



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique



**Université Amar Thelidji- Laghouat**

**FACULTE : TECHNOLOGIE**

**DEPARTEMENT : GÉNIE DES PROCÉDÉS**

## **MEMOIRE DE MASTER**

**Présenté par : KELLAL Rania**

**DOMAINE : Sciences et Technologies**

**FILIERE : Génie des Procèdes**

**OPTION : Génie des Procédés d'Environnement**

### **Thème**

**Contribution à la valorisation des épluchures végétales**

#### **Jury de soutenance :**

<b>Nom et Prénom</b>	<b>Grade</b>	<b>Qualité</b>
<b>BOUARAR Fahima</b>	<b>MCB</b>	<b>Président</b>
<b>BOUTASSOUNA Nassima</b>	<b>MAA</b>	<b>Examineur</b>
<b>BENDAHGANE Soumia</b>	<b>MAA</b>	<b>Encadreur</b>

**Promo : 2024 / 2025**

## **Remerciements**

*Nous commençons d'abord par remercier dieu le tout -puissant et miséricordieux de nous avoir donné la force et le courage de terminer nos études et d'atteindre ce stade. Nos remerciements s'adressent également à notre encadrante **Dr. BENDAHGANE Soumia** .*

*pour avoir accepté de diriger ce travail. Son soutien, ses compétences et sa clairvoyance et tout le temps qu'elle nous a accordé. Nous remercions très sincèrement Madame **BOUARAR Fahima** d'avoir accepté de présider le jury et Madame **BOUTASSOUNA Nassima** d'avoir accepté d'examiner notre travail. Nos remerciements les plus chaleureux vont à tous nos camarades au Master2 Génie des procédés de l'environnement. Également à tous les enseignants, pour leurs enseignements de qualité et leurs conseils qui nous ont permis de poursuivre notre parcours jusqu'à présent*



# Sommaire

- Remerciement.

- Dédicace.

Introduction ..... 2

## *Chapitre I : Etude bibliographique sur les biocatalyseurs dans les épluchures végétales.*

I.1 Valorisation..... 5

I.1.1 Définition de la valorisation..... 5

I.1.2 Définition de déchets ..... 5

I.1.3 Type de valorisation des déchets..... 6

I.1.4 Définition de la valorisation des déchets par extraction ..... 6

I.1.5 Avantages de valorisation des déchets ..... 6

I.2.1 Biocatalyseur dans les épluchures végétales ..... 7

I.2.2 Définition de biocatalyseurs ..... 7

I.2.3 Exemples de biocatalyseurs dans les épluchures et certaines de leurs application..... 7

I.3 Polyphénol oxydase : ..... 9

I.3.1 Définition ..... 9

I.3.2 Le rôle d'une enzyme PPO..... 10

I.4 Techniques d'extraction..... 11

I.4.1 Méthodes mécaniques..... 11

I.4.2 Méthodes physiques a Choc osmotique ..... 11

I.4.3 Méthodes chimiques..... 11

I.4.4 Méthodes enzymatiques ..... 12

## *Chapitre II : Méthodes et instrumentations d'analyse*

II.1 Le rendement de l'extraction d'un biocatalyseur ..... 14

II.2 Méthode de Lowry ..... 14

II.3 Spectroscopie ultraviolet/visible ..... 15

II.3.1 Principe..... 15

II.3.2 Loi de Beer-Lambert..... 16

II.4 L'activité enzymatique ..... 16

II.4.1 Définition.....	16
II.4.2 Application .....	17
II.5 L'Equation de MICHAELIS-MENTEN.....	18
II.6 Représentation de line weaver et burke.....	18

### *Chapitre III : Extraction et Caractérisation Enzymatique*

III.1 Extraction enzymatique.....	21
III.2 Dosage spectrophotométrique de la tyrosinase par la méthode de Lowry modifiée.....	21
III.3. Calcul du rendement .....	25
III.4 Mesure de l'activité enzymatique.....	25
III.5 Détermination des paramètres cinétiques.....	29
Conclusion .....	36

Références

Annexe

Résumé

## Liste des Figures :

Figure 1: Figure montrant la réaction chimique de epimerase .....	7
Figure 2: Rôle de l'enzyme PPO.....	11
Figure 3: illustration du mécanisme de la méthode de Lowry .....	15
Figure 4: illustration le mécanisme de l'activité enzymatique.....	17
Figure 5: courbe de MICHAELIS-MENTEN .....	18
Figure 6: Graphique Cela montre L'équation de LINE WEAVER ET BURKE .....	19
Figure 7 : Gamme étalon .....	23
Figure 8 : Courbe d'étalonnage de l'albumine .....	23
Figure 9: Extraits enzymatiques dilués x1000 pour le dosage .....	24
Figure 10 : Cinétique d'oxydation de diphénol par l'extrait brut de l'enzyme à PH=7.....	26
<i>Figure 11: Vitesses initiales de l'activité enzymatique à différents PH.....</i>	<i>28</i>
Figure 12: Influence du PH sur l'activité enzymatique.....	28
Figure 13: Cinétique d'oxydation du diphénol à différentes concentrations dans cinq milieux PH.....	30
Figure 14: Représentation graphique de Lineweaver-Burk dans cinq milieux PH.....	32
Figure 15: Variation de Km en fonction de PH .....	33
Figure 16: Variation de Vmax en fonction de PH.....	33

## Liste des Tableaux :

Tableau 1: Volumes des extraits bruts récupérés .....	21
Tableau 2: Préparation des étalons .....	22
Tableau 3 : Concentration enzymatique à différents milieux PH. ....	24
Tableau 4: Rendements d'extraction à différents milieux PH .....	25
Tableau 5: Pouvoirs catalytiques et coefficient de corrélation du graphique de Lineweaver-Burk. ....	34

## Liste des Abréviations

- CBH      Cellobiohydrolase
- PPO      Polyphénol oxydase
- SDS      Dodécylsulfate de sodium
- SBA      Sérum Albumine Bovine

# *Introduction*

## **Introduction :**

Dans un contexte mondial de transition écologique et de valorisation des déchets organiques, les épluchures végétales, longtemps considérées comme de simples résidus, suscitent aujourd'hui un intérêt croissant en tant que sources potentielles de composés à haute valeur ajoutée. Parmi les composés bioactifs présents dans ces biomasses, les biocatalyseurs, notamment les enzymes, occupent une place centrale. Ces molécules naturelles, capables d'accélérer des réactions biochimiques de manière spécifique et à faible impact environnemental, sont au cœur des biotechnologies modernes. On retrouve dans les épluchures de nombreux fruits et légumes une diversité enzymatique remarquable : cellulases, pectinases, peroxydases ou encore polyphénol oxydases, qui jouent un rôle dans la dégradation des parois végétales, l'oxydation des composés phénoliques ou la transformation de substrats complexes en molécules plus simples.

Cette richesse enzymatique découle de la fonction même des épluchures dans les plantes : elles forment une barrière protectrice contre les agressions mécaniques, chimiques ou biologiques, ce qui implique une forte activité métabolique et défensive. Ainsi, les pelures d'agrumes, les écorces de banane ou les enveloppes de pommes de terre regorgent d'enzymes actives qui peuvent être extraites et utilisées dans de nombreux domaines, allant de l'industrie agroalimentaire à la pharmacologie, en passant par les procédés de dépollution. L'extraction, la caractérisation et l'exploitation de ces biocatalyseurs s'inscrivent donc dans une démarche de valorisation des déchets végétaux et d'économie circulaire, réduisant le gaspillage tout en créant de nouvelles opportunités industrielles.

Dans cette optique, la compréhension des types d'enzymes présents dans les épluchures, de leurs mécanismes d'action et de leurs conditions d'activation est essentielle pour développer des procédés efficaces d'extraction et d'application. Cette étude s'attache ainsi à explorer le potentiel des biocatalyseurs issus des épluchures végétales, à travers une analyse des principales enzymes identifiées, des méthodes de valorisation mises en œuvre, et des perspectives d'avenir pour leur utilisation durable

"Nous avons divisé ce mémoire en trois parties,

La première traitera des types de biocatalyseurs, de leurs applications et de leurs avantages dans les épluchures de légumes."

"La deuxième partie traitera des appareils et des méthodes et instrumentations d'analyse utilisés pour l'analyse des résultats et des expériences."

"Quant à la troisième partie, nous allons aborder les étapes des expériences et les résultats et interprétations des analyses."

***Chapitre I :***

***Etude bibliographique sur les biocatalyseurs dans les épluchures végétales.***

## **I.1 Valorisation**

### **I.1.1 Définition de la valorisation**

Valoriser, c'est donner de la valeur à quelque chose. D'après Mayster (1994), valoriser un déchet recoupe toute action qui permet d'en tirer de l'énergie, de trouver un nouvel usage à la matière qui le compose, de tirer une matière première secondaire utile à la fabrication du même bien et de trouver un nouvel usage ou qui permet à un déchet de redevenir utile pour d'autres.

D'après la directive européenne 75/442/CEE du conseil du 15 juillet 1997 la caractéristique essentielle de l'opération de valorisation consiste à faire remplir aux déchets une fonction utile. Ils se substituent pour cela à l'usage d'autres matériaux qui auraient dû être utilisés pour remplir cette fonction, afin de préserver les ressources naturelles.

La valorisation se décline en : valorisation de la matière qui permet de réutiliser les éléments constitutifs du déchet en les intégrant dans le circuit économique ; valorisation biologique permettant la production d'engrais et de compost et valorisation énergétique (production de chaleur et d'électricité

### **I.1.2 Définition de déchets :**

Traduit la diminution de valeur d'une matière ou d'un objet jusqu'au point où il devient inutilisable en un lieu et en un temps donné (Pichat, 1995).

Ainsi, le déchet porte l'idée de déchéance, de chute. Cette dévaluation est liée à des paramètres comme la saleté, la souillure ou la puanteur : c'est l'ordure, de la racine latine ord, « d'une saleté repoussante, immonde »; c'est aussi l'immondice, du latin immundus, « matière sale, impure ». Selon le dictionnaire Larousse de la langue française (2000), « le déchet est ce qui tombe d'une matière qu'on travaille, un débris, un reste d'une chose découpée, apprêtée qui est impropre à la consommation, à l'usage ».

Il est « ce qui est perdu ».

Il est aussi « La partie inutilisable d'une matière, morceau qu'on rejette ou qui s'en détache » (Larousse de la langue française, 1992). En résumé le déchet est ce que l'on considère comme un rebut. Dans cette conception, le déchet n'est pas un élément réutilisable.[1]

### **I.1 .3 Type de valorisation des déchets**

#### **Recyclage et Réutilisation**

Le recyclage est l'une des méthodes les plus importantes de traitement des déchets. Les matériaux recyclables tels que le **plastique**, le **papier**, le **verre**, et le **métal** sont collectés, traités, et transformés en nouvelles matières premières pour la fabrication de nouveaux produits. La réutilisation d'objets et d'emballages est également une pratique importante pour réduire la demande en nouvelles ressources.

#### **Valorisation Énergétique**

La valorisation énergétique consiste à convertir les déchets non recyclables en énergie, généralement sous forme de chaleur ou d'électricité.

Les déchets solides urbains peuvent être incinérés dans des installations spécialisées, produisant ainsi de l'énergie tout en réduisant le volume des déchets.

#### **Compostage**

Le compostage est une méthode de traitement des déchets organiques, tels que les déchets alimentaires et les résidus de jardin.

Ces détritux se décomposent naturellement pour former un compost riche en nutriments, utilisé comme amendement du sol dans l'agriculture et l'horticulture.[2]

#### **I.1.4 Définition de la valorisation des déchets par extraction :**

La valorisation des déchets par extraction est un procédé qui consiste à récupérer des composés d'intérêt (tels que des enzymes, des huiles, des antioxydants ou d'autres molécules bioactives) à partir de déchets organiques ou industriels, à l'aide de méthodes physiques, chimiques ou biologiques. Ces composés sont ensuite réutilisés dans diverses industries (agroalimentaire, pharmaceutique, cosmétique, énergétique), transformant ainsi un déchet en ressource à valeur ajoutée.[3]

#### **I.1.5 Avantages de valorisation des déchets :**

L'intérêt qui est porté de plus en plus à la valorisation des déchets et des sous-produits industriels est lié à la fois à la crise de l'énergie, à la diminution des ressources mondiales en

matières premières et enfin la législation qui devient très sévère concernant la protection de la nature et l'environnement. Les arguments peuvent être résumés en :

- ✓ Augmentation de la production.
- ✓ Le coût de stockage ou de traitement est de plus en plus élevé.
- ✓ Une législation de plus en plus sévère.
- ✓ Une meilleure gestion de la recherche [4]

### I.2.1 Biocatalyseur dans les épiluchures végétales :

Les épiluchures végétales, souvent considérées comme des déchets, peuvent en réalité être de véritables trésors en matière de biocatalyseurs naturels. Voici un aperçu de ce que cela signifie et des exemples concrets :

### I.2.2 Définition de biocatalyseurs :

La biocatalyse est l'utilisation de catalyseurs naturels, comme des enzymes, dans une réaction de synthèse organique. Pour cela, des enzymes ayant été plus ou moins isolées et/ou des enzymes étant toujours dans des cellules vivantes sont utilisées. Récemment avec les avancées de l'électrosynthèse microbienne on a réussi à utiliser des biofilms microbiens cultivés sur une anode et une cathode pour catalyser des réactions électrochimiques permettant de produire des molécules organiques d'intérêt. [5]



Figure 1: Figure montrant la réaction chimique de epimerase

### I.2.3 Exemples de biocatalyseurs dans les épiluchures et certaines de leurs applications :

#### ➤ Bromé laine

Est dérivée de l'ananas et est un enzyme (protéolytique) qui décompose les protéines.

Souvent, la bromé laine est combinée avec d'autres enzymes protéolytiques, comme la papaïne, la trypsine et la chymotrypsine. Le bromé laine connaît une application polyvalente : elle favorise la digestion des protéines, a un effet anti-inflammatoire, analgésique et cicatrisant. [6]

➤ **Pectines :**

Est l'enzyme responsable de l'accélération du processus de dégradation de la pectine, un acide aminé essentiel.

Des principaux composants qui composent la paroi cellulaire des légumes et des fruits, et qui constituent 30 % du poids sec de la paroi cellulaire. [7]

➤ **Cellulases**

Les cellulases [1,4-(1,3 ; 1,4) - $\beta$ -D-glucanohydrolase] font référence à un groupe d'enzymes qui travaillent ensemble pour hydrolyser la cellulose en sucre simples. C'est l'un des principaux membres de la famille des glycosides hydrolases, un système enzymatique complexe composé de trois types d'enzymes principales :

- Endo- $\beta$ -(1,4)-glucanase ou endocellulase (EC 3.2.1.4),
- Exo- $\beta$ -(1,4)-glucanase ou cellobiohydrolase (CBH) (EC 3.2.1.91),
- $\beta$ -(1,4)-glucosidase ou cellobiase (EC 3.2.1.21)

**Source :** Fréquemment présentes dans les pelures de fruits et légumes riches en fibres (pommes, carottes, bananes...). [8]

D'autres enzymes peuvent réduire les liaisons comme C-N, transformant les nitriles en amines.

Les transférases sont utiles pour transférer des groupes fonctionnels d'une molécule à une autre.

La kinase et les phosphatases (ajout et élimination de phosphates) sont particulièrement importantes pour les cascades de signalisation moléculaires, la réplication d'ADN, la transcription d'ARN et d'autres fonctions. Il existe également de nombreuses transférases biologiquement importantes qui offrent des fonctions comme la conversion de cétones ou d'aldéhydes en amines et qui peuvent le faire de manière stéréosélective.

- Les hydrolases catalysent l'hydrolyse de divers substrats.
- Les nucléases ou protéases sont prolifiques et essentielles dans le recyclage de l'acide nucléique et du peptide.
- Les hydrolases comme la lipase, la protéase et l'acylase agissent comme catalyseurs pour les ajouts Michael 1,4, largement utilisés pour former des liaisons C-C et carbone-hétéroatome.
- Les lyases catalysent généralement les réactions par la formation ou l'élimination des doubles liaisons.
- Différentes d'une réaction de substitution par hydrolases, les réactions de carboxylase ou de décarboxylase sont courantes dans le cadre de la biocatalyse pharmaceutique pour l'ajout ou l'élimination du CO<sub>2</sub>, tout comme le sont les lyases C-N qui peuvent être utilisées pour générer des acides aminés, notamment des alanines et des acides aspartiques substitués.
- Les isomérasés permettent la réorganisation des atomes dans une molécule.
- Les isomérasés, comme les racémases, inversent la stéréochimie au niveau du carbone chiral de la cible et les isomérasés cis-trans catalysent l'isomérisation des isomères cis-trans dans les alcènes ou les naphènes. La conversion du glucose en fructose via l'isomérase de glucose représente une biotransformation enzymatique industrielle majeure.
- Les ligases forment de nouvelles liaisons chimiques en réunissant deux molécules pour créer une molécule plus grosse. L'une des applications les plus importantes est l'utilisation de l'ADN ligase dans la formation de molécules d'ADN de recombinaison. C'est le complément des endo- ou exonucléases.[9]

### **I.3 Polyphénol oxydase :**

#### **I.3.1 Définition :**

Le terme tyrosinase est habituellement adopté pour les enzymes d'origine animales et humaines, et se rapporte au substrat 'typique', tyrosine qui était le premier substrat expérimental.w, ;

La polyphénol oxydase est la dénomination générale la plus appropriée, et sera employée sous l'acronyme PPO dans ce présent travail. La PPO (EC 1. 14. 18. 1) est une

oxygénase aussi bien qu'une oxydase, à fonctions mixtes contenant une paire de cuivre, qui est le site d'interaction avec l'oxygène et le substrat phénolique.

Ce type de site actif à cuivre est désigné sous le nom de 'cuivre type 3' se trouve également dans l'hémocyanine, la laccase, l'ascorbate oxydase et la De loin l'oxygénase multi-cuivre le mieux étudiée est la tyrosinase

Les groupes des polyphénols oxydases comprennent essentiellement deux types d'enzymes : l'O-diphénol oxydase (catéchol oxydase, tyrosinase, phénolase, ou polyphénol oxydase (PPO)) et les p-diphénol oxydase ou laccase. Les deux types d'enzyme sont phénol-oxygène oxydoréductases [10]

### **I.3.2 Rôle d'une enzyme PPO**

Chez les bactéries et les champignons, le taux des PPO augmente avec l'apparition des corps fructifiants (le taux de corps fructifiant augmente avec la présence de tyrosine et de sels de cuivre). La formation de spores s'accompagne d'une augmentation du taux de mélanines découlant de l'action des PPO mais ces mélanines ne sont pas indispensables à la sporulation. Ces mélanines permettraient d'augmenter la résistance de la paroi et des membranes vis-à-vis d'enzymes de déstructuration (glucanase, chitinase...).

Chez les végétaux, les PPO seraient impliquées dans les phénomènes de défense et de résistance aux infections bactériennes, fongiques et virales. On constate généralement une augmentation de l'activité des PPO à la suite d'un stress, hausse qui serait due à la maturation des formes latentes des PPO par les protéases des pathogènes plutôt qu'à une synthèse de novo. Bien que les PPO puissent hydroxyler des monophénols, elles ne sont pas impliquées directement dans la biosynthèse des diphénols car d'une part la crésolase agit très lentement et d'autre part il n'y a aucune corrélation entre la biosynthèse des diphénols et la présence ou l'absence des PPO dans le tissu végétal intact. Les PPO seraient cependant impliquées dans la biosynthèse des flavones glycosylées.

La localisation spécifique des formes actives des PPO laisse supposer que cette enzyme interviendrait dans la photosynthèse ou dans la régulation du niveau d'oxygène actif au sein des chloroplastes. Certains auteurs ont montré que la PPO était structurellement associée au photosystème II dans la plupart des végétaux supérieurs. Il n'a pas été possible de démontrer clairement l'implication des PPO au niveau des chaînes d'oxydation cellulaire. [11]

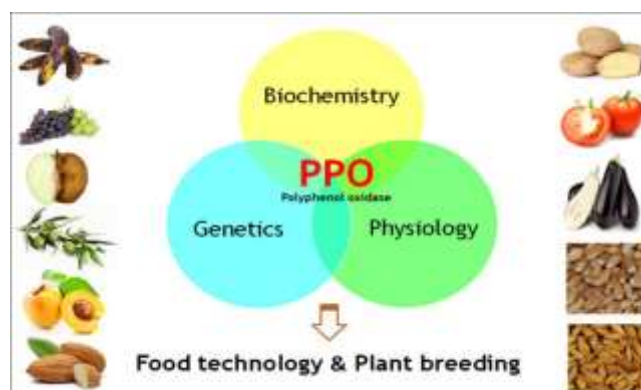


Figure 2: Rôle de l'enzyme PPO

## I.4 Techniques d'extraction

### I.4.1 Méthodes mécaniques

De nombreux procédés mécaniques permettent de lyser différents types cellulaires afin d'obtenir des extraits appelés classiquement extraits protéines totales hydrosolubles. Selon les types de parois cellulaires rencontrées (ou leur absence), la libération des protéines totales hydrosolubles sera plus ou moins difficile à obtenir.

### I.4.2 Méthodes physiques a Choc osmotique :

Un choc osmotique peut suffire à briser la membrane cellulaire de cellules fragiles, avec un minimum de dommages. Les cellules sont incubées dans une solution hypo-osmotique. Cherchant à rétablir l'équilibre osmotique, l'eau pénètre dans la cellule et finit par causer une rupture de la membrane plasmique.

Il est possible de lyser les membranes plasmiques sans briser les noyaux. La lyse des noyaux, si elle arrive accidentellement, se traduira par une soudaine augmentation de la viscosité de la solution : c'est la chromatine qui est libérée qui en la responsable. Donc L'éclatement des organites est l'inconvénient de cette technique.

### I.4.3 Méthodes chimiques

La lyse chimique est basée sur l'utilisation d'un tampon de lyse ; utilisée dans le but de rompre les cellules. La plupart des tampons de lyse contiennent des sels (par exemple Tris-HCl ou EDTA) pour réguler l'acidité et l'osmolarité du lysat. Parfois, des détergents (tels que Triton X-100 ou SDS : (dodécylsulfate de sodium) sont ajoutés pour briser les structures

membranaires. Un tampon de lyse peut être utilisé sur les cellules de tissus animaux et végétaux ou même sur les cellules microbiennes.

L'emploi de détergents convenablement dosés permet de désorganiser les édifices membranaires en double feuillet phospholipidiques tout en préservant les conformations protéiques natives. Un détergent souvent utilisé dans les réactions chimiques de lyse est le TritonX-100 et le tampon SDS.

#### **I.4.4 Méthodes enzymatiques :**

- La lyse enzymatique permet la destruction de la paroi par des enzymes.
- Le lysozyme est utilisé pour digérer le peptidoglycane des parois des bactéries.
- Le peptidoglycane est directement accessible au lysozyme chez les bactéries Gram (+). Cependant c'est n'est pas le cas chez les bactéries Gram (-) du fait de la présence de la membrane externe.

Le traitement des Gram (-) impose de perméabiliser la membrane externe au lysozyme, ceci est généralement réalisé par l'addition d'un tampon (le Tris-EDTA) : l'EDTA chelate (complexe) les cations magnésium qui stabilisent le double feuillet de la membrane externe au lipopolysaccharide.

Le Tris est réputé être un agent perméabilisant des membranes externes.

La Lyticase (une endo- $\beta$ 1-3 glucanase) hydrolysant les liaisons  $\beta$ 1-3 des glucanes appelés laminarine) des parois des levures.

La Zymolyase est un mélange de 3 enzymes (endo-B1-3 glucanases, mannanases, protéases) sécrétées par *Arthrobacter luteus* et hydrolyse les composants de paroi des levures utilisées dans le domaine industriel [12]

***Chapitre II :***  
***Méthodes et instrumentations d'analyse***

## II.1 Rendement de l'extraction de biocatalyseur :

Le rendement d'extraction d'un biocatalyseur représente la quantité de biocatalyseur actif récupérée après extraction, par rapport à la quantité initialement présente dans la matière première. Il peut s'exprimer en pourcentage, en unités enzymatiques par gramme de matière sèche, ou selon d'autres critères, en fonction du contexte.

Relation pour calculer le rendement est donnée comme suit :

$$R\% = \frac{mp}{md} \times 100 \quad \dots\dots\dots II.1$$

**mp** : La masse des pontiens (g)

**md** : La masse des déchets (g)

## II.2 Méthode de Lowry

La méthode de Lowry pour le dosage des protéines totales a été mise au point en 1951 par Oliver H.

Lowry (Lowry et al., 1951). Elle a apporté une si grande amélioration pour le dosage protéique que la publication l'ayant dévoilée fait partie de l'une des références les plus citées de la littérature scientifique. La méthode de Lowry consiste en une amélioration de la réaction du Biuret par l'ajout d'une étape supplémentaire. Dans un premier temps, l'échantillon contenant les protéines à doser est traité avec le réactif de Gornall, afin de créer un complexe cuivrique en milieu alcalin.

Dans un deuxième temps, un second réactif de nature phosphomolybdique phosphotungstique est utilisé et appelé réactif de Folin phénol. Il doit être frais donc préparé extemporanément. Ce dernier est réduit par les complexes cuivre-protéines, ce qui entraîne l'apparition d'une coloration bleu foncé, dont l'absorbance peut être mesurée à 750 nm.

Comme précédemment, une droite d'étalonnage est tracée, permettant la détermination de la concentration en protéines totales de l'échantillon à doser. (Lowry et al., 1951; Noble and Bailey, 2009; Krohn, 2011)

Il s'agit d'une méthode plus complexe à mettre en application que celle du Biuret, mais 100 fois plus sensible. Sa limite de quantification est de l'ordre de quelques  $\mu\text{g/mL}$ , ce qui permet de doser des échantillons pauvres en protéines et des échantillons dilués. De plus, elle

permet de supprimer un certain nombre d'interférences faussant les résultats du test du biuret, grâce à l'étape supplémentaire avec le réactif de Folin. Cependant, elle présente deux grands inconvénients. Tout d'abord, le degré de coloration varie beaucoup d'une protéine à une autre, rendant la méthode moins constante que celle du biuret. Ensuite, l'intensité de la coloration n'est pas strictement proportionnelle à la concentration en protéines, en raison d'interférences avec d'autres substances que les protéines à doser (acide urique, guanine, xanthine). (Lowry et al., 1951 ; Noble and Bailey, 2009) Depuis sa découverte en 1951, cette méthode de dosage des protéines totales est citée dans de très nombreux articles scientifiques, et ne cesse d'être utilisée de nos jours (Koç Öztürk et al., 2016 ; Longo et al., 2016).[12]

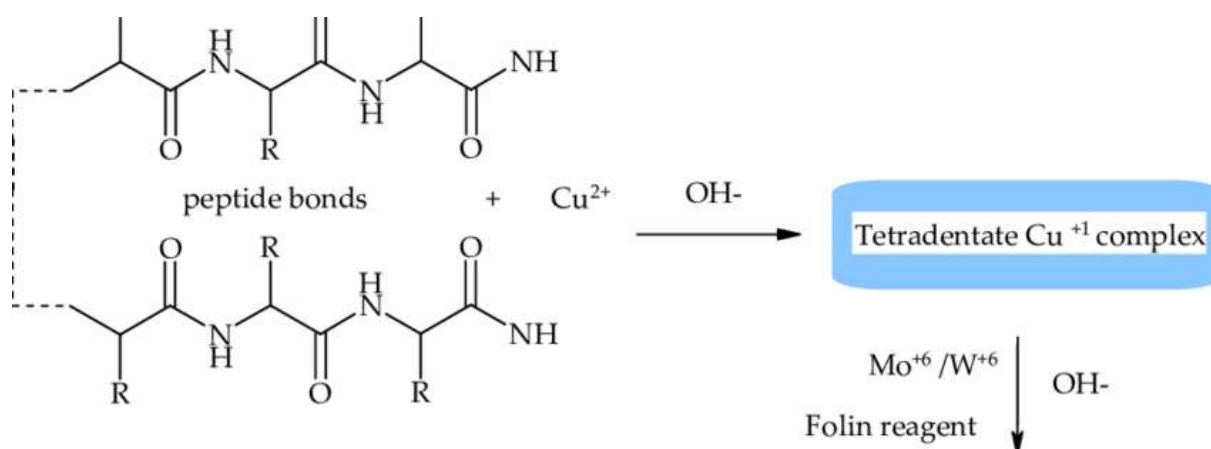


Figure 3: illustration du mécanisme de la méthode de Lowry

## II.3 Spectroscopie ultraviolet/visible

### II.3.1 Principe

Dans une molécule, les transitions électroniques UV-visibles mettent en jeu les énergies les plus importantes de la chimie (160 à 665  $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ).

L'ordre de grandeur des énergies mises en jeu est celui des énergies de liaison des molécules et ces rayonnements peuvent parfois provoquer des ruptures de liaisons.

Plus généralement, ils provoquent des transitions électroniques entre les différents niveaux d'énergie des molécules.

L'absorption de photons se traduit par des transitions d'électrons engagés dans les orbitales moléculaires (les électrons des liaisons  $\sigma$  et  $\pi$  ainsi que les non liants  $n$ ) de l'état fondamental et les niveaux non occupés des états excités ( $\sigma^*$  et  $\pi^*$ ).

Chaque transition est caractérisée à la fois par sa longueur d'onde  $\lambda_{\text{max}}$  et par son coefficient d'absorption molaire :  $\epsilon_{\text{max}}$  à cette longueur d'onde.

### II.3.2 Loi de Beer-Lambert

Loi d'absorption de la lumière-Loi de Beer-Lambert Soit une lumière monochromatique traversant une solution absorbante de concentration C contenue dans une cuve d'épaisseur l. Une partie de ce rayonnement sera absorbée par l'échantillon et une partie sera transmise. De manière générale, l'absorption est bien représentée par la loi de Beer et Lambert :

$$A = -\text{Log}_{10}(I/I_0) \varepsilon_{\lambda}lc \dots\dots\dots II.2$$

$I_0$ : est l'intensité de la lumière incidente. I: intensité transmise. l: est la distance traversée par la lumière (largeur de la cuve en cm). C: est la concentration molaire. Le terme :  $\log(I_0/I)$  est appelé absorbance (A) ou densité optique.  $I/I_0 = T$  est la transmission (% T est la transmittance)  $\varepsilon$ : est le coefficient d'extinction molaire ; Il dépend de la température, de la nature de la substance et enfin de la longueur d'onde. L'unité de  $\varepsilon$  est en  $l.mol^{-1}.cm^{-1}$  quand on parle de coefficient d'absorption molaire et  $l.g^{-1}.cm^{-1}$  quand on parle de coefficient d'absorption spécifique. On écrit la loi sous la forme : [13]

$$A = -\log T = \varepsilon lc \dots\dots\dots II.3$$

### II.4 Activité enzymatique

#### II.4 .1 Définition

L'activité enzymatique est la quantité de substrat convertie par l'enzyme en moles par unité de temps. Elle mesure la quantité d'enzyme active présente dans un mélange à un instant donné. D'autre part, l'activité spécifique est l'activité de l'enzyme par mg d'enzyme totale.

L'activité enzymatique fait référence aux propriétés catalytiques générales d'une enzyme, et les dosages enzymatiques sont des procédures standardisées pour mesurer les quantités d'enzymes spécifiques dans un échantillon

$$A = \frac{\left(\frac{dA}{dt}\right)}{\varepsilon l} \times \left(\frac{V_R}{V_E}\right) \times 10^3 \dots\dots\dots II.4$$

**A** = Activité total  $\left(\frac{UI}{ml}\right)$

**t** = temps (min)

**L** = (cm)

**ε**= coefficient d'extraction molaire  $\left(\frac{l}{mol.Cm}\right)$

## II.4.2 Application :

L'activité enzymatique est mesurée en unités qui indiquent la vitesse de réaction enzymatique catalysée par cette enzyme exprimée en micromoles de substrat transformé (ou de produit formé) par minute.

Par exemple, une unité (U) d'activité enzymatique a été définie comme la quantité d'enzyme qui a libéré 1  $\mu$ mole de p-nitroaniline en 1 minute à 37 °C.

Certains herbicides sont utilisés pour bloquer l'activité enzymatique des plantes. Une minuscule molécule d'herbicide peut se fixer au site actif d'une enzyme et l'empêcher de fonctionner.

Les plantes se sont adaptées en changeant un ou deux acides aminés dans leurs enzymes. Ils ajustent leur structure, peuvent continuer à travailler et l'herbicide ne peut plus limiter l'enzyme.

La bêta-glucosidase (BGL) agit sur les liaisons bêta-1,4-glucosidiques du cellobiose et des cellodextrines avec un degré de polymérisation (DP) allant de 3 à 6. Elle agit également sur des substrats chromogéniques tels que le para-nitrophényl glucopyranoside (PNPG). L'activité BGL peut être mesurée soit en utilisant de la cellobiose soit du PNPG comme substrat.

Le test PNPG prend en compte la vitesse de réaction initiale et l'activité enzymatique est calculée sur la base de la plage linéaire entre l'absorbance et les concentrations enzymatiques.

L'activité enzymatique est exprimée en unités internationales (UI/ml) [14]

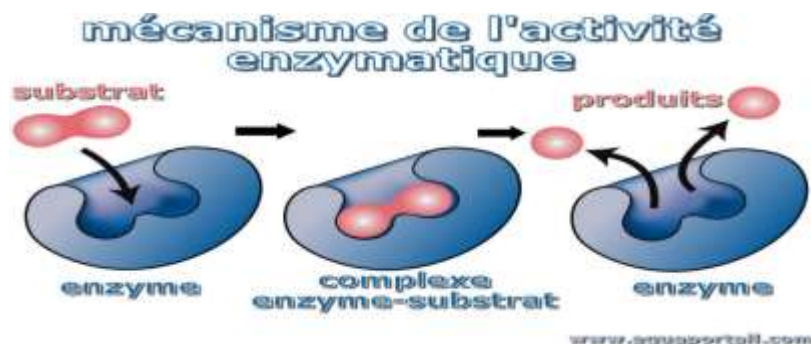


Figure 4: illustration le mécanisme de l'activité enzymatique

## II.5 L'équation de michaelis-menten

L'enzyme est soit sous forme libre E, soit complexé au substrat ES:

$$[E_T] = [E] + [ES]$$

- $[E_T]$  étant la concentration totale de l'enzyme.
- Donc:  $K_m = \frac{([E_T] - [ES])[S]}{[ES]} = \frac{[E_T] - [S]}{[ES] \cdot [S]}$
- d'où  $[ES] = \left( \frac{[E] [S]}{K_m + S} \right)$
- La vitesse de la réaction  $V_i$  est égale à  $V_3$ , vitesse de la réaction la plus lente:
- $V_i = V_3 = K_3 [ES]$ .
- D'où  $V_i = \frac{K_3 [E_T][S]}{K_m + S}$
- Or  $v_{max} = K_3 [E_T]$ .
- Donc  $V_i = v_{max} \cdot \left( \frac{[S]}{K_m + [S]} \right)$  C'est l'équation de Michaelis Menten

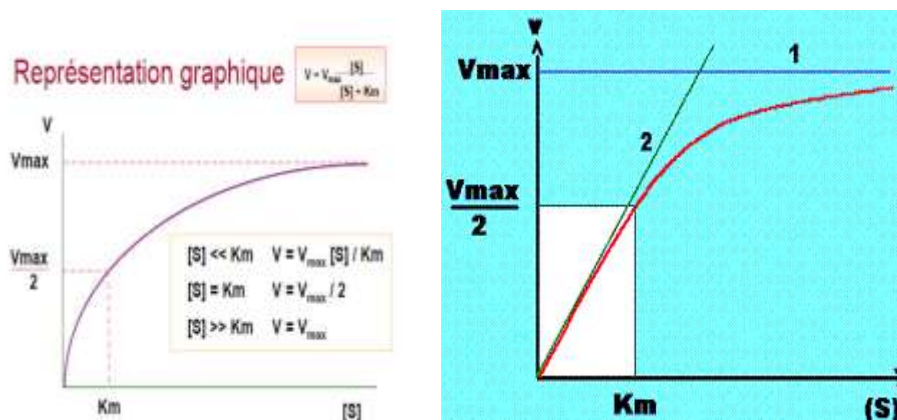


Figure 5: courbe de MICHAELIS-MENTEN

- **Vmax** est la vitesse maximale que peut atteindre la réaction lorsque l'enzyme est saturée de substrat
- **Km** est la concentration de substrat qui sature l'enzyme à moitié.

## II.6 Représentation de line weaver et burke :

- Une hyperbole est difficile à tracer manuellement.
- Des erreurs sur l'estimation de la Vmax sont possibles.
- Pour simplifier la représentation graphique de l'équation de MICHAELIS-MENTEN
- On transforme l'hyperbole en droite.
- L'équation de MICHAELIS-MENTEN peut s'écrire sous la forme :

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} \times \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{max}}$$

Cette équation est une équation de droite de la forme :

$$Y = aX + b \text{ ou } \frac{1}{V} = f\left(\frac{1}{[S]}\right)$$

Elle consiste en un tracé de  $\frac{1}{V}$  en fonction de  $\frac{1}{[S]}$

La droite qui en résulte coupe l'axe **des ordonnées** en  $\frac{1}{V_{max}}$  et l'axe **des abscisses** en  $-\frac{1}{K_m}$

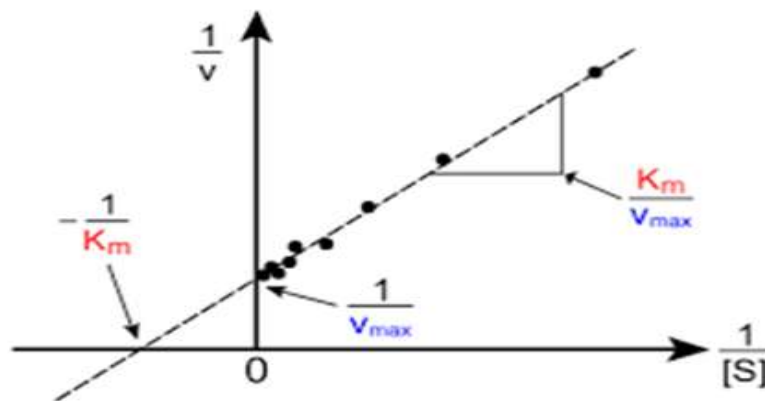


Figure 6: Graphique Cela montre L'équation de LINE WEAVER ET BURKE

***Chapitre III :***

***Extraction et caractérisation enzymatique***

### III.1 Extraction enzymatique

Dans le présent travail, les épiluchures végétales de la cuisine ont été choisies comme source de l'enzyme tyrosinase dans le but de contribuer à la valorisation des déchets solides. L'extraction a été effectuée à cinq différents milieux à savoir PH égale à 5 ; 5.5 ; 6 ; 6.5 et 7 afin d'étudier l'influence du milieu PH sur les propriétés de l'enzyme étudiée. Les autres paramètres (masse des épiluchures, volume du tampon, temps de broyage et vitesse de centrifugation,) ont été gardés fixes. Le même protocole d'extraction a été réalisé pour chaque milieu et décrit comme suit ;

Les épiluchures ont été lavées avec de l'eau distillée et séchées à l'air libre. 30 g d'épiluchures végétales préalablement congelés à 4°C afin d'éviter leur brunissement enzymatique ont été broyés dans 60 ml de tampon phosphate-citrate (0.05 M) pendant 1 minute à l'aide d'un mixeur. Le broyat a été filtré à travers six couches de gaze et le filtrat obtenu a été centrifugé à 4000 tr/min pendant 10 minutes à l'aide d'une centrifugeuse. Le surnageant représente l'extrait brut de la tyrosinase a été stocké dans des eppendorfs de 1,5 ml à 4°C. Le volume récupéré varie entre 27 à 31 ml comme montré dans le tableau (III.1) ;

*Tableau 1: Volumes des extraits bruts récupérés*

<b>PH</b>	5	5.5	6	6.5	7
<b>V<sub>extrait brut</sub> (ml)</b>	27	26	32	29	31

### III.2 Dosage spectrophotométrique de la tyrosinase par la méthode de Lowry modifiée

#### Réactifs de Lowry

Le réactif au cuivre a été préparé en premier en mélangeant les trois solutions suivantes ; 5 g de carbonate de sodium dissoute dans 65 ml d'eau, 0,1 g de sulfate cuivrique (5x hydraté) dans 4 ml d'eau et 0,05 g de tartrate de sodium et de potassium dans 5 ml d'eau.

Ainsi, les deux solutions suivantes ont été préparées séparément ; 25 ml d'une solution à 1 % de dodécyl sulfate de sodium (SDS) et 25 ml d'une solution 1 M de NaOH.

Pour le concentré de Lowry, 3 parts de réactif au cuivre ont été mélangés avec 1 part de SDS et 1 part de NaOH.

Et en dernier, le réactif de Folin 0,2 N a été préparé en mélangeant 1 ml de réactif de Folin 2 N avec 9 ml d'eau et conservé dans un flacon ambré. [12]

### Gamme étalon

La première étape de cette méthode consiste en la réalisation d'une gamme étalon à partir de cinq tubes de concentrations connues (fig.III.2). Cette gamme permet d'établir une courbe d'étalonnage de l'absorbance mesurée en fonction de la concentration. On a utilisé de le SBA (Sérum Albumine Bovine) comme protéine standard dans cette étude. Les concentrations utilisées pour cette gamme sont comprises dans la zone linéaire entre 0.03 à 0.3 mg/ml.

Les étalons ont été préparés à partir d'une solution stock de 0,3 mg/ml d'albumine sérique bovine en ajoutant le volume nécessaire aux tubes à essai complétés par le tampon pour avoir la concentration désirée, comme montré dans le tableau ci-dessous.

*Tableau 2: Préparation des étalons*

Etalons	1	2	3	4	5
[SBA] (mg/ml)	0,01	0,05	0,1	0,2	0,3
SBA Stock (µl)	33.33	66.66	333.33	666.66	1333.33
Tampon ( µl)	4900	1933.33	1666 .66	1333.33	666.6

### Mesure

La mesure est simple, 400 microlitres de chaque solution protéinique a été mélangé avec 400 µl de concentré Lowry dans des tubes à essai et le mélange a été mis à l'obscurité à température ambiante pendant 10 minutes. Très rapidement 200 microlitres de réactif de Folin 0,2 N a été ajouté puis mélangé immédiatement au vortex. Le mélange complet a été incubé pendant 30 minutes supplémentaires à température ambiante. En utilisant des cuvettes en polystyrène, les absorbances ont été mesurées à 750 nm à l'aide du spectrophotomètre UV-visible.

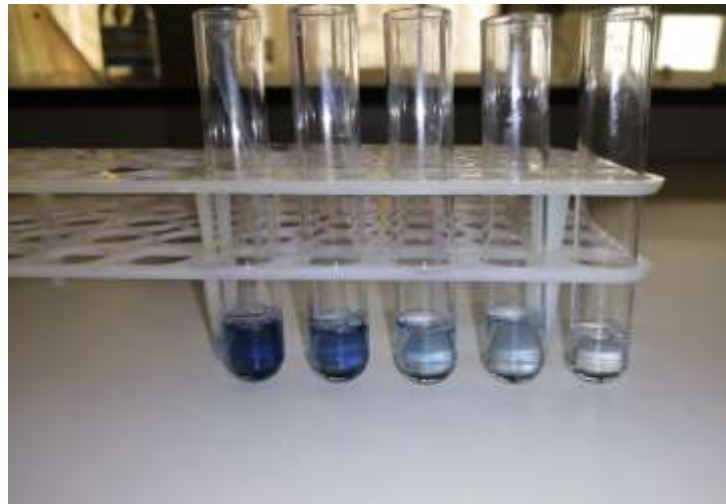


Figure 7 : Gamme étalon

Les valeurs obtenues à partir des tubes de la gamme étalon permettent de tracer une droite de l'absorbance = f (concentration) montrée ci-dessous. Cette proportionnalité permet de déterminer la quantité de protéine contenue dans l'extrait enzymatique.

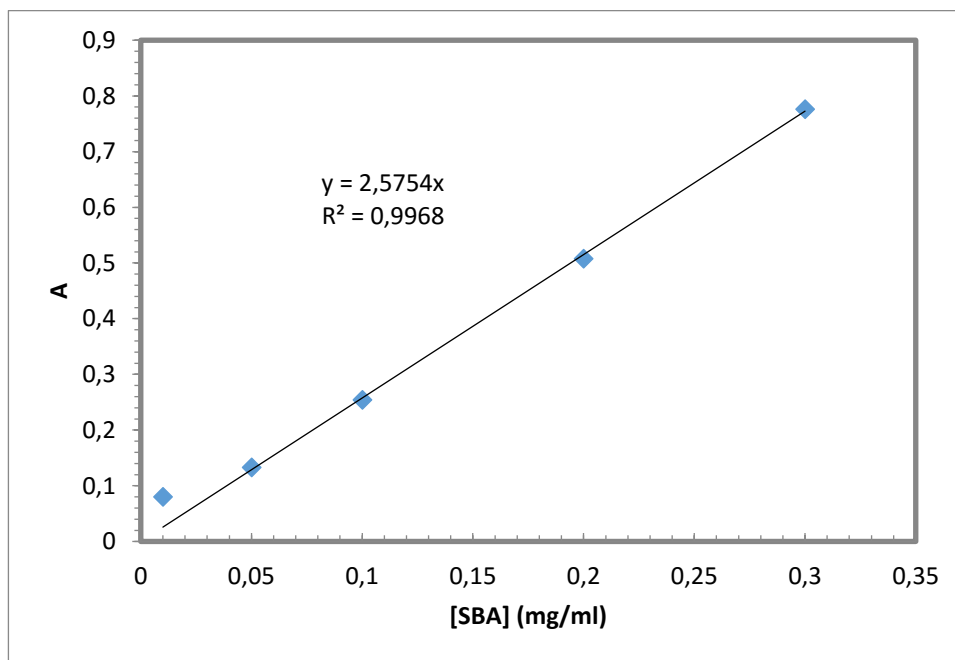
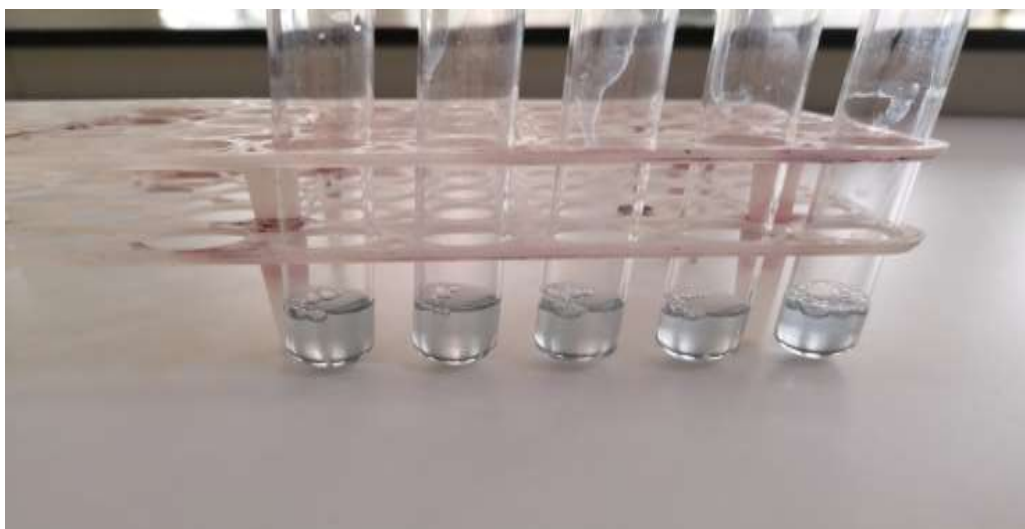


Figure 8 : Courbe d'étalonnage de l'albumine

Cette courbe d'étalonnage réalisée à partir de la solution de sérum albumine bovine (SBA) à 0,3 mg/ml nous a permis de déduire l'équation de la droite à partir de laquelle la concentration protéique de notre extrait a été calculée. Cette équation se présente sous la forme de :

$$A = 2,57 C \dots\dots\dots II.2$$

La dilution des échantillons, montrés dans la figure (III.3), a été effectuée à un facteur de dilution de 1000 fois avec le tampon phosphate citrate,



*Figure 9: Extrais enzymatiques dilués x1000 pour le dosage*

Le calcul de la concentration protéique doit prendre en considération le facteur de dilution Fd. Dans ce cas :

$$C = (A/2,57) \times Fd$$

Une fois cette équation déterminée, le calcul de la concentration protéique de l'extrait enzymatique se fait aisément, les résultats sont récapitulés dans le tableau ci-dessous ;

*Tableau 3 : Concentration enzymatique à différents milieux PH.*

<b>PH</b>	5	5,5	6	6,5	7
<b>[PPO] (mg/ml)</b>	32,29	32,29	29,57	29,57	33,85

Les concentrations obtenues sont satisfaisantes puisqu'elles révèlent la présence d'une quantité non négligeable de protéines dans nos extraits. Ainsi, les valeurs trouvées dans les différents milieux PH sont plus ou moins proches ce qui nous amène à conclure que le changement du PH n'a pas d'influence importante sur la concentration enzymatique des extraits.

### III.3. Calcul du rendement

Le rendement a été calculé en appliquant l'équation II.4 mentionnée dans le chapitre II. Sachant que la masse protéique est déduite directement de la concentration, étant donné que les volumes des extraits bruts sont mesurés précédemment. Les résultats sont illustrés dans le tableau ci-dessous ;

*Tableau 4: Rendements d'extraction à différents milieux PH*

PH	5	5.5	6	6.5	7
Masse protéique (mg)	871,98	839,68	946,30	857,58	1049,42
R (%)	2,90	2,79	3,15	2,85	3,49

Les valeurs de rendements obtenues sont très proches et varient entre 2,79 et 3,49 % dans les différents milieux PH, ce qui nous amène aussi à conclure que le changement du PH n'a pas d'influence importante sur le rendement de l'extraction.

### III.4 Mesure de l'activité enzymatique

L'activité enzymatique de nos cinq extraits a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible en présence d'air atmosphérique en utilisant le diphénol comme substrat en mesurant la production de l'o-benzoquinone comme produit d'oxydation à 410 nm ( $\epsilon = 1417 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) [ 14].

L'activité enzymatique (Figure III.2) a été déterminée à température ambiante dans le milieu réactionnel d'un volume total de 1 ml préparé dans du tampon phosphate citrate à 0.05M, contenant le diphénol à 20 mM, SDS 8 mM et 40  $\mu\text{l}$  de la solution enzymatique.

## PH 7

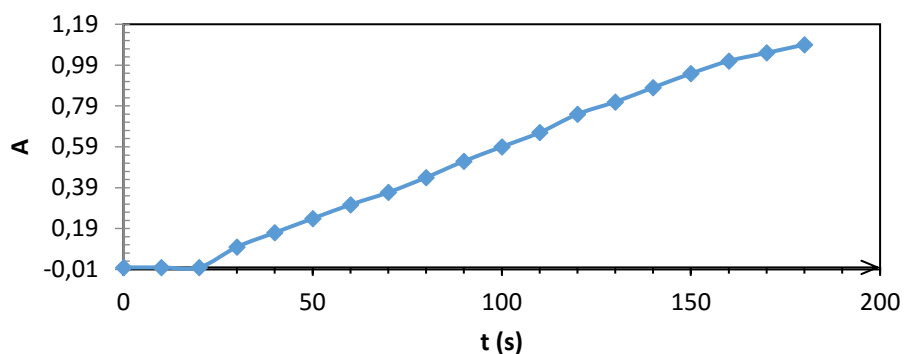
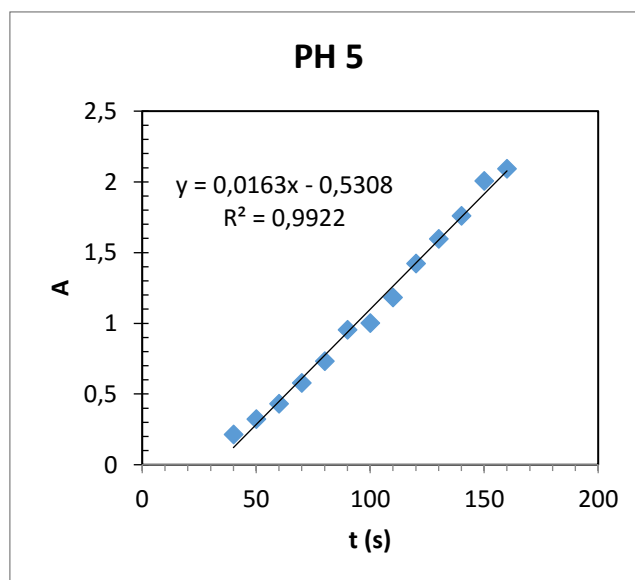
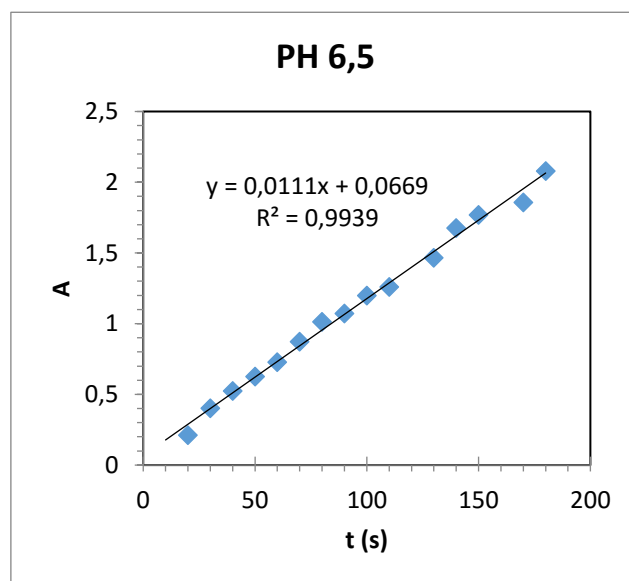
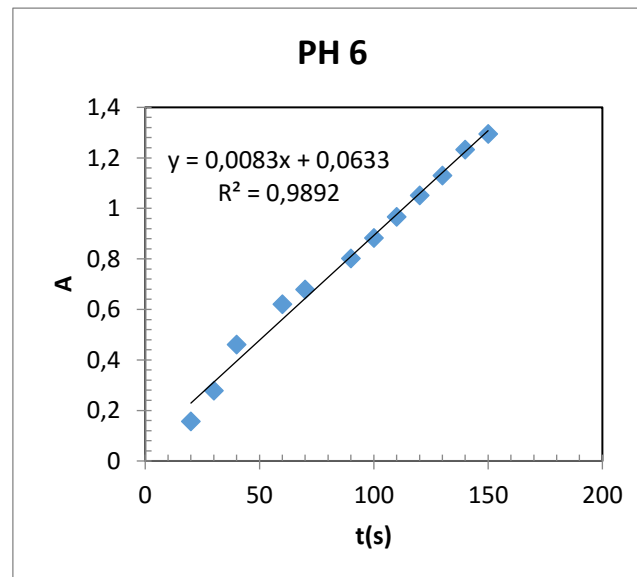
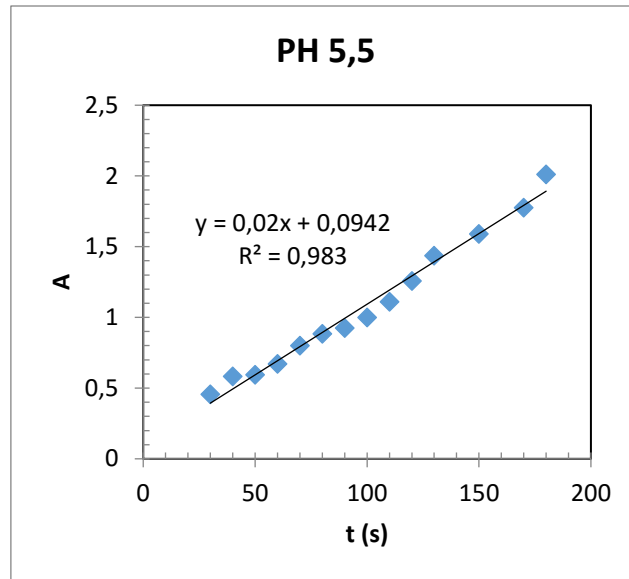


Figure 10 : Cinétique d'oxydation de diphenol par l'extrait brut de l'enzyme à PH=7

D'après cette courbe, une phase de latence a été observée au début de réaction ou l'enzyme est dans un état stationnaire et ne commence à interagir qu'après vingt seconds.

La vitesse initiale de l'activité enzymatique est calculée à partir de la pente de la partie linéaire de la courbe d'absorbance en fonction du temps. Les figures suivantes illustrent la partie linéaire de la cinétique enzymatique dans les cinq différents milieux PH étudiés afin de déterminer la vitesse initiale de la réaction ;





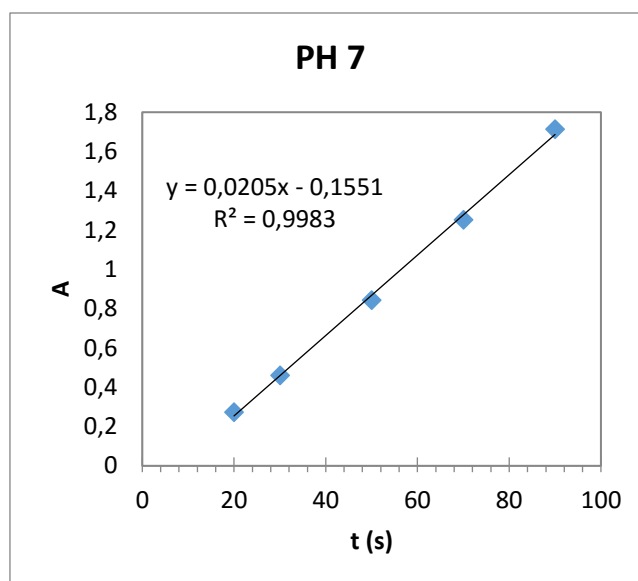


Figure 11: Vitesses initiales de l'activité enzymatique à différents PH

L'activité enzymatique de l'enzyme dans différents milieux PH sont calculées à partir de la formule III.5 citée dans le chapitre II, et les résultats obtenus sont illustrés dans la figure suivante ;

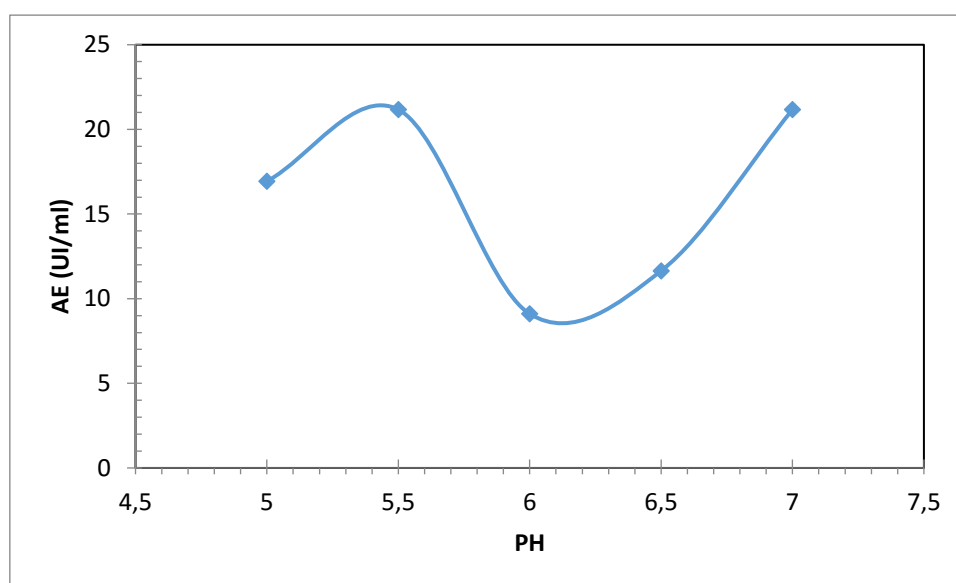


Figure 12: Influence du PH sur l'activité enzymatique

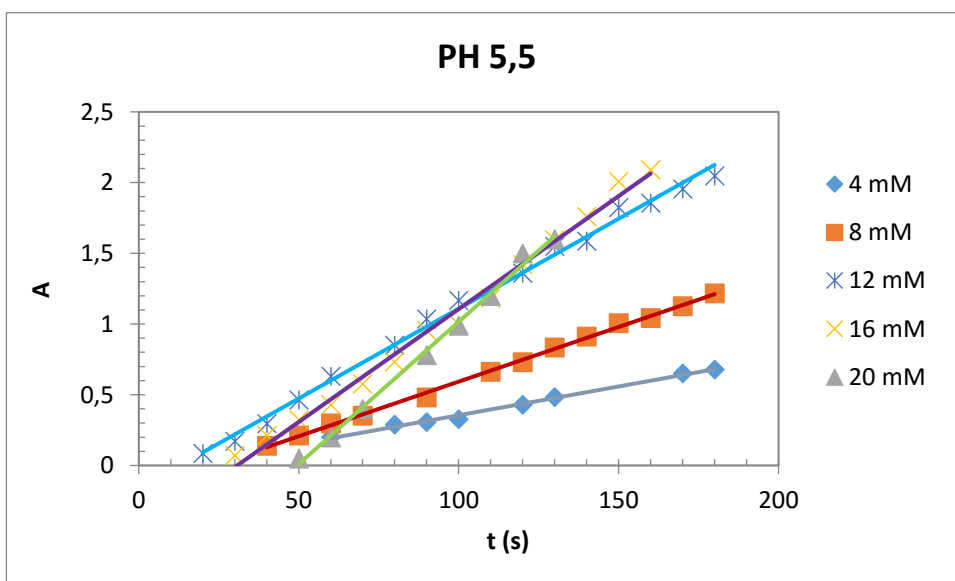
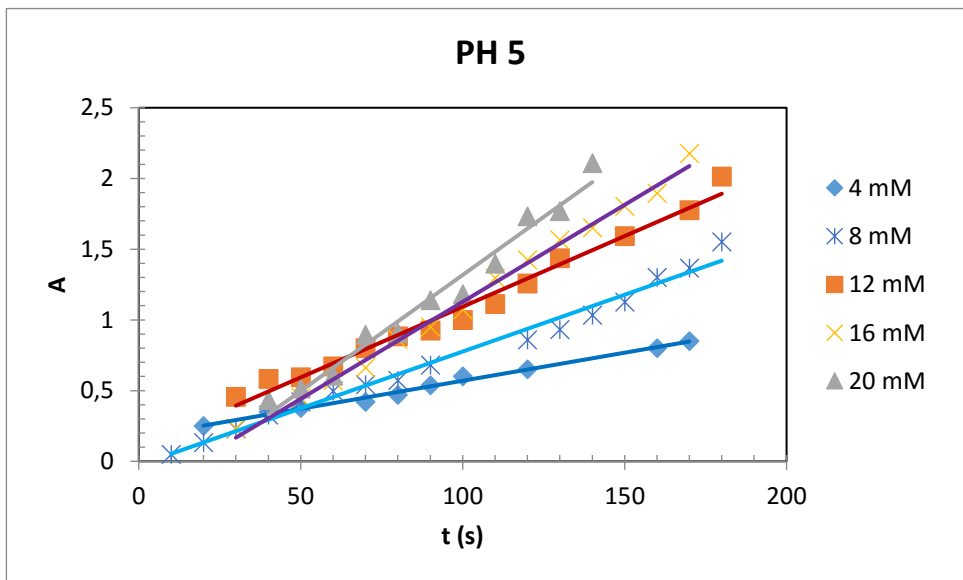
Le diphenol a été utilisé dans notre étude comme substrat pour la détermination des activités enzymatiques de l'extrait brut des épiluchures végétales dans cinq différents milieux PH. Nos résultats montrent que l'enzyme est capable d'oxyder ce substrat phénolique. Les activités enzymatiques ainsi mesurées ont une valeur maximale égale à 21,17 UI/ml obtenue

dans les deux milieux PH égales à 5,5 et 7 et diminue dans les autres PH avec une valeur minimale de 9,10 UI/ml trouvée à PH égale à 6.

### III.5 Détermination des paramètres cinétiques

L'influence de la variation de la concentration du substrat sur l'activité enzymatique des Épluchures végétales a été étudiée en utilisant le diphenol à des concentrations comprises entre 4 et 20 mM dans le mélange réactionnel.

Les figures suivantes montrent la cinétique d'oxydation enzymatique du diphenol à différentes concentrations dans les cinq milieux PH étudiés ;



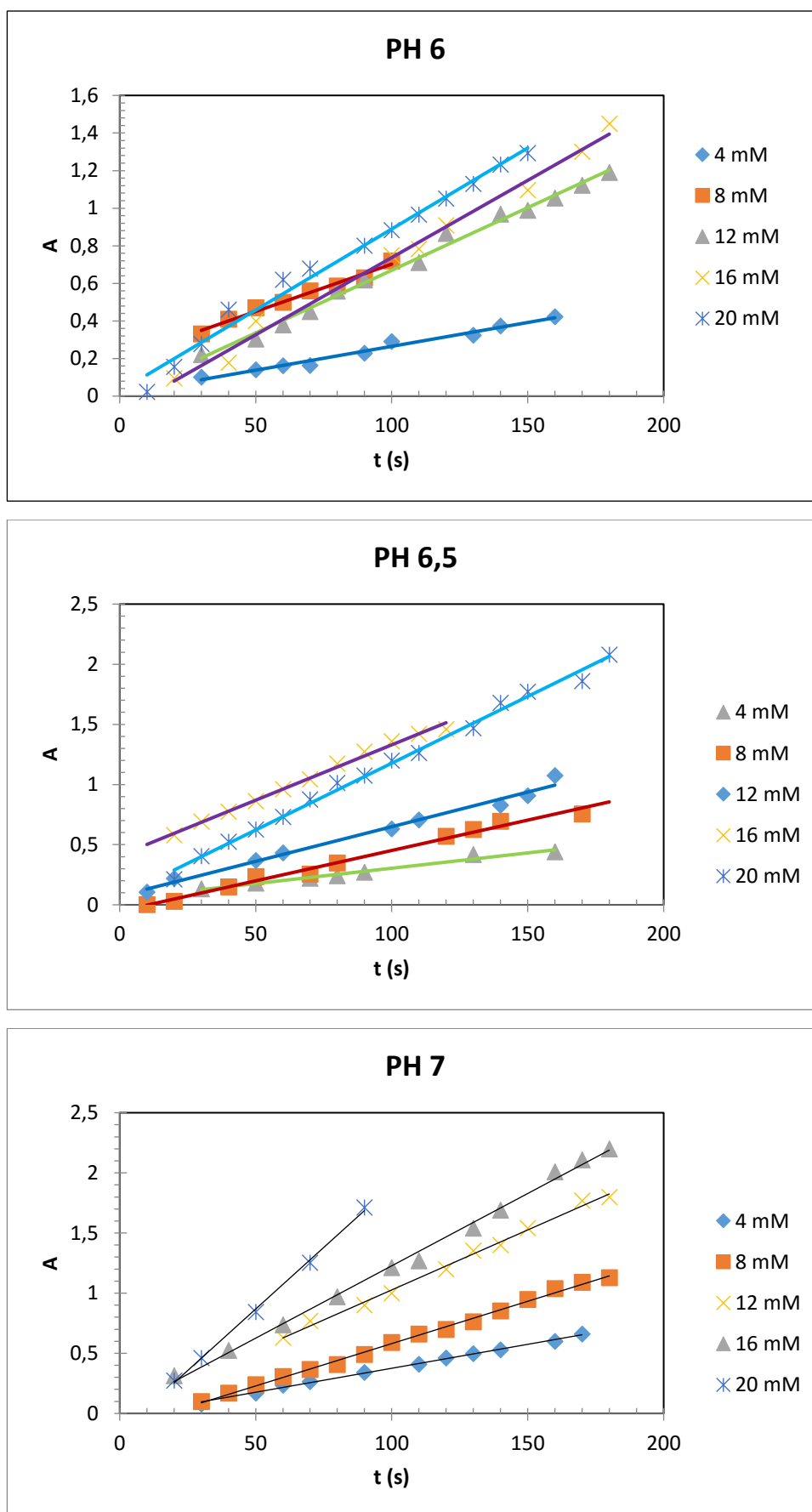
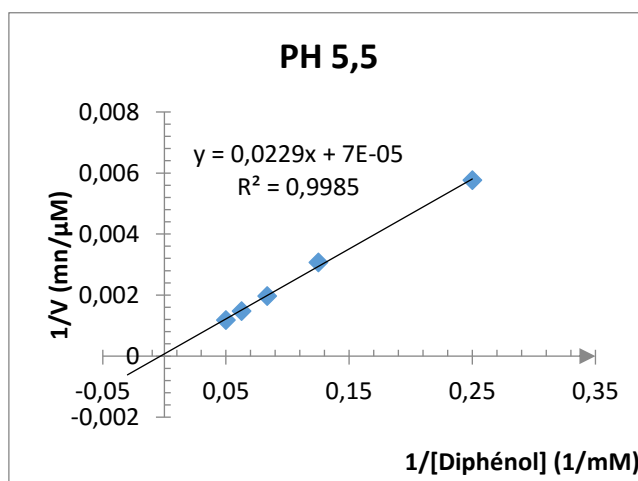
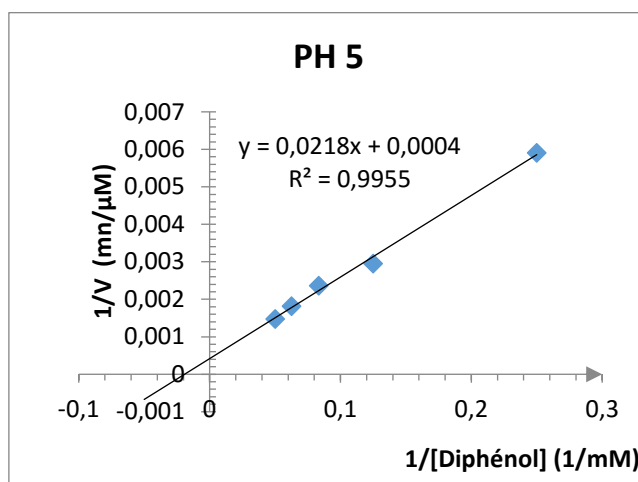


Figure 13: Cinétique d'oxydation du diphenol à différentes concentrations dans cinq milieux PH.

Les figures ci-dessus montrent que l'augmentation de la concentration en diphénol conduit à l'augmentation de l'absorbance en o-benzoquinone dans tous les domaines de PH étudiés et par conséquent l'augmentation de la vitesse initiale de la réaction ;

Nos résultats expérimentaux ont été traités à l'aide de l'équation de Lineweaver-Burk mentionnée dans le chapitre II. Les figures suivantes montrent les représentations graphiques de cette équation pour les cinq PH étudiés ;



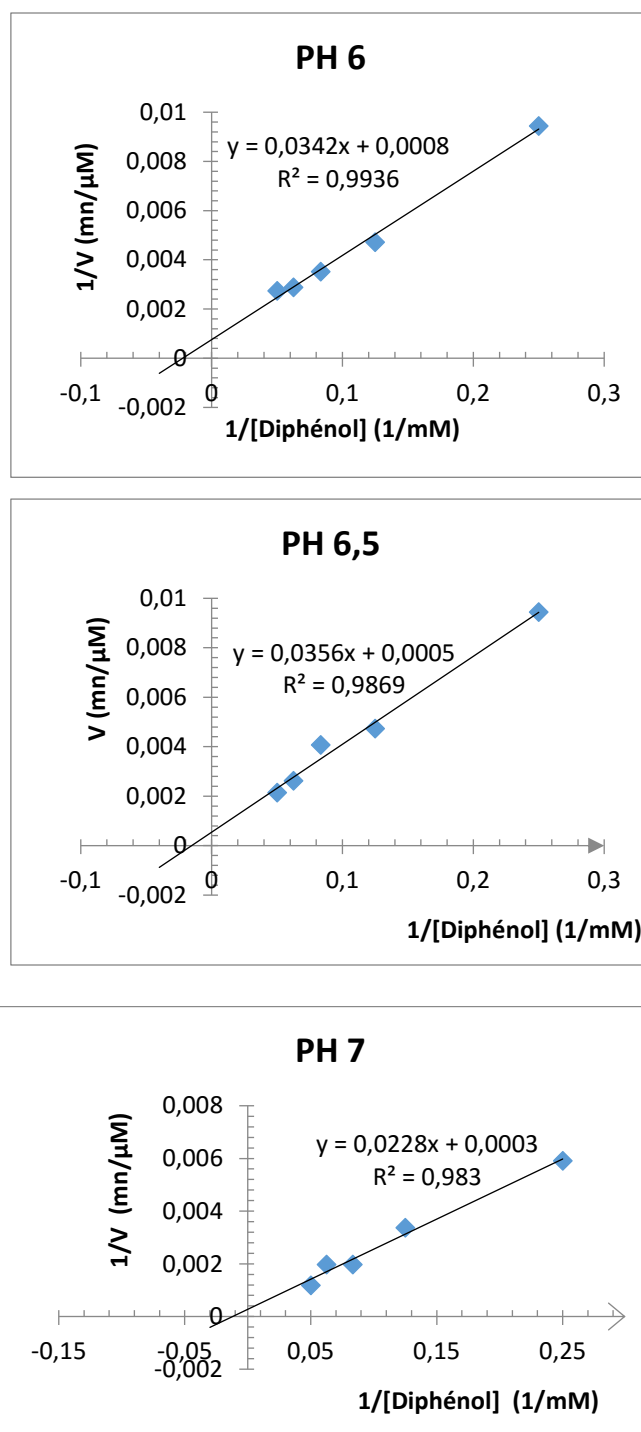
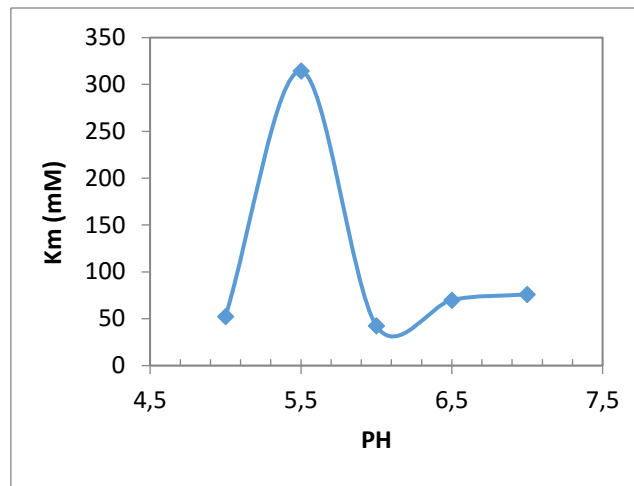
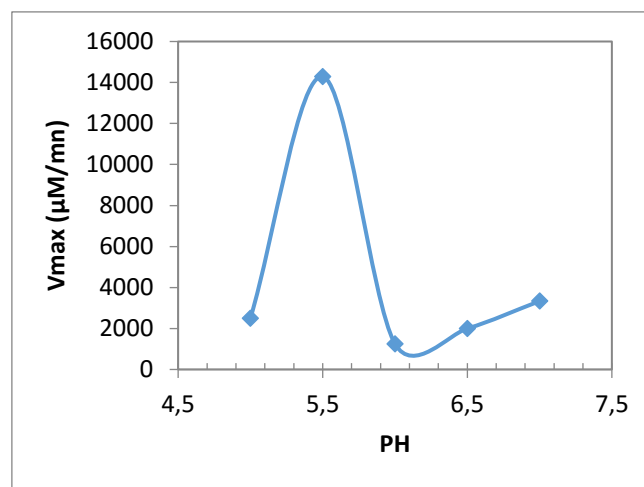


Figure 14: Représentation graphique de Lineweaver-Burk dans cinq milieux PH

D'après les valeurs du coefficient de corrélation linéaire ( $R^2$ ), l'oxydation du diphénol par l'extrait enzymatique des épiluchures végétales suit parfaitement une cinétique Michaelienne.

Les paramètres cinétiques  $V_{\max}$  et  $K_m$  ont été calculés à partir du graphique de Lineweaver-Burk pour les cinq milieux PH et les résultats obtenus sont montrés dans les figures suivantes ;

Figure 15: Variation de  $K_m$  en fonction de PHFigure 16: Variation de  $V_{max}$  en fonction de PH

Les figures 15 et 16 Montrent que les valeurs de  $V_{max}$  et  $K_m$  sont optimales dans le PH 5,5 et faibles en dehors de ce milieu. Etant donné que  $K_m$  représente la constante de dissociation du complexe enzyme-substrat, en d'autres termes elle mesure l'affinité du substrat pour l'enzyme, autrement dit ; une valeur élevée de  $K_m$  traduit une mauvaise affinité biochimique. Les graphiques obtenus indiquent qu'une vitesse maximale élevée présente un mauvais  $K_m$  et vice versa.

Pour déterminer l'efficacité catalytique ou le pouvoir catalytique de l'activité enzymatique, le rapport  $V_{max}/K_m$  a été calculé pour les cinq milieux étudiés. Les valeurs obtenues sont indiquées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5: Pouvoirs catalytiques et coefficient de corrélation du graphique de Lineweaver-Burk.

PH	5	5,5	6	6,5	7
$V_{\max}/K_m$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0,047	0,045	0,029	0,028	0,043
$R^2$	0,99	0,99	0,99	0,98	0,98

Les résultats du tableau 5 Montrent que le meilleur pouvoir catalytique  $V_{\max}/K_m$  est obtenu aux PH 5 ; 5,5 et 7 avec une valeur égale à  $0,045 \pm 0,002$ .

Comme il a été montré précédemment, la meilleure activité enzymatique est obtenue aux PH 5,5 et 7. Ainsi, l'affinité enzyme-substrat la plus faible est atteinte au PH 5,5 malgré sa vitesse maximale élevée.

D'après ces constatations nous pouvons conclure que le meilleur milieu PH pour extraire l'enzyme avec une bonne affinité et pouvoir catalytique élevée ainsi qu'une meilleure activité est le PH 7.

# *Conclusion*

Le travail présenté dans ce mémoire de fin d'étude concerne principalement l'étude de l'effet de PH de l'extraction sur les propriétés physicochimiques du biocatalyseur notamment le Rendement, l'activité enzymatique et concentration enzymatique.

Nous avons extrait le biocatalyseur a partir les épiluchures végétal dans les different milieux PH (5 ;5 .5 ;6 ;6 .5 ;7) dont les volumes bruit obtenus dans tous le milieux étudiés sont très proches

Les résultats obtenus montrent une concentration notable de protéines dans les extraits, avec peu de variation selon le pH, ce qui suggère que le changement de pH n'influence pas significativement la concentration enzymatique qui varie entre 29,5 g /l et 30g/l ni le rendement d'extraction, qui varie entre 2,79 % et 3,49 %.

L'activité enzymatique maximale (21,17 UI/ml) a été enregistrée à des pH de 5,5 et 7, tandis que la valeur minimale (9,10 UI/ml) a été observée à pH 6.

Le meilleur pouvoir catalytique ( $V_{max}/K_m$ ) est obtenu à des pH de 5, 5,5 et 7 avec une valeur de  $0,045 \pm 0,002$ .

# *Références*

- [1] BRIK Leila et guerriche Amira , Mémoire de Master , Université des Frères Mentouri Constantine 2020- 2021
- [2] <https://lesjoyeuxrecycleurs.com/lexique/traitement-des-dechets/>
- [3] Thakur, M., Rani, R., & Jha, D. K.. Valorization of food waste: A step towards sustainable management. In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*, 2018
- [4] <http://thesis.univ-biskra.dz/1000/3/chapitre%2001.pdf>
- [5] <https://jcmarot.com/wp-content/uploads/2024/02/biocatalyse.pdf>
- [6] <https://www.energeticanatura.com/fr-lu/ingr%C3%A9dients/bromelaine>
- [7] <https://www.toufood.com/product/pectinase-pectinase-enzyme-powder/?lang=en>
- [8] BEN AMMAR Lelya . Cour Enzymatique Appliquee ;Universite Batna 2 . Universitaire 2019 /2020
- [9] BENSALÉM Ouassim et HORCHI Dalila ,Contribution à l'étude de la production de cellulase levurienne par fermentation en milieu solide à base de déchets d'agrumes. Université des Frères Mentouri Master, 2020-2021.
- [10] Monsieur Hicham GOUZI thèse de Doctorant de l'université pierre et marie Extraction et caractérisation biochimique des polyphénol oxydases de champignons et leur application en biocatalyse supportée , 2014 ,
- [11] [https://biochim-agro.univ-lille.fr/brunissement/co/ch2\\_III.html](https://biochim-agro.univ-lille.fr/brunissement/co/ch2_III.html)
- [12] BENAMMAR leyla cour Enzymologie Applique Université Batna 2 ;
- [13] <https://www.sandre.eaufrance.fr/definition/QUL/1.3/RdtExtraction>
- [14] Maud Fumex thèse de Doctorant de Pharmacie, Les différentes méthodes d'analyse quantitative des protéines dans le domaine pharmaceutique : description, comparaison et nouvelles perspectives universite de lorraine 2019
- [15] cour Master 1 en BAC Faculté des sciences de la nature et de la vie
- [16] <https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/14565/activite-enzymatique>
- [17] Dr.i .fergani cour la cinetique enzymatique ; universite 3 ; constantine la cinetique enzymatique

# *Annexe*

**Les Propriétés chimiques des produits suivants :**

<b>Produits</b>	<b>Masse molaire</b>	<b>Marque</b>	<b>Pureté</b>	<b>Densité</b>	<b>Formule</b>
<b>Potassium hydrogène phtalate</b>	204.22g /mol	AnalaR NORMAPUR	99.9%	1,571 g/cm <sup>3</sup>	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> KO <sub>4</sub>
<b>Sulfate pentahydrate</b>	249.69 g/mol	SIGMA-ALDRICH	99.5%	2,286 g/cm <sup>3</sup>	CuSO <sub>4</sub> /5H <sub>2</sub> O
<b>Sodium carbonate anhydrous</b>	105.99 g/mol	BIOCHEM chemopharma	99%	2,54 g/cm <sup>3</sup>	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>

عنوان المذكرة: تثمين قشور الخضروات

المؤطر: بن دهقان سمية

الإسم: رانيا

اللقب: كلال

ملخص

في هذا العمل، قمنا بدراسة تأثير الرقم الهيدروجيني (pH) على الخصائص الفيزيائية والكيميائية للوسيط الحيوي. وقد لاحظنا أن الرقم الهيدروجيني لا يؤثر على التركيز والمردود، لكنه يؤثر على النشاط الإنزيمي، حيث يكون النشاط الأمثل عند الرقمين الهيدروجيين 5.5 و 7 على التوالي

كلمات مفتاحية: المحفز الحيوي، النشاط الإنزيمي، التثمين، النفايات، ...

---

**Memory title : Contribution to the recovery of vegetable peeling**

**Name: Kella**

**First name: Rania**

**Directed by: : Bendahganne Soumia**

**Abstract**

In this work, we studied the effect of pH on the physicochemical properties of the biocatalyst. We observed that pH does not affect the concentration and yield, but it does influence the enzymatic activity, which is optimal at pH 5.5 and pH 7, respectively.

**Key words:**Biocatalyst, enzymatic activity, valorization, preparations, ...

---

**Titre du mémoire : Contribution à la valorisation des épluchures végétales**

**Nom : Kellal**

**Prénom : Rania**

**Encadreur : Bendahganne Soumia**

**Résumé**

Dans ce travail, nous avons étudié l'effet de PH sur les propriétés physiques chimiques du biocatalyseur ; nous avons remarqué que le PH n'affecte pas la concentration et le rendement ; mais influe sur l'activité enzymatique où elle est optimale dans le milieu PH= 5.5 et PH= 7 respectivement.

**Mots clés :** Biocatalyseur ; Activité enzymatique, Valorisation, ,Déchets ...