

Fluorescence des chloroplastes des feuilles vertes de papayer (*Carica papaya*) par extraction au solvant

[Fluorescence spectra of chloroplast from (*Carica papaya*) pawpaw's green leaves by solvent extraction]

Milohum M. Dzagli, Kossi B. Afoudji, Kodjo K. Sossoe, Komlan S. Gadedjisso-Tossou, and Messanh A. Mohou

Laboratoire de Physique des Composants à Semi-conducteurs (LPCS), Département de Physique,
Université de Lomé, Lomé, Togo

Copyright © 2017 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the *Creative Commons Attribution License*, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: Chlorophyll in the leaves is one of the main components of photosynthesis. We studied the fluorescence chloroplast papaya leaves using solvents such as acetone and ethanol (95°) of various concentrations at room temperature. Chlorophyll fluorescence is a useful technique in plant physiology. Fluorescence spectra of chloroplasts in solvents with various concentrations and under different excitation wavelengths (365 nm, 390 nm and blue) were investigated. Chlorophyll fluorescence is characterized by two peaks, one in the red, near 690 nm, and the other in the far red, near 740 nm. The fluorescence spectra measurements were taken using a spectrofluorimeter. Our results show that complex chlorophyll carriers are dissociated for high concentrations. Our results also show the evolution of peak positions with the solvent strength due to partial separations of complex chloroplasts.

KEYWORDS: Spectroscopy, phytotherapy, papaya, Chlorophyll.

RESUME: La teneur en chlorophylle dans les feuilles est l'une des principales composantes de la photosynthèse. Nous avons étudié la fluorescence des chloroplastes de feuilles de papayer en utilisant des solvants comme l'acétone et l'éthanol (95°) de diverses concentrations à la température ambiante. La fluorescence chlorophyllienne est une technique utile dans la physiologie des plantes. Les spectres de fluorescence des chloroplastes de diverses concentrations de solvant sous différentes longueurs d'onde d'excitation (365 nm, 390 nm et bleu) ont été comparés. La fluorescence chlorophyllienne est caractérisée par deux pics, un dans le rouge, près de 690 nm, et l'autre dans le rouge lointain, près de 740 nm. Les mesures de spectres de fluorescence ont été prises à l'aide d'un spectrofluorimètre. Nos résultats montrent que des complexes porteurs de chlorophylle sont dissociés pour les concentrations élevées. Nos résultats montrent également l'évolution des positions de pics avec la force du solvant due à des séparations partielles des complexes de chloroplastes.

MOTS-CLEFS: Spectroscopie, phytothérapie, papayer, chlorophylle.

1 INTRODUCTION

L'intérêt apporté aux plantes médicinales ne cesse de croître à cause de la cherté des soins modernes. Le papayer possède de nombreuses vertus nutritionnelles et médicinales. En phytothérapie, on utilise aussi bien le fruit que les feuilles, les graines, le latex ou les racines. Selon la partie utilisée, le papayer est un purgatif, un anti-inflammatoire ou un agent ayant des effets positifs sur la digestion. Le jus de feuilles contient plus de 50 ingrédients actifs, y compris les composés qui inhibent les micro-organismes tels que les champignons, les parasites, les vers, les bactéries, ainsi que de nombreuses formes

de cellules cancéreuses [1], [2], [3] [4]. La composition minéralogique des plantes présente un grand intérêt puisqu'elles sont, dans la majorité des cas, consommées telles quelles. Il est donc important de savoir ce qui est ingéré par les patients qui ont recours à ce type de médecine. Il est évident que l'effet thérapeutique présumé dans la tradition est la conséquence de la composition aussi bien organique que minérale. Les fruits et légumes ont toujours été considérés comme des sources riches de certains essentiels micronutriments et des fibres alimentaires qui ont été reconnus comme des sources importantes pour un large éventail de composés phytochimiques qui peuvent bénéficier de la santé [5], [6], [7], [8].

Il existe deux types de fluorescence d'une feuille des plantes. Lorsqu'une feuille est excitée par des radiations UV, il se produit l'émission d'une fluorescence bleu-vert et une fluorescence dans la zone du rouge - rouge lointain, la fluorescence chlorophyllienne. La signature spectrale de la fluorescence des feuilles d'une espèce végétale est déterminée par leurs caractéristiques intrinsèques qui dépendent en partie des conditions environnementales ainsi que des conditions ambiantes lors des mesures de fluorescence [9].

Les drogues végétales sont généralement broyées jusqu'à atteindre un degré de granulométrie permettant une dissolution optimale des constituants à isoler. L'utilisation de l'eau, de l'alcool ou un mélange hydro-alcoolique comme solvant est généralement adaptée, car de nombreuses molécules actives se dissolvent au sein d'eux.

Les facteurs environnementaux qui influencent les phénomènes de fluorescence sont les interactions avec les solvants et d'autres composés dissous, la température, le pH et la concentration des matériaux de fluorescence [10], [11], [12]. Les effets de solvant sur les différents extraits doivent être étudiés.

Ce travail propose l'étude de fluorescence des feuilles de papayer dans des solvants de différentes forces.

2 MATERIELS ET METHODES

2.1 METHODES D'EXTRACTION

Des feuilles fraîches de papayer ont été lavées deux fois dans l'eau distillée avant d'être écrasées. Le résidu est laissé dans des solvants (alcool éthylique 95°, acétone) de diverses concentrations pendant 30 minutes puis le surnageant est puisé par une micropipette (Pipertman Classic) pour être utilisé.

2.2 MATERIELS

2.2.1 REACTIFS

De l'alcool éthylique 95°, de l'acétone sont utilisés en plusieurs concentrations en ajoutant de l'eau distillée.

2.2.2 SPECTROSCOPIE UV-Vis -NIR

Les spectres de fluorescence et réflectance des solutions préparées ont été enregistrés en utilisant un spectrofluorimètre SILVA Nova (Super Range TEC Spectrometer de StellarNet, 190-1100nm, Résolution 1nm, slit 25um). Une source ASB-W-030 (Tungstène-halogène ; 300-2600 nm) est utilisée pour la réflectance des feuilles. Un papier blanc a servi de référence dans notre cas. Une cuve en quartz est utilisée pour contenir nos extraits. La référence est prise pour chaque concentration de solvant dans le cas de fluorescence.

3 RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 REFLECTANCE DES FEUILLES DU PAPAYER

Nous avons réalisé la réflectance sur différentes feuilles du papayer. Il s'agit de jeune feuille, feuille moins jeune, feuille moins vieille et feuille jaune.

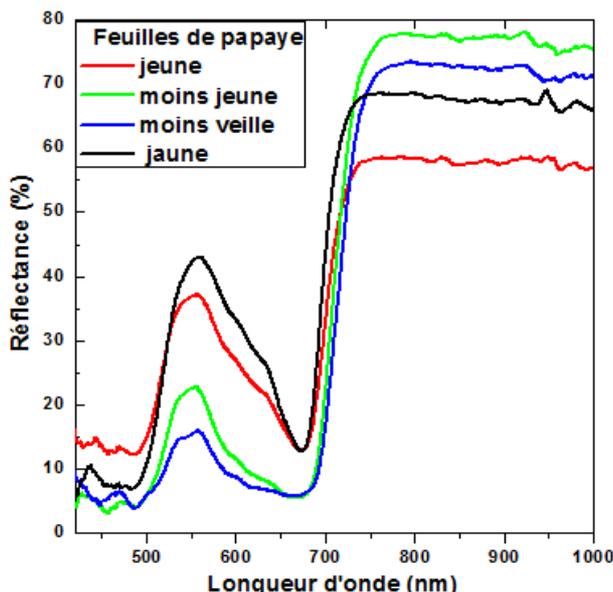


Fig. 1. Réflectance sur différentes feuilles de papayer

La Figure 1 montre la réflectance de différentes feuilles sur le même papayer (jeune feuille, moins jeune, moins vieille et jaune). Un pic est observé entre 540-570 nm et un plateau à partir de 735 nm est observé. La signature spectrale de la végétation dans le visible ne varie pratiquement pas quel que soit le type de feuilles. La présence des pigments foliaires dans les feuilles est à la base de la forte absorption du rayonnement visible, avec un maximum de réflectance autour de 550nm. La feuille jaune reflète plus que la feuille jeune, ce qu'on peut remarquer par l'intensité très élevée entre 500 et 600 nm. Dans le proche infrarouge, la moins jeune feuille reflète plus que les autres en raison de la structure interne de la feuille. Dans le proche infrarouge (700 nm - 1300 nm), les constituants foliaires absorbent peu. L'absorption totale est de 10 % environ, et l'énergie est presque intégralement réfléchi ou transmise [13].

3.2 FLUORESCENCE DES CHLOROPLASTES

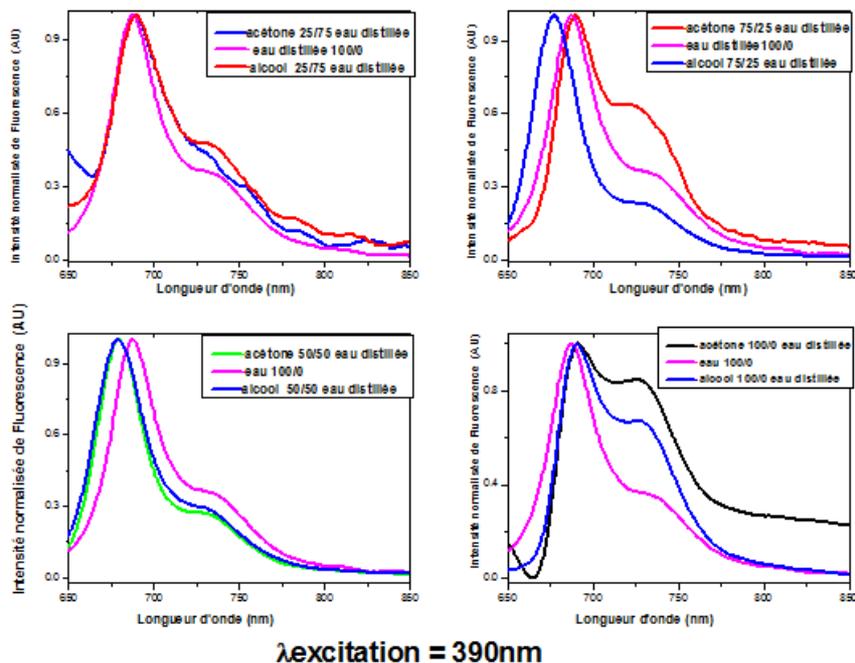


Fig. 2. Spectres d'émission de fluorescence des chloroplastes extraits avec différentes concentrations de solvants

La Figure 2 montre les spectres normalisés de fluorescence des extraits des feuilles du papayer avec différentes concentrations de solvants (alcool éthylique et acétone) sous une excitation d'une LED dont le pic d'émission est centré à 390 nm. Cette fluorescence chlorophyllienne présente deux pics distincts autour de 680-690 nm et 730-740 nm en fonction des concentrations des solvants. Ces pics proviennent essentiellement du photosystème PSII [14], [15]. Un changement d'allure du spectre est noté lorsque la concentration augmente. Le second pic entre 730-740 nm se fait mieux voir pour une concentration élevée d'alcool ou d'acétone.

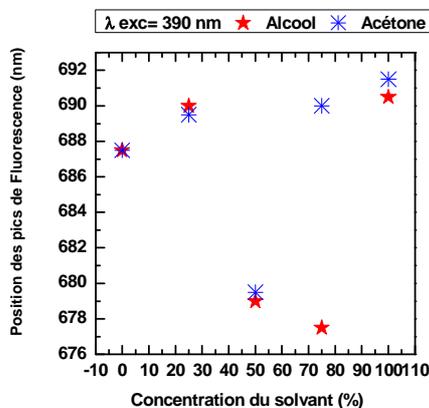


Fig. 3. Variation des pics de fluorescence en fonction des concentrations des solvants

La Figure 3 montre la variation de la position des pics de fluorescence lorsque la concentration des solvants varie. Le pic se déplace au-delà de 688 nm pour les concentrations de 25 et 100 % pour les deux solvants et à 75% pour l'acétone. On constate un déplacement du pic en dessous de 688 nm pour 50% des deux solvants puis à 75 % pour l'alcool. Les propriétés diélectriques des solvants et la dissolution des chloroplastes pourraient être la cause de ce déplacement [16].

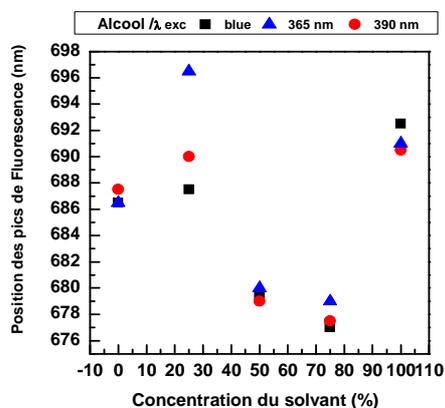


Fig. 4. Variation des pics de fluorescence en fonction des concentrations d'alcool à différentes excitations

La Figure 4 montre la variation de la position des pics de fluorescence lorsque la concentration d'alcool varie sous différentes excitations (365 nm, 390 nm et bleu). Une distinction de position des pics est observée pour 25% pour les trois lampes utilisées. Un déplacement au-delà de 688 nm est observé pour les concentrations de 25 et 100% alors que le déplacement est en-dessous de 688 nm pour les concentrations de 50 et 75 %.

4 CONCLUSION

La fluorescence des chloroplastes des extraits de feuilles de papayer a été investiguée dans des solutions d'alcool et d'acétone à de différentes concentrations. Cette étude montre un déplacement de pics de fluorescence qui aurait dû à l'environnement de chloroplastes et à leur dissolution dans les solvants. Un déplacement vers le rouge est observé pour les concentrations de 25 et 100 % au moment où un déplacement vers le bleu est constaté pour 50 et 75 % en général. Le déplacement des pics est peu significatif pour différentes excitations de la même solution.

REMERCIEMENTS

Notre gratitude est adressée à l'Organisation Islamique pour l'Education, les Sciences et la Culture (ISESCO) pour son soutien financier pour l'équipement, SILVA NOVA, utilisé dans ce travail.

REFERENCES

- [1] B. B. Tewari, G. Subramanian and R. Gomathinayagam, "Antimicrobial Properties of *Carica papaya* (Papaya) Different Leaf Extract against *E. coli*, *S. aureus* and *C. albicans*," *American Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, vol.1, no.1, pp. 025-039, 2014.
- [2] P. Melariri, W. Campbell, P. Etusim, and P. Smith, "Antiplasmodial Properties and Bioassay-Guided Fractionation of Ethyl Acetate Extracts from *Carica papaya* Leaves," *Journal of Parasitology Research*, Vol. 2011, Article ID 104954, pp.1-7, 2011.
- [3] A. M. Maisarah, B. Nurul Amira, R. Asmah, O. Fauziah, "Antioxidant analysis of different parts of *Carica papaya*," *International Food Research Journal*, vol. 20, no. 3, pp. 1043-1048, 2013.
- [4] L.O. Onaku, A. A. Attama, V. C. Okore, A. Y. Tijani, A. A. Ngene, and C.O. Esimone, "Antagonistic antimalarial properties of pawpaw leaf aqueous extract in combination with artesunic acid in *Plasmodium berghei*-infected mice," *Journal of Vector Borne Diseases*, vol. 48, pp. 96-100, 2011.
- [5] A. CANINI, D. ALESIANI, G. D'ARCANGELO, P. TAGLIATESTA, "Gas chromatography-mass spectrometry analysis of phenolic compounds from *Carica papaya* L. leaf," *Journal of food composition and analysis*, vol. 20, pp. 584-590, 2007.
- [6] N. OTSUKI, N. H. DANG, E. KUMAGAI, A. KONDO, S. IWATA, C. MORIMOTO, "Aqueous extract of *Carica papaya* leaves exhibits antitumor activity and immunomodulatory effects," *Journal of ethnopharmacology*, vol. 127, pp. 760-767, 2010.
- [7] P. Chávez-Quintal, T. González-Flores, I. Rodríguez-Buenfil and S. Gallegos-Tintoré, "Antifungal Activity in Ethanolic Extracts of *Carica papaya* L. cv. Maradol Leaves and Seeds," *Indian Journal of Microbiology*, Vol. 51, no. 1, pp. 54-60, 2011.
- [8] G. Aravind, B. Debjit, S. Duraivel, G. Harish, "Traditional and Medicinal Uses of *Carica papaya*," *Journal of Medicinal Plants Studies*, Vol. 1, No. 1, pp. 7-15, 2013.
- [9] S. Henriques, "Leaf chlorophyll fluorescence: background and fundamentals for plant biologists," *The Botanical Review*, vol. 75, pp. 249-270, 2009.
- [10] Z.G. Cerovic, G. Masdoumier, N.B. Ghazlen and G. Latouche, "A new optical leaf-clip meter for simultaneous non-destructive assessment of leaf chlorophyll and epidermal flavonoids," *Physiologia Plantarum*, vol. 146, no. 3, pp. 251-260, 2012.
- [11] C. Buschmann, "Variability and application of the chlorophyll fluorescence emission ratio red/far-red of leaves," *Photosynthesis Research*, vol. 92, no. 2, pp. 261-271, 2007.
- [12] F. B. Abdallah, W. Philippe, J.-P. Goffart, "Utilisation de la fluorescence chlorophyllienne pour l'évaluation du statut azoté des cultures (synthèse bibliographique)," *Biotechnologie, agronomie, société et environnement*, vol. 20, no. 1, pp. 83-93, 2016.
- [13] P. Rahimzadeh-Bajgiran, M. Munehiro, K. Omasa, "Relationships between the photochemical reflectance index (PRI) and chlorophyll fluorescence parameters and plant pigment indices at different leaf growth stages," *Photosynthesis Research*, vol. 113, pp. 261-271, 2012.
- [14] K. Maxwell and G. N. Johnson, "Chlorophyll fluorescence – a practical guide," *Journal of Experimental Botany*, vol. 51, no. 345, pp. 659-668, 2000.
- [15] B. Tubuxin, P. Rahimzadeh-Bajgiran, Y. Ginnan, F. Hosoi and K. Omasa, "Estimating chlorophyll content and photochemical yield of photosystem II (ΦPSII) using solar-induced chlorophyll fluorescence measurements at different growing stages of attached leaves," *Journal of Experimental Botany*, Vol. 66, No. 18, pp. 5595-5603, 2015
- [16] E.H. Murchie, T. Lawson, "Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications," *Journal of Experimental Botany*, vol. 64, pp. 3983-3998, 2013.