



Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Prévention du brunissement enzymatique de l'aubergine violette (*Solanum melongena* L.) par traitement thermique : analyses cinétiques et thermodynamiques

Jocelyn Constant YAPI^{1*}, Kouamé Claude YA¹, Mankambou Jacques GNANWA¹ et Lucien Patrice KOUAME²

¹Department of Biochemistry and Microbiology, Agroforestry unit, University Lorougnon Guédé, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire.

²Laboratory of Biochemistry and Food Technology, University Nangui Abrogoua, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire.

*Auteur correspondant; E-mail: yapjocelynconstant@yahoo.fr; BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire.

Cel: +225 07 49 00 12 69

Received: 26-05-2021

Accepted: 21-10-2021

Published: 30-10-2021

RESUME

Le brunissement enzymatique est associé à l'action des polyphénol oxydases (PPO) et des peroxydases (POD). Les produits de ces enzymes provoquent des changements indésirables de couleur et de saveur des aubergines transformées. Une dopamine oxydase responsable du brunissement enzymatique a été isolée de l'aubergine violette (*Solanum melongena* L.). Ainsi, l'inactivation thermique et l'analyse thermodynamique ont été étudiées sur une base cinétique afin de contrôler ce phénomène physiologique. Les études cinétiques ont montré que l'inactivation thermique de l'activité dopamine oxydase de l'aubergine violette suivait une cinétique de premier ordre aux températures comprises entre 35 – 80 °C, avec des constantes de vitesse (k) comprise entre $0,0101 \pm 0,0001$ et $0,0865 \pm 0,0004 \text{ min}^{-1}$. Les temps de réduction décimale (D) et k ont diminué et augmenté respectivement avec l'augmentation de la température, indiquant une inactivation plus rapide de la dopamine oxydase à des températures plus élevées. Les résultats suggèrent que dopamine oxydase est une enzyme relativement thermostable avec une constante de résistance (Z) de $50,25 \pm 0,7 \text{ °C}$ et une énergie d'activation (E_a) de $40,65 \pm 0,6 \text{ kJmol}^{-1}$. Les résultats thermodynamiques ont indiqué que les réactions d'oxydation étaient : non spontanées ($\Delta G > 0$), légèrement endothermiques ($\Delta H > 0$) et réversibles ($\Delta S < 0$). Ces données cinétiques peuvent être utilisées dans la prévention du brunissement enzymatique de la pulpe d'aubergine violette par l'inactivation thermique de l'enzyme.

© 2021 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés: Brunissement enzymatique, analyse cinétiques et thermodynamiques, *Solanum melongena* L., aubergine violette, Prévention, dopamine oxydase.

Prevention of enzymatic browning of violet eggplant (*Solanum melongena* L.) by heat treatment: kinetic and thermodynamic analyses

ABSTRACT

Enzymatic browning is associated with the action of polyphenol oxidases (PPO) and peroxidases (POD). The products of these enzymes cause undesirable changes of color and flavor of processed eggplant products. A dopamine oxidase responsible for enzymatic browning was isolated from violet eggplant (*Solanum*

© 2021 International Formulae Group. All rights reserved.

8871-IJBSC

DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v15i5.27>

melongena L.). Thus, thermal inactivation and thermodynamic analysis were studied on a kinetic basis to control this physiological phenomenon. Kinetic studies showed that thermal inactivation of dopamine oxidase activity in purple eggplant followed first-order kinetics at temperatures between 35 - 80 °C, with speed constants (k) values between 0.0101 ± 0.0001 and 0.0865 ± 0.0004 min⁻¹. The decimal reduction times (D) and k values decreased and increased, respectively, with increasing temperature, indicating more rapid inactivation of dopamine oxidase at higher temperatures. The results suggest that dopamine oxidase is a relatively thermostable enzyme with a resistance constant (Z) value of 50.25 ± 0.7 °C and an activation energy (Ea) of 40.65 ± 0.6 kJmol⁻¹. Thermodynamic results indicated that the oxidation reactions were: non-spontaneous ($\Delta G > 0$), slightly endothermic ($\Delta H > 0$), and reversible ($\Delta S < 0$). These kinetic data can be used in the prevention of enzymatic browning of purple eggplant pulp by thermal inactivation of the enzyme.

© 2021 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: Enzymatic browning, kinetic and thermodynamic analysis, *Solanum melongena* L., violet eggplant, Prevention, dopamine oxidase.

INTRODUCTION

Avec une production mondiale de 5,6 millions de tonnes, soit le 9^{ème} rang parmi les légumes, l'aubergine fait l'objet de très peu d'échanges internationaux et alimente en priorité les marchés de proximité et nationaux (Caburet et al., 2002). L'aubergine africaine est l'un des légumes-fruits les plus couramment cultivés et consommés en Afrique tropicale. Elle occuperait la 3^{ème} place en volume de consommation après la tomate, l'oignon et le gombo (Lester et Seck, 2004). Compte tenu de l'absence de statistique fiable, des auteurs estiment la production annuelle de fruits à 4 500 tonnes au Burkina Faso, 8 000 tonnes au Sénégal et 60 000 tonnes en Côte d'Ivoire, pour l'Afrique Subsaharienne (FAO, 2010).

L'aubergine est une plante potagère de la famille des Solanacées, cultivée pour son fruit et ses feuilles, elle possède une importance économique dans les pays méditerranéens et en Asie (Daunay et al., 1993). On la rencontre aussi en Amérique et en Afrique. Sa culture est possible dans les climats très variés (tempérés, tropical sec ou humide). Ainsi, *Solanum melongena* L. renferme de nombreux types de cultivars qui varient entre eux selon la couleur, la taille et la forme d'aubergine (Grubben et Denton, 2004). Elle contient de nombreux métabolites secondaires, notamment les polyphénols et elle constitue une bonne source de vitamines et minéraux. Sa valeur nutritionnelle est comparable à celle de la tomate (Apak et al., 2007).

Malgré sa très forte consommation, la commercialisation de l'aubergine demeure

informelle et sa conservation post-récolte reste un réel problème. En effet, l'attaque des micro-organismes, les blessures occasionnées pendant la récolte entraînent beaucoup de pertes. Tous ces dommages subis lors de la culture et de la conservation sont provoqués par des enzymes tels que les polyphénoloxydases et les peroxydases qui affectent négativement sa qualité marchande, sanitaire et nutritive.

Les polyphénoloxydases (PPO) sont des métalloprotéines à cuivre responsables du brunissement enzymatique (Brat, 2001). Le brunissement des produits végétaux survient en condition de stress due à un décompartimentation subcellulaire favorisant la pénétration de l'oxygène qui entraîne le contact PPO-substrat (Perez-Gilabert et Carmona, 2000). Ce stress peut être dû à la récolte, au transport, au stockage, au pelage, au découpage, à la conservation au froid ou à des infections microbiennes (Manzocco et al., 2001).

Cependant, le brunissement enzymatique est une réaction très néfaste pour les fruits, les légumes vendus frais etc. Les conséquences de ce brunissement sont la perte de la valeur nutritive, la décoloration et la détérioration de la qualité organoleptique de l'aliment (De Rigal, 2001).

Les lourdes pertes engendrées par le brunissement enzymatique ont suscité un intérêt considérable pour la compréhension et le contrôle de l'activité polyphénoloxydasique dans les aliments. Ainsi plusieurs stratégies ont été développées pour prévenir ce phénomène physiologique. Elles concernent l'utilisation

d'agents réducteurs tels que l'acide ascorbique, les composés thiolés, les sulfites et des traitements physiques (Laurila et ahvenainen, 2002).

Le but de ce travail était d'étudier l'inactivation thermique de la dopamine oxydase de la pulpe d'aubergine violette (*Solanum melongena* L.) sur une base cinétique, une méthode qui permet de déterminer des calculs précis des paramètres cinétiques et thermodynamiques, pour inactiver les enzymes de l'aubergine et permettent de contrôler l'impact d'un traitement thermique donné, sans toutefois altérer la qualité organoleptique et/ou la texture de l'aliment par la chaleur (Van Loey et al., 2005).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel végétal et produits chimiques

Les aubergines violettes (*Solanum melongena* L.) matures et fraîches sans blessure ont été achetées sur le grand marché de Lobia (Daloa, Côte d'Ivoire). Quatre (4) lots de cinq (5) aubergines ont servis pour la manipulation. Tous les produits chimiques et les réactifs étaient de qualité analytique et ont été achetés auprès de Merck A.G. (Darmstadt, Allemagne) et de Sigma Chemical Company (St. Louis, USA).

Extraction de la dopamine oxydase

Un échantillon d'aubergine (150 g) a été broyé dans un mixeur (Moulinex, France) et homogénéisé pendant 10 min dans 300 ml de NaCl 0,9% (p/v). L'homogénat obtenu a été centrifugé à 8000 g pendant 10 min à 4 °C (Centrifugeuse réfrigérée TGL-16M, Chine). Le surnageant recueilli était l'extrait enzymatique brut utilisé pour les tests d'activité dopamine oxydase (Kouamé et al., 2015).

Mesure l'activité dopamine oxydase

L'activité dopamine oxydase a été déterminée en utilisant la dopamine comme substrat. Le mélange réactionnel ajusté à 2 mL avec un tampon phosphate de sodium à pH 7,0, contenait 0,1 mL d'extrait enzymatique brut et 10 mM de substrat (conditions standards). Ce mélange réactionnel a été incubé à 25 °C pendant 10 min. La lecture de la densité

optique a été faite au spectrophotomètre (SHIMADZU, UV-120-02) à 480 nm contre un témoin ne contenant pas d'extrait brut enzymatique. Une unité d'activité enzymatique (U) a été définie comme étant la quantité d'enzyme capable de causer une élévation d'absorbance égale à 0,001 par minute (Cong et al., 2005).

Analyses cinétique et thermodynamiques de la dopamine oxydase au cours de l'inactivation thermique

Milieu réactionnel

La thermostabilité de la dopamine oxydase de l'aubergine violette a été évaluée par pré-incubation à différentes températures (35 – 80 °C) pendant 60 min. Toutes les 5 min, une aliquote de 0,1 mL a été prélevée et refroidie à la température ambiante pendant 10 min, puis utilisée pour le déclenchement de la réaction dans les conditions standards. Les activités enzymatiques déterminées ont été ensuite exprimées soit en pourcentage d'activité par rapport à l'activité maximale, soit en activité spécifique d'inhibition (Yoruk et al., 2003).

Techniques d'exploitation des résultats

Les analyses cinétiques et thermodynamiques ont été faites à des températures comprises entre 35 à 80 °C.

L'influence de la température sur la vitesse de la réaction de l'enzyme est donnée par l'équation d'Arrhenius (Arrhenius 1889):

$$\ln [A_t/A_0] = -kt \quad (1)$$

Où A_t est l'activité inhibitrice de l'extrait brut du fruit d'aubergine violette au temps t , A_0 est l'activité initiale inhibitrice de ce même extrait et k la constante de la vitesse de la réaction d'inhibition (min^{-1}). Les valeurs de k ont été obtenues à partir de la droite de régression de $\ln [A_t / A_0]$ en fonction du temps, où k est la pente.

D représente le temps nécessaire (à une température donnée) pour réduire l'activité inhibitrice de l'extrait brut de 90% de sa valeur initiale. Le temps de réduction décimale (D) a été calculé selon l'équation suivante (Stumbo, 1973):

$$D = 2,303/k \quad (2)$$

Z (°C) est la constante de résistance thermique. Elle traduit l'élévation de température nécessaire pour réduire la valeur de D de 90%:

$$\text{Log } [D_1/D_2] = [T_2-T_1]/Z_T \quad (3)$$

Où T₁ et T₂ représentent respectivement les basses et fortes températures exprimées en °C ou °K, D₁ et D₂ exprimées en min sont respectivement les temps de réduction décimale aux températures T₁ et T₂. Les valeurs de Z ont été estimées à partir de la représentation graphique de log D en fonction de la température (T).

La relation entre la température et la constante de vitesse au cours de la dénaturation thermique est donnée par l'équation d'Arrhenius (Arrhenius, 1889):
k = Ae^(-Ea/RT) qui peut s'écrire aussi de la façon suivante:

$$\ln k = \ln A - E_a/R \times T \quad (4)$$

Où k est la constante de vitesse d'inhibition, A est la constante d'Arrhenius, E_a est l'énergie d'activation, R est la constante des gaz parfait (8,31 Jmol⁻¹K⁻¹) et T est la température absolue en Kelvin. La représentation graphique de Ln k en fonction de la température absolue a permis d'observer une droite linéaire. La pente de cette droite a permis de calculer l'énergie d'activation et l'ordonné à l'origine correspond à Ln A (Dogan et al., 2002).

Les valeurs de l'énergie d'activation (E_a) et de la constante d'Arrhenius constant (A) ont permis de déterminer différents paramètres thermodynamiques (Marin et al., 2003). Ce sont les variations d'enthalpie ΔH[#], d'entropie ΔS[#] et d'énergie libre ΔG[#] qui ont été données par les équations de Galani et Owusu (1997):

$$\Delta H^{\#} = E_a - RT \quad (5)$$

$$\Delta S^{\#} = R (\ln A - \ln K_B/h_P - \ln T) \quad (6)$$

$$\Delta G^{\#} = \Delta H^{\#} - T \Delta S^{\#} \quad (7)$$

K_B, h_P et T sont respectivement la constante de Boltzmann (1,38 x 10⁻²³ J/K), la constante de Planck constant (6,626 x 10⁻³⁴ J.s) et la température absolue.

Analyses statistiques

L'estimation de l'écart type a été faite par le calcul de l'écart type S, qui est une caractéristique de dispersion rendant compte de

la dispersion des mesures autour de la valeur moyenne.

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X_i - X)^2}{N - 1}} \quad (8)$$

RÉSULTATS

Analyses cinétiques

Influence de la température et du temps de pré-incubation sur la dopamine oxydase

Le **Tableau 1** présente le profil de stabilité thermique de la dopamine oxydase de l'extrait brut de l'aubergine violette (*Solanum melongena* L.). Aux températures comprises entre 35 – 80 °C, la dénaturation de l'enzyme s'est produite après 5 min de pré-incubation dans le tampon phosphate de sodium 100 mM pH 7,0. Le chauffage de l'enzyme à 55 °C pendant 15 min a eu comme conséquence la réduction de la moitié (environ 53,79%) de l'activité de l'enzyme. La dopamine oxydase a été totalement inactivée après 30 min de pré-incubation à 80 °C (92% d'inhibition).

Constantes de vitesse et demi-vies de la dopamine oxydase

Les représentations graphiques de Ln A_t/A_o en fonction du temps de pré-incubation de la dopamine oxydase aux températures comprises entre 35 – 80 °C ont donné des droites affines (Figures 1 et 2). Les constantes de vitesse (valeurs de k) de la réaction catalysée par la dopamine oxydase de l'aubergine au cours de l'inactivation thermique sont présentées dans le Tableau 2. A partir de ce tableau, il ressort que l'enzyme est moins thermostable à une température supérieure ou égale à 55 °C. L'augmentation de la température de 35 à 80 °C entraîne une diminution des valeurs de demi-vie de l'enzyme étudiée (Tableau 2).

Valeurs de D, Z et Ea de la dopamine oxydase au cours de l'inactivation thermique

La représentation du logarithme des temps de réduction décimale (log D) en fonction de la température de pré-incubation de la dopamine oxydase a été décrite par une droite affine. L'équation de la représentation est: Log D = -0,0199T + 3,168 (Figure 3). Elle

a permis de déterminer les valeurs des constantes de résistances (Z) de l'enzyme qui est de 50,25 °C (Tableau 3).

La valeur de D obtenue pour la dopamine oxydase à la température de pré-incubation de 35 °C, diminuait de façon linéaire (Figure 3) de 228,02 à 26,62 min, quand la température augmente pour atteindre 80 °C (Tableau 3).

La représentation graphique de ln(k) en fonction de l'inverse de la température en degré Kelvin a donné aussi une droite affine de pente négative (Figure 4). Cette cinétique est décrite par l'équation : $\ln k = -4892,5 (1/T) + 11,51$ où T représente la température absolue. L'énergie d'activation (Ea) de la dopamine oxydase est positive. Elle est de 40,65 kJ/mol.

Analyses thermodynamiques de l'inactivation thermique de la dopamine oxydase

Les valeurs des paramètres thermodynamiques du système d'inactivation thermique de la dopamine oxydase de l'extrait brut du fruit d'aubergine violette (*Solanum melongena*) sont consignées dans le Tableau 4. Les valeurs d'enthalpies ($\Delta H^\#$) et d'énergies libre ($\Delta G^\#$) étaient positives alors que celles des entropies ($\Delta S^\#$) étaient négatives. Les moyennes de ces paramètres thermodynamiques aux températures comprises entre 35 – 80 °C, sont respectivement de $38,48 \pm 0,03$ kJ/mol, de $48,87 \pm 0,01$ kJ/mol et de $-199.89 \pm 0,02$ J mol⁻¹ K⁻¹ (Tableau 4).

Tableau 1 : Activités résiduelles de la dopamine oxydase de l'extrait brut de l'aubergine violette (*Solanum melongena* L.) en fonction de la température et du temps de pré-incubation.

T (°C)	Activité résiduelle (%) pour chaque temps de pré-incubation (min)					
	5	10	15	20	25	30
35	95.03	91.84	85.98	82.17	77.80	73.34
40	92.77	84.02	78.26	70.40	63.70	58.70
45	91.30	81.65	74.71	65.70	59.45	54.05
50	88.69	75.00	63.64	55.99	49.90	42.66
55	83.09	68.39	53.79	47.14	38.60	31.60
60	77.72	63.64	50.56	40.98	32.63	25.87
65	72.61	59.45	47.14	36.06	26.71	21.87
70	68.97	51.71	38.60	28.59	21.87	15.69
75	67.03	49.42	31.54	22.00	16.18	10.65
80	60.65	40.09	26.18	17.31	11.60	7.89

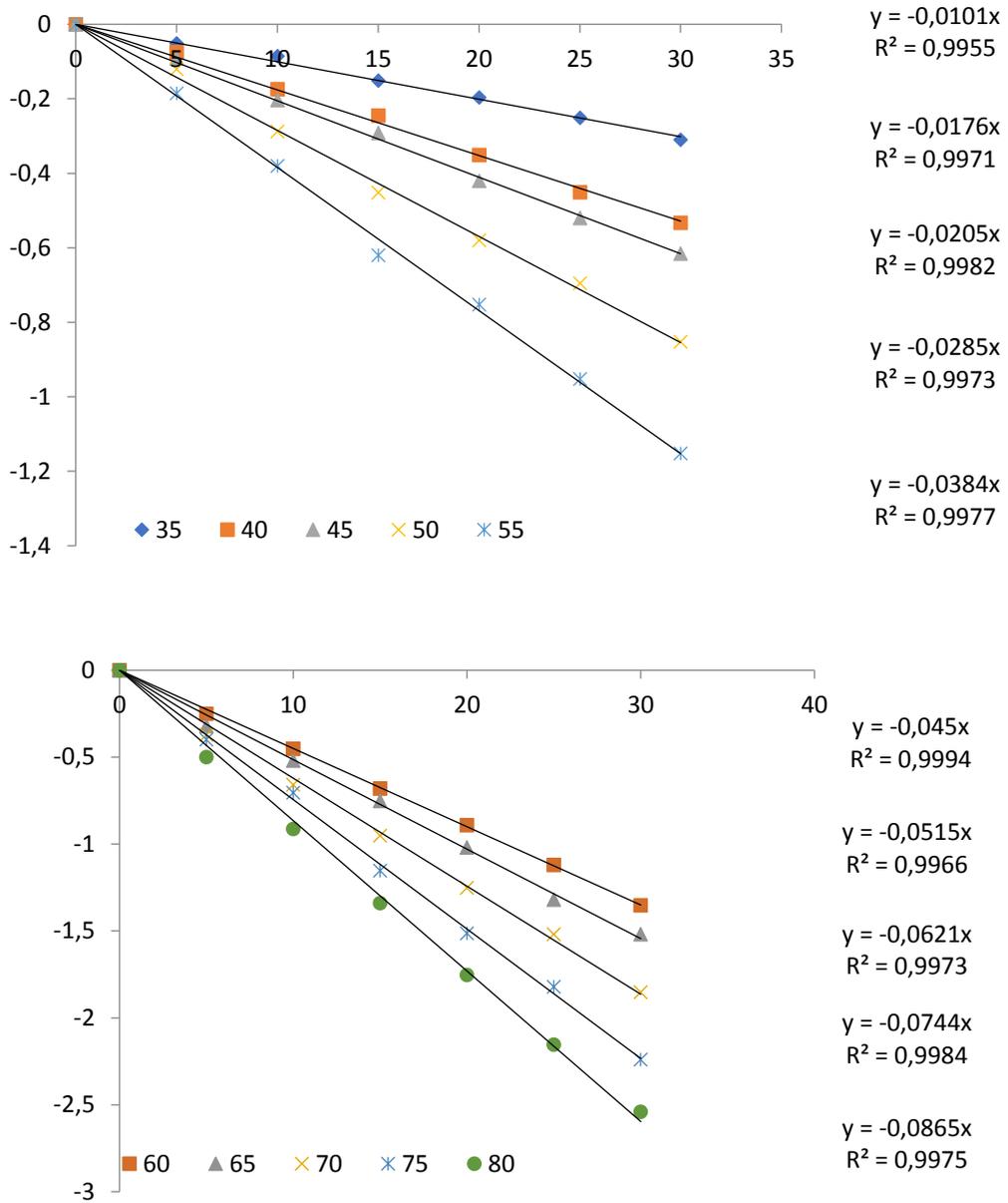


Figure 1 : Influence du temps de pré-incubation à différentes températures (35 à 80 °C) sur l'activités dopamine oxidase de l'extrait brut de l'aubergine violette (*Solanum melongena* L.). A_0 et A_t sont respectivement les activités enzymatiques avant et après le chauffage.

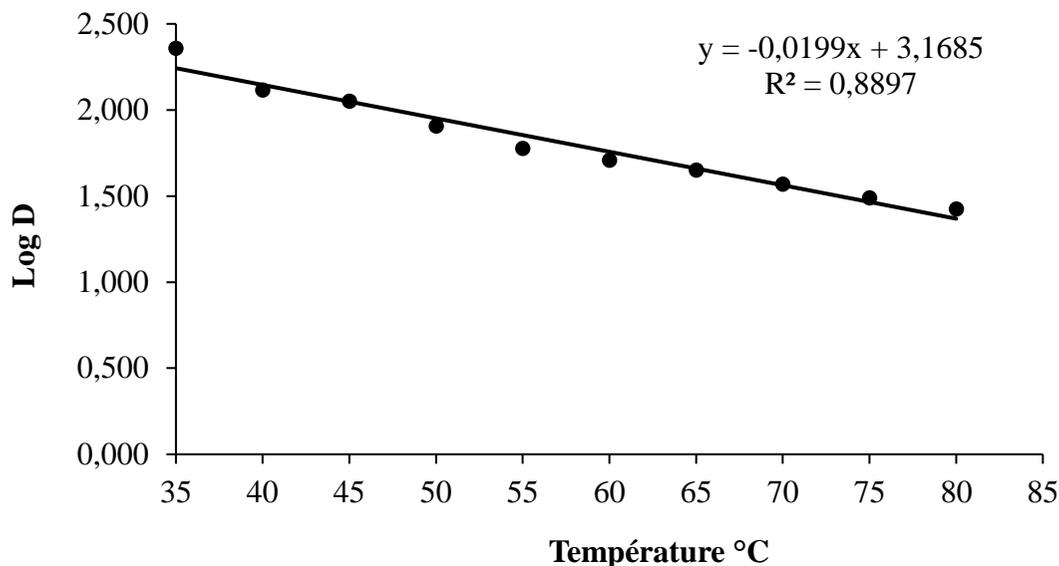


Figure 2 : Influence de la température sur les valeurs de D au cours de l'inactivation thermique de l'activités dopamine oxidase de l'extrait brut de l'aubergine violette (*Solanum melongena* L.).

Tableau 2 : Constantes de vitesse et demi-vies de l'activité dopamine oxidase de l'extrait brut de l'aubergine violette (*Solanum melongena* L.) au cours de l'inactivation thermique entre 35 - 80 °C.

Températures (°C)	T _{1/2} (min)	K (min ⁻¹)	R ²
35	68.63 ± 2,01	0,0101 ± 0,0001	0,9993
40	39.38 ± 1,5	0,0176 ± 0,0002	0,9991
45	33.81 ± 0,9	0,0205 ± 0,0001	0,9993
50	24.32 ± 1,5	0,0285 ± 0,0002	0,9993
55	18.05 ± 1,9	0,0384 ± 0,0004	0,9993
60	15.40 ± 0,9	0,045 ± 0,0003	0,9988
65	13.46 ± 1,5	0,0515 ± 0,0005	0,9994
70	11.16 ± 0,9	0,0621 ± 0,0002	0,9991
75	9.31 ± 1,9	0,0744 ± 0,0003	0,9995
80	8.01 ± 0,04	0,0865 ± 0,0004	0,9999

Les valeurs indiquées représentent la moyenne de trois déterminations (n = 3).

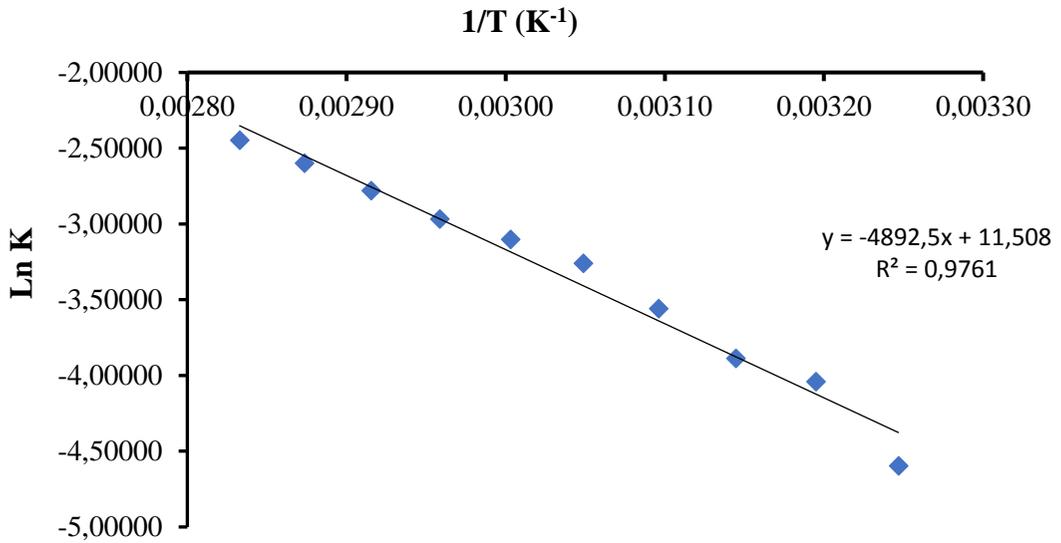


Figure 3 : Influence de la température sur la constante de la vitesse de la réaction catalysée par l'activités dopamine oxydase de l'extrait brut de l'aubergine violette (*Solanum melongena* L.).

Tableau 3 : Valeurs de D, Z et de Ea de l'activité dopamine oxydase de l'extrait brut de l'aubergine violette (*Solanum melongena* L.) au cours de l'inactivation thermique entre 35 – 80 °C.

D (min)	Activités dopamine oxydase
	Valeurs
35	228.02 ± 2,25
40	130.85 ± 1,05
45	112.34 ± 1,74
50	80.80 ± 1,07
55	59.97 ± 2,65
60	51.18 ± 1,03
65	44.71 ± 1,05
70	37.08 ± 0,9
75	30.95 ± 1,03
80	26.62 ± 1,05
Z (°C)	50.25 ± 0,7
Ea (kJ/mol)	40.65 ± 0,6

D, Z et Ea sont respectivement le temps de réduction décimale, la constante de résistance thermique et l'énergie d'activation de l'activités dopamine oxydase, Les valeurs indiquées représentent la moyenne de trois déterminations (n = 3).

Tableau 4 : Paramètres thermodynamiques de l'inactivation thermique l'activité dopamine oxydase de l'extrait brut de l'aubergine violette (*Solanum melongena* L.) entre 35 et 80 °C.

Température (°C)	Paramètres thermodynamiques		
	$\Delta H^\#$ (kJ/mol)	$\Delta S^\#$ (J mol ⁻¹ K ⁻¹)	$\Delta G^\#$ (kJ/mol)
35	38.09 ± 0,01	-199.89 ± 0,01	99.66± 0,02
40	38.05± 0,01 ^f	-199.89 ± 0,03	100.62± 0,04
45	38.01 ± 0,04	-199.89 ± 0,04	101.57± 0,12
50	37.97 ± 0,02	-199.89 ± 0,02	102.53± 0,01
55	37.93 ± 0,02	-199.89 ± 0,01	103.49± 0,03
60	37,88 ± 0,03	-199.89 ± 0,03	104.45± 0,02
65	37.84 ± 0,01	-199.89 ± 0,02	105.41± 0,01
70	37.80 ± 0,02	-199.89 ± 0,04	106.36± 0,01
75	37.76 ± 0,04	-199.89 ± 0,01	107.32± 0,02
80	37.72 ± 0,01	-199.89 ± 0,03	108.28± 0,01
Moyennes	37,90 ± 0,03	-199.89 ± 0,02	103,97 ± 0,01

$\Delta H^\#$, $\Delta S^\#$ et $\Delta G^\#$ sont respectivement l'enthalpie, l'entropie et l'énergie libre du système. Les valeurs indiquées représentent la moyenne de trois déterminations (n = 3).

DISCUSSION

La température est l'un facteur intervenant dans le processus de dénaturation des protéines enzymatiques. Ainsi l'influence de la température sur la stabilité des enzymes permet de déterminer les paramètres thermodynamiques car selon Râpeanu et al. (2005) l'inactivation thermique des enzymes est un phénomène cinétique adéquat pour cette étude.

La vitesse des réactions enzymatiques augmente avec l'élévation de la température jusqu'à une valeur maximale critique appelée température optimale catalytique. Ceci peut s'expliquer par la chaleur du milieu qui apporte un supplément d'énergie. Ce qui faciliterait la réaction enzymatique aux valeurs inférieures à la température optimale. Mais au-delà de cette valeur maximale de température, la chaleur dénature les structures secondaires et tertiaires de l'enzyme et l'activité tend à disparaître vers zéro (Marangoni, 2002). Ce phénomène peut être réversible ou irréversible avec pour conséquence la chute drastique de l'activité des biocatalyseurs. De ce qui précède, le contrôle de la température au cours des techniques de transformations du fruit de l'aubergine violette (*Solanum melongena* L.) constitue un paramètre essentiel pour l'inhibition de

l'activité dopamine oxydase au sein du fruit-légume, sans toutefois altérer la qualité organoleptique et/ou la texture de l'aliment par la chaleur.

La représentation graphique de $\ln A_t/A_0$ en fonction des temps de pré-incubation aux températures comprises entre 35 – 80 °C ont permis de mettre en évidence une cinétique de premier ordre pour la dopamine oxydase. Ce résultat suggère que la dopamine oxydase est la seule enzyme présente dans les milieux réactionnels qui catalysent l'oxydation de la dopamine en présence de l'oxygène moléculaire. Ce qui traduit d'ailleurs la seule phase obtenue pour les représentations graphiques $\ln A_t/A_0$ en fonction des temps de pré-incubation. Ce résultat est similaire à ceux trouvés par Liu et al. (2007) et Matsui et al. (2008) respectivement avec les polyphénoloxydases de la betterave rouge et de l'eau de la noix de coco vert. L'augmentation de la température de 35 à 80°C entraîne une baisse des activités enzymatiques. Par conséquent les temps de demi-vie diminuent avec l'augmentation de la température, montrant ainsi la différence de stabilité de cette enzyme. Les constances de vitesse de la dopamine oxydase ont augmenté avec l'élévation de la température de pré-incubation;

ce qui traduit le fait que ce biocatalyseur soit sensible au changement de température.

Les temps de réduction décimale (D) de la dopamine oxydase de l'aubergine violette (*Solanum melongena*) déterminées entre 35 – 80 °C diminuent lorsque la température augmente. Ce résultat confirme la stabilité de ce biocatalyseur.

Les constantes d'inactivation de premier ordre ont montré que l'enzyme commence à perdre sa thermostabilité à partir de différentes températures puisqu'une constante d'inactivation plus élevée signifie que l'enzyme est moins thermostable (Marangoni, 2002). La constante de résistance (Z) moyenne obtenue pour la dopamine oxydase est de 50.25 ± 0.7 . Ce qui révèle que l'enzymes résistent à la chaleur du milieu car selon Barette et al. (1999), de faibles valeurs de Z (3,1 à 20 °C) traduisent une grande sensibilité à la chaleur, alors que de grandes valeurs de Z montrent une grande résistance à la chaleur au cours des traitements thermiques. Elle est supérieure à celle rapportée par Chutintrasri et Noomhorm (2006) pour la polyphénoloxydase d'ananas dont la valeur est de 21,5 °C. La valeur de Z obtenue dans cette étude se situent dans la gamme des constantes de résistances (Z) rapporté par Chutintrasri et Noomhorm (2006) sur les PPO de fruits mûr et d'abricot qui était de 16 à 61,5 °C

La valeur de l'énergie d'activation (E_a) obtenue était de $40.65 \pm 0,6$ kJ/mol. Cette valeur était positive traduisant ainsi une sensibilité de l'enzyme au changement de température (Weemaes et al., 1998b). Cela suggère que le processus de la dénaturation nécessite un apport élevé d'énergie au complexe enzyme substrat pour initier la dénaturation probablement due à une éventuelle structure compacte de l'enzyme et à la solidité des groupements thiols (SH) ou ponts disulfures au niveau du site actif (Björck, 1992). Cette énergie d'activation est plus élevée que celle des polyphénoloxydases de brinjal rond (*S. melongena* Var. depressum) (14,23 kJ/mol) (Ng et Wang, 2015) et de la racine de manioc (15,75 kJ/mol) (Wong et Angel Lee, 2014), mais plus basse que celles des polyphénoloxydases de la betterave rouge (*Beta vulgaris*) (57,06 kJ/mol) (Liu et al.,

2008) et d'igname kponan (52,93 kJ/mol) (Yapi et al., 2014). Ainsi, la dopamine oxydase de l'aubergine violette était plus sensible à la chaleur que celles du brinjal rond et de la racine de manioc. Par contre, elle était moins sensible lorsqu'elle est comparée aux polyphénoloxydases de la betterave rouge (Liu et al., 2008).

Les paramètres thermodynamiques que sont l'entropie, l'enthalpie et l'énergie libre renseignent sur les probabilités, la vitesse et la manière dont les réactions catalytiques ont lieu avec les différentes enzymes. Les valeurs d'enthalpies ($\Delta H^\#$) obtenues pour la dopamine oxydase (38,48 kJ mol⁻¹) du fruit d'aubergine violette révèlent que cette enzyme subi un changement considérable de conformation pour se retrouver sous sa forme activée au cours du traitement thermique. Cependant il faudra une grande quantité d'énergie sous forme de chaleur à l'enzyme étudiée pour qu'elle change d'état. Cette situation est encore mieux expliquée par les valeurs négatives d'entropie obtenues et qui n'étaient pas proches de 0. On peut donc déduire que les états de désordre structural de l'enzyme se sont produits pendant l'étape de transition suite à l'inactivation thermique d'où l'augmentation de l'enthalpie. Cette énergie est plus grande lorsqu'on fait allusion aux polyphénoloxydases de *Lepista nuda* (13 ± 1 kJ mol⁻¹) (Yang et Wang, 2008) et de *Hypholoma fasciculare* (36 ± 2 kJ mol⁻¹) (Yang et Wang, 2008). Par contre elle est faible par rapport à celle de la polyphénoloxydase de la patate (98,02 kJ mol⁻¹, Duangmal et Owusu, 1998). L'entropie ($\Delta S^\#$) est un paramètre physique lié à la concentration des réactifs, à l'encombrement stérique et à l'orientation des groupements fonctionnels. Elle peut être interprétée comme la mesure du degré de désordre d'un système au niveau microscopique. Ainsi plus l'entropie du système est élevée moins ces éléments sont ordonnés, liées entre eux, capable de produire des effets et plus grande est la part de l'énergie utilisée pour l'obtention d'un travail d'où les valeurs élevées des énergies libres.

Conclusion

L'inactivation thermique de la dopamine oxydase a pu être décrite par un

modèle cinétique d'ordre un. Le traitement thermique efficace et efficient pour réduire la dopamine oxydase et le brunissement enzymatique dans l'aubergine violette (*solanum melongena*) peut être dérivé de l'une des valeurs D, z, Ea ou k. Les valeurs D-, Z-, k et les valeurs élevées obtenues pour l'énergie d'activation et le changement d'enthalpie indiquent qu'une grande quantité d'énergie est nécessaire pour initier la dénaturation de la dopamine oxydase, très probablement en raison de sa conformation moléculaire stable. Cependant, pour atteindre le traitement thermique optimal, des études supplémentaires devraient être menées pour trouver la perte des caractéristiques souhaitables à partir des conditions sélectionnées et pour étudier les effets de l'enzyme résiduelle sur la stabilité du produit pendant le stockage ultérieur afin de valider le processus d'inactivation thermique.

REFERENCES

- Apak R, Güçlü K, Demirata B, Ôzyürek M, EsinÇelik S, Bektasoglu B, Berker K, Ôzyurt D. (2007). Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. *Mol.*, **12**: 1496-1547. DOI: 10.3390/12071496
- Arrhenius S. 1889. Ubre die Reaktionsgeschwindigkeit bei der Inversion von Rohrzucker durch Sauren. *Zeitschrift fur Physik Chim.*, **4**: 226-248. DOI: 10.1515/zpch-1889-0416
- Barrett NE, Gryson AS, Lewis MJ. 1999. Contribution of the lactoperoxidase system to the keeping quality of pasteurized milk. *J. Dairy Res.*, **66**: 73-80. DOI: 10.1017/s0022029998003252
- Björck L. 1992. Indigenous enzymes in milk. Lactoperoxidase. In *Advanced Dairy Chemistry. I. Proteins*, Fox F (ed.). Elsevier: London; 323-338. DOI : doi.org/10.17221/103/2020-CJFS
- Brat P. 2001. Application du procédé de flash détente sous vide aux fruits tropicaux et méditerranéens pour la préparation de purée et huiles essentielles. Thèse de Doctorat, Université de la Réunion, France. 137 p.
- Caburet A, Daly P, De Bon H, Huat J, Langlais C, Lyannaz JP, Ryckewaert P. 2002. Les légumes. Mémento de l'agronome, pp 1023 - 1049.
- Chutintrasri B, Noomhorm A. 2006. Thermal inactivation of polyphenoloxidase in pineapple puree. *Lebensm.-Wiss.*, **39**: 492-495. DOI : 10.1016/j.lwt.2005.04.006
- Cong R, Sun W, Liu G. 2005. Purification and characterization of phenoloxidase from clam *Ruditapes philippinarum*. *Fish Shellfish Immunol.*, **18**: 61-70. DOI: 10.1016/j.fsi.2004.06.001
- Daunay M, Chaput H, Sihachakr D, Allot M, Vedel F, Ducreux G. 1993. Production and characterization of fertile somatic hybrids of eggplant (*Solanum melongena* L.) with *Solanum aethiopicum* L. *Food Chem.*, **85**: 841-850. DOI: 10.1007/BF00225027
- De Rigal D. 2001. Recherches sur l'inhibition du brunissement enzymatique. Utilisation de préparations enzymatiques, substitutives aux sulfites. Thèse de doctorat. Université de droit, d'économie et des sciences d'Aix Marseille III, (France), 173 p.
- Dogan M, Arslan O, Dogan S. 2002. Substrate specificity, heat inactivation and inhibition of polyphenol oxidase from different aubergine cultivars. *Int. J. Food Sci. Technol.*, **37**: 415-423. DOI: doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00580.x
- Duangmal K, Owusu RKA. 1998. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). *Food Chem.*, **64**: 351-359. DOI : doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00127-7
- FAO 2010. Production de légumes dans les conditions arides et semi-arides d'Afrique tropicale. Etude FAO production végétale et protection des plantes. FAO, Rome, Italie, 446 p.
- Grubben G. 2004. *Plant Resources of Tropical Africa II: Vegetables*. Backhuys Publishers: Leiden, Wageningen; 35-198.

- Kouamé J, Gnanoui SN, Dabonné S, Kouamé LP. 2015. Isolation of a Latent Polyphenol Oxidase from Edible Yam (*Dioscorea cayenensis-rotundata* cv. Zrèzrou) Cultivated in Côte D'ivoire. *J. Adv. Biol. Biotechnol.*, **2**(4): 232-249. DOI: 10.9734/JABB/2015/15174
- Lester RN, Seck A. 2004. *Solanum aethiopicum* L. In *Ressources végétales de l'Afrique Tropicale 2. Légumes*, Grubben GJH, Denton OA (Eds). Fondation PROTA, Backhuys Publishers: Wageningen, Pays Bas ; 530 - 536.
- Liu X, Gao Y, Peng X, Yang B, Xu H, Zhao J. 2008. Inactivation of peroxidase and polyphenol oxidase in red beet (*Beta vulgaris* L.) extract with high pressure carbon dioxide. *Innovative Food Sci. Emerging Technol.*, **9**: 24-31 DOI:10.1016/j.foodchem.2009.06.002
- Manzocco L, Calligaris S, Mastrocola D, Nicoli MC, Lerici CR. 2001. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends Food Sci. Technol.*, **11**: 340-346. DOI:10.1016/S0924-2244(01)00014-0
- Marangoni AG. 2002. *Enzyme Kinetics: A Modern Approach*. John Wiley and Sons: N.Y.; 1-248.
- Marin E, Sanchez L, Perez MD, Puyol P, Calvo M. 2003. Effect of heat treatment on bovine lactoperoxidase activity in skim milk: kinetic and thermodynamic analysis. *J. Food Sci.*, **68**: 89-93. DOI: doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb14120.x
- Matsui KN, Gut JAW, de Oliveira PV, Tadin CC. 2008. Inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in green coconut water by microwave processing. *J. Food Eng.*, **88**: 169-176. DOI: doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.02.003
- Ng AWR, Wong CW. 2015. Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from round brinjal (*S. melongena* var. depressum), *Int. Food Res. J.*, **22**(2): 826-831. DOI: doi/10.1.1.1075.9482.&rep=rep1&type=pdf
- Perez-Gilabert M, Carmona FG. 2000. Characterization of catecholase and cresolase activities of eggplant polyphenol oxidase. *J. Agri. Food Chem.*, **48**: 695-700. DOI: 10.1021/jf990292r
- Rapeanu G, Van Loey A, Smout C, Hendrickx M. 2005. Thermal and high pressure inactivation kinetics of Victoria grape polyphenol oxidase: from model systems to grape must. *J. Food Process Eng.*, **29**: 269-286. DOI: doi.org/10.1021/jf0482515
- Stumbo CR. 1973. *Thermobacteriology in Food Processing* (2nd edn). Academic Press: New York; 336p.
- Van Loey A, Smout C, Indrawati D, Hendrickx M. 2005. Kinetic data for biochemical and microbiological processes during thermal processing. In *Engineering Properties of Foods*, Rao MA, Rizvi SSH, Datta AK (Eds). Taylor & Francis: New York; 611-643.
- Wong CW, Angel Lee PL. 2014. characterization of polyphenol oxidase from cassava leaf (*Manihot esculenta* CRANTZ). *Int. J. Plant, Anim. Environ. Sci.*, **4**(2): 546-553. DOI: https://www.fortunejournals.com › php › 553_pd.
- Yang Y, Wang Z. 2008. Some properties of polyphenol oxidase from lily. *Int. J. Food Sci. Technol.*, **43**: 102-107. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2006.01398.x
- Yapi JC, Gnanoui SN, Ahi AP, Kouassi-Koffi JD, Kouame LP. 2014. Thermal inactivation kinetics and thermodynamic analysis of the first isoform of polyphenoloxidase Purified from edible yam *Dioscorea cayenensis-rotundata* cv Kponan. *Sky J. Biochem. Res.*, **3**(7): 053-059. DOI: http://citeseerx.ist.psu.edu › viewdoc › download
- Yoruk R, Hogsette JA, Rolle RS, Marshall MR. 2003. Apple polyphenol oxidase inhibitor(s) from common house fly (*Musca domestica* L.). *J. Food Sci.*, **68**: 1942-1947. DOI: doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb06998.x.