121 que pour tous les métaux, la relation entre la quantité adsorbée et la racine carrée du temps n'est pas linéaire, suggérant ainsi que la diffusion intra-particulaire n'est pas la cinétique qui gouverne l'adsorption. La figure 121 montre que pour tous les métaux, la relation entre la quantité adsorbée et le logarithme du temps n'est pas linéaire. Il ressort de ces constats que les cinétiques d'adsorption par FCP des ions Fe<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> et Zn<sup>2+</sup> sont exclusivement décrites par le modèle du pseudo-second ordre et qu'un seul mode d'adsorption se déroule durant ce processus.







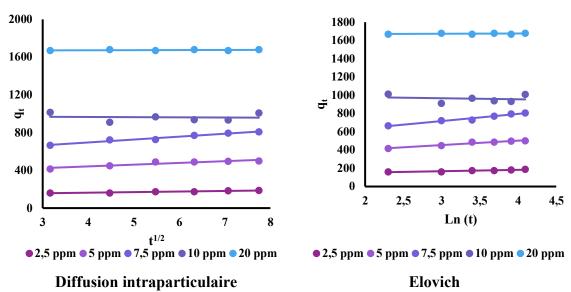


Figure 121 : Modèles cinétiques des quatre métaux

<u>Tableau 33 : Paramètres cinétiques de l'adsorption de Fe, Ni, Cu et Zn sur FCP</u>

			Pseud	o-premier	ordre	Pseudo-	second ord	lre	Diffusion in	ntra-partic	ulaire		Elovich	
Ions	$\begin{array}{ c c c c c }\hline S & C_0 & q_{e,exp} \\\hline C_0 & (mg/L) & (mg/g) \\\hline \end{array}$		$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t$			$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t$			$q_t = k_i t^2 + I$			$q_t = \frac{1}{\beta} \ln \alpha \beta + \frac{1}{\beta} \ln t$		
			k <sub>1</sub> (min <sup>-1</sup> )	$q_{e,cal} \  ext{(mg/g)}$	$R^2$	$k_2$ (g/mg/min)	$q_{e,cal} \  ext{(mg/g)}$	$R^2$	$k_i$ (mg/g/min)	I	$R^2$	β (g/mg)	α (mg/min)	$R^2$
	2,5	110,21	0,017	25,96	0,646	0,003	119,05	0,999	4,66	81,70	0,698	0,08	2,46 × 10 <sup>3</sup>	0,761
	5	208,82	0,004	18,12	0,125	0,003	222,22	0,994	2,70	197,27	0,427	0,16	1,09 × 10 <sup>14</sup>	0,351
Cuivre	7,5	307,43	0,015	23,68	0,207	0,002	322,58	0,998	5,55	275,75	0,735	0,07	1,02 × 10 <sup>9</sup>	0,742
	10	469,84	0,034	92,26	0,493	0,001	500,00	0,997	16,55	345,39	0,872	0,02	4,30 × 10 <sup>4</sup>	0,880
	20	469,84	0,016	57,05	0,311	0,006	454,55	0,993	7,46	396,33	0,231	0,04	2,20 × 10 <sup>8</sup>	0,32
	2,5	103,42	0,021	4,27	0,419	0,023	103,09	0,999	1,18	94,56	0,528	0,30	1,42 × 10 <sup>12</sup>	0,651
	5	293,67	0,076	286,60	0,726	0,0002	344,83	0,993	23,54	113,95	0,728	0,02	1,44 × 10 <sup>2</sup>	0,662
Zinc	7,5	201,74	0,023	39,06	0,251	0,005	192,31	0,991	-0,73	190,58	0,011	-0,28	-	0,039
	10	505,62	0,024	71,93	0,788	0,0007	526,32	0,997	13,25	402,40	0,885	0,03	2,18 × 10 <sup>6</sup>	0,833
	20	352,40	-0,006	67,61	0,205	-0,001	256,41	0,985	-18,16	383,72	0,619	-0,02	-	0,719

	2,5	55,05	0,004	11,31	0,307	-0,009	44,05	0,986	-0,59	51,90	0,037	-1,54	-	0,007
	5	69,95	-0,030	3,40	0,782	-0,004	48,54	0,994	-4,52	86,59	0,913	-0,09	-	0,865
Nickel	7,5	152,52	-0,056	1,27	0,761	-0,002	119,04	0,989	-6,69	176,54	0,673	-0,06	-	0,622
	10	269,49	-0,009	16,46	0,316	-0,002	232,56	0,997	-3,97	272,07	0,322	-0,12	-	0,220
	20	103,21	-0,005	27,26	0,112	-0,004	63,69	0,999	-6,86	113,70	0,544	-0,05	-	0,655
	2,5	187,61	-0,04	50,01	0,850	0,002	196,08	0,997	6,09	139,00	0,914	0,07	4,94 × 10 <sup>4</sup>	0,856
	5	499,50	-0,09	225,61	0,936	0,001	526,32	1,000	18,41	368,32	0,887	0,02	2,73 × 10 <sup>4</sup>	0,942
Fer	7,5	807,15	-0,06	291,20	0,920	0,0003	833,33	0,998	30,80	572,40	0,973	0,01	$3,53 \times 10^4$	0,966
	10	938,05	-	-	-	0,001	1000,00	0,993	-1,93	973,44	0,006	-0,09	-	0,033
	20	1668,85	-	-	-	0,012	1666,67	1,000	1,07	1668,20	0,092	0,35	$4,42 \times 10^{250}$	0,103

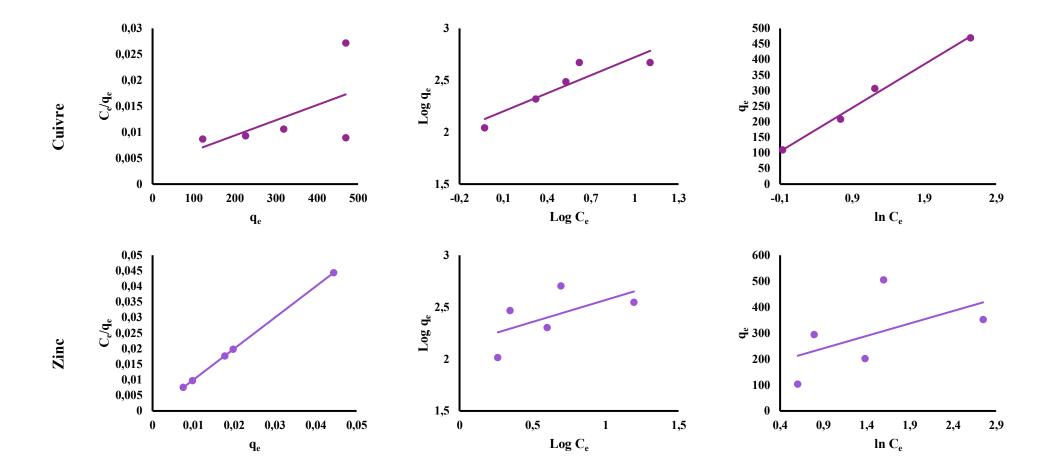
# II.5.3 Isothermes d'adsorption

Pour comprendre comment les ions adsorbés sont répartis entre la phase liquide et la phase solide constituée de l'adsorbant, les isothermes d'adsorption sont examinés à l'équilibre. Les données expérimentales sont analysées en les ajustant avec différents modèles. Pour trouver le meilleur modèle à des fins de conception, des modèles d'isothermes nommés Langmuir, Freundlich et Temkin ont été utilisés dans cette étude [157].

Les données expérimentales des équilibres pour l'adsorption du fer, du cuivre, du nickel et du zinc sont corrélées en utilisant les formes linéaires des équations de Langmuir (15), de Freundlich (16) et de Temkin (17). La figure 131 représente les différents isothermes linéarisés tels que Langmuir, Freundlich et Temkin. Les paramètres estimés ( $Q_0$ ,  $K_L$ , I/n,  $K_F$ , B et  $K_T$ ) de l'ensemble des isothermes sont consignés dans le tableau 34. Les valeurs du coefficient de corrélation de  $R^2$ , qui sont importantes pour estimer la qualité de l'ajustement, figurent également dans le tableau 34.

Les données de l'adsorption du fer et du cuivre sont très bien corrélées avec le modèle de Temkin avec de très bons coefficients de corrélation de 0,9949 et 0,9921 respectivement alors que les données de l'adsorption du nickel et du zinc ne sont corrélées à aucun des trois modèles étudiés (Tableau 34).

Les données du tableau 34 montrent que le fer et le cuivre suivent le même modèle. Le modèle de Langmuir est le moins adapté pour correspondre aux données expérimentales d'équilibre d'adsorption pour les deux métaux. Le coefficient de corrélation  $R^2$  est si bas, avec des valeurs de 0,01 pour le fer et de 0,31 pour le cuivre. Les données expérimentales des deux ions ne sont pas non plus, mieux ajustées par le modèle de Freundlich qui donne de mauvais coefficients de corrélation de 0,79 et 0,82 respectivement pour le fer et le cuivre. Pour ces deux ions, le modèle Temkin s'est avéré être le meilleur modèle pour l'ajustement des données expérimentales, montrant d'excellentes valeurs du coefficient de corrélation de 0,9948 et 0,9921 respectivement pour le fer et le cuivre. Les valeurs de la constante  $b_t$  de l'isotherme de Temkin sont de 3,33 et 17,76 KJ mol<sup>-1</sup> respectivement pour le fer et le cuivre. Il est connu que la valeur de  $b_t$  dans l'intervalle 8—16 KJ mol<sup>-1</sup> indique une excellente vérification du modèle de Temkin [159]. Ces valeurs indiquent de fortes interactions entre le fer et l'adsorbant alors qu'entre le cuivre et l'adsorbant il existe de faibles interactions, soutenant un mécanisme d'échange d'ions. Cela suggère qu'il existe une distribution uniforme de l'énergie de liaison sur la population des sites d'adsorption, soutenant ainsi un mécanisme d'adsorption homogène.



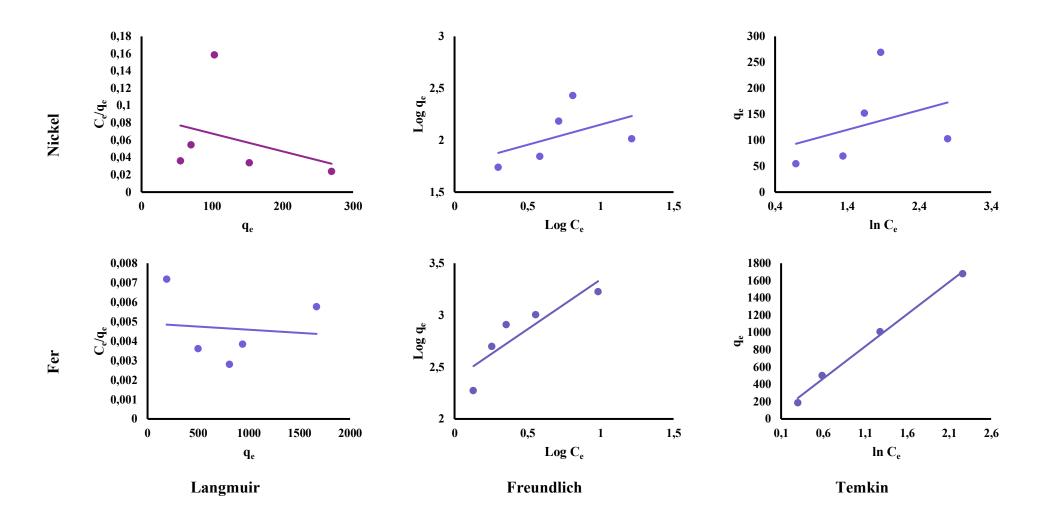


Figure 122 : Isothermes d'absorption des métaux

<u>Tableau 34 : Isothermes de l'adsorption de Fe, Ni, Cu et Zn sur FCP</u>

		Langmuir			Freundlich		Temkin				
Métal		$\frac{c_e}{q_e} = \frac{1}{\kappa_L Q_0} + \frac{c_e}{Q_0}$	_	$lnq_e$	$= lnK_F + \frac{1}{n}$	$lnC_e$	$q_e = \frac{RT}{b_t} \ln K_T + \frac{RT}{b_t} \ln C_e$				
	$Q_0$ (mg/g)	K <sub>L</sub> (L/mg)	R <sup>2</sup>	1/n	K <sub>F</sub>	R <sup>2</sup>	$b_t$ (J/mol)	K <sub>T</sub> (L/mole)	R <sup>2</sup>		
Cuivre	16667	-0,0286	0,813	0,5452	131,04	0,937	17,76	2,34	0,992		
Zinc	-333 333	-0,0001	0,001	0,4224	140,02	0,349	25,87	5,02	0,283		
Nickel	-5000	-0,0023	0,103	0,3882	57,73	0,224	65,66	5,90	0,113		
Fer	-3 333 333	-0,0001	0,010	0,9585	243,33	0,786	3,33	1,03	0,995		

# **Conclusion et perspectives**

L'objectif principal de cette étude consistait à évaluer le potentiel de valorisation antioxydant des co-produits de trois variétés (Ordinaire, Red Lady et Sunrise) de *Carica papaya* L. cultivées au Sénégal afin d'apporter un levier de développement à la sous filière.

Les feuilles et les graines des trois variétés de papayer étudiées ont un contenu relativement intéressant en polyphénols contrairement aux épluchures. Ces dernières sont par contre plus riches en saponines et affichent une bonne capacité antioxydante notamment avec les méthodes CUPRAC et ABTS<sup>++</sup>. Il ressort de cette investigation, une possible opportunité de formulation de compléments alimentaires pour aider à la lutte contre le stress oxydatif. La variété 'Red Lady' est la plus qualifiée, parmi les trois variétés, pour assurer la fonction de complément alimentaire. Les protéines des graines dans leurs fractions majoritaires que sont les albumines et les globulines, sont en plus une bonne source d'acides aminés essentiels qui représentent 39,75% du total.

Par ailleurs, les huiles surtout celles des variétés Ordinaire et Red Lady ont montré des taux élevés d'acides gras monoinsaturés et des teneurs faibles en phytostérols qui militent en faveur de leur impact positif sur le système cardiovasculaire. Par ailleurs, il se dégage une autre voie d'exploitation comme biocarburants en raison de son pouvoir calorifique qui est proche de celui de l'huile de colza.

Sur le plan écologique, les feuilles et les graines délipidées ont montré de réelles capacités dans le traitement des eaux usées. Elles ont été efficacement utilisées pour l'élimination des contaminants récalcitrants comme les colorants cationiques tels que le Bleu de méthylène et la Fuchsine basique et des métaux lourds. Des taux d'éliminations de 97% pour de faibles quantités d'adsorbant (BM : 8 g/L et FB : 6 g/L) à des pH basiques ont été obtenus. La même étude effectuée sur les feuilles de *Carica papaya* L. pour l'élimination des métaux tels que le fer, le cuivre, le zinc et le nickel donne des résultats mitigés. Le nickel est le métal le plus difficile à éliminer avec un rendement maximal de 29,4% pour une concentration de 10 ppm ; tandis que l'élimination du fer au mieux atteint 68,4% pour une concentration maximale de 7,5 ppm.

À partir de ces résultats, il est envisagé de poursuivre les travaux en y intégrant une étude bactéricide et/ou fongicide des extraits des différents co-produits du papayer. Certaines molécules fonctionnelles peuvent en être isolées et caractérisées. Par ailleurs, des investigations supplémentaires nécessites d'être poursuivies pour l'usage sous forme de biocarburant. Il sera aussi envisagé le développement d'une méthode de filtration en cascade dans le traitement des eaux contaminées avec les colorants cationiques mais aussi pour les eaux ferrugineuses tout en

résolvant l'équation du relargage souligné lors des essais préliminaires.

# Bibliographie et webographie

	O. Lafont, « Du saule à l'aspirine », Rev. Hist. Pharm. 94e Année N 354 2007, 2007,
[1]	doi: 10.3406/pharm.2007.6334.
[2]	Organisation mondiale de la santé, <i>Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle</i>
[2]	pour 2014-2023. Genève: Organisation mondiale de la santé, 2013.
[2]	
[3]	J. Verdrager, Ces médicaments qui nous viennent des plantes, ou les plantes médicinales
F 4 3	dans les traitements modernes, Maloine. Paris, 1978.
[4]	« FAOSTAT ». http://www.fao.org/faostat/fr/?#data/QC (consulté le mars 21,
5.73	2020).
[5]	Q. V. Vuong, S. Hirun, P. D. Roach, M. C. Bowyer, P. A. Phillips, et C. J. Scarlett,
	« Effect of extraction conditions on total phenolic compounds and antioxidant activities
	of Carica papaya leaf aqueous extracts », J. Herb. Med., vol. 3, n° 3, p. 104-111, 2013,
	doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.hermed.2013.04.004.
[6]	H. Kelebek, S. Selli, H. Gubbuk, et E. Gunes, « Comparative evaluation of volatiles,
	phenolics, sugars, organic acids and antioxidant properties of Sel-42 and Tainung papaya
	varieties », Food Chem., vol. 173, p. 912-919, 2015, doi:
	http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.116.
[7]	CM. Fabert, « Le papayer, Carica papaya l., de la médecine traditonnelle à la medecine
	actuelle. Etudes botanique et pharmacognosique. », Pharmacie, Limoges, France, 2011.
[8]	A. Epelboin et S. Epelboin, Ethnobotanique médicinale des Fulbe Bande et des
	<i>Nyokholonke</i> , vol. 1983. 1983.
[9]	J. A. Osato, L. A. Santiago, G. M. Remo, M. S. Cuadra, et A. Mori, « Antimicrobial and
	antioxidant activities of unripe papaya », Life Sci., vol. 53, nº 17, p. 1383-1389, 1993,
	doi: https://doi.org/10.1016/0024-3205(93)90599-X.
[10]	C. F. Ladoh Yemeda et al., «Étude ethnobotanique des plantes médicinales
	commercialisées dans les marchés de la ville de Douala, Cameroun », J. Appl. Biosci.,
	commercianisees dans les marches de la vine de Dodaia, Cameroun », J. Appi. Diosci.,
	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.
[11]	
[11]	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.
[11]	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.  J. M. Jeaun, F. Annie, et J. L. Chrystian, « Les composés phénoliques des végétaux », Ed Masson P, p. 203-204, 2005.
	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.  J. M. Jeaun, F. Annie, et J. L. Chrystian, « Les composés phénoliques des végétaux », Ed Masson P, p. 203-204, 2005.  J. Bruneton, <i>Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales</i> , 4ème. Lavoisier, 2009.
[12] [13]	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.  J. M. Jeaun, F. Annie, et J. L. Chrystian, « Les composés phénoliques des végétaux », Ed Masson P, p. 203-204, 2005.  J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème. Lavoisier, 2009.  J. Bruneton, « Pharmacognosie », Phytochim. Plantes Med. París Ed Tec-Doc, 1999.
[12]	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.  J. M. Jeaun, F. Annie, et J. L. Chrystian, « Les composés phénoliques des végétaux », Ed Masson P, p. 203-204, 2005.  J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème. Lavoisier, 2009.  J. Bruneton, « Pharmacognosie », Phytochim. Plantes Med. París Ed Tec-Doc, 1999.  M. W. Chase et al., « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for
[12] [13]	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.  J. M. Jeaun, F. Annie, et J. L. Chrystian, « Les composés phénoliques des végétaux », Ed Masson P, p. 203-204, 2005.  J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème. Lavoisier, 2009.  J. Bruneton, « Pharmacognosie », Phytochim. Plantes Med. París Ed Tec-Doc, 1999.  M. W. Chase et al., « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV », Bot. J. Linn. Soc., vol. 181, n° 1,
[12] [13] [14]	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.  J. M. Jeaun, F. Annie, et J. L. Chrystian, « Les composés phénoliques des végétaux », Ed Masson P, p. 203-204, 2005.  J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème. Lavoisier, 2009.  J. Bruneton, « Pharmacognosie », Phytochim. Plantes Med. París Ed Tec-Doc, 1999.  M. W. Chase et al., « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV », Bot. J. Linn. Soc., vol. 181, n° 1, p. 1-20, 2016, doi: 10.1111/boj.12385.
[12] [13]	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.  J. M. Jeaun, F. Annie, et J. L. Chrystian, « Les composés phénoliques des végétaux », Ed Masson P, p. 203-204, 2005.  J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème. Lavoisier, 2009.  J. Bruneton, « Pharmacognosie », Phytochim. Plantes Med. París Ed Tec-Doc, 1999.  M. W. Chase et al., « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV », Bot. J. Linn. Soc., vol. 181, n° 1, p. 1-20, 2016, doi: 10.1111/boj.12385.  F. A. Carvalho et S. S. Renner, « A dated phylogeny of the papaya family (Caricaceae)
[12] [13] [14]	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.  J. M. Jeaun, F. Annie, et J. L. Chrystian, « Les composés phénoliques des végétaux », Ed Masson P, p. 203-204, 2005.  J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème. Lavoisier, 2009.  J. Bruneton, « Pharmacognosie », Phytochim. Plantes Med. Paris Ed Tec-Doc, 1999.  M. W. Chase et al., « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV », Bot. J. Linn. Soc., vol. 181, n° 1, p. 1-20, 2016, doi: 10.1111/boj.12385.  F. A. Carvalho et S. S. Renner, « A dated phylogeny of the papaya family (Caricaceae) reveals the crop's closest relatives and the family's biogeographic history », Mol.
[12] [13] [14]	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.  J. M. Jeaun, F. Annie, et J. L. Chrystian, « Les composés phénoliques des végétaux », Ed Masson P, p. 203-204, 2005.  J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème. Lavoisier, 2009.  J. Bruneton, « Pharmacognosie », Phytochim. Plantes Med. París Ed Tec-Doc, 1999.  M. W. Chase et al., « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV », Bot. J. Linn. Soc., vol. 181, n° 1, p. 1-20, 2016, doi: 10.1111/boj.12385.  F. A. Carvalho et S. S. Renner, « A dated phylogeny of the papaya family (Caricaceae) reveals the crop's closest relatives and the family's biogeographic history », Mol. Phylogenet. Evol., vol. 65, n° 1, p. 46-53, 2012, doi:
[12] [13] [14] [15]	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.  J. M. Jeaun, F. Annie, et J. L. Chrystian, « Les composés phénoliques des végétaux », Ed Masson P, p. 203-204, 2005.  J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème. Lavoisier, 2009.  J. Bruneton, « Pharmacognosie », Phytochim. Plantes Med. París Ed Tec-Doc, 1999.  M. W. Chase et al., « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV », Bot. J. Linn. Soc., vol. 181, n° 1, p. 1-20, 2016, doi: 10.1111/boj.12385.  F. A. Carvalho et S. S. Renner, « A dated phylogeny of the papaya family (Caricaceae) reveals the crop's closest relatives and the family's biogeographic history », Mol. Phylogenet. Evol., vol. 65, n° 1, p. 46-53, 2012, doi: https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.05.019.
[12] [13] [14]	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.  J. M. Jeaun, F. Annie, et J. L. Chrystian, « Les composés phénoliques des végétaux », Ed Masson P, p. 203-204, 2005.  J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème. Lavoisier, 2009.  J. Bruneton, « Pharmacognosie », Phytochim. Plantes Med. París Ed Tec-Doc, 1999.  M. W. Chase et al., « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV », Bot. J. Linn. Soc., vol. 181, nº 1, p. 1-20, 2016, doi: 10.1111/boj.12385.  F. A. Carvalho et S. S. Renner, « A dated phylogeny of the papaya family (Caricaceae) reveals the crop's closest relatives and the family's biogeographic history », Mol. Phylogenet. Evol., vol. 65, nº 1, p. 46-53, 2012, doi: https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.05.019.  « Ciqual Table de composition nutritionnelle des aliments ».
[12] [13] [14] [15]	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.  J. M. Jeaun, F. Annie, et J. L. Chrystian, « Les composés phénoliques des végétaux », Ed Masson P, p. 203-204, 2005.  J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème. Lavoisier, 2009.  J. Bruneton, « Pharmacognosie », Phytochim. Plantes Med. París Ed Tec-Doc, 1999.  M. W. Chase et al., « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV », Bot. J. Linn. Soc., vol. 181, nº 1, p. 1-20, 2016, doi: 10.1111/boj.12385.  F. A. Carvalho et S. S. Renner, « A dated phylogeny of the papaya family (Caricaceae) reveals the crop's closest relatives and the family's biogeographic history », Mol. Phylogenet. Evol., vol. 65, nº 1, p. 46-53, 2012, doi: https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.05.019.  « Ciqual Table de composition nutritionnelle des aliments ». https://ciqual.anses.fr/#/aliments/13035/papaye-pulpe-crue (consulté le mars 23,
[12] [13] [14] [15]	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.  J. M. Jeaun, F. Annie, et J. L. Chrystian, « Les composés phénoliques des végétaux », Ed Masson P, p. 203-204, 2005.  J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème. Lavoisier, 2009.  J. Bruneton, « Pharmacognosie », Phytochim. Plantes Med. Paris Ed Tec-Doc, 1999.  M. W. Chase et al., « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV », Bot. J. Linn. Soc., vol. 181, nº 1, p. 1-20, 2016, doi: 10.1111/boj.12385.  F. A. Carvalho et S. S. Renner, « A dated phylogeny of the papaya family (Caricaceae) reveals the crop's closest relatives and the family's biogeographic history », Mol. Phylogenet. Evol., vol. 65, nº 1, p. 46-53, 2012, doi: https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.05.019.  « Ciqual Table de composition nutritionnelle des aliments ». https://ciqual.anses.fr/#/aliments/13035/papaye-pulpe-crue (consulté le mars 23, 2020).
[12] [13] [14] [15]	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.  J. M. Jeaun, F. Annie, et J. L. Chrystian, « Les composés phénoliques des végétaux », Ed Masson P, p. 203-204, 2005.  J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème. Lavoisier, 2009.  J. Bruneton, « Pharmacognosie », Phytochim. Plantes Med. París Ed Tec-Doc, 1999.  M. W. Chase et al., « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV », Bot. J. Linn. Soc., vol. 181, nº 1, p. 1-20, 2016, doi: 10.1111/boj.12385.  F. A. Carvalho et S. S. Renner, « A dated phylogeny of the papaya family (Caricaceae) reveals the crop's closest relatives and the family's biogeographic history », Mol. Phylogenet. Evol., vol. 65, nº 1, p. 46-53, 2012, doi: https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.05.019.  « Ciqual Table de composition nutritionnelle des aliments ». https://ciqual.anses.fr/#/aliments/13035/papaye-pulpe-crue (consulté le mars 23, 2020).  R. Veberic, J. Jurhar, M. Mikulic-Petkovsek, F. Stampar, et V. Schmitzer,
[12] [13] [14] [15]	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.  J. M. Jeaun, F. Annie, et J. L. Chrystian, « Les composés phénoliques des végétaux », Ed Masson P, p. 203-204, 2005.  J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème. Lavoisier, 2009.  J. Bruneton, « Pharmacognosie », Phytochim. Plantes Med. París Ed Tec-Doc, 1999.  M. W. Chase et al., « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV », Bot. J. Linn. Soc., vol. 181, n° 1, p. 1-20, 2016, doi: 10.1111/boj.12385.  F. A. Carvalho et S. S. Renner, « A dated phylogeny of the papaya family (Caricaceae) reveals the crop's closest relatives and the family's biogeographic history », Mol. Phylogenet. Evol., vol. 65, n° 1, p. 46-53, 2012, doi: https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.05.019.  « Ciqual Table de composition nutritionnelle des aliments ». https://ciqual.anses.fr/#/aliments/13035/papaye-pulpe-crue (consulté le mars 23, 2020).  R. Veberic, J. Jurhar, M. Mikulic-Petkovsek, F. Stampar, et V. Schmitzer, « Comparative study of primary and secondary metabolites in 11 cultivars of persimmon
[12] [13] [14] [15]	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.  J. M. Jeaun, F. Annie, et J. L. Chrystian, « Les composés phénoliques des végétaux », Ed Masson P, p. 203-204, 2005.  J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème. Lavoisier, 2009.  J. Bruneton, « Pharmacognosie », Phytochim. Plantes Med. París Ed Tec-Doc, 1999.  M. W. Chase et al., « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV », Bot. J. Linn. Soc., vol. 181, nº 1, p. 1-20, 2016, doi: 10.1111/boj.12385.  F. A. Carvalho et S. S. Renner, « A dated phylogeny of the papaya family (Caricaceae) reveals the crop's closest relatives and the family's biogeographic history », Mol. Phylogenet. Evol., vol. 65, nº 1, p. 46-53, 2012, doi: https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.05.019.  « Ciqual Table de composition nutritionnelle des aliments ». https://ciqual.anses.fr/#/aliments/13035/papaye-pulpe-crue (consulté le mars 23, 2020).  R. Veberic, J. Jurhar, M. Mikulic-Petkovsek, F. Stampar, et V. Schmitzer, « Comparative study of primary and secondary metabolites in 11 cultivars of persimmon fruit (Diospyros kaki L.) », Food Chem., vol. 119, nº 2, p. 477-483, mars 2010, doi:
[12] [13] [14] [15] [16]	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.  J. M. Jeaun, F. Annie, et J. L. Chrystian, « Les composés phénoliques des végétaux », Ed Masson P, p. 203-204, 2005.  J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème. Lavoisier, 2009.  J. Bruneton, « Pharmacognosie », Phytochim. Plantes Med. París Ed Tec-Doc, 1999.  M. W. Chase et al., « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV », Bot. J. Linn. Soc., vol. 181, n° 1, p. 1-20, 2016, doi: 10.1111/boj.12385.  F. A. Carvalho et S. S. Renner, « A dated phylogeny of the papaya family (Caricaceae) reveals the crop's closest relatives and the family's biogeographic history », Mol. Phylogenet. Evol., vol. 65, n° 1, p. 46-53, 2012, doi: https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.05.019.  « Ciqual Table de composition nutritionnelle des aliments ». https://ciqual.anses.fr/#/aliments/13035/papaye-pulpe-crue (consulté le mars 23, 2020).  R. Veberic, J. Jurhar, M. Mikulic-Petkovsek, F. Stampar, et V. Schmitzer, « Comparative study of primary and secondary metabolites in 11 cultivars of persimmon fruit (Diospyros kaki L.) », Food Chem., vol. 119, n° 2, p. 477-483, mars 2010, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.06.044.
[12] [13] [14] [15]	vol. 99, p. 9450, avr. 2016, doi: 10.4314/jab.v99i1.11.  J. M. Jeaun, F. Annie, et J. L. Chrystian, « Les composés phénoliques des végétaux », Ed Masson P, p. 203-204, 2005.  J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème. Lavoisier, 2009.  J. Bruneton, « Pharmacognosie », Phytochim. Plantes Med. París Ed Tec-Doc, 1999.  M. W. Chase et al., « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV », Bot. J. Linn. Soc., vol. 181, nº 1, p. 1-20, 2016, doi: 10.1111/boj.12385.  F. A. Carvalho et S. S. Renner, « A dated phylogeny of the papaya family (Caricaceae) reveals the crop's closest relatives and the family's biogeographic history », Mol. Phylogenet. Evol., vol. 65, nº 1, p. 46-53, 2012, doi: https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.05.019.  « Ciqual Table de composition nutritionnelle des aliments ». https://ciqual.anses.fr/#/aliments/13035/papaye-pulpe-crue (consulté le mars 23, 2020).  R. Veberic, J. Jurhar, M. Mikulic-Petkovsek, F. Stampar, et V. Schmitzer, « Comparative study of primary and secondary metabolites in 11 cultivars of persimmon fruit (Diospyros kaki L.) », Food Chem., vol. 119, nº 2, p. 477-483, mars 2010, doi:

	metabolites are correlated with secondary metabolites », <i>J. Cereal Sci.</i> , vol. 57, n° 1, p. 14-20, janv. 2013, doi: 10.1016/j.jcs.2012.09.012.
[19]	L. Jia-Xi et al., « Application of multiple chemical and biological approaches for quality
[17]	assessment of Carthamus tinctorius L. (safflower) by determining both the primary and
	secondary metabolites », <i>Phytomedicine</i> , vol. 58, p. 152826, mai 2019, doi:
	10.1016/j.phymed.2019.152826.
[20]	JJ. Macheix, A. Fleuriet, et C. Jay-Allemand, Les composés phénoliques des végétaux:
	Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, Presses. Presses
	Polytechniques et Universitaires Romandes, 2005.
[21]	G. S. Seethapathy et al., « Assessing product adulteration in natural health products for
	laxative yielding plants, Cassia, Senna, and Chamaecrista, in Southern India using DNA
	barcoding », Int. J. Legal Med., vol. 129, nº 4, p. 693-700, juill. 2015, doi:
	10.1007/s00414-014-1120-z.
[22]	L. Taiz et E. Zeiger, <i>Plant Physiology</i> . 2010. Edition 5°. (USA). Sinauer Associates, Inc.
	Publishers.
[23]	A. Séguin, « Premier memoire sur l'opium », in Annales de Chimie, 1803, vol. 11, p.
FO 43	225-247.
[24]	Sertuerner, « Ueber das Morphium, eine neue salzfähige Grundlage, und die
	Mekonsäure, als Hauptbestandtheile des Opiums », Ann. Phys., vol. 55, nº 1, p. 56-89,
[25]	janv. 1817, doi: 10.1002/andp.18170550104.
[25]	C. F. W. Meissner, «Über Pflanzenalkalien: II. Über ein neues Pflanzenalkali (Alkaloid) », J. Für Chem. Phys., vol. 25, p. 377-381, 1819.
[26]	C. G. H. Williams et G. G. Stokes, « IV. On isoprene and caoutchine », <i>Proc. R. Soc.</i>
[20]	Lond., vol. 10, p. 516-519, janv. 1860, doi: 10.1098/rspl.1859.0101.
[27]	M. A. Oyekunle, O. O. Aiyelaagbe, et M. A. Fafunso, « Evaluation of the antimicrobial
[27]	activity of saponins extract of Sorghum bicolor L. Moench », Afr. J. Biotechnol., vol. 5,
	n° 23, 2006.
[28]	Z. Kamal et al., « Saponins and solvent extracts from Atriplex laciniata L. exhibited high
	anthelmintic and Insecticidal activities », J. Tradit. Chin. Med., vol. 37, n° 5, p. 599-606,
	oct. 2017, doi: 10.1016/S0254-6272(17)30312-6.
[29]	V. Treyvaud, A. Marston, W. Dyatmiko, et K. Hostettmann, « Molluscicidal saponins
	from <i>Phytolacca icosandra</i> », <i>Phytochemistry</i> , vol. 55, n° 6, p. 603-609, nov. 2000, doi:
	10.1016/S0031-9422(00)00233-8.
[30]	S. G. Sparg, M. E. Light, et J. van Staden, « Biological activities and distribution of plant
	saponins », J. Ethnopharmacol., vol. 94, n° 2, p. 219-243, oct. 2004, doi:
52.17	10.1016/j.jep.2004.05.016.
[31]	Y. Liang <i>et al.</i> , « Antidepressant-like effect of the saponins part of ethanol extract from
	SHF », J. Ethnopharmacol., vol. 191, p. 307-314, sept. 2016, doi:
[22]	10.1016/j.jep.2016.06.044.  H. Xiang <i>et al.</i> , « The antidepressant effects and mechanism of action of total saponins
[32]	from the caudexes and leaves of Panax notoginseng in animal models of depression »,
	Phytomedicine, vol. 18, n° 8, p. 731-738, juin 2011, doi: 10.1016/j.phymed.2010.11.014.
[33]	G. Goldberg, <i>Plants: Diet and Health</i> , Wiley-Blackwell. 2008.
[34]	A. Scalbert, C. Manach, C. Morand, C. Rémésy, et L. Jiménez, « Dietary Polyphenols
ر ، ا	and the Prevention of Diseases », <i>Crit. Rev. Food Sci. Nutr.</i> , vol. 45, n° 4, p. 287-306,
	juin 2005, doi: 10.1080/1040869059096.
[35]	L. Hoffman, « Étude du métabolisme des phénylpropanoïdes : analyse de l'intéraction
	de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et
	caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'Hydroxy Cinnamoyl-
	CoA: shikimate/quinate: hydroxycinnamoyl Transférase (HCT). », Biologie

	moléculaire et cellulaire, Université Louis Pasteur - Strasbourg I, 2003.
[36]	J. Berzelius, G. J. Mulder, et H. G. Söderbaum, Correspondance entre Berzelius et GJ
[]	Mulder (1834-1847). Almqvist & Wiksells, 1916.
[37]	J. Wisniak, « Jöns Jacob Berzelius A Guide to the Perplexed Chemist », Chem. Educ.,
[0,]	vol. 5, n° 6, p. 343-350, déc. 2000, doi: 10.1007/s00897000430a.
[38]	L. Pauling, R. B. Corey, et H. R. Branson, « The structure of proteins: Two hydrogen-
	bonded helical configurations of the polypeptide chain », <i>Proc. Natl. Acad. Sci.</i> , vol. 37,
	n° 4, p. 205, avr. 1951, doi: 10.1073/pnas.37.4.205.
[39]	Y. Kim, James. H. Geiger, S. Hahn, et P. B. Sigler, « Crystal structure of a yeast
	TBP/TATA-box complex », <i>Nature</i> , vol. 365, nº 6446, p. 512-520, oct. 1993, doi:
	10.1038/365512a0.
[40]	C. Pratt et K. Cornely, « Transcription et ARN », in <i>Biochimie</i> , 2ème édition: DeBoeck,
[40]	2012, p. 555-584.
[41]	M. Müller-McNicoll et K. M. Neugebauer, « How cells get the message: dynamic
[דו]	assembly and function of mRNA–protein complexes », <i>Nat. Rev. Genet.</i> , vol. 14, p. 275,
	mars 2013.
[42]	J. Étienne, É. Clauser, C. Housset, et P. Roingeard, « La traduction et sa régulation », in
[¬∠]	Biochimie génétique, Biologie moléculaire, 9ème édition., Elsevier-Masson, 2006, p.
	93-113.
[43]	S. Weinman et P. Méhul, « Biosynthèse des protéines », in <i>Toute la Biochimie</i> , Dunod,
[43]	2004, p. 381-391.
[44]	N. Latruffe, F. Bleicher-Bardeletti, B. Duclos, et J. Vamecq, «Biosynthèse des
[44]	protéines: la traduction du code génétique », in <i>Biochimie</i> , 2ème édition., Dunod, 2017,
	p. 221-240.
[45]	N. Latruffe, F. Bleicher-Bardeletti, B. Duclos, et J. Vamecq, « Les étapes de la
[43]	transcription chez les bactéries », in <i>Biochimie</i> , Dunod., Dunod, 2017, p. 200-201.
[46]	C. Pratt et K. Cornely, « La synthèse protéique », in <i>Biochimie</i> , 2ème édition., De Boeck,
[40]	2012, p. 595-613.
[47]	N. Latruffe, F. Bleicher-Bardeletti, B. Duclos, et J. Vamecq, «Les lipides», in
[ [ ' ' ]	Biochimie, 2ème édition., Dunod, 2017, p. 39-56.
[48]	C. Pratt et K. Cornely, « Les lipides et les membranes », in <i>Biochimie</i> , 2ème édition., De
[10]	Boeck, 2012, p. 215-234.
[49]	M. Guilloton, B. Quintard, et PF. Gallet, «Lipides, membranes biologiques et
[.,]	transports », in <i>Mini manuel de Biochimie</i> , 3ème édition., Dunod, 2013, p. 110-139.
[50]	S. Weinman et P. Méhul, « Métabolisme des acides gras : B-oxydation et biosynthèse »,
[ ]	in <i>Toute la Biochimie</i> , Dunod, 2004, p. 189-199.
[51]	N. Latruffe, F. Bleicher-Bardeletti, B. Duclos, et J. Vamecq, « Le métatabolisme des
[-, 1]	lipides », in <i>Biochimie</i> , 2ème édition., Dunod, 2017, p. 359-390.
[52]	C. Pratt et K. Cornely, « Le métabolisme lipidique », in <i>Biochimie</i> , 2ème édition., De
	Boeck, 2012, p. 433-465.
[53]	C. Pratt et K. Cornely, « Les glucides », in <i>Biochimie</i> , 2ème édition., De Boeck, 2012,
	p. 279-295.
[54]	N. Latruffe, F. Bleicher-Bardeletti, B. Duclos, et J. Vamecq, « Structure et propriétés
ا ا	des principaux glucides », in <i>Biochimie</i> , 2ème édition., Dunod, 2017, p. 23-38.
[55]	S. Weinman et P. Méhul, « Glucides et glycoconjugués », in <i>Toute la Biochimie</i> , Dunod,
	2004, p. 51-79.
[56]	N. Latruffe, F. Bleicher-Bardeletti, B. Duclos, et J. Vamecq, « Le métabolisme des
[20]	glucides », in <i>Biochimie</i> , 2ème édition., Dunod, 2017, p. 313-358.
[57]	S. Weinman et P. Méhul, « Métabolisme du glucose : glycolyse, voie des pentoses
[57]	5. Wenninan et 1. Menui, « Metabolisme du glucose glycolyse, voie des pentoses

	phosphate, glycogénogenèse, gluconéogenèse », in <i>Toute la Biochimie</i> , Dunod, 2004, p. 159-187.
[58]	C. Pratt et K. Cornely, « Le métabolisme du glucose », in <i>Biochimie</i> , 2ème édition., De Boeck, 2012, p. 324-358.
[59]	P. Akhtar, Z. Yaakob, Y. Ahmed, M. Shahinuzzaman, et M. K. M. Hyder, « Total Phenolic Contents and Free Radical Scavenging Activity of Different Parts of Jatropha Species », <i>Asian J. Chem.</i> , vol. 30, p. 365-370, 2018.
[60]	K. Thaipong, U. Boonprakob, K. Crosby, L. Cisneros-Zevallos, et D. H. Byrne, « Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts », <i>J. Food Compos. Anal.</i> , vol. 19, n° 6, p. 669-675, 2006, doi: https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003.
[61]	R. Apak, K. Güçlü, M. Özyürek, et S. E. Karademir, « Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method », <i>J. Agric. Food Chem.</i> , vol. 52, n° 26, p. 7970–7981, déc. 2004, doi: 10.1021/jf048741x.
[62]	M. M. Bradford, « A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding », <i>Anal. Biochem.</i> , vol. 72, n° 1, p. 248-254, mai 1976, doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.
[63]	H. P. Boehm, « Some aspects of the surface chemistry of carbon blacks and other carbons », <i>Carbon</i> , vol. 32, n° 5, p. 759-769, janv. 1994, doi: 10.1016/0008-6223(94)90031-0.
[64]	D. Gertenbach, « Solid-Liquid Extraction Technologies for Manufacturing Nutraceuticals », in <i>Functional Foods</i> , CRC Press, 2002.
[65]	N. Asghar <i>et al.</i> , « Compositional difference in antioxidant and antibacterial activity of all parts of the <i>Carica papaya</i> using different solvents », <i>Chem. Cent. J.</i> , vol. 10, n° 1, p. 5, févr. 2016, doi: 10.1186/s13065-016-0149-0.
[66]	A. M. Maisarah, B. Nurul Amira, R. Asmah, et O. Fauziah, « Antioxidant analysis of different parts of Carica papaya. », <i>Int. Food Res. J.</i> , vol. 20, n° 3, 2013.
[67]	A. K. Martial-Didier, K. K. Hubert, K. E. J. Parfait, et T. Kablan, « Phytochemical properties and proximate composition of papaya (Carica papaya L. var solo 8) peels », <i>Turk. J. AgricFood Sci. Technol.</i> , vol. 5, n° 6, p. 676-680, 2017.
[68]	C. P. Rubio, J. Hernández-Ruiz, S. Martinez-Subiela, A. Tvarijonaviciute, et J. J. Ceron, « Spectrophotometric assays for total antioxidant capacity (TAC) in dog serum: an update », <i>BMC Vet. Res.</i> , vol. 12, n° 1, p. 166-166, août 2016, doi: 10.1186/s12917-016-0792-7.
[69]	A. A. Gaye, O. I. K. Cisse, B. Ndiaye, N. C. Ayessou, M. Cisse, et C. M. Diop, « Evaluation of Phenolic Content and Antioxidant Activity of Aqueous Extracts of Three Carica papaya Varieties Cultivated in Senegal », <i>Food Nutr. Sci.</i> , vol. 10, n° 3, Art. n° 3, mars 2019, doi: 10.4236/fns.2019.103021.
[70]	J. H. Ahn <i>et al.</i> , « Identification of antioxidant constituents of the aerial part of Plantago asiatica using LC–MS/MS coupled DPPH assay », <i>Phytochem. Lett.</i> , vol. 26, p. 20-24, 2018, doi: https://doi.org/10.1016/j.phytol.2018.05.006.
[71]	SJ. Lee <i>et al.</i> , « Antioxidant activity of a novel synthetic hexa-peptide derived from an enzymatic hydrolysate of duck skin by-products », <i>Food Chem. Toxicol.</i> , vol. 62, p. 276-280, 2013, doi: https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.08.054.
[72]	N. Gogna, N. Hamid, et K. Dorai, « Metabolomic profiling of the phytomedicinal constituents of <i>Carica papaya</i> L. leaves and seeds by 1H NMR spectroscopy and multivariate statistical analysis », <i>J. Pharm. Biomed. Anal.</i> , vol. 115, p. 74-85, nov. 2015, doi: 10.1016/j.jpba.2015.06.035.
[73]	SC. Liu, JT. Lin, CK. Wang, HY. Chen, et DJ. Yang, « Antioxidant properties of

	various solvent extracts from lychee (Litchi chinenesis Sonn.) flowers », Food Chem.,
	vol. 114, n° 2, p. 577-581, mai 2009, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.09.088.
[74]	S. Banu, « Antioxidant Activity of Carica Papaya Leaf Extract (Rajasthan Variety). »,
	Int. J. Res. Appl. Sci. Eng. Technol., vol. 6, p. 2259-2263, mars 2018, doi:
	10.22214/ijraset.2018.3524.
[75]	Irda Fidrianny, Khoirunnisa Ayu Paramitha, et Siti Kusmardiyani, « ANTIOXIDANT
	ACTIVITIES FROM VARIOUS LEAVES EXTRACTS OF THREE CULTIVARS OF
	PAPAYA FROM WEST JAVA-INDONESIA », Asian J. Pharm. Clin. Res., vol. 9, n°
	4, juill. 2016, Consulté le: juill. 13, 2020. [En ligne]. Disponible sur:
	https://innovareacademics.in/journals/index.php/ajpcr/article/view/12185.
[76]	K. Zhou, H. Wang, W. Mei, X. Li, Y. Luo, et H. Dai, « Antioxidant Activity of Papaya
	Seed Extracts », Molecules, vol. 16, n° 8, Art. n° 8, août 2011, doi:
	10.3390/molecules16086179.
[77]	V. Devi et S. Khanam, « Development of generalized and simplified models for
	supercritical fluid extraction: Case study of papaya (Carica papaya) seed oil », Chem.
	Eng. Res. Des., vol. 150, p. 341-358, oct. 2019, doi: 10.1016/j.cherd.2019.08.006.
[78]	C. R. Malacrida, M. Kimura, et N. Jorge, « Characterization of a high oleic oil extracted
	from papaya (Carica papaya L.) seeds », Food Sci. Technol., vol. 31, p. 929-934, 2011.
[79]	E. K. Marfo, O. L. Oke, et O. A. Afolabi, « Chemical composition of papaya (Carica
	papaya) seeds », Food Chem., vol. 22, n° 4, p. 259-266, 1986, doi:
5007	https://doi.org/10.1016/0308-8146(86)90084-1.
[80]	T. Puangsri, S. M. Abdulkarim, et H. M. Ghazali, « Properties of Carica papaya
	L.(papaya) seed oil following extractions using solvent and aqueous enzymatic
5017	methods », <i>J. Food Lipids</i> , vol. 12, nº 1, p. 62-76, 2005.
[81]	G. Bouanga-Kalou et J. M. N. L. Matos, « Physico-Chemical Properties of Seed Oil from
	Papaya (Carica papaya) and the Kinetics of Degradation of the Oil During Heating »,
	Adv. J. Food Sci. Technol., 2011, Consulté le: mars 31, 2020. [En ligne]. Disponible sur:
[60]	http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012062027.
[82]	S. Samaram, H. Mirhosseini, C. P. Tan, et H. M. Ghazali, « Ultrasound-assisted extraction and solvent extraction of papaya seed oil: Crystallization and thermal
	behaviour, saturation degree, color and oxidative stability », <i>Ind. Crops Prod.</i> , vol. 52,
	p. 702-708, janv. 2014, doi: 10.1016/j.indcrop.2013.11.047.
[83]	V. Karthickeyan, « Experimental investigation on combined effect of ignition promoters
[03]	and ceramic coating fuelled with papaya seed oil methyl ester in DI diesel engine »,
	Renew. Energy, vol. 148, p. 772-789, avr. 2020, doi: 10.1016/j.renene.2019.10.163.
[84]	WJ. Lee, MH. Lee, et NW. Su, « Characteristics of papaya seed oils obtained by
[OT]	extrusion–expelling processes », J. Sci. Food Agric., vol. 91, nº 13, p. 2348-2354, oct.
	2011, doi: 10.1002/jsfa.4466.
[85]	N. A. Manaf Yanty, J. M. Nazrim Marikkar, B. P. Nusantoro, K. Long, et H. M. Ghazali,
	« Physico-chemical Characteristics of Papaya (Carica papaya L.) Seed Oil of the Hong
	Kong/Sekaki Variety », J. Oleo Sci., vol. 63, n° 9, p. 885-892, 2014, doi:
	10.5650/jos.ess13221.
[86]	N. Rodrigues <i>et al.</i> , « Effect of olive trees density on the quality and composition of
[ [ ]	olive oil from cv. Arbequina », Sci. Hortic., vol. 238, p. 222-233, août 2018, doi:
	10.1016/j.scienta.2018.04.059.
[87]	M. L. Wang, P. Raymer, M. Chinnan, et R. N. Pittman, « Screening of the USDA peanut
[ [	germplasm for oil content and fatty acid composition », <i>Biomass Bioenergy</i> , vol. 39, p.
	336-343, 2012, doi: https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.01.025.
[88]	P. Corbett, « It's time for an oil change! Opportunities for high-oleic vegetable oils »,
	Inf Int. News Fats Oils Relat. Mater., vol. 14, p. 480-481, 2003.
<u> </u>	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·

- [89] R. Zambiazi, R. Przybylski, M. Zambiazi, et C. Mendonça, «FATTY ACID COMPOSITION OF VEGETABLE OILS AND FATS », *Bol. Cent. Pesqui. Process. Aliment.*, vol. 25, n° 1, 2007, doi: 10.5380/cep.v25i1.8399.
- [90] F. B. Hu, « The Mediterranean Diet and Mortality Olive Oil and Beyond », *N. Engl. J. Med.*, vol. 348, n° 26, p. 2595-2596, 2003, doi: 10.1056/NEJMp030069.
- [91] C. Montoya *et al.*, « Genetic Architecture of Palm Oil Fatty Acid Composition in Cultivated Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Compared to Its Wild Relative E. oleifera (H.B.K) Cortés », *PLoS ONE*, vol. 9, n° 5, p. e95412, mai 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0095412.
- [92] N. O. Sonntag, « Growth potential for soybean oil products as industrial materials », *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 62, n° 5, p. 928-933, 1985.
- [93] L. Velasco et M. V. Ruiz-Méndez, «11 Sunflower Oil Minor Constituents », in *Sunflower*, E. Martínez-Force, N. T. Dunford, et J. J. Salas, Éd. AOCS Press, 2015, p. 297-329.
- [94] T. Itoh, T. Tamura, et T. Matsumoto, « Sterol composition of 19 vegetable oils », *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 50, n° 4, p. 122-125, avr. 1973, doi: 10.1007/BF02633564.
- [95] A. M. Bakowska-Barczak, A. Schieber, et P. Kolodziejczyk, « Characterization of Canadian Black Currant (Ribes nigrum L.) Seed Oils and Residues », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 57, n° 24, p. 11528-11536, déc. 2009, doi: 10.1021/jf902161k.
- [96] O. Kyçyk, M. P. Aguilera, J. J. Gaforio, A. Jiménez, et G. Beltrán, « Sterol composition of virgin olive oil of forty-three olive cultivars from the World Collection Olive Germplasm Bank of Cordoba », *J. Sci. Food Agric.*, vol. 96, nº 12, p. 4143-4150, sept. 2016, doi: 10.1002/jsfa.7616.
- [97] M. C. Latham, « Les macronutriments: glucides, lipides et protéines », in *La nutrition dans les pays en développement*, FAO., 2001.
- [98] M. C. Latham, « La malnutrition protéino-énergétique », in *La nutrition dans les pays en développement*, FAO, 2001.
- [99] « Energy and protein requirements ». http://www.fao.org/3/aa040e/aa040e00.htm (consulté le avr. 12, 2020).
- [100] L. H. Allen, « Legumes », in *Encyclopedia of Human Nutrition (Third Edition)*, B. Caballero, Éd. Waltham: Academic Press, 2013, p. 74-79.
- [101] F. Békés et C. W. Wrigley, « The Protein Chemistry of Cereal Grains », in *Encyclopedia of Food Grains (Second Edition)*, C. Wrigley, H. Corke, K. Seetharaman, et J. Faubion, Ed. Oxford: Academic Press, 2016, p. 98-108.
- [102] K. C. Guèye, « Etude des protéines conventionnelles et non conventionnelles au Sénégal », Université Cheikh Anta Diop Dakar, École Inter-États des Sciences et Médecine Vétérinaires, 1989.
- [103] T. B. Osborne, *The vegetable proteins*. London: Longmans, Green and Co., 1924.
- [104] E. K. Marfo, O. L. Oke, et O. A. Afolabi, « Some studies on the proteins of Carica papaya seeds », *Food Chem.*, vol. 22, n° 4, p. 267-277, janv. 1986, doi: 10.1016/0308-8146(86)90085-3.
- [105] G. O. Oyeleke, R. O. Adetoro, W. K. Sulaiman, et A. A. Adebisi, « Amino Acid and Functional Characteristics of Pawpaw (*Carica papaya*) Seeds under Normal Storage Ripening », *Adv. Res.*, p. 1-6, 2017.
- [106] J. T. Pelton et L. R. McLean, « Spectroscopic Methods for Analysis of Protein Secondary Structure », *Anal. Biochem.*, vol. 277, n° 2, p. 167-176, janv. 2000, doi: 10.1006/abio.1999.4320.
- [107] K. A. Oberg, J.-M. Ruysschaert, et E. Goormaghtigh, « The optimization of protein secondary structure determination with infrared and circular dichroism spectra », *Eur. J. Biochem.*, vol. 271, n° 14, p. 2937-2948, juil. 2004, doi: 10.1111/j.1432-

	1033.2004.04220.x.
[108]	A. Dong, J. Matsuura, S. D. Allison, E. Chrisman, M. C. Manning, et J. F. Carpenter,
	« Infrared and Circular Dichroism Spectroscopic Characterization of Structural
	Differences between β-Lactoglobulin A and B, Biochemistry, vol. 35, n° 5, p.
	1450-1457, janv. 1996, doi: 10.1021/bi9518104.
[109]	J. Olchowicz, D. R. Coles, L. E. Kain, et G. MacDonald, « Using Infrared Spectroscopy
[	to Investigate Protein Structure », J. Chem. Educ., vol. 79, n° 3, p. 369, mars 2002, doi:
	10.1021/ed079p369.
[110]	P. W. Holloway et H. H. Mantsch, « Structure of cytochrome b5 in solution by Fourier-
	transform infrared spectroscopy », Biochemistry, vol. 28, n° 3, p. 931–935, févr. 1989,
	doi: 10.1021/bi00429a002.
[111]	F. S. Parker, Applications of infrared, Raman, and resonance Raman spectroscopy in
	biochemistry. Springer Science & Business Media, 1983.
[112]	S. Krimm et J. Bandekar, « Vibrational Spectroscopy and Conformation of Peptides,
	Polypeptides, and Proteins », in <i>Advances in Protein Chemistry</i> , vol. 38, C. B. Anfinsen,
	J. T. Edsall, et F. M. Richards, Éd. Academic Press, 1986, p. 181-364.
[113]	D. M. Byler et H. Susi, « Examination of the secondary structure of proteins by
	deconvolved FTIR spectra », Biopolym. Orig. Res. Biomol., vol. 25, nº 3, p. 469-487,
F1 1 43	1986.
[114]	
	breaker peptides », <i>The Lancet</i> , vol. 355, n° 9199, p. 192-197, janv. 2000, doi:
[11 <i>[</i> 7]	10.1016/S0140-6736(99)11419-3.
[115]	l
	secondary structure of proteins. », <i>Proc. Natl. Acad. Sci.</i> , vol. 92, n° 24, p. 10969–10976, nov. 1995, doi: 10.1073/pnas.92.24.10969.
[116]	A. T. A. Baptista, M. O. Silva, R. G. Gomes, R. Bergamasco, M. F. Vieira, et A. M. S.
	Vieira, « Protein fractionation of seeds of <i>Moringa oleifera</i> lam and its application in
	superficial water treatment », Sep. Purif. Technol., vol. 180, p. 114-124, juin 2017, doi:
	10.1016/j.seppur.2017.02.040.
[117]	N. Nasri et S. Triki, « Storage proteins from seeds of Pinus pinea L », C. R. Biol., vol.
	330, n° 5, p. 402-409, 2007.
[118]	H. M. Kwaambwa et R. Maikokera, « Infrared and circular dichroism spectroscopic
	characterisation of secondary structure components of a water treatment coagulant
	protein extracted from Moringa oleifera seeds », Colloids Surf. B Biointerfaces, vol. 64,
	n° 1, p. 118-125, juin 2008, doi: 10.1016/j.colsurfb.2008.01.014.
[119]	M. L. Tiffany et S. Krimm, « Circular dichroism of the "random" polypeptide chain »,
	Biopolym. Orig. Res. Biomol., vol. 8, no 3, p. 347-359, 1969.
[120]	R. Townend, T. F. Kumosinski, S. N. Timasheff, G. D. Fasman, et B. Davidson, « The
	circular dichroism of the $\beta$ structure of poly-1-lysine », <i>Biochem. Biophys. Res.</i>
[101]	Commun., vol. 23, n° 2, p. 163-169, 1966.
[121]	R. M. Epand, G. E. Wheeler, et M. A. Moscarello, « Circular dichroism and proton
	magnetic resonance studies of random chain poly-1-lysine », <i>Biopolym. Orig. Res.</i>
[122]	Biomol., vol. 13, no 2, p. 359-369, 1974.
[122]	TH. Kim, C. Park, et S. Kim, « Water recycling from desalination and purification process of reactive dye manufacturing industry by combined membrane filtration », J.
	Clean. Prod., vol. 13, n° 8, p. 779-786, 2005, doi:
	https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2004.02.044.
[123]	A. N. Babu, D. S. Reddy, P. Sharma, G. S. Kumar, K. Ravindhranath, et G. V. K. Mohan,
[ [ 20]	« Removal of Hazardous Indigo Carmine Dye from Waste Water Using Treated Red
	Mud », Mater. Today Proc., vol. 17, p. 198-208, 2019, doi:
L	170 170 170 170 170 170 170 170 170 170

	https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.06.419.
[124]	
[124]	R. Khan, V. Patel, et Z. Khan, « Chapter 5 - Bioremediation of dyes from textile and dye
	manufacturing industry effluent », in Abatement of Environmental Pollutants, P. Singh,
F10.53	A. Kumar, et A. Borthakur, Ed. Elsevier, 2020, p. 107-125.
[125]	D. T. Sponza, « Toxicity studies in a chemical dye production industry in Turkey », J.
	Hazard. Mater., vol. 138, n° 3, p. 438-447, 2006, doi:
	https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.05.120.
[126]	V. Katheresan, J. Kansedo, et S. Y. Lau, « Efficiency of various recent wastewater dye
	removal methods: A review », J. Environ. Chem. Eng., vol. 6, nº 4, p. 4676-4697, 2018,
	doi: https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.06.060.
[127]	E. Forgacs, T. Cserháti, et G. Oros, « Removal of synthetic dyes from wastewaters: a
	review », Environ. Int., vol. 30, n° 7, p. 953-971, 2004, doi:
	https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.02.001.
[128]	M. Albert, M. S. Lessin, et B. F. Gilchrist, « Methylene blue: dangerous dye for
[120]	neonates », J. Pediatr. Surg., vol. 38, n° 8, p. 1244–1245, août 2003, doi: 10.1016/s0022-
	3468(03)00278-1.
[120]	
[129]	J. W. Churchman, « THE REVERSE SELECTIVE BACTERIOSTATIC ACTION OF
	ACID FUCHSIN », <i>J. Exp. Med.</i> , vol. 37, n° 1, p. 1-10, janv. 1923, doi:
F1207	10.1084/jem.37.1.1.
[130]	V. K. Gupta, A. Mittal, V. Gajbe, et J. Mittal, « Adsorption of basic fuchsin using waste
	materials—bottom ash and deoiled soya—as adsorbents », J. Colloid Interface Sci., vol.
	319, nº 1, p. 30-39, 2008, doi: https://doi.org/10.1016/j.jcis.2007.09.091.
[131]	L. A. Crandall, E. Oldberg, et A. C. Ivy, «IV. CONTRIBUTIONS TO THE
	PHYSIOLOGY OF THE PANCREAS », Am. J. PhysiolLeg. Content, vol. 89, nº 1, p.
	223–229, juin 1929, doi: 10.1152/ajplegacy.1929.89.1.223.
[132]	G. M. Shaul, T. J. Holdsworth, C. R. Dempsey, et K. A. Dostal, « Fate of water soluble
	azo dyes in the activated sludge process », <i>Chemosphere</i> , vol. 22, nº 1, p. 107-119, 1991,
	doi: https://doi.org/10.1016/0045-6535(91)90269-J.
[133]	J. He, A. Cui, S. Deng, et J. P. Chen, «Treatment of methylene blue containing
	wastewater by a cost-effective micro-scale biochar/polysulfone mixed matrix hollow
	fiber membrane: Performance and mechanism studies », J. Colloid Interface Sci., vol.
	512, p. 190-197, 2018, doi: https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.09.106.
[134]	H. Akrout, S. Jellali, et L. Bousselmi, « Enhancement of methylene blue removal by
[15]	anodic oxidation using BDD electrode combined with adsorption onto sawdust »,
	Comptes Rendus Chim., vol. 18, no 1, p. 110-120, 2015, doi:
	https://doi.org/10.1016/j.crci.2014.09.006.
Γ12 <b>5</b> ]	
[135]	M. Naushad, G. Sharma, et Z. A. Alothman, « Photodegradation of toxic dye using Gum
	Arabic-crosslinked-poly(acrylamide)/Ni(OH)2/FeOOH nanocomposites hydrogel », J.
	Clean. Prod., vol. 241, p. 118263, 2019, doi:
F10.63	https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118263.
[136]	V. Bharti et al., « Biodegradation of methylene blue dye in a batch and continuous mode
	using biochar as packing media », Environ. Res., vol. 171, p. 356-364, 2019, doi:
	https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.01.051.
[137]	Z. Aksu et G. Karabayır, « Comparison of biosorption properties of different kinds of
	fungi for the removal of Gryfalan Black RL metal-complex dye », Bioresour. Technol.,
	vol. 99, nº 16, p. 7730-7741, 2008, doi: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.01.056.
[138]	K. Vijayaraghavan et YS. Yun, « Bacterial biosorbents and biosorption », <i>Biotechnol</i> .
_	Adv., vol. 26, n° 3, p. 266-291, 2008, doi:
	https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.02.002.
[139]	Z. Mengting et al., « Applicability of BaTiO3/graphene oxide (GO) composite for
L - / J	

- enhanced photodegradation of methylene blue (MB) in synthetic wastewater under UV–vis irradiation », *Environ. Pollut.*, vol. 255, p. 113182, 2019, doi: https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113182.
- [140] S. Su, Y. Liu, X. Liu, W. Jin, et Y. Zhao, «Transformation pathway and degradation mechanism of methylene blue through β-FeOOH@GO catalyzed photo-Fenton-like system», *Chemosphere*, vol. 218, p. 83-92, 2019, doi: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.098.
- [141] S. Malato, P. Fernández-Ibáñez, M. I. Maldonado, J. Blanco, et W. Gernjak, « Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends », *Catal. Today*, vol. 147, nº 1, p. 1-59, 2009, doi: https://doi.org/10.1016/j.cattod.2009.06.018.
- [142] A. Bhatnagar et M. Sillanpää, « Utilization of agro-industrial and municipal waste materials as potential adsorbents for water treatment—A review », *Chem. Eng. J.*, vol. 157, n° 2, p. 277-296, 2010, doi: https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.01.007.
- [143] B. Royer *et al.*, « Applications of Brazilian pine-fruit shell in natural and carbonized forms as adsorbents to removal of methylene blue from aqueous solutions—Kinetic and equilibrium study », *J. Hazard. Mater.*, vol. 164, n° 2, p. 1213-1222, 2009, doi: https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.09.028.
- [144] K. K. Krishnani, X. Meng, C. Christodoulatos, et V. M. Boddu, «Biosorption mechanism of nine different heavy metals onto biomatrix from rice husk», *J. Hazard. Mater.*, vol. 153, n° 3, p. 1222-1234, 2008, doi: https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.09.113.
- [145] C. R. T. Tarley et M. A. Z. Arruda, « Biosorption of heavy metals using rice milling byproducts. Characterisation and application for removal of metals from aqueous effluents », *Chemosphere*, vol. 54, n° 7, p. 987-995, 2004, doi: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.09.001.
- [146] E. C. Lima *et al.*, « Application of Brazilian pine-fruit shell as a biosorbent to removal of reactive red 194 textile dye from aqueous solution: Kinetics and equilibrium study », *J. Hazard. Mater.*, vol. 155, n° 3, p. 536-550, 2008, doi: https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.11.101.
- [147] G. E et S. K. P, « Adsorption isotherm, kinetics and thermodynamic analysis of Cu(II) ions onto the dried algal biomass (*Spirulina platensis*) », *J. Ind. Eng. Chem.*, vol. 56, p. 129-144, 2017, doi: https://doi.org/10.1016/j.jiec.2017.07.005.
- [148] Z. Hosseinabadi-Farahani, N. M. Mahmoodi, et H. Hosseini-Monfared, « Preparation of surface functionalized graphene oxide nanosheet and its multicomponent dye removal ability from wastewater », *Fibers Polym.*, vol. 16, n° 5, p. 1035-1047, mai 2015, doi: 10.1007/s12221-015-1035-4.
- [149] S. V. Mohan, N. C. Rao, et J. Karthikeyan, « Adsorptive removal of direct azo dye from aqueous phase onto coal based sorbents: a kinetic and mechanistic study », *J. Hazard. Mater.*, vol. 90, n° 2, p. 189-204, 2002, doi: https://doi.org/10.1016/S0304-3894(01)00348-X.
- [150] J. A. Schwarz, C. T. Driscoll, et A. K. Bhanot, «The zero point of charge of silica—alumina oxide suspensions », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 97, no 1, p. 55-61, 1984, doi: https://doi.org/10.1016/0021-9797(84)90274-1.
- [151] Y.-S. Ho, « Comments on using of "pseudo-first-order model" in adsorption [Int. J. Biol. Macromol., vol. 81] », *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 88, p. 505-506, 2016, doi: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.03.063.
- [152] J.-P. Simonin, « On the comparison of pseudo-first order and pseudo-second order rate laws in the modeling of adsorption kinetics », *Chem. Eng. J.*, vol. 300, p. 254-263, 2016, doi: https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.04.079.

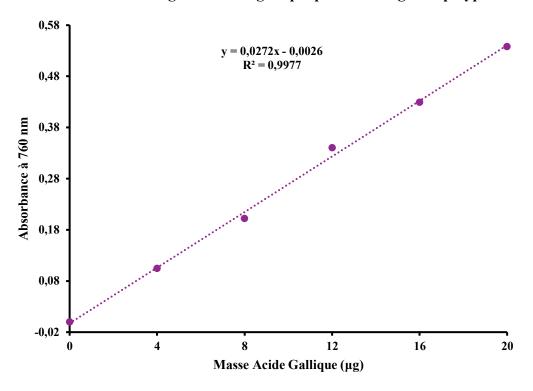
- [153] K. Anbalagan, M. M. Kumar, K. Ilango, R. Mohankumar, et R. L. Priya, « Prelusive scale extraction of mangiferin from *Mangifera indica* leaves: Assessing solvent competency, process optimization, kinetic study and diffusion modelling », *Ind. Crops Prod.*, vol. 140, p. 111703, 2019, doi: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111703.
- [154] F.-C. Wu, R.-L. Tseng, et R.-S. Juang, « Characteristics of Elovich equation used for the analysis of adsorption kinetics in dye-chitosan systems », *Chem. Eng. J.*, vol. 150, n° 2, p. 366-373, 2009, doi: https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.01.014.
- [155] H. Demiral et G. Gündüzoğlu, « Removal of nitrate from aqueous solutions by activated carbon prepared from sugar beet bagasse », *Bioresour. Technol.*, vol. 101, n° 6, p. 1675-1680, 2010, doi: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.087.
- [156] M. Arami, N. Y. Limaee, et N. M. Mahmoodi, « Evaluation of the adsorption kinetics and equilibrium for the potential removal of acid dyes using a biosorbent », *Chem. Eng. J.*, vol. 139, n° 1, p. 2-10, 2008, doi: https://doi.org/10.1016/j.cej.2007.07.060.
- [157] N. Khamis Soliman, A. F. Moustafa, A. A. Aboud, et K. S. A. Halim, « Effective utilization of Moringa seeds waste as a new green environmental adsorbent for removal of industrial toxic dyes », *J. Mater. Res. Technol.*, vol. 8, n° 2, p. 1798-1808, avr. 2019, doi: 10.1016/j.jmrt.2018.12.010.
- [158] V. M. Vučurović, R. N. Razmovski, U. D. Miljić, et V. S. Puškaš, « Removal of cationic and anionic azo dyes from aqueous solutions by adsorption on maize stem tissue », *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, vol. 45, n° 4, p. 1700-1708, juill. 2014, doi: 10.1016/j.jtice.2013.12.020.
- [159] C. Mahamadi et T. Nharingo, « Utilization of water hyacinth weed (Eichhornia crassipes) for the removal of Pb(II), Cd(II) and Zn(II) from aquatic environments: an adsorption isotherm study », *Environ. Technol.*, vol. 31, n° 11, p. 1221-1228, 2010, doi: 10.1080/09593331003646604.
- [160] M. M. Husein, J. H. Vera, et M. E. Weber, « Removal of Lead from Aqueous Solutions with Sodium Caprate », *Sep. Sci. Technol.*, vol. 33, n° 12, p. 1889-1904, janv. 1998, doi: 10.1080/01496399808545911.
- [161] R. Choumane et S. Peulon, « Electrodeposited birnessite thin film: An efficient ecofriendly sorbent for removing heavy metals from water », *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 577, p. 594-603, sept. 2019, doi: 10.1016/j.colsurfa.2019.06.013.
- [162] L. Ducoroy, M. Bacquet, B. Martel, et M. Morcellet, « Removal of heavy metals from aqueous media by cation exchange nonwoven PET coated with β-cyclodextrin-polycarboxylic moieties », *React. Funct. Polym.*, vol. 68, n° 2, p. 594-600, févr. 2008, doi: 10.1016/j.reactfunctpolym.2007.10.033.
- [163] S. Bassaid, M. Chaib, A. Bouguelia, et M. Trari, « Elaboration and characterization of poly (acrylic acid-co-crotonic acid) copolymers: Application to extraction of metal cations Pb(II), Cd(II) and Hg(II) by complexation in aqueous media », *React. Funct. Polym.*, vol. 68, n° 2, p. 483-491, févr. 2008, doi: 10.1016/j.reactfunctpolym.2007.10.030.
- [164] C. Mbareck, Q. T. Nguyen, O. T. Alaoui, et D. Barillier, « Elaboration, characterization and application of polysulfone and polyacrylic acid blends as ultrafiltration membranes for removal of some heavy metals from water », *J. Hazard. Mater.*, vol. 171, no. 1, p. 93-101, nov. 2009, doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.05.123.
- [165] B. Volesky et Z. R. Holan, « Biosorption of heavy metals », *Biotechnol. Prog.*, vol. 11, n° 3, p. 235-250, mai 1995, doi: 10.1021/bp00033a001.
- [166] F. Deniz et A. Karabulut, « Biosorption of heavy metal ions by chemically modified biomass of coastal seaweed community: Studies on phycoremediation system modeling and design », *Ecol. Eng.*, vol. 106, p. 101-108, sept. 2017, doi:

	10.1016/j.ecoleng.2017.05.024.
[167]	A. A. Beni et A. Esmaeili, « Biosorption, an efficient method for removing heavy metals
	from industrial effluents: A Review », Environ. Technol. Innov., vol. 17, p. 100503, févr.
	2020, doi: 10.1016/j.eti.2019.100503.
[168]	C. Garbisu et I. Alkorta, « Bioremediation: principles and future », J. Clean Technol.
	Environ. Toxicol. Occup. Med., vol. 6, no 4, p. 351–366, 1997.
[169]	A. Foufou, S. Djorfi, N. Haied, R. Kechiched, M. Azlaoui, et A. Hani, « Water pollution
	diagnosis and risk assessment of Wadi Zied plain aquifer caused by the leachates of
	Annaba landfill (N-E Algeria) », Int. Conf. Technol. Mater. Renew. Energy Environ.
	Sustain. TMREES17 21-24 April 2017 Beirut Leban., vol. 119, p. 393-406, juill. 2017,
[170]	doi: 10.1016/j.egypro.2017.07.123.
[170]	N. Morin-Crini, P. Winterton, S. Fourmentin, L. D. Wilson, É. Fenyvesi, et G. Crini,
	« Water-insoluble β-cyclodextrin-epichlorohydrin polymers for removal of pollutants
	from aqueous solutions by sorption processes using batch studies: A review of inclusion mechanisms », <i>Prog. Polym. Sci.</i> , vol. 78, p. 1-23, mars 2018, doi:
	10.1016/j.progpolymsci.2017.07.004.
[171]	SF. Cheng, CY. Huang, YC. Lin, SC. Lin, et KL. Chen, « Phytoremediation of
[1/1]	lead using corn in contaminated agricultural land—An in situ study and benefit
	assessment », Ecotoxicol. Environ. Saf., vol. 111, p. 72-77, janv. 2015, doi:
	10.1016/j.ecoenv.2014.09.024.
[172]	J. D. COTTER-HOWELLS, P. E. CHAMPNESS, J. M. CHARNOCKY, et R. A. D.
	PATTRICK, « Identification of pyromorphite in mine-waste contaminated soils by
	ATEM and EXAFS », Eur. J. Soil Sci., vol. 45, nº 4, p. 393-402, déc. 1994, doi:
	10.1111/j.1365-2389.1994.tb00524.x.
[173]	C. Solisio, A. Lodi, D. Soletto, et A. Converti, « Cadmium biosorption on Spirulina
	platensis biomass », Bioresour. Technol., vol. 99, n° 13, p. 5933-5937, sept. 2008, doi:
F1.77.43	10.1016/j.biortech.2007.11.002.
[174]	M. Helen Kalavathy et L. R. Miranda, « Moringa oleifera—A solid phase extractant for
	the removal of copper, nickel and zinc from aqueous solutions », <i>Chem. Eng. J.</i> , vol. 158, n° 2, p. 188-199, avr. 2010, doi: 10.1016/j.cej.2009.12.039.
[175]	M. R. Sangi, A. Shahmoradi, J. Zolgharnein, G. H. Azimi, et M. Ghorbandoost,
	« Removal and recovery of heavy metals from aqueous solution using Ulmus
	carpinifolia and Fraxinus excelsior tree leaves », J. Hazard. Mater., vol. 155, n° 3, p.
	513-522, 2008, doi: https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.11.110.
[176]	L. Pelit, F. N. Ertaş, A. E. Eroğlu, T. Shahwan, et H. Tural, « Biosorption of Cu(II) and
-	Pb(II) ions from aqueous solution by natural spider silk », Bioresour. Technol., vol. 102,
	nº 19, p. 8807-8813, oct. 2011, doi: 10.1016/j.biortech.2011.07.013.
[177]	H. Chen, G. Dai, J. Zhao, A. Zhong, J. Wu, et H. Yan, « Removal of copper(II) ions by
	a biosorbent—Cinnamomum camphora leaves powder », J. Hazard. Mater., vol. 177, n°
	1, p. 228-236, mai 2010, doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.12.022.
[178]	B. M. W. P. K. Amarasinghe et R. A. Williams, « Tea waste as a low cost adsorbent for
	the removal of Cu and Pb from wastewater », <i>Chem. Eng. J.</i> , vol. 132, no 1, p. 299-309,
[170]	août 2007, doi: 10.1016/j.cej.2007.01.016.
[179]	S. K. Yadav, D. K. Singh, et S. Sinha, «Chemical carbonization of papaya seed originated charcoals for sorption of Pb(II) from aqueous solution », <i>J. Environ. Chem.</i>
	Eng., vol. 2, no 1, p. 9-19, mars 2014, doi: 10.1016/j.jece.2013.10.019.
[180]	S. Basha, Z. V. P. Murthy, et B. Jha, «Sorption of Hg(II) onto Carica papaya:
[100]	Experimental studies and design of batch sorber », Chem. Eng. J., vol. 147, no 2, p.
	226-234, avr. 2009, doi: 10.1016/j.cej.2008.07.005.
1	

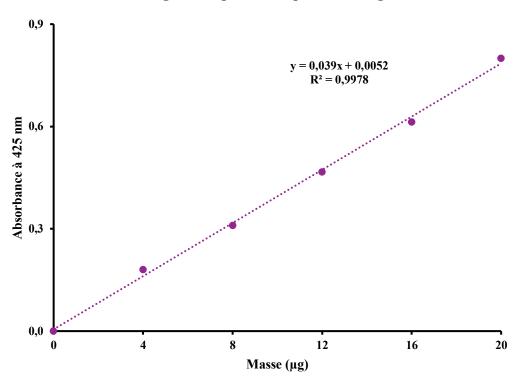
[181]	S. Rezania et al., « Perspectives of phytoremediation using water hyacinth for removal
	of heavy metals, organic and inorganic pollutants in wastewater », J. Environ. Manage.,
	vol. 163, p. 125-133, nov. 2015, doi: 10.1016/j.jenvman.2015.08.018.
[182]	P. Saha, O. Shinde, et S. Sarkar, « Phytoremediation of industrial mines wastewater
	using water hyacinth », Int. J. Phytoremediation, vol. 19, n° 1, p. 87-96, 2017.
[183]	CS. Zhu, LP. Wang, et W. Chen, « Removal of Cu(II) from aqueous solution by
	agricultural by-product: Peanut hull », J. Hazard. Mater., vol. 168, n° 2, p. 739-746, sept.
	2009, doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.02.085.

# ANNEXES

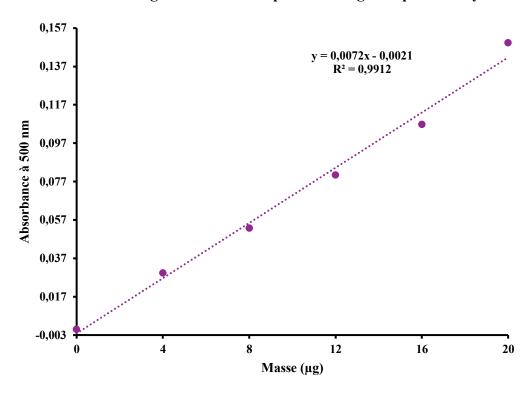
Annexe 1 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols



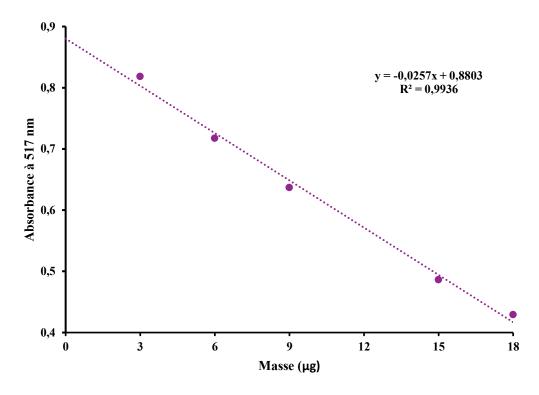
Annexe 2 : Droite d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes



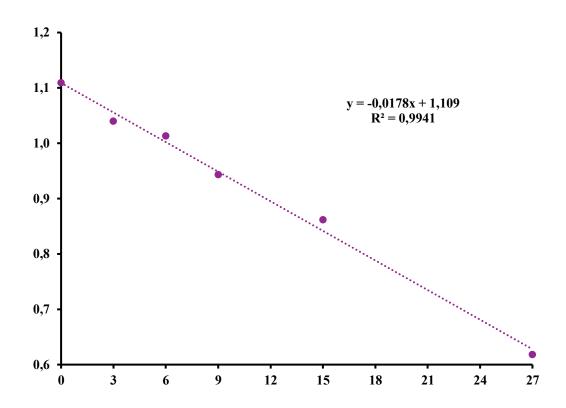
Annexe 3 : Droite d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des proanthocyanidines



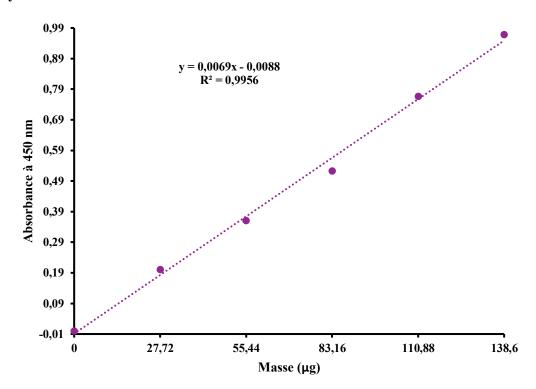
Annexe 4 : Droite d'étalonnage du TROLOX pour la détermination de la capacité antioxydante de la méthode DPPH•



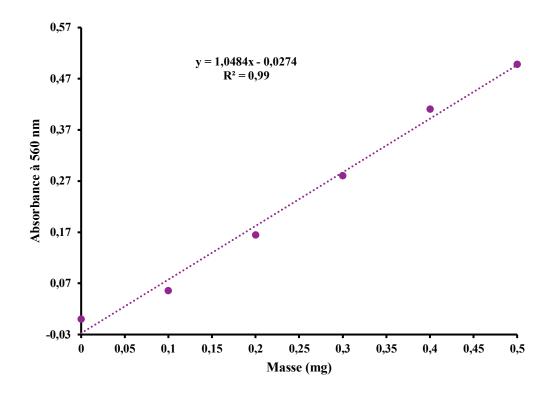
Annexe 5 : Droite d'étalonnage du TROLOX pour la détermination de la capacité antioxydante de la méthode ABTS\*+



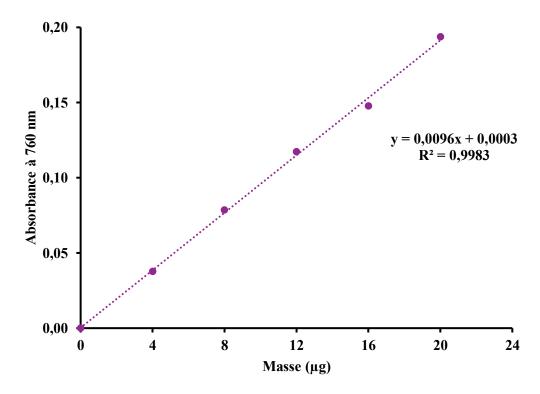
Annexe 6 : Droite d'étalonnage du TROLOX pour la détermination de la capacité antioxydante totale de la méthode CUPRAC



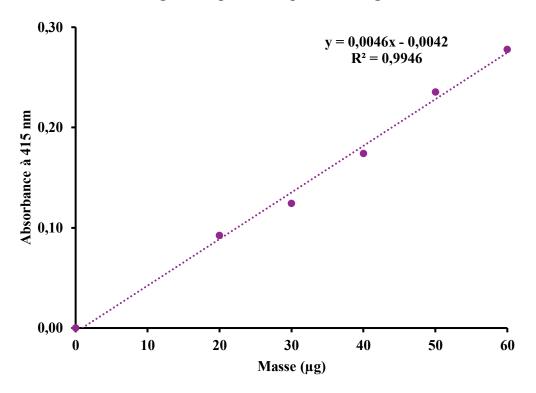
Annexe 7 : Droite d'étalonnage de l'escine pour la détermination de la teneur en saponines



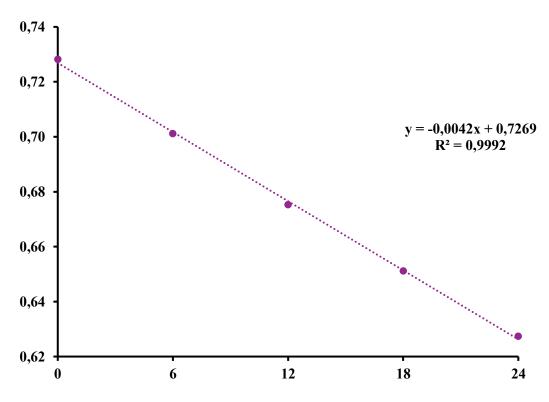
 ${\bf Annexe~8: Droite~d'{\'e}talonnage~de~l'acide~gallique~pour~le~dosage~des~polyph{\'e}nols~de~l'huile}$ 



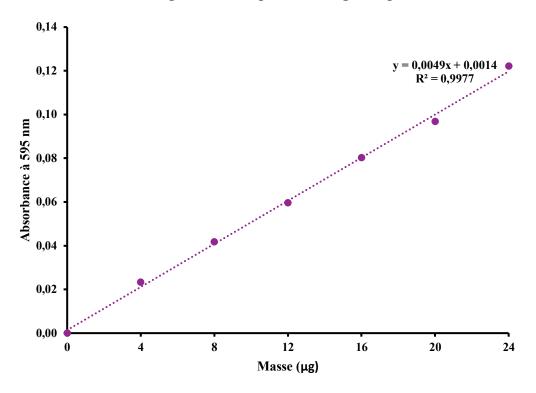
Annexe 9 : Droite d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes de l'huile



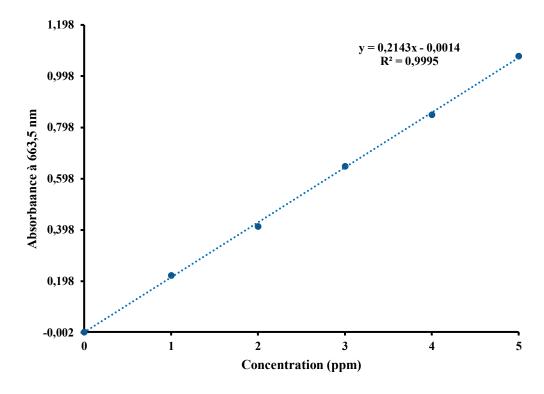
Annexe 10 : Droite d'étalonnage du Trolox pour la détermination de la capacité antioxydante par le radical DPPH\*



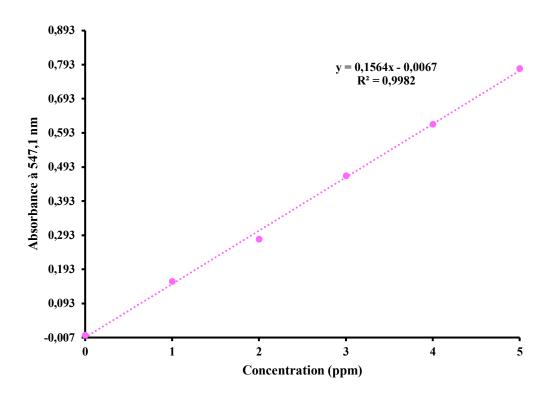
Annexe 11 : Droite d'étalonnage de la BSA pour le dosage des protéines de réserve



Annexe 12 : Droite d'étalonnage du Bleu de méthylène



Annexe 13 : Droite d'étalonnage de la Fuchsine basique





http://www.scirp.org/journal/fns ISSN Online: 2157-9458 ISSN Print: 2157-944X

### Evaluation of Phenolic Content and Antioxidant Activity of Aqueous Extracts of Three *Carica* papaya Varieties Cultivated in Senegal

Aïssatou Alioune Gaye<sup>†</sup>, Oumar Ibn Khatab Cisse, Bou Ndiaye, Nicolas Cyrille Ayessou, Mady Cisse, Codou Mar Diop

Laboratoire d'Electrochimie et des Procédés Membranaires, Centre d'Études sur la Sécurité Alimentaire et des Molécules Fonctionnelles (CESAM), Université Cheikh Anta Diop. Dakar, Senegal

Email: \*alsacoualiounel ster@granit.com, ciase87oumar@hotmail.com, chekbou20@yahoo.fr, nayessou@yahoo.fr, ciase87oumar@hotmail.com, cgmarc@granit.com

How to cite this paper: Gaye, A.A., Cisse, O.L., Ndiaye, B., Ayessou, N.C., Cisse, M. Diop, C.M. (2019) Evaluation of Phenolic Content and Antioxidant Activity of Aqueous Extracts of Three Carica papaya Varieties Cultivated in Senegal. Food and Nutrition Sciences, 10, 276-289.

https://doi.org/10.4236/fns.2019.103021

Received: January 31, 2019 Accepted: March 11, 2019 Published: March 14, 2019

Copyright © 2019 by author(s) and Scientific Research Publishing Inc. This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/





#### Abstract

The aqueous extracts of different parts (old leaves (OL), young leaves (YL), peels (PE) and delipidated seed residues (DS)) of three varieties of papaya are studied. Extraction conditions are optimized: an extraction time of 20 minutes, a temperature of 70°C and a plant material/water mixture of 1% give the best yield of polyphenol. The amount of polyphenols, flavonoids, saponins and proanthocyanins of each aqueous extract was investigated. Antioxidant activities are measured using two different methods (DPPH and ABTS). The delipidated seeds (DS) of V1 have the highest total phenolic content (TPC = 72.56 ± 3.16 mg GAE/g) while they have the lowest total flavonoid content (TFC = 0.22 ± 0.01). With regard to saponins, the PE of V3 is much richer in saponins (194,03 ± 15.78 mg AeE/g) than all the other extracts studied. The OL of V2 and PE of V1 contain the most proanthocyanidins with very similar values of 2.51 ± 0.03 mg CE/g and 2.53 ± 0.34 mg CE/g respectively. The study of the antioxidant activities of the extracts showed a correlation between the amount of polyphenols and IC50, DPPH OL and YL V2, which are rich in polyphenols, have the lowest IC50 of 0.072 mg/ml and 0.080 mg/ml respectively, whereas for ABTS we have PE of V1 that is very rich in polyphenols which has the smallest IC50 value of 0.218 mg/ml.

### Keywords

Carica papaya, Extraction, Antioxidant, Polyphenols, Flavonoids, Proanthocyanidins, Saponins

## Bio-sorption of Methylene Blue and basic fuchsin from aqueous solution onto defatted *Carica papaya* seeds: mechanism and effect of operating parameters on the adsorption yield.

Aïssatou Alioune Gaye<sup>1\*</sup>, Nicolas Cyrille Ayessou<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centre d'Études sur la Sécurité Alimentaire et Les Molécules Fonctionnelles (CESAM), École Supérieure Polytechnique

<sup>2</sup>Laboratoire d'Électrochimie et des procédés membranaires, École Supérieure Polytechnique

Abstract: The aim of the present work is to investigate the efficiency of the cationic dyes removal onto defatted Carica papaya seeds (DCPS). Batch mode experiments were performed for determining optimal parameters of dyes removal on the defatted seeds. The surface charge distribution of DCPS was determined and the point zero charge was found to be 6.4. The contact time for maximal adsorption capacities are found to be 180 mn for methylene blue (MB) and 150 mn for basic fuschin (BF). The removal capacities of both dyes increased rapidly from 93.23% to 97.21% for MB and 88.34% to 95.08% when the pH varies between 2 and 3. The, it remains stable when varying the pH from 3 to 11. Dye concentrations (10 to 100 mg/L) do not influence the elimination capacities. The dye amounts adsorbed are dependent to mass of adsorbent doses. For the MB the adsorbent concentration value found for the maximum removal capacity is 8 g/L while the value is 6 g/L for the basic fuchsin. Various kinetics and adsorption isotherm models of the adsorption processes analyzed the adsorption mechanisms. The kinetics of the adsorption process were found to follow the pseudo-second-order rate law. Experimental values of the adsorption capacity reached the optimum values predicted by this model. The adsorption parameters were in good agreement with the Freundlich isotherm for MB and Temkin isotherm for RF

Keywords: Dye, Isotherm, Kinetic, Carica, Adsorbent

Date of Submission: 11-02-2020 Date of Acceptance: 27-02-2020

#### I. Introduction

Synthetic and natural dyes are widely used in chemical, pharmaceutical, textile and food factories and can cause dramatically environmental damages [1-3] and yield considerable wastewater quantities [4,5]. Wastewater polluted by organic dyes are difficult to purified, owing to the good stability of the aromatic structure of these compounds [6]. Methylene blue (MB) is a cationic dye extensively used in industry with a recalcitrant nature. This dye is toxic and causes several environment and health risks. Hemolytic anemia, hyberbilirubinemia, and acute renal failure, have been reported as consequence of the exposure of neonate to methylene blue [7]. Basic fuchsin (BF) is a cationic dye widely used in textile and leather industries. Exposure to basic fuchsin may cause drastically damage to health such as irritation to the respiratory tract, severe eye and skin irritation, nausea, vomiting and diarrhea [8]. Damages to thyroid, liver and spleen are also reported [9,10]. Removal of these dyes from wastewater is essential for both health and environmental aspects. Traditional wastewater treatment technologies proven ineffective for purifying wastewater polluted by some types of dye [11]. Several methods were used for removal dye from wastewater. Implementation of physico-chemical and biological processes such as membrane separation [12], oxidation [13], osmosis [14], photodegradation[15], microbial biodegradation [16-18] are difficult and are expensive. Some of these processes have a main disadvantage owing to the formation of unknown compounds different to the original dye molecule [19,20]. These intermediates may have different toxicity [21] and remain in solution after the treatment of the polluted water. The adsorption method is the easiness and the low-cost process compared to the other processes used in industry. A large number of adsorbents such as nanoparticles, clays, zeolites, byproduct of cellulose, activated carbon, agro-industrial wastes are applied for removing dyes from wastewater [22,23]. The adsorption process is also the most efficient technology for removal dye from wastewater. No intermediates issued from the degradation of the dye molecules appeared because the dye molecules directly transferred from the solution to the solid phase of the adsorbent. In addition, the amounts of adsorbent used are quite low. At the end of the process, the adsorbent loaded dye can be stored in dry phase without damage for environment. The solid phase can be regenerated later to be reused in the process.

In this context, we proposed the use of the residue of the defatted Carica papaya seed (DCPS), which is very low-cost adsorbent removal dye (MB and BF, scheme 1) from wastewater. The biosorption mechanisms of

DOI: 10.9790/2402-1402042433 www.iosrjournals.org 24 | Page

### <u>Title</u>: Phyto and biochemical study of three varieties of *Carica papaya* L. cultivated in Senegal: Potential for valuing their by-products

**Introduction**. The rise and development potential of the "papaya" sector in Senegal justify the surveys carried out on by-products of this species. Thus, the objectives of this work are the determination of the phytochemical and biochemical composition of the by-products and the potential valuation routes.

Material and methods. Three varieties of *Carica papaya* L. (Ordinary, Red Lady and Sunrise) grown in Senegal were studied on their fruit peels, leaves and seeds. The optimal extraction parameters (Temperature, Duration, Ratio) were determined by monitoring the content of polyphenols and then of flavonoids, proanthocyanidins and saponins. The antioxidant capacity and the reaction kinetics were determined by three methods (ABTS\*+, DPPH\* and CUPRAC). The lipids extracted from the seeds were characterized and their physical properties determined. The reserve proteins of delipidated papaya seeds were quantified and the amino acid composition determined. From the point of view of environmental application, the optimal parameters for the removal of dyes from the residue of delipidated seeds and heavy metals from the leaves were determined and kinetic models and absorption isotherms studied.

**Results**: The aqueous extracts of the different organs of the three varieties have high levels of polyphenols and saponins, while those of flavonoids and proanthocyanidins are relatively low. The highest antioxidant capacity was found with the ABTS<sup>++</sup> radical. Excellent reaction kinetics are verified for the various organs with this radical. The peels eliminate 98% of the ABTS<sup>++</sup> radical after 100 minutes. The characterization of the oil showed a low cholesterol level, a high presence of unsaturated fatty acids and good physical properties. The reserve proteins of delipidated seeds are mainly composed of globulins (75%), the composition of essential amino acids of which is 39.2%. Papaya seeds can eliminate methylene blue and fuchsin by more than 90% with an adsorbent dose of 8 g/L and 6 g/L respectively for a concentration of 50 ppm. More than 70% iron is eliminated for a dose of adsorbent of 6 g/L for a concentration of 10 ppm. On the other hand, metals such as copper, zinc and nickel are less well removed by the leaves.

**Conclusion**. In view of the results obtained, there are emerging ways of upgrading papaya co-products into food supplements to take advantage of their antioxidant capacities, their essential fatty acids, and essential amino acids. By-products offer a valuation route in the treatment of ferruginous water and the elimination of recalcitrant contaminants from industrial effluents.

**Keywords**: Carica papaya L., phytochemicals, antioxidant activities, lipids, proteins, dyes, heavy metals.

## <u>Titre</u>: Étude phyto et biochimique de trois variétés de *Carica papaya* L. cultivées au Sénégal: Potentiel de valorisation de leurs sous-produits

**Introduction**. L'essor et le potentiel de développement de la filière 'papaye' au Sénégal, justifient les investigations portées sur les sous-produits de cette espèce. Ainsi, les objectifs de ce travail sont la détermination de la composition phytochimique et biochimique des sous-produits et les voies de valorisations potentielles.

Matériel et Méthodes. Trois variétés de *Carica papaya* L. (Ordinaire, Red Lady et Sunrise) cultivées au Sénégal ont fait l'objet d'études sur leurs épluchures de fruits, les feuilles et les graines. Les paramètres optimaux d'extraction (Température, Durée, Ratio) ont été déterminés en suivant la teneur en polyphénols puis en flavonoïdes, proanthocyanidines et saponines. La capacité antioxydante et la cinétique réactionnelle ont été déterminées par trois méthodes (ABTS<sup>++</sup>, DPPH' et CUPRAC). Les lipides extraits des graines ont été caractérisés et leurs propriétés physiques déterminées. Les protéines de réserve des graines de papayer délipidées ont été quantifiées et la composition en acides aminés déterminée. Du point de vue de l'application environnementale, les paramètres optimaux d'élimination des colorants par le résidu des graines délipidées et des métaux lourds par les feuilles ont été déterminés et les modèles cinétiques et les isothermes d'adsorption étudiés.

**Résultats**: Les extraits aqueux des différents organes des trois variétés présentent des teneurs de polyphénols et de saponines élevées alors que celles des flavonoïdes et des proanthocyanidines sont relativement faibles. La capacité antioxydante la plus élevée a été retrouvée avec le radical ABTS<sup>\*+</sup>. Une excellente cinétique réactionnelle est observée pour les différents organes avec ce radical. Les épluchures éliminent à 98% le radical ABTS<sup>\*+</sup> au bout de cent minutes. La caractérisation de l'huile a montré un faible taux de cholestérol, une forte présence d'acides gras insaturés et de bonnes propriétés physiques. Les protéines de réserve des graines délipidées sont majoritairement composées de globulines (75%) dont la composition en acides aminés essentiels est de 39,2%. Les graines de papayer peuvent éliminer le bleu de méthylène et la fuchsine à plus de 90% avec une dose d'adsorbant de 8 g/L et 6 g/L respectivement pour une concentration de 50 ppm. L'élimination du fer se fait à plus de 70% pour une dose d'adsorbant de 6 g/L pour une concentration de 10 ppm. Par contre, les métaux tels que le cuivre, le zinc et le nickel sont moins bien éliminés par les feuilles.

Conclusion. Au vu des résultats obtenus, il se profile des voies de valorisation en compléments alimentaires des sous-produits de papayers pour tirer profit de leurs capacités antioxydantes, de leurs acides gras essentiels et des acides aminés essentiels. Les sous-produits offrent une voie de valorisation dans le traitement des eaux ferrugineuses et l'élimination des contaminants récalcitrants des effluents industriels.

*Mots-clés*: Carica papaya L., composés phytochimiques, activités antioxydantes, lipides, protéines, colorants, métaux lourds.