



DÉPARTEMENT DE SCIENCES BIOLOGIQUES

N°/SNV/2018

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Mme Benourad Djamila

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : PHARMACOLOGIE-TOXICOLOGIE

THÈME

**Influence de différentes méthodes d'extraction sur le
rendement, la composition chimique et l'activité
antioxydante des extraits de *zingiber officinale*
(Formes fraîche & sèche).**

Soutenue publiquement le .../ 09 /2018

DEVANT LE JURY

Président	Mme MISSOUM Fatiha	MCB U. Mostaganem
Encadreur	Mme BOUABDELI Fatma	MCB U. Mostaganem
Examineur	Mr BAKOURI Hichem	MAA U. Mostaganem

*<< Je prends beaucoup de plaisir à m'instruire moi-même que non pas à
mettre par écrit le peu que je sais >>.*

RENE Descartes.

Correspondances.

Dédicaces

Quand il y a la soif d'apprendre Tout vient à point à qui sait attendre.

Je dédie ce modeste travail à toutes les personnes qui m'ont encouragé et m'ont aidé moralement et matériellement :

J'adresse une pensée spéciale à mes parents pour leur soutien dans mes choix et leur attention sans faille.

A la mémoire de ma défunte mère dont les encouragements et l'amour inconditionnel m'accompagnent depuis toujours.

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur.

A la mémoire de mes grands-mères et grands-pères paternels et maternels.

A mes frères et sœurs spécialement Fouzia et Rabia.

A mes enfants Ryadh et Malek ma bouffe d'oxygène.

A ma famille, mes proches et à ceux qui m'ont donné de l'amour et de la vivacité.

A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé et à qui je souhaite plus de succès.

A tous et toutes, ceux que j'aime.

Remerciement

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force, le courage et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Je tiens à remercier tendrement mon encadrante Mme Bouabdeli Fatma, un exemple vif du courage et de la patience, notamment pour sa douce compréhension et son aide.

Mes vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à ma recherche en acceptant d'examiner mon travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Je voudrais également remercier tous les enseignants qui ont veillé à notre formation, en particulier Mme Benhamimed, Mme Bendiab, Mme Kribi Soria, M. Bakouri Hicham, enseignants-chercheurs et M. Djebli Noredine professeur chercheur responsable du master en pharmacologie-toxicologie.

Je tiens à remercier profondément ma frangine Mme Benourad Fouzia Maître de conférences B au niveau de la faculté des sciences de la nature et de la vie, département d'agronomie à l'université de Abd Elhamid Ibn Badis, pour son aide sa disponibilité pour l'orientation, la confiance, la patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa compétence professionnelle et sa haute personnalité.

Je remercie très chaleureusement mon mari, pour m'avoir épaulé moralement tous les jours dans la construction de ce mémoire. A toi, auprès de qui j'ai appris le sacrifice, la générosité, qui m'a aidé et encouragé aux moments opportuns.

Je tiens à remercier l'ensemble du personnel des laboratoires de l'université de Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem pour leur patience, leurs conseils pleins de sens et pour le suivi et l'intérêt qu'ils ont portés à mes travaux.

Dans l'impossibilité de citer tous les noms, en guise de reconnaissance, je tiens à témoigner mes sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.

Enfin, je n'oserais oublier de remercier tout le corps professoral du département de Biologie pour le travail énorme qu'il effectue pour nous créer les conditions les plus favorables pour le déroulement de nos études.

ملخص

هذا العمل هو مساهمة في تثمين النباتات الطبية والعطرية. *Zingiber officinale* هو نبات آسيوي معروف بخصائصه وخصائصه الطبية في جميع أنحاء العالم. يتم تطبيق العديد من طرق الاستخلاص على الشكلين الطازج والمجفف من جذور الزنجبيل، وهي الموجات فوق الصوتية، واستخراج الماء شديد السخونة واستخراج بطريقة Soxhlet. يلاحظ أن طريقة الاستخلاص تؤثر بشكل كبير على المردود وطبيعة الجزيئات المستخرجة. يتم تسجيل أفضله بالاستخلاص بالموجات فوق الصوتية (85 % للزنجبيل الطازج و86 % للزنجبيل المجفف). تظهر النتائج اختلافًا واضحًا بين مستخلصات الشكلين الطازج والمجفف، وكذلك على ناتج الاستخلاص كما هو الحال في الجزيئات المستخرجة التي كشفت عنها اختبارات التحليل الكيميائي النباتي. إن قوة مضادات الأكسدة التي يرمز إليها اختبار تخفيض الجذور الحرة DPPH* ، تظهر تباينًا في فعالية النشاط المضاد للأكسدة وذلك وفقًا لتقنيات الاستخراج المطبقة. أثبت المستخرج من تقنية استخلاص الماء فائق الحرارة لمدة 10 دقائق (شكل مجفف) أعلى قدرة مضادة للأكسدة 89.54%.

الكلمات المفتاحية: الاستخلاص، الموجات فوق الصوتية، الماء المسخن، مضادات الأكسدة، Soxhlet ، المردود، نباتات الزنجبيل.

Résumé

Ce travail est une contribution à la valorisation des plantes médicinales et aromatiques. Le *Zingiber officinale* est une plante asiatique connue par ses propriétés et ses vertus médicinales dans le monde entier. Plusieurs méthodes d'extraction sont appliquées sur les deux formes fraîche et séché du rhizome de gingembre, à savoir la sonication, l'extraction par eau surchauffée et l'extraction Soxhlet. On constate que la méthode d'extraction influence significativement le rendement et la nature des molécules extraites. Le meilleur rendement est enregistré par les extraits issus par sonication (85% pour le gingembre frais et 86% pour le gingembre séché). Les résultats montrent une différence bien claire entre les extraits des deux formes fraîche et séchée, aussi bien sur le rendement de l'extraction que sur les molécules extraites révélées par les tests de screening phytochimique. Le pouvoir antioxydant dénoté à travers le test de réduction du radical libre DPPH*, montre une variation d'efficacité de l'activité antioxydante ceci en fonction des techniques d'extractions appliquées. L'extrait issu de la technique d'extraction par eau surchauffée durant 10 minutes (Forme séchée) a prouvé le pouvoir antioxydant le plus élevé 89,54%.

Mots clés : extraction, sonication, eau surchauffée, Soxhlet, rendement, antioxydant, *Zingiber officinale*.

Abstract

This work is a contribution to the valorization medicinal and aromatic plants. *Zingiber officinale* is an Asian plant, known by its properties and medicinal virtues all over the world. Several extraction methods are applied to the two forms of the ginger rhizome ; fresh and dried, namely sonication, superheated water extraction and Soxhlet extraction. It is noted that the extraction method significantly influences the yield and the nature of the extracted molecules. The best yield is recorded by extracts from sonication (85% for fresh ginger and 86% for dried ginger). The results show a clear difference between the extracts of the two forms fresh and dried, as well on the extraction yield as on the extracted molecules revealed by the phytochemical screening tests. The antioxidant power denoted by the free radical reduction test DPPH *, shows a variation of effectiveness of the antioxidant activity, this depending on the extraction techniques applied. The extract from the superheated water extraction technique for 10 minutes (dried form) proved the highest antioxidant power 89.54%.

Key words: extraction, sonication, superheated water, Soxhlet, yield, antioxidant, *Zingiber officinale*.

Table des matières

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	01
Étude bibliographique	
Chapitre 1 : Oxydation et radicaux libres	
I.1. Définition de l'oxydation	04
I.2. Oxydation et radicaux libres	04
I.3. Radicaux libres	05
Chapitre 2 : Le stress oxydatif et le pouvoir antioxydant	
II.1. Le stress oxydatif	07
II.2. Les antioxydants	07
II.2.1. Systèmes enzymatiques antioxydants	08
II.2.1.1. La superoxyde dismutase	08
II.2.1.2. La glutathion peroxydase	08
II.2.1.3. La catalase	09
II.2.2. Antioxydants non enzymatiques	09
II.2.2.1. Vitamine E	09
II.2.2.2. Acide ascorbique (vitamine C)	09
II.2.2.3. Les polyphénols	10
II.2.2.3.1. Les flavonoïdes	10
II.2.2.3.2. Les tanins	11
Chapitre 3 : <i>Zingiber officinale</i>	
III.1. Historique	12
III.2. Classification de la plante <i>Zingiber officinale</i>	12
III.3. Description botanique	13
III.4. Composition chimique	14
III.5. Domaines d'utilisation thérapeutiques	17

III.6. Toxicité du gingembre	17
------------------------------	----

Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

I. Matériel et Méthodes	18
I.1.Objectif	18
I.2. Structure de stage	18
I.3. Matériel végétal	18
I.4. Méthodes d'extraction et préparation des extraits	18
I.4.1. Méthode d'extraction de Soxhlet	18
I.4.2. Méthode d'extraction par ultrasons ou Sonication	20
I.4.3. Méthode d'extraction par l'eau surchauffée	21
I.5.Calcul du rendement des extraits	21
I.6.Préparation des dilutions	22
II. Étude phytochimique	22
II.1. Tests phytochimiques	22
II.1.1. Détection des Saponosides	23
II.1.2. Détection des Tanins hydrolysables	23
II.1.3. Détection des Proanthocyanidols (tanins condensés)	23
II.1.4. Détection des Flavonoïdes	23
II.1.5. Détection des Anthocyanes	23
II.1.6. Détection de l'Amidon	23
II.1.7. Détection des Acides Organiques	23
II.1.8. Détection des Alcaloïdes	23
III. Étude <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante des extraits du gingembre	24
III.1. Test du piégeage du radical libre DPPH*	24
III.2. Protocole de l'étude de l'activité antioxydante	25
III.2.1. Calcul des pourcentages d'inhibition	25
III.2.2. Calcul des " IC ₅₀ "	26

Chapitre 2 : Résultats et Discussion

I. Résultats	27
I.1. Rendements des extraits	27
I.2. Tests phytochimique des extraits du gingembre	27
I.3. Etude <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante des extraits	31
I.3.1. Pouvoir antioxydant des extraits de gingembre issus de la technique de Soxhlet	31
I.3.2. Pouvoir antioxydant des extraits de gingembre issus de la technique de Sonication	32
I.3.3. Pouvoir antioxydant des extraits de gingembre issus de la technique d'extraction par l'eau surchauffée	34
I.3.4. Influence de la technique d'extraction sur le pouvoir antioxydant	35
I.3.4.1. Extraits de gingembre séché	35
I.3.4.2. Extraits de gingembre frais	36
II. Discussion des résultats	37
Conclusion et perspectives	39
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

DO : Absorbance.

DO_c: Absorbance du contrôle.

DO_{ext} : Absorbance de l'extrait.

CAT: Catalase.

DPPH : 1,1 diphényl-2-picrylhydrazyl.

DPPH-H : Diphényl-b-picrylhydrazine.

ED : Eau distillée.

ERO: Espèce Réactive de l'oxygène.

Fe₃₊:Fer ferrique.

Fe₂₊:Fer ferreux.

FeCl₃: Chlorure ferrique.

FLAV : Flavonoïde.

GPx: Glutathion peroxydase.

GSH: Glutathion réduit.

GSSG: Glutathion dissulfite.

GR: Glutathion réductase.

Hcl: Acide chlorhydrique.

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène.

IC₅₀ : Concentration qui assure la réduction de 50 % du DPPH.

mg : Milligramme

ml : Millilitre

mn : Minute

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

O₂⁻: Anion superoxyde.

OH: Radical hydroxyle.

PH: Potentiel d'hydrogène.

PI : Pourcentage d'inhibition.

Prt: Protéines.

PR: Pouvoir réducteur.

sec : seconde

SOD : Superoxyde dismutase.

TC : Tanins condensés.

TCA : Acide trichloracétique

TH : Tanins Hydrolysables

Sch : échantillon de gingembre séché.

Fch : échantillon de gingembre frais.

SOX : extraits de gingembre issus de la technique de Soxhlet.

Sn : extraits de gingembre issus de la technique de Sonication.

EA : extraits de gingembre issus de la technique de l'eau surchauffée.

Liste de tableaux

	P.
Tableau n°01 : Composition nutritionnelle de gingembre.	15
Tableau n° 02 : Tests phytochimiques des extraits de <i>Zingiber officinale</i> forme sèche et fraîche.	28

Liste de figures

	P.
Figure n°01 : Espèces à l'origine de radicaux libres	5
Figure n°02 : Origine des espèces réactives de l'oxygène. Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits sont détaillées.	6
Figure n°03 : Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants.	7
Figure n° 04 : Élimination du H ₂ O ₂ par les réactions enzymatiques combinées de la GPx et de la GR.	8
Figure n° 05 : Structure chimique de la vitamine C.	9
Figure n° 06 : <i>Zingiber officinale</i> , (A) rhizome de gingembre, (B) fleur de gingembre (C) aspect de la plante complète.	13
Figure n° 07 : Dispositif extracteur Soxhlet au début et vers la fin de l'extraction	19
Figure n° 08 : Evaporateur rotatif utilisé pour l'élimination du solvant extractant	20
Figure n° 09 : La pesée du gingembre séché et frais.	20
Figure n° 10 : La pesée du ballon contenant le résidu obtenu après une évaporation à sec.	22
Figure n° 11 : Réaction de test DPPH (2,2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl).	24
Figure n° 12 : Coloration violette d'une solution de DPPH* non réduite.	24
Figure n° 13 : Spectrophotomètre.	25
Figure n° 14 : Résultats de Test détection des Saponosides.	29
Figure n° 15 : Résultats de Test détection des Tannins condensés (Proantocyanidols).	29
Figure n° 16 : Résultats de Test détection des Flavonoïdes.	29

Figure n° 17 : Résultats de Test détection acides organiques.	30
Figure n° 18 : Résultats de Test détection de l'amidon.	30
Figure n° 19 : Virage de couleur de la solution de DPPH du violet au jaune sous l'effet des extraits de <i>Zingiber officinale</i> issus de la technique soxhlet.	31
Figure n° 20 : Pouvoir antioxydant des extraits de gingembre frais et séché issus de la technique d'extraction de Soxhlet.	32
Figure n° 21 : Virage de couleur de la solution de DPPH du violet au jaune sous l'effet des extraits de <i>Zingiber officinale</i> issus de la technique d'extraction par sonication.	33
Figure n° 22 : Pouvoir antioxydant des extraits de gingembre issus de la technique d'extraction par sonication en fonction du temps.	33
Figure n°23 : Virage de couleur de la solution de DPPH du violet au jaune sous l'effet des extraits de <i>Zingiber officinale</i> issus de la technique d'extraction par l'eau surchauffée.	34
Figure n° 24 : Pouvoir antioxydant des extraits de gingembre issus de la technique d'extraction par l'eau surchauffée.	35
Figure n° 25 : Influence de la technique d'extraction sur le pouvoir antioxydant des extraits de la forme séchée de <i>Zingiber officinale</i> .	36
Figure n° 26 : Influence de la technique d'extraction sur le pouvoir antioxydant des extraits de la forme fraîche de <i>Zingiber officinale</i> .	36

.

.

Introduction

Introduction :

Actuellement, la société scientifique, biologiste et chimiste, met en évidence le rôle tragique du processus oxydatif incontrôlable induit par les espèces réactives oxygénées (ERO), ces oxydants sont à l'origine directe de différents états pathologiques tels que le vieillissement et le cancer (Hertog et al.,1997), et indirecte sur la peroxydation des lipides des denrées alimentaires...etc.

Pour éviter les conséquences du stress oxydant, il est obligatoire de rétablir l'équilibre oxydant / antioxydant de l'organisme dont les antioxydants sont des substances naturelles produites par le corps ou bien apportées par l'alimentation qui retardent, empêchent ou réparent les dégâts oxydatifs (Halliwell et Gutteridge, 2000 et 2008).

Selon les estimations de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), 60 à 80 % de la population mondiale, surtout dans les pays sous-développés, ont recours aux traitements traditionnels pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaires (Farnsworth et al., 1985).

Au cours des dernières années la prévention et le traitement par des médicaments et l'utilisation des additifs tels que les antioxydants synthétiques est très répondeuse, mais ces dernières possédant des effets néfastes sur la santé du consommateur plusieurs questions ont été soulevées concernant l'efficacité et la sécurité de ces produits chimiques (Gião et al., 2010).

Cependant, il est nécessaire de les substituer par des traitements naturels. Les plantes médicinales constituent une source naturelle des molécules bioactives qui sont impliquées dans la médecine traditionnelle et ont évoluées à travers les âges pour la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs et la découverte d'un grand nombre de médicaments qui jouent un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines (Eddouks et al.,2007).

La société moderne profite encore de ces connaissances ancestrales. Grâce à des études scientifiques, les substances contenues dans les plantes ont pu être étudiées, leur structure moléculaire analysée, leurs propriétés sur l'organisme humain identifiées. C'est dans cette voie qu'à travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé de l'homme (Iserin et al.,2001).

Les métabolites secondaires, dépassant actuellement 200000 substances identifiées, appartiennent à trois grandes classes : les composés phénoliques, les composés azotés dont les alcaloïdes et les composés terpéniques. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Bruneton, 1993 ; Vermerris et Nicholson, 2006).

Les métabolites peuvent être extraites par plusieurs techniques traditionnelles, modernes ou vertes. Les méthodes traditionnelles sont celles utilisant les procédés de base les plus simples récupérer l'extrait brut de la plante par l'intermédiaire de l'eau (Pour les molécules hydrosolubles) ou de l'huile (pour les molécules liposolubles). Les méthodes modernes ont été employées depuis le 18^e siècle pour la séparation et l'isolement des principes actifs majoritaires des plantes médicinales et qui utilisent principalement des solvants organiques. Ces méthodes sont les plus employées jusqu'à ce jour à l'échelle de laboratoire ou industrielle. Mais l'impact des solvants organiques sur l'homme et son environnement a incité les chercheurs à trouver des solutions pour diminuer ou éliminer leur usage. C'est alors que vers les années 90 du siècle dernier qu'une nouvelle science a vu le jour appelée « Chimie Verte », basée sur douze principes visant à protéger la planète et ses habitants, humains, animaux, végétaux et microbiens. Le cinquième principe de la chimie verte est l'usage de solvants verts qui veut dire inoffensifs et moins toxiques que possible, comme le chauffage par micro-ondes, les liquides ioniques, le CO₂ supercritique et l'eau (Chevallier, 2001 ; Lancaster, 2002 ; Goetz, 2004).

Parmi ces plantes médicinales, « *Zingiber officinale* » qui est consommé dans le monde entier comme une épice et un agent aromatisant de l'ancien temps (Gigon, 2012).

Le gingembre est une herbacée annuelle. C'est l'une des plus importantes épices à travers le monde et est d'une importance économique avec de nombreuses vertus médicinales (Nandkangre. H et al., 2015).

C'est dans ce contexte, se situe ce travail à l'objectif d'évaluer le contenu du gingembre. Ainsi que, de ressortir l'un de ses vertus médicinales élucider dans l'activité antioxydante. Ce travail se repose beaucoup plus sur une étude comparative sur l'activité antioxydante des différents extraits obtenus de différentes méthodes d'extraction.

Le présent travail est scindé en deux parties. La première regroupant les principales informations sur les antioxydants, les radicaux libres et le *Zingiber officinale* sous forme

d'une synthèse bibliographique. Dans la seconde partie, le matériel végétal et la méthodologie de travail y sont présentés, et les principaux résultats obtenus suivie de leurs discussions. En achevant le travail par une conclusion.

Partie

Bibliographique

Chapitre I

L'oxydation et les radicaux libres

L'oxydation et les radicaux libres

I- Oxydation :

L'oxydation est le phénomène qui fait rouiller les métaux, qui fait flétrir les légumes et les fruits, rancir les graisses. Il modifie le goût et la couleur des aliments. Elle est initiée par la lumière, la chaleur, ou les traces de métaux lourds (Cu^{2+} et Fe^{3+}). Cette réaction est au départ très lente, puis s'accélère de façon exponentielle avec la formation de peroxyde ; c'est une réaction en chaîne de radicaux libres. Elle se déroule en trois étapes : initiation, propagation et terminaison (Grait 2015).

L'organisme subit également le phénomène d'oxydation, mais il est équipé pour lutter contre ces altérations : un énorme système de défense est en permanence en place, avec des systèmes enzymatiques et/ou des systèmes de régénération de complexes mettant en jeu par exemple l'acide ascorbique (vitamine C) ou le glutathion.

Mais ce système de défense est parfois débordé. Surtout quand les agressions sont multipliées sous l'effet de la fumée du tabac, de la pollution, du soleil, d'un effort physique intense, etc.

Plusieurs cas peuvent engendrer des déséquilibres :

- Soit dans des conditions de stress et alors l'oxydation augmente au point de ne pas pouvoir être régulée ;
- Soit dans des conditions de mauvaise alimentation et alors les quantités d'antioxydants apportés ne sont pas suffisantes pour rétablir l'équilibre. C'est là où il se déclenchent des dégâts.

I-1-Oxydation et radicaux libres :

L'oxydation est générée par des radicaux libres, espèces chimiques neutres ou chargées instables qui ne cherchent qu'à récupérer un électron dans leur environnement pour retrouver un état plus stable. Ces deux propriétés font que les réactions d'oxydation sont très rapides et se propagent en cascade.

Les espèces moléculaires cibles de l'oxydation sont avant tous les corps gras comme les phospholipides des membranes cellulaires, mais aussi les protéines. Dans le cas des enzymes, l'oxydation entraîne une modification ou perte de l'activité biologique de la molécule, ce qui

provoque des désorganisations cellulaires parfois irréversibles entraînant la mort de la cellule. Il en est de même quand l'oxydation touche l'ADN ou une partie du système traduction/transduction.

L'oxygène de l'air à l'état fondamental O_2 est peu réactif par rapport à la majeure partie des molécules biologiques. Par contre il existe des formes beaucoup plus réactives et donc plus toxiques (figure n° 01).

- $O^\bullet$: radical anion superoxyde	- $ROO^\bullet$: radical peroxyde
- $OH^\bullet$: radical hydroxyle	- 1O_2 : oxygène singulet
- $HO_2^\bullet$: radical perhydroxyle	- H_2O_2 : peroxyde d'hydrogène
- $RO^\bullet$: radical alkoxyde (carbonyle excité)	- $ROOH$: hydroperoxyde

Figure n°01 : Espèces à l'origine de radicaux libres.

Radicaux libres, espèces oxygénées activées (EOA), stress oxydant et antioxydants sont devenus des termes familiers tant dans le monde médical que dans le grand public. Au début des années 2000, ces notions n'étaient généralement évoquées que dans les congrès scientifiques. Mais ces dernières années, l'industrie pharmaceutique, les laboratoires d'analyses médicales et la presse grand public ont massivement diffusé des informations relatives aux antioxydants, sans parfois l'esprit critique nécessaire (Efraigne et al., 2008).

II-1-2-Radicaux libres :

Les radicaux libres sont des substances chimiques très réactives comportant un nombre impair d'électrons. Ces derniers peuvent semer le désordre dans la structure des protéines cellulaires, des lipides membranaires et des acides nucléiques. Ces radicaux peuvent éventuellement entraîner la mort cellulaire et des maladies telles que : Les maladies cardiaques, le cancer (Pincemail et al., 1999) et la maladie d'Alzheimer.

L'appellation espèces réactives de l'oxygène (ERO) inclut les radicaux libres de l'oxygène (Anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), radical hydroxyle ($OH^\bullet$)) et certains dérivés oxydés non radicalaires tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Badeau 2006).

Ces espèces sont formées de façon continue dans l'organisme sain, en particulier par fuite d'électrons à partir de la chaîne respiratoire. Elles peuvent également être générées suite à une

respiration excessive, un exercice physique ou un stress, ou même à une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants : tabac, alcool, amiante... etc. (Aurousseau 2002).

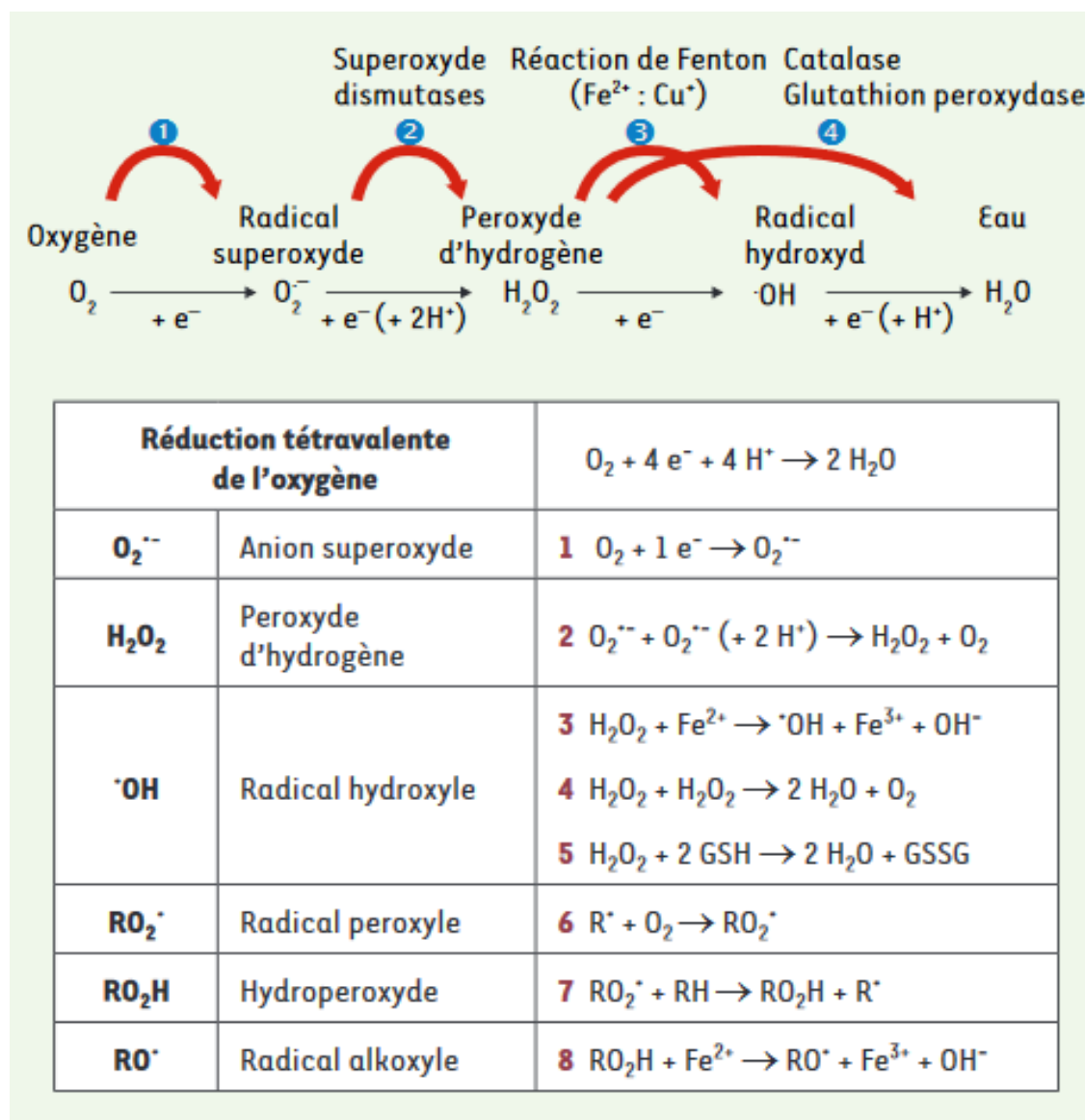


Figure n°02 : Origine des espèces réactives de l'oxygène. Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits sont détaillées (Camille Migdal, Mireille Serres 2011).

Chapitre II

Le stress oxydatif et le pouvoir antioxydant

Le stress oxydatif et le pouvoir antioxydant

II-1- Le stress oxydatif :

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants, en faveur des premières, il est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies ; l'artériosclérose, le cancer, les maladies cardio-vasculaires, les maladies inflammatoires et le processus du vieillissement (Atamer,2008).

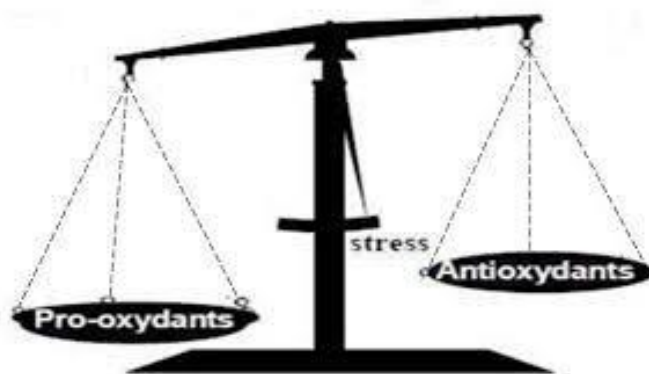


Figure n°03 : Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006).

Pour éviter les conséquences du stress oxydant, il est obligatoire de rétablir l'équilibre oxydant / antioxydant de l'organisme dont les antioxydants sont des substances naturelles produites par le corps ou bien apportées par l'alimentation qui retardent, empêchent ou réparent les dégâts oxydatifs (Halliwell et Gutteridge, 2000 et 2008).

II-2- Les antioxydants :

Toute substance qui retarde, empêche ou répare les dégâts oxydatifs d'une molécule cible est appelé antioxydante. Les antioxydants sont aussi des molécules naturellement produites par le corps ou bien apportées par l'alimentation pour combattre les effets toxiques des radicaux lors du stress oxydant (Halliwell et Gutteridge, 2008).

Les plantes à polyphénols sont reconnues pour leur activité antioxydante (Allane et Benamara 2010). Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement

l'oxydation d'un substrat par chélation de radicaux libres qui sont à l'origine de diverses maladies. Les antioxydants peuvent être classés selon leurs origines en deux classes les antioxydants enzymatiques et les non enzymatiques (Delattre et al., 2005).

II-1-1-Système antioxydant enzymatique :

L'organisme se défend contre les radicaux en synthétisant des enzymes qui les neutralisent. Les principales enzymes antioxydantes sont la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase (Vincent et al., 2004).

- Superoxyde dismutase (SOD) :

Ce sont des métallo-enzymes à manganèse ou à cuivre et zinc présentes dans la mitochondrie. L'enzyme catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène qui pourra être pris en charge par des enzymes à activité peroxydase (Baudin 2006).

- Glutathion peroxydase (GPx):

La GPx fait partie d'un système complet qui joue un rôle central dans le mécanisme d'élimination du H_2O_2 . La GPx est l'enzyme clef du système antioxydant et nécessite la présence de glutathion réduit (GSH) comme donneur d'électron. Le glutathion dissulfite (GSSG) ainsi produit est à nouveau réduit par la glutathion réductase (GR) qui utilise le NADPH comme donneur d'électron (Figure n° 04) (Agarwal et Prabakaran, 2005).

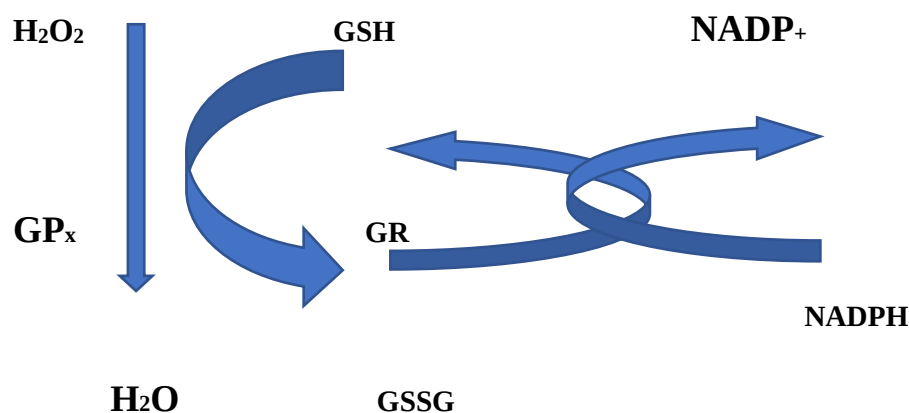


Figure n° 04 : Élimination du H_2O_2 par les réactions enzymatiques

combinées de la GPx et de la GR (Servais 2004).

- Catalase (CAT) :

La catalase est une enzyme intracellulaire qui catalyse la réaction de détoxification du H_2O_2 (généralement produit par les SOD) (Newsholme et al. 2007).

La réaction de détoxification se déroule comme suit :



II-1-2- Système antioxydant non enzymatique :

Ce système fait appel à des molécules non enzymatiques telles que les vitamines antioxydante (vitamine C et vitamine E), les caroténoïdes et les composés phénoliques. Contrairement aux enzymes antioxydants, ces composés ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation (Gardès-Albert et al., 2003).

- Vitamine E :

La vitamine E (α -tocophérol) est le principal antioxydant. Elle neutralise les radicaux libres ensuite stoppe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides. Cette vitamine devient à son tour un radical moins réactif, qui pourra être régénéré par l'acide ascorbique (Bationo et al., 2015).

- Vitamine C ou acide L-ascorbique :

L'acide L-ascorbique de formule $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ présente deux carbones asymétriques, une fonction lactone, deux fonctions alcool puis une fonction ène-diol ($\text{HO}-\text{C}=\text{C}=\text{OH}$).

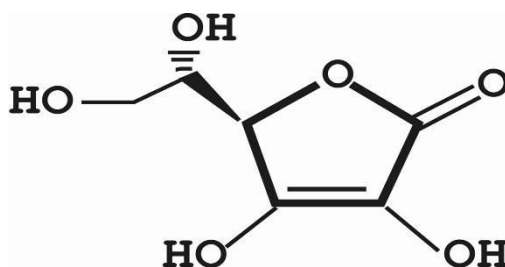


Figure n° 05 : Structure chimique de la vitamine C.

C'est cette dernière fonction qui est responsable de son activité biologique par ses propriétés réductrices. Après oxydation, l'acide ascorbique devient l'acide déhydroascorbique. C'est l'anion ascorbate qui est prédominant au pH physiologique.

Il est présenté sous forme de cristaux blancs. Les apports en vitamine C se font principalement par les fruits frais (kiwi, agrumes) et par certains légumes comme les tomates, poivrons, brocolis (Marc, F et al, 2004).

C'est une vitamine très fragile qui peut facilement être dégradée lors des modes de cuisson par exemple (Lemoine, A.2006).

En effet, plusieurs études rapportent un effet protecteur de la consommation de la vitamine C sur l'incidence des cancers, dont ceux de la cavité buccale, du pharynx, de l'œsophage, de l'estomac et du pancréas (Marc, F et al., 2004).

L'effet antioxydant de l'acide ascorbique pourrait inhiber les processus d'oxydation et les radicaux libres qui jouent un rôle dans l'initiation et la promotion du processus néoplasique. (Carrac et al.,1999) (Block G.,1992).

La vitamine C ou ascorbate agit principalement en piégeant directement les ERO (majoritairement l'O₂[°]-et l'OH[°]) ou bien en régénérant l'α-tocophérol (Bationo et al., 2015).

- Les polyphénols :

L'efficacité antioxydante des poly phénols est essentiellement due à la facilité avec laquelle un atome d'hydrogène d'un groupe hydroxyle aromatique est cédé à un radical libre (Duthie et al., 2003). Les polyphénols sont classés en deux groupes : les composés flavonoïdes et les composés non flavonoïdes. Les composés flavonoïdes sont regroupés en diverses familles : flavonols, flavanols, flavones, isoflavones, flavanones et anthocyanes. Les non flavonoïdes sont divisés en acides phénols et dérivés, lignanes et stilbènes (Stevensen et al., 2007).

➤ Flavonoïdes :

Les flavonoïdes préviennent l'oxydation des lipides et l'athérosclérose.



Ils agissent principalement comme piégeurs de radicaux libres tels que le DPPH[°], le superoxyde et le peroxydinitrite, ou encore comme chélateurs de métaux (Nijveldt et al., 2001).

➤ **Tannins :**

Les tannins sont révélés très efficaces pour réduire les ions métalliques et empêcher la peroxydation des lipides dans les microsomes et les mitochondries du foie. Ils sont également dotés d'une activité scavenger du radical DPPH° et de l'anion superoxyde (Okuda 2005).

Les polyphénols sont capables de piéger des espèces radicalaires et de chélater les métaux de

transition comme le Fer et le Cuivre qui permettent de catalyser les oxydations. Ils sont cependant présents en faible concentration dans le plasma et sont principalement retrouvés sous forme conjuguée et donc n'ont probablement que des effets indirects in vivo. Il paraît néanmoins que les polyphénols interagissent avec des cibles protéiques (enzymes, signalisation intracellulaire, récepteurs nucléaires...) ce qui leur assure des effets anti-thermogéniques, anti-inflammatoires, antithrombotiques, anticancérigènes (Stevenson et al., 2007).

Chapitre III

Le gingembre

« *Zingiber officinale* »

Le gingembre « *Zingiber officinale* »

1. Historique :

Le terme « Gingembre » est dérivé du nom Anglais ginvere. Cette plante est aussi appelé Zingiberes en grec et Zingiberi en latin (Bode et Dong, 2011), bien que dans la médecine indienne le *Zingiber officinale* est connu en tant que «vishwabhesaj», qui veut dire «remède universel» (Speck et al., 2014).

Le gingembre est utilisé comme épice depuis plus de 2000 ans. Il comprend 47 genres et 1400 espèces (Datta et al., 2011; Elkirdasy et al., 2015; Kamran et al., 2014; Mukherjee et al., 2014; Nandkangre et al., 2015).

Le gingembre s'est répandu après dans l'Égypte antique comme un composant des techniques de momification. La production de gingembre comme une racine tonique est apparue depuis plus de 5000 ans chez les Indiens et les Chinois pour traiter de nombreuses affections. Aujourd'hui cette plante est cultivée dans les régions tropicales humides, bien que l'Inde reste le plus grand producteur (Bode et Dong, 2011).

Largement employé dans la cuisine asiatique pour ses qualités tant gustatives que facilitatrices de la digestion, le gingembre est aussi une épice médicinale aux multiples propriétés (Gigon, 2012), il est aussi considéré comme un important ingrédient dans la phytothérapie chinoise pour le traitement de diverses maladies (Nile et Park, 2015). Cette plante a été mentionnée par les botanistes et les apothicaires grecs, des naturalistes romains ont décrit dans leurs travaux l'utilisation du gingembre en médecine mais ce n'est qu'au 13^{ème} siècle que Marco Polo a introduit cette épice en Europe, durant cette même période les arabes ont répandu cette dernière de l'Inde à l'Afrique de l'Est et ce n'est qu'au 16^{ème} siècle que les portugais ont introduit le gingembre en Afrique de l'Ouest (Tanaka et al., 2015).

2. Classification botanique et dénomination internationale :

Le nom latin *Zingiber* vient du mot Sanscrit « shringavera » qui signifie "en forme de bois de cerf" relatif à son rhizome branchu. Le mot ginger a évolué en anglais du latin *zingiber* en « gingifer » et « gingivere » (Yamahara J et al, 1998). Aussi il était dénommé zenj par les marchands arabes, mot par lequel ils désignaient aussi les habitants de la côte est de l'Afrique

et d'où vient le nom de «Zanzibar», où les Arabes allaient chercher le gingembre. Les indiens découvraient le gingembre à la date de l'an 1000 avant notre ère prescrivaient.

Classification :

Règne : Plantae

Embranchement : Tracheobionta

Sous embranchement : Magnoliophyta

Classe : Liliopsida

Ordre : Zingiberales

Famille : Zingiberaceae

Genre : Zingiber

Espèces : *Zingiber officinale* (Subash et Sharma, 2014).

Les noms vernaculaires de gingembre en arabe et en anglais sont par ordre Zengebil et ginger.

3. Description botanique :

Le gingembre est une plante vivace, tropicale, herbacée de la famille des zingibéraceae, qui peut atteindre 0,90 m de hauteur, issue d'un rhizome. Les feuilles persistantes sont lancéolées, bisériées, longues et odorantes. Les fleurs sont rouges sur les lèvres, bractées vert et jaune. Après la floraison, un court épi axillaire renfermant les graines noires enfermées dans des capsules trivalves apparaît au bout d'une tige couverte d'écailles (Figure n°06) (Road, 1999).

La partie souterraine utilisée est le rhizome. Celui-ci se divise dans un seul plan et est constitué de tubercules globuleux ramifiés. La peau du rhizome est beige pâle et sa chair est jaune pâle juteuse, l'odeur est aromatique avec une saveur chaude et piquante (Gigon, 2012). Les rhizomes sont récoltés après 9 à 10 mois (Faivre et al., 2006).



Figure n° 06 : *Zingiber officinale*, (A) rhizome de gingembre, (B) fleur de gingembre (C) aspect de la plante complète.

4. Composition biochimique :

Le rhizome de gingembre représente la partie consommée comme épice. Une portion de 100 g en gingembre, fournit une énergie de 34 kJ, 9.38 g de l'eau, 4.77 g de cendres, 5.95 g de lipides et 70.79 g de glucides dont 60 % est représenté par l'amidon. Comme elle contient des protéines, des graisses et des fibres et des micronutriments à savoir la vitamine C(7mg), la vitamine B₁(0.046 mg), la vitamine B₂(0.185 mg) et les vitamines A, E et B₃(Bruneton,2009).

L'analyse chimique du gingembre indique qu'il contient plus de 400 différents composés et renferme 6% d'oléorésine (Wright,2004) et de 1 à 3% d'huile essentielle(Katzer,2008).

L'oléorésine contient des composés responsables de la saveur très marquée de cette plante. Certains appartiennent à la famille des vanilloïdes et sont connus sous le nom de 3-, 6-, 8-, 10-et 12-gingérols, ces composés ont une chaîne latérale de longueur variable, respectivement de 7, 10, 12, 14 ou 16 carbones (Gigon, 2012, Ok et Jeong, 2012) ; ils sont accompagnés de gingédiols et de paradols (Gigon, 2012). Le zingérone et le shogaol sont des produits de la dégradation du gingérol sous l'action de la chaleur (Gigon, 2012). L'odeur et la saveur caractéristique du gingembre sont dues aux huiles volatiles essentiellement riches en gingérols et shogaols (Prasad et Tyagi, 2015)

Tableau n°01 : Composition nutritionnelle de gingembre (Neveu et al., 2010 ; Kubra et Rao, 2012 ; Mahdi et al., 2013; Rashidian et al., 2014; Al-Nahain et al., 2014).

Nutriment	Quantité par 100 g	% De l'apport journaliers recommandés
Energie	332 Kcal	17%
Eau	9.94 g	-
Protéines	8.98 g	18%
Lipides	4.24 g	6%
Oil		
Acide Gras saturés	2.6 g	-
Oméga 3	0.223 g	2%
Oméga 9	0.357 g	-
Glucides	57.5 g	21%
Sucre	3.34 g	4%
Fibres	14.1 g	56%
Minéraux et oligo-éléments		
Calcium	114 mg	14%
Cuivre	0.48 mg	48%
Fer	19.8 mg	141%
Magnésium	214 mg	57%
Manganèse	33.3 mg	-
Phosphore	168 mg	24%
Potassium	1320 mg	66%
Sélénium	0.70 mg	1%
Sodium	27 mg	1%
Zinc	3.64 mg	36%
Vitamines		
Vitamine A	18 µg	2%
Vitamine B1	0.046 mg	4%
Vitamine B2	0.17 mg	12%
Vitamine B3	9.62 mg	60%
Vitamine B5	0.477 mg	8%

Phenylalanine + Tyrosine	36	76%
Threonine	20	73%
Tryptophane	7	94%
Valine	40	100%

Vitamine B6	0.626 mg	45%
Vitamine B9	34 µg	17%
Vitamine C	5 mg	7%
Vitamine E	0.26 mg	2%

Métabolites secondaires

[6]- Gingerol	21.15 mg	-
Lignanes	0,2 mg	-
Polyphénols totaux	0,2 mg	-

Le gingembre contient 46% de protéines complètes

Acides aminés essentiels	mg /g de protéine	%
Histidine	16	92%
Isoleucine	28	100%
Leucine	41	74%
Lysine	31	61%
Methionine + Cystine	12	46%

Phenylalanine + Tyrosine	36	76%
Threonine	20	73%
Tryptophane	7	94%
Valine	40	100%

5. Domaines d'utilisation :

Le gingembre est beaucoup utilisé en cuisine, fraïsou séchée (Ding et al., 2012). Il est utilisé dans la confection de pain d'épices, de biscuits, de desserts, dans les viandes, les poissons, le poulet, dans les soupes et pour aromatiser le riz (Charles, 2013).

Le gingembre est également utilisé en industrie alimentaire pour aromatiser dans la confiserie et dans la production de boissons alcoolisées et non alcoolisées (Sangwan et al., 2014). Le gingembre est aussi utilisé en industrie pharmaceutique et en médecine traditionnelle (Li et al., 2016; Makanjuola et al., 2015) pour soigner: les nausées et les vomissements (Daily et al., 2015; Naderi et al., 2015; Prasad et Tyagi, 2015), la douleur, le rhume (Gomar et al., 2014; Khandouzi et al., 2015), l'arthrite, les rhumatismes (Lakhan et al., 2015; Lee et al., 2013; Mashhadi et al., 2013), les crampes, la fièvre, les infections (Danciu et al., 2015), les troubles gastro-intestinaux (Giacosa et al., 2015; Li et al., 2016), les migraines (Gigon, 2012; Li et al., 2016), les flatulences et les coliques (Singh et al., 2014), il est considéré comme agent de désintoxication pour les alcooliques (Motawi et al., 2011), vermifuge (Charles, 2013; Khodaie et Sadeghpour, 2015), il est utilisé pour soigner l'anémie (Iroaganachi et al., 2015), la constipation, l'asthme, les maladies nerveuses, le mal de dents (Lee et al., 2013), la maladie d'Alzheimer (Danciu et al., 2015), les maux d'estomac, les diarrhées (Akinola et al., 2014), et la goutte (Nile et Park, 2015).

Le gingembre peut calmer l'inflammatoire articulaire. Il est en particulier efficace lorsque la personne a envie de chaud sur ses articulations. Le gingembre fonctionne seul, mais il améliore aussi l'effet des anti-inflammatoires médicamenteux pour l'ostéoarthrite (Paramdeep, 2013). Il peut aussi soulager dans les cas de polyarthrite rhumatoïde : certains chercheurs pensent qu'il pourrait même servir de base pour la découverte de nouveaux médicaments (Al-Nahain, 2014).

6. Toxicité du gingembre :

A haute dose, le gingembre peut irriter la peau et déclencher des allergies, en effet, il augmente la photosensibilité de la peau. La toxicité existe et elle est liée aussi à son HE: Il s'agit d'une intoxication neurologique grave par surdosage en l'HE. L'application de l'huile de gingembre est déconseillée aux femmes enceintes, car elle peut déclencher des contractions comme elle peut causer des effets tératogènes (Mukeudi 2011).

Partie

Expérimentale

Matériel & Méthodes

I. Matériel et méthodes :**I.1. Objectif :**

L'objectif de ce travail est d'étudier l'influence de différentes méthodes d'extraction sur le rendement, la composition chimique et l'activité antioxydante des extraits de *Zingiber officinale*.

I.2. Structure de stage :

Le travail est réalisé au niveau du laboratoire de chimie n°03 et de microbiologie n°03. aussi une importante partie est faite au niveau du laboratoire de recherche en Pharmacognosie Et Api-Phytothérapie (I N E S).

I.3. Matériel végétal :

La plante utilisée dans ce travail est le *Zingiber officinale* qui est une plante exotique d'origine asiatique, elle est sélectionnée avec soin et prudence en faisant attention aux conditions de stockage et de la durée de la mettre disponible, en la procurant du marché local. Le rhizome est utilisé sous ses deux formes sèche (en poudre) et fraîche.

I.4. Méthodes d'extraction et préparation des extraits :

Tout procédé d'extraction est basé sur la différence de solubilité des substances d'un mélange dans un solvant. Le mélange à extraire peut-être solide ou liquide et le solvant liquide ou fluide supercritique ou subcritique. Aussi, plusieurs techniques d'extraction peuvent être mises en œuvre pour extraire les principes actifs des plantes, toujours très recherchés pour toutes sortes d'application en alimentaire, nutraceutique, cosmétique et pharmacie, ...etc.

I.4.1. Méthode d'extraction Soxhlet :

C'est une méthode classique pour une extraction solide-liquide en continue (Penchev,2010). Cet appareil porte le nom de son inventeur Franz Van Soxhlet.

Les extraits sont obtenus en mettant 30g de rhizome du gingembre forme sèche(poudre) / fraîche (rhizome râpé) dans 350ml de méthanol est porté à ébullition, puis condensé avec le condensateur à boules, dans le réservoir à siphon, contenant le solide à extraire dans une cartouche de papier épais. Le contacte entre le solvant et le solide dure pendant l'accumulation du méthanol dans le réservoir, puis quand ce dernier atteint un certain niveau,

il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant les substances dissoutes. L'extraction a duré une heure et demi dont l'extrait est récupéré après 6 cycles (le 1^{er} cycle dure environ 30min, la durée diminue jusqu'à 10 min pour le reste des cycles jusqu'au 6^{ème}).

Cette méthode d'extraction exige un pro-traitement pour le mélange obtenu par soxhlet ; en pratique, on utilise un évaporateur rotatif pour éliminer le solvant d'extraction (Penchev,2010).

L'évaporateur rotatif utilise une technique rapide et efficace de séparation : Elle permet l'élimination du solvant extractant dont la température d'ébullition est abaissée en travaillant sous pression réduite (Hireche,2013).

C'est pour cela l'extrait est évaporé à sec et sous vide par un évaporateur rotatif (Rotavapor marque BUCHI R-205) à 40°C. Les résidus sont récupérés par l'acétone dilué à 70%. L'extrait obtenu après solubilisation est conservé dans des flacons hermétiques à l'abri de la lumière pour éviter la photodégradation des composés photolabiles.

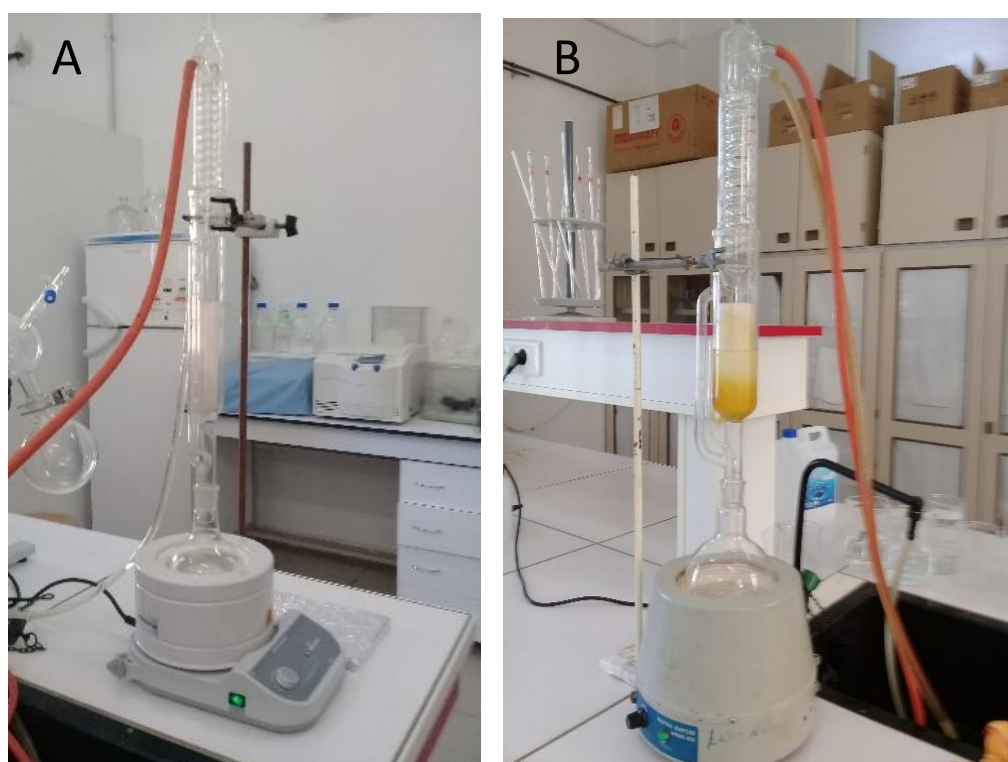


Figure n° 07 : Dispositif extracteur de Soxhlet au début et vers la fin de l'extraction.



Figure n° 08 : Evaporateur rotatif utilisé pour l'élimination du solvant extractant.

I.4.2. Méthode d'extraction par ultrasons, sonication :

L'extraction assistée par sonication est une méthode simple et efficace. Par rapport à une extraction classique, elle offre une augmentation du rendement d'extraction et une accélération de la cinétique. Elle permet de travailler à des températures relativement basses et d'éviter la thermodestruction des composés. Cette méthode ne permet pas de renouveler le solvant pendant le processus d'extraction. Dans cette étude 10g de la matière sèche/fraiche du gingembre est ajoutée à 100ml de l'eau distillée mises séparément pour deux durées d'extraction 20 minutes et 40 minutes pour les deux formes.



Figure n° 09 : La pesée du gingembre s'éché et frais.

Les extraits obtenus sont filtrés par papier Whatman N°1 et les filtrats sont conservés dans des flacons hermétiques bruns à 4°C.

I.4.3. Méthode d'extraction par l'eau surchauffée :

Ce procédé est assez récent. Il fait l'objet de nombreux travaux de recherches et les développements industriels sont à l'étude.

Ce procédé utilise les propriétés de l'eau, qui dans sa phase sous-critique voit ses propriétés de solvant modifiées et peut solubiliser des composés faiblement et moyennement polaires.

Dans cette étude 20g de chaque échantillon est mis en contact avec 200ml d'eau distillée, l'ensemble est alors porté sous pression de deux bars et une température qui dépasse 100°C.

De même manière que l'extraction précédente, les extraits sont filtrés et conservés dans les mêmes conditions de stockage.

I-3-Calcul du rendement des extraits :

Après chaque étape d'extraction, le rendement des extraits a été calculé par la formule suivante:

$$\text{Rendement\%} = m_0 / m_1 \times 100$$

m_0 : Masse en gramme de l'extrait brut évaporé ;

m_1 : Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche.



Figure n° 10 : La pesée du ballon contenant le résidu obtenu après une évaporation à sec.

I.5. Préparation des dilutions :

Les extraits bruts issus des différentes méthodes d'extraction sont dilués par l'eau distillée afin de préparer des concentrations croissantes : C1 : 20%, C2 : 40%, C3 : 60% et C4 : 80%.

II-Tests phytochimiques :

L'un des buts essentiels d'un test phytochimique consiste dans la détection des différentes familles de métabolites secondaires existant dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés (Hagerman et al., 2000 ; El-Olemy et al., 1994 ; Dohou et al., 2003 ; Senhaji et al., 2005 ; Kumar et al., 2010).

Les résultats sont évalués comme suit : +++ : fortement positif ; ++ : moyennement positif ; + : faiblement positif ; - : négatif.

II-1- Détection des Saponosides :

Leur présence est déterminée par la présence ou non de mousse persistante. Deux millilitres de l'extrait sont mis dans un tube à essai fermé, ensuite bien agiter verticalement pendant 30sec et laisser reposer 15min.

II-2- Détection des Tanins (hydrolysables) :

L'ajout de quelques gouttes de FeCl_3 à 1% permet de détecter la présence ou non de tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques.

II-3- Détection des Proanthocyanidols (tanins condensés) :

A 2 ml de l'extrait sont additionnés 2 ml d'acide chlorhydrique concentré ; le tout est laissé pendant cinq minutes dans un bain-marie bouillant ; l'apparition d'une coloration rouge indique une réaction positive.

II-4- Détection des Flavonoïdes :

Quelques gouttes d'HCl concentré en présence de trois ou quatre tournures de magnésium. Le changement de coloration est observé : virage au rouge (flavones), virage au rouge pourpre (flavonols), rouge violacée (flavanones et flavanols).

II-5- Détection des Anthocyanes :

Deux millilitres de l'extrait sont ajoutés à 2 ml d'acide chlorhydrique 2 N. L'apparition d'une coloration rose-rouge qui vire au bleu-violacé par addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes.

II-6- Détection de l'Amidon :

Quelques gouttes de l'iode (I_2) sont rajoutées à 2 ml de l'extrait contenue dans un tube à essai, et on observe le changement de la couleur vers le bleu, ce qui indique la présence d'amidon.

II-7- Détection des Acides Organiques :

Mettre quelques gouttes du Bleu de Bromothymol dans un tube à essai contenant 2ml de l'extrait ; si la couleur change au jaune canari, l'extrait contient des acides organiques.

II-8- Détection des Alcaloïdes :

Mettre quelques gouttes du réactif de Dragendorff dans un tube à essai contenant l'extrait ; si la couleur change au marron foncé ça prouve l'existence des alcaloïdes.

III-Étude *in vitro* de l'activité antioxydante :

III-1-Test du piégeage du radical libre DPPH* :

Le radical 2,2-Diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse (Bozin et al.,2008).

Le DPPH présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, d'une intense coloration violette (Fig. n° 12) qui disparaît rapidement au contact d'une substance donneuse de proton et se réduit donc en 2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (Fig.n°11) (Sanchez-Moreno,2002).

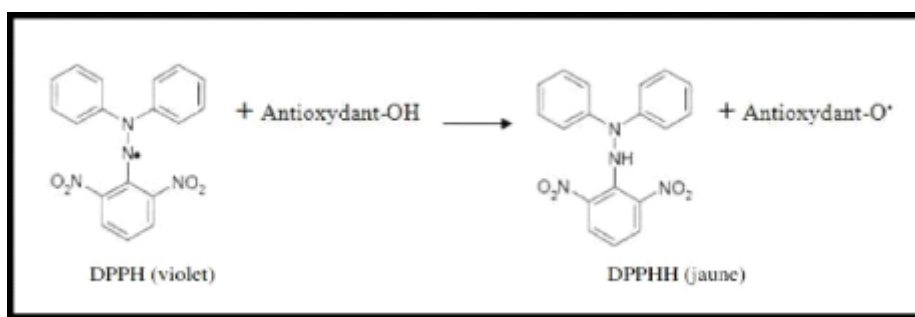


Figure n° 11 : Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl) (Congo, 2012).

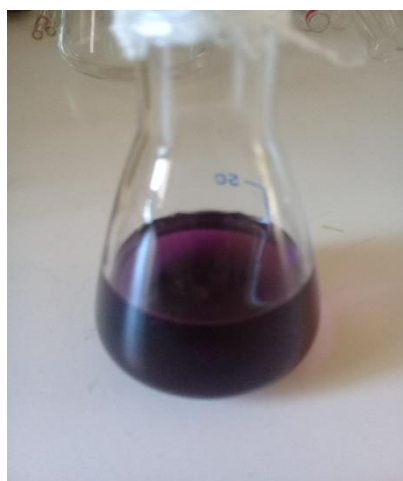


Figure n° 12 : Coloration violette d'une solution de DPPH* non réduite.

III-2- Protocole de l'étude de l'activité antioxydante :

L'activité antioxydante est étudiée selon le protocole décrit par Bounatirou et al.

- ✓ Préparation des Concentrations des échantillons (dilution en pourcentage) : 20% 40% 60% 80%
- ✓ Concentrations de l'antioxydant de synthèse acide ascorbique : 0,001mg/ml - 0.025mg/ml - 0,5mg/ml – 1mg/ml (contrôle positif).
- ✓ La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2.5 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol,
- ✓ 100 µL (0.1ml) de chaque extrait ainsi que le contrôle positif sont ajoutés à 1.90 ml de la solution de DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante.
- ✓ Témoin négatif : 100 µL de méthanol +1.90 ml de la solution de DPPH (blanc pour régler le spectrophotomètre // DO= 0.00).
- ✓ Les absorbances sont mesurées à 517 nm. (Chaque 5 minutes/ pendant 30 min).



Figure n° 13 : Spectrophotomètre.

➤ Calcul des pourcentages d'inhibition :

Les résultats sont exprimés en pourcentages d'inhibition du DPPH (PI), (en tenant compte de la moyenne de trois mesures obtenues pour chaque extrait), calculés selon la formule suivante:

$$PI = (D.O \text{ contrôle } D.O \text{ extrait} / D.O \text{ contrôle}) \times 100$$

PI : Pourcentage d'inhibition du DPPH.

D.O *contrôle* : Absorbance du contrôle négatif.

D.O *extrait* : Absorbance de l'extrait.

➤ ***Calcul des " IC₅₀ " :***

La valeur IC₅₀ est la concentration qui assure la réduction de 50 % du DPPH, déterminée graphiquement pour chaque extrait à partir de la courbe du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'extrait (Samarth *et al.*, 2008).

Résultats & Discussion

I. Résultats :

I.I Rendements des extractions :

D'une manière générale, le rendement de l'extraction change selon la technique d'extraction appliquée et selon la nature de l'échantillon soit sèche ou fraîche.

L'extraction par la technique Soxhlet a donné les rendements les plus faibles pour les deux formes séché et fraîche ; 8.93 et 11.33% respectivement. Pour l'extraction par eau surchauffée les rendements sont de l'ordre de 60% et 80% pour la forme sèche et la forme fraîche respectivement. Tandis que, le rendement le plus élevé est enregistré pour la technique d'extraction par sonication, 95% pour l'échantillon frais et 86% pour l'extrait dérivé de la forme sèche.

II- I-Étude phytochimique des extraits de gingembre :

En général et d'après les réactions de différents extraits vis-à-vis les réactifs spécifiques pour chaque test, des différences bien nettes sont enregistrées entre les deux formes fraîche et séché des extraits de rhizome de *Zingiber officinale*, ainsi qu'entre les extraits issus de différentes techniques d'extractions (tableau n° 02).

Les différences les plus marquées sont notées pour les saponosides, flavonoïdes, tanins condensés, acides organiques et l'amidon. Par exemple, pour les extraits issus de la technique Soxhlet ; les saponosides sont présents dans l'extrait de gingembre séché et absent dans l'extrait issu de la forme fraîche. Inversement, ces molécules sont absentes dans la forme séché et présentes dans la forme fraîche des extraits issus de la technique d'extraction par sonication durant 40 minutes.

Concernant les flavonoïdes, les réactions varient entre effervescence, dégagement de gaz, et production d'une mousse dont la hauteur diffère selon la quantité extraite de cette famille chimique.

Également, les extraits obtenus après 20 minutes d'extraction par sonication ou par eau surchauffée ne contient pas des acides organiques.

Pour l'amidon, l'ensemble des extraits du gingembre frais et séché contiennent cette molécule. Lors e la mise en évidence de la présence de l'amidon dans le tube qui contient l'extrait EA20' deux phases apparus et qui sont nettement séparées (figure n° 18).

Tableau n° 02 : Tests phytochimiques des extraits de *Zingiber officinale* forme sèche et fraîche.

	E.Soxhlet		E.Sn20'		E.Sn40'		EA10'		EA20'	
	S	F	S	F	S	F	S	F	S	F
Alcaloïdes	++	ND	+	-	++	++	+++	++	+++	++
saponosides	+	-	-	-	-	+	+	+++	+++	-
Antocyanes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tanins condensés	ND	ND	+	-	+	-	++	-	-	-
Tanins hydrolysables	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoïdes	Eff	Gaz	+	+	Eff	+++	Eff	+++ +	+	Gaz
Acides organiques	++	++	++	-	+++	++	+++	+++	+++	-
Amidon	-	-	+	-	++	-	+++	+++	+++ (gl)	+++ (gl)
- : Réaction négative + : Réaction légèrement positif ++ : Réaction positif +++ : Réaction fortement positif Eff : Effervescence Gaz : Dégagement de gaz gl: Gélatisation ND : Non déterminé										

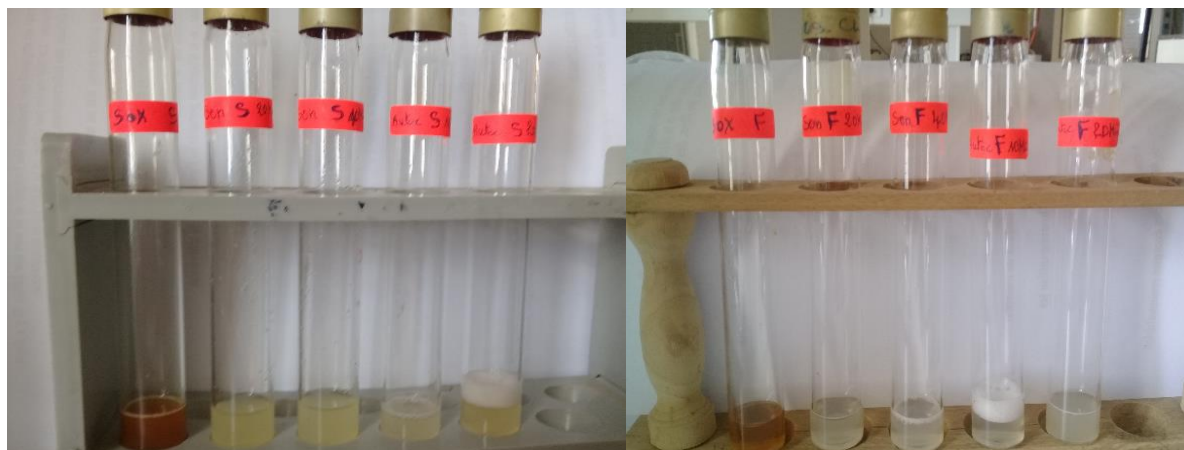


Figure n° 14 : Résultats de test de détection des Saponosides.

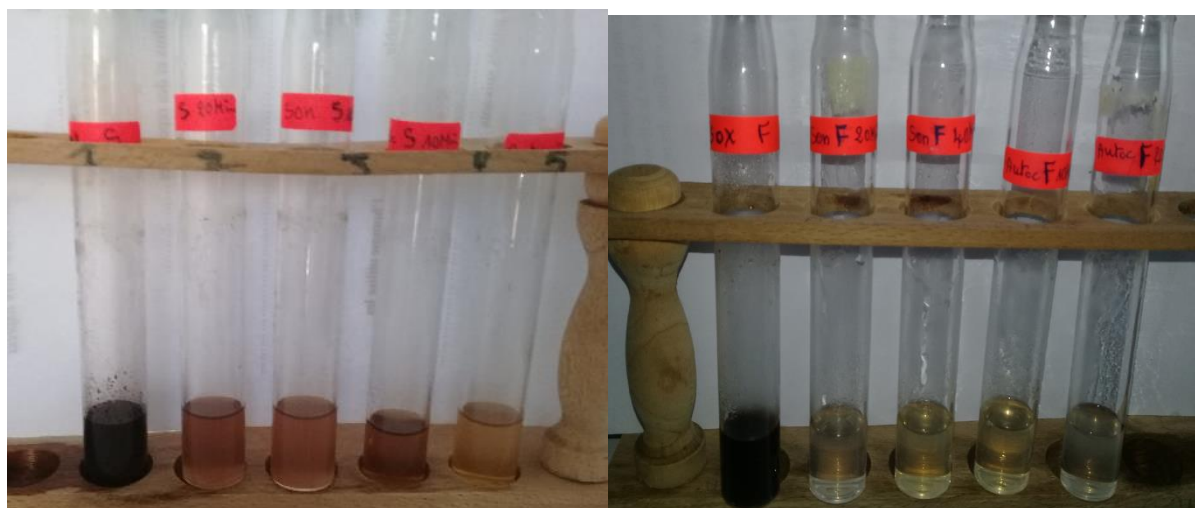


Figure n° 15 : Résultats de test de détection des Tannins condensés (Proantocyanidols).



Figure n° 16 : Résultats de test de détection des Flavonoïdes.

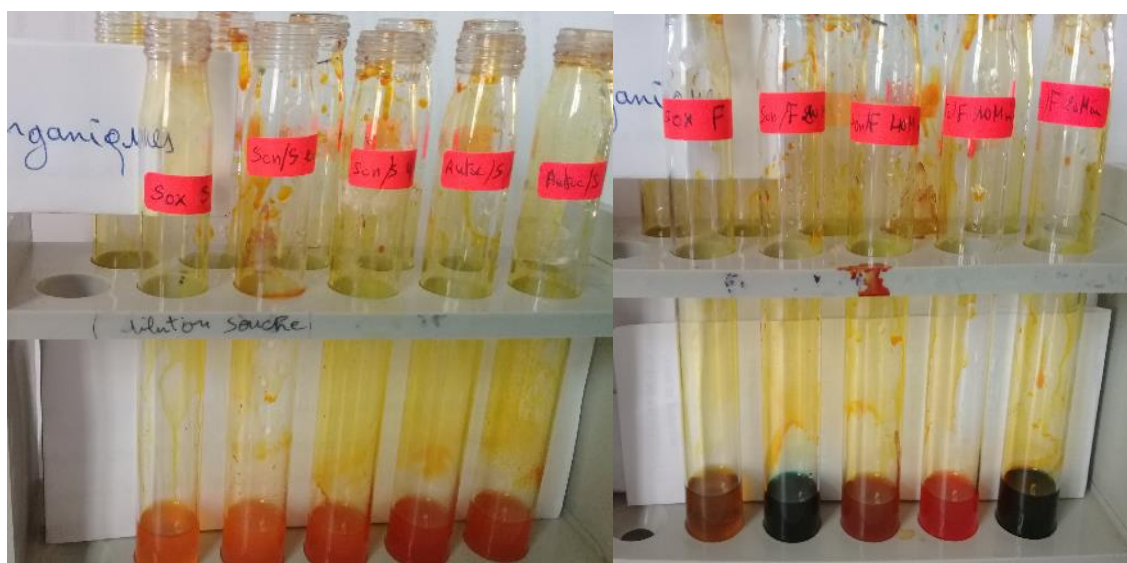


Figure n° 17 : Résultats de test de détection des acides organiques.



Figure n° 18 : Résultats de test de détection de l'amidon.

III. Activité antioxydante des extraits issus de différentes méthodes d'extraction :

III-1-Pouvoir antioxydant des extraits de gingembre issus de la technique de Soxhlet :

L'action antioxydante directement visible et bien claire dans les cuves contenant les extraits déjà avant la lecture spectrophotométrique (figure n°19), ce qui renvoie à la présence d'une importante activité antioxydante des substances actives pour toutes les concentrations de ces extraits issus de la technique de Soxhlet.

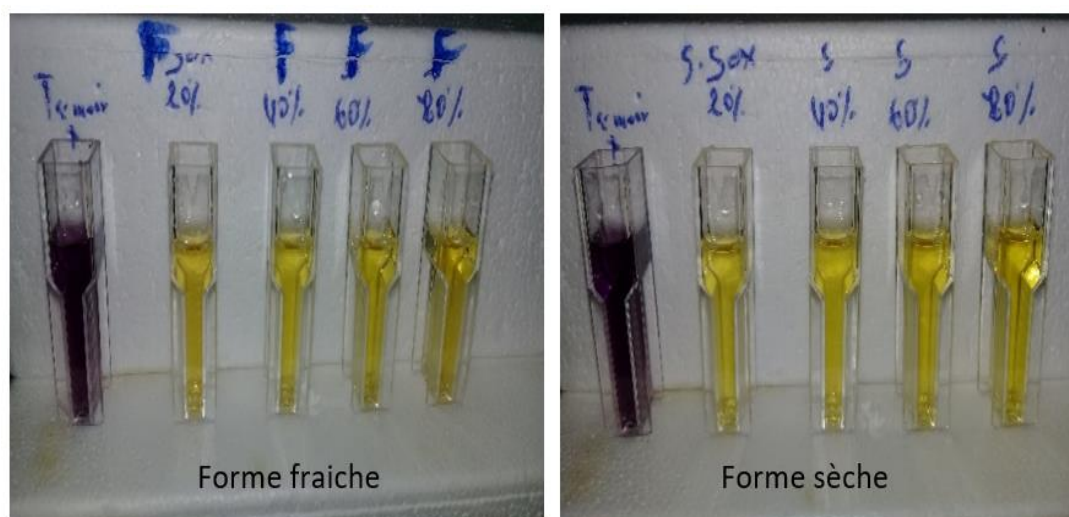


Figure n° 19 : Virage de couleur de la solution de DPPH du violet au jaune sous l'effet des extraits de *Zingiber officinale* issus de la technique soxhlet.

D'après la figure n° 20 l'activité antioxydante de l'extrait de la plante fraîche a donnée des valeurs plus élevées 68 ,69 pour la concentration 80%(v/v) que ceux de l'extrait de la plante sèche qui a donnée l'activité la plus élevée pour la concentration de 20%(v/v).

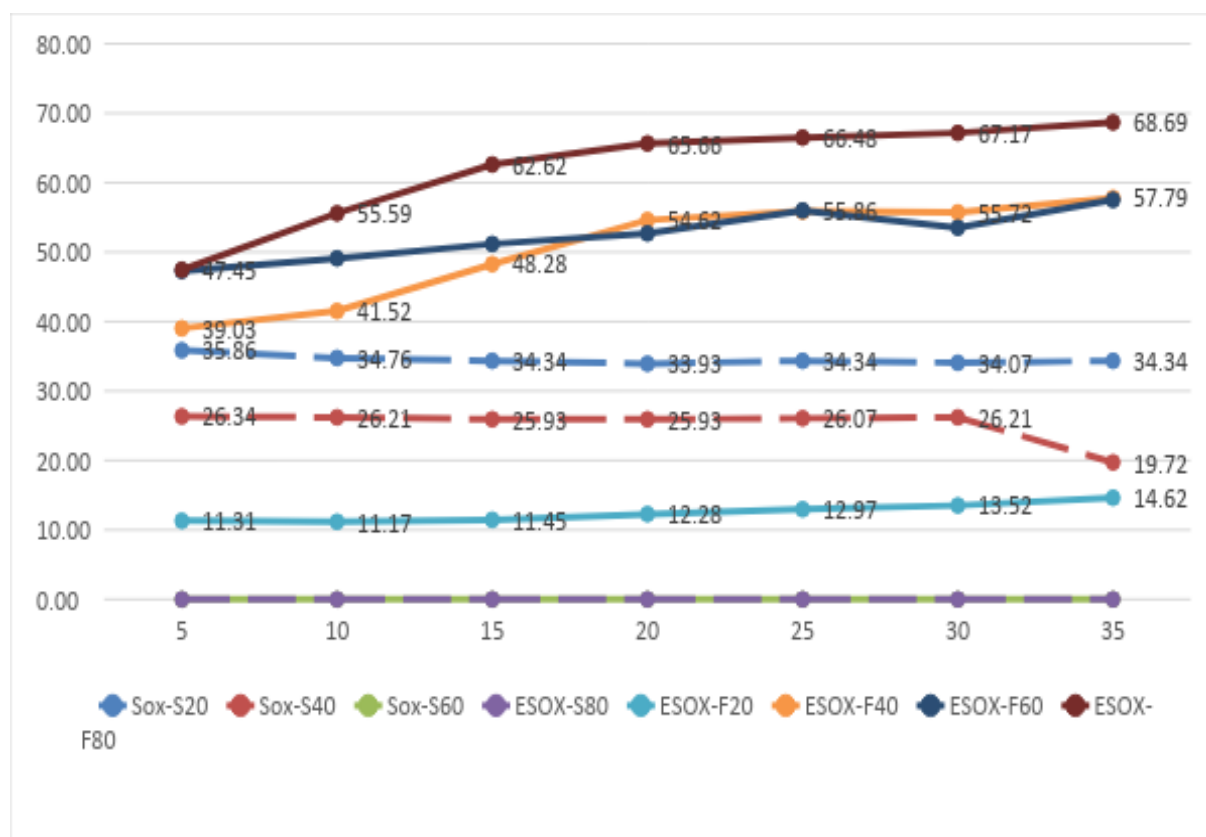


Figure n° 20 : Pouvoir antioxydant des extraits de gingembre frais et séché issus de la technique d'extraction de Soxhlet.

III-2-Pouvoir antioxydant des extraits de gingembre issus de la technique de Sonication :

L'action antioxydante est aussi visible dans les cuves contenant les extraits tout avant la lecture spectrophotométrique (figure n°21), en apercevant un virage jaunâtre de la solution de DPPH qui contient l'extrait de la forme sèche le plus remarquable pour la concentration de 80% (v/v) ce qui indique la présence d'une activité antioxydante des substances actives la plus visible parmi ces extraits de la technique d'extraction par sonication à 20min.

Tandis que pour la forme fraîche, le virage de couleur le plus significatif est visible à partir de la concentration de 40%(v/v) dont celui de la concentration de 80% (v/v) pour les extraits issus de sonication à 40min a changé vers une couleur jaune plus intense.

D'après la figure n°22, l'activité antioxydante de l'extrait de la plante sèche a donné des chiffres plus élevés 88,68 pour la concentration 80%(v/v) à 40 min que ceux de l'extrait de la plante fraîche 63,23 toujours pour la concentration de 80%(v/v) à 20 min.

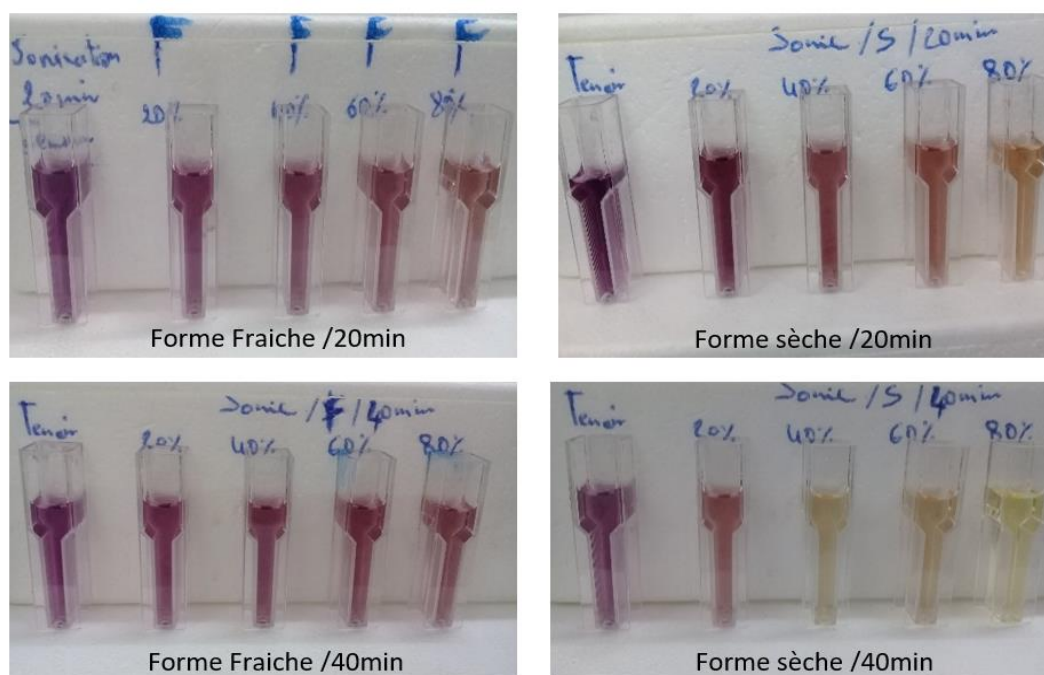


Figure n° 21 : Virage du couleur de la solution de DPPH du violet au jaune sous l'effet des extraits de *Zingiber officinale* issus de la technique d'extraction par sonication.

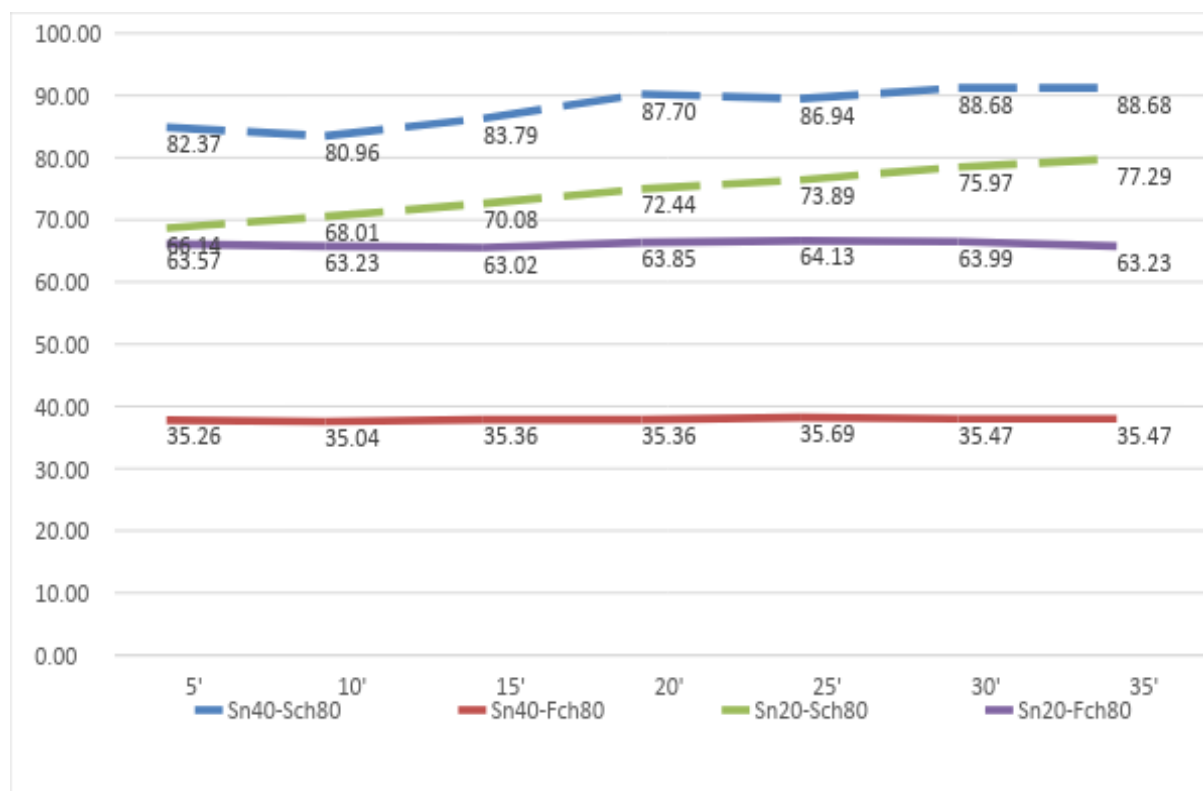


Figure n° 22 : Pouvoir antioxydant des extraits de gingembre issus de la technique d'extraction par sonication en fonction du temps.

III-3-Pouvoir antioxydant des extraits de gingembre issus de la technique d'extraction par l'eau surchauffée :

L'action antioxydante visible ainsi dans les cuves contenant les extraits même avant la lecture spectrophotométrique (figure n°23), ce qui renvoie à la présence d'une importante activité antioxydante des substances actives dans ces extraits beaucoup plus pour la forme sèche à 10 min des extraits de concentration de 40 % (v/v), 60% (v/v) et 80% (v/v) alors qu'un virage vers le jaune légèrement visible est observé pour ceux de la forme fraîche à 20 min issus de la technique d'extraction par l'eau surchauffée.

D'après la figure n°24 l'activité antioxydante de l'extrait de la plante sèche a donnée des chiffres plus élevés 89,54 pour la concentration 80%(v/v) à 10 minutes que ceux de l'extrait de la plante fraîche qui a donnée l'activité de 45,07 la plus élevée pour la concentration de 80%(v/v) à 20min.

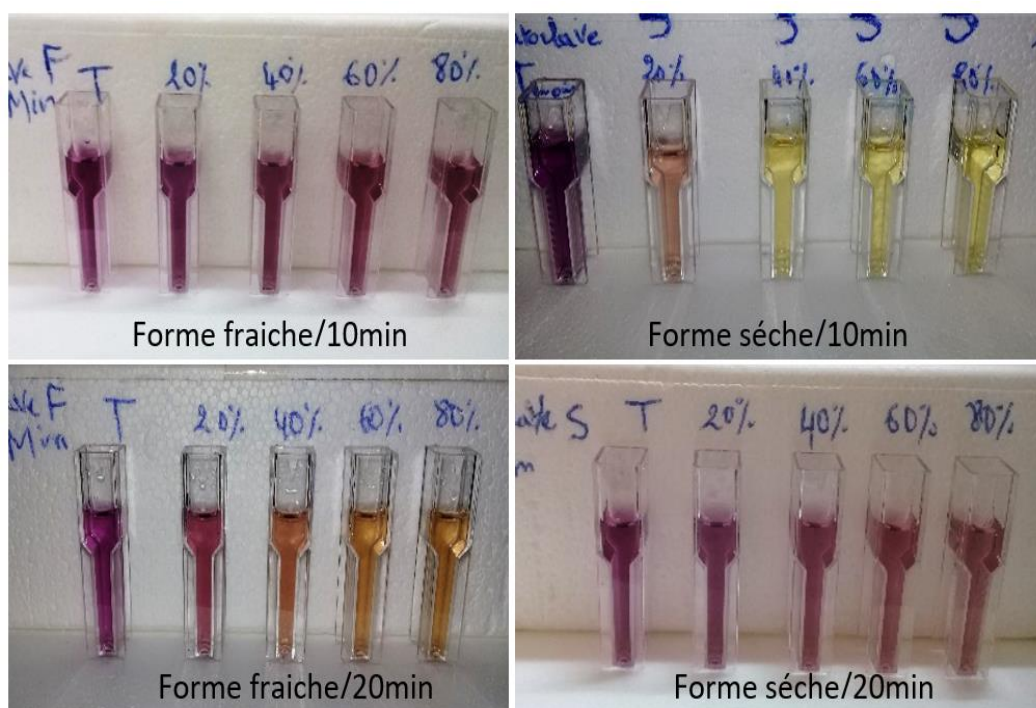


Figure n°23 : Virage du couleur de la solution de DPPH du violet au jaune sous l'effet des extraits de *Zingiber officinale* issus de la technique d'extraction par l'eau surchauffée.

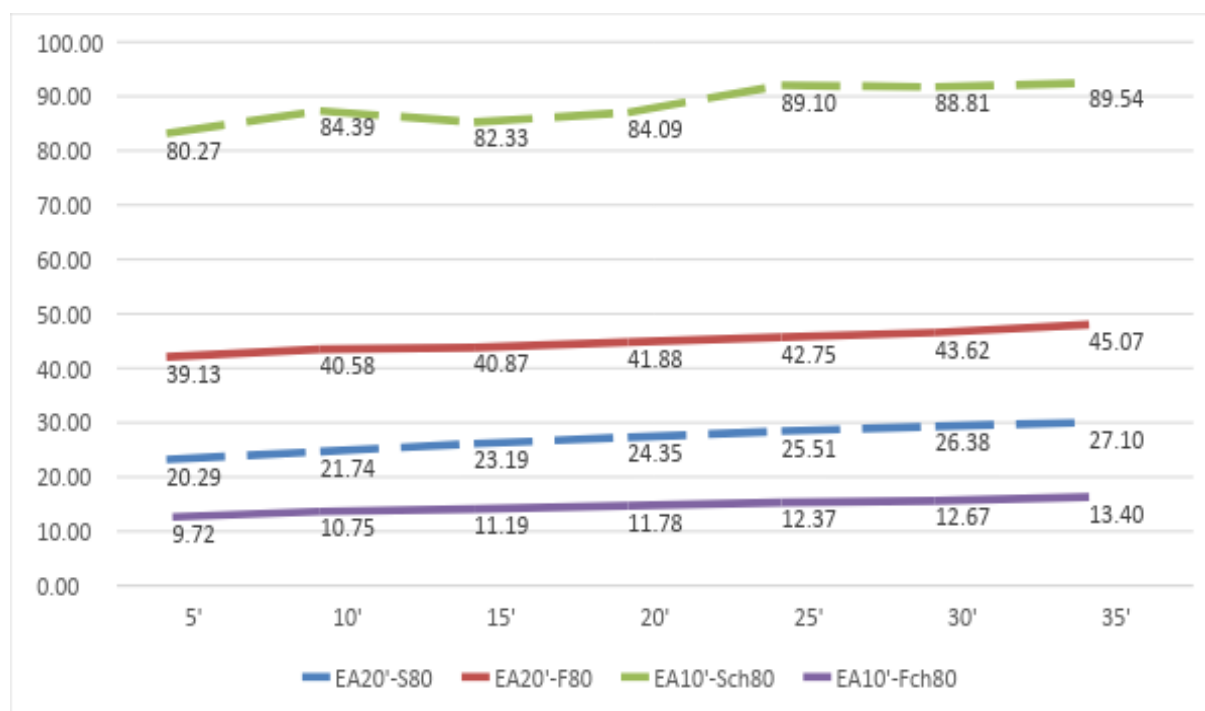


Figure n° 24 : Pouvoir antioxydant des extraits de gingembre issus de la technique d'extraction par l'eau surchauffée.

VI- Influence de la technique d'extraction sur le pouvoir antioxydant :

VI.1. Extraits de gingembre séché :

Les extraits Sn 40' et EA10' de *Zingiber officinale* ont donné des résultats semblables (88,68% et 89,54% respectivement) par rapport aux techniques d'extraction par l'eau surchauffée et Soxhlet (figure n° 25), dont l'activité antioxydante enregistrée par cette dernière et inversement proportionnelle avec les différentes concentrations testées, d'ailleurs c'est la seule technique d'extraction qui a montré ses résultats pour la forme sèche de la plante.

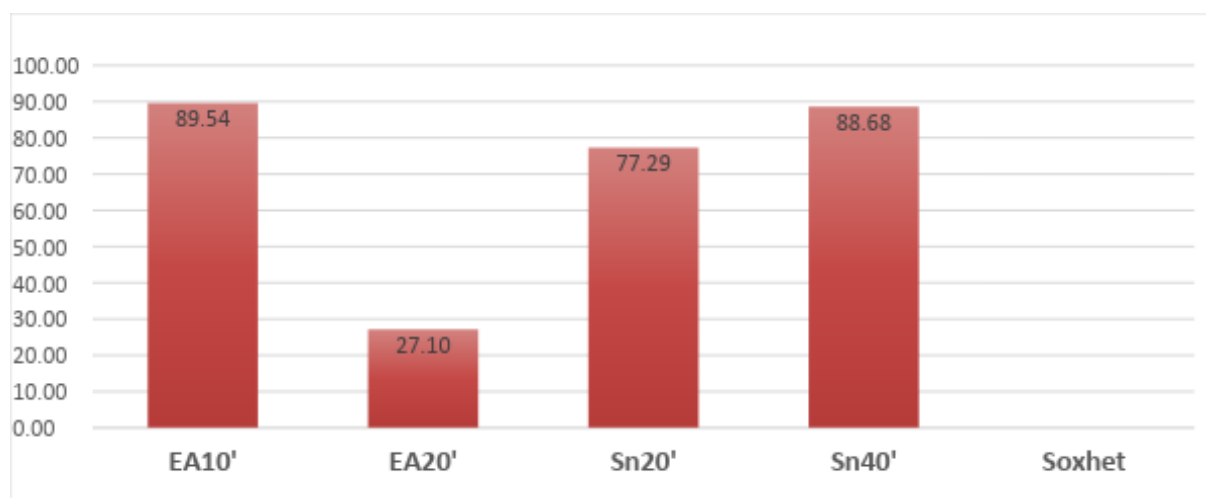


Figure n° 25 : Influence de la technique d'extraction sur le pouvoir antioxydant des extraits de la forme séchée de *Zingiber officinale*.

VI.2. Extraits de gingembre frais :

L'extrait issu de la technique d'extraction Soxhlet a donné un pourcentage d'activité de l'ordre de 68.69%, suivi par l'extrait SN20' (63.23%). La plus faible valeur est enregistrée pour l'extrait EA10' (13.40).

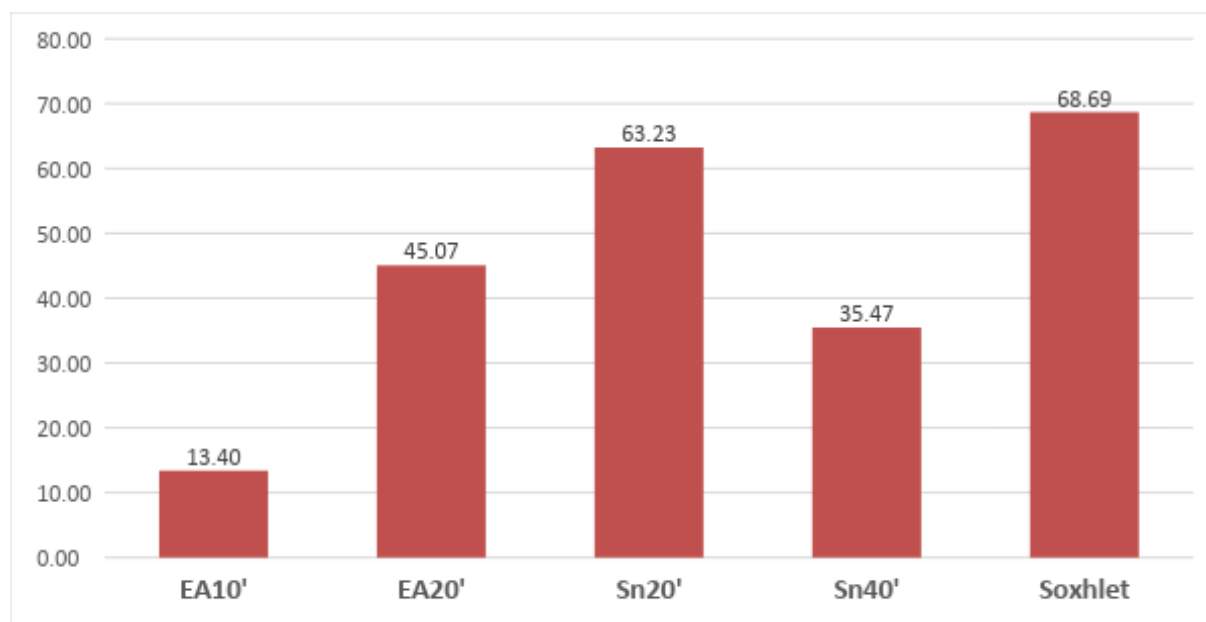


Figure n° 26 : Influence de la technique d'extraction sur le pouvoir antioxydant des extraits de la forme fraîche de *Zingiber officinale*.

IV. Discussion :

D'après les résultats obtenus on constate que la méthode d'extraction influence significativement le rendement et la nature des molécules extraites. Le meilleur rendement est enregistré par les extraits issus par sonication (95% pour le gingembre frais et 86 pour le gingembre séché), ceci est expliqué essentiellement par la température douce utilisée lors de toute la durée de l'extraction. Ce résultat concorde avec les résultats de Bourgou et al. (2016), dont les résultats ont révélé que la sonication est la plus convenable pour l'extraction des composés phénoliques.

D'après les résultats des tests de caractérisation phytochimique, le rhizome de *Zingiber officinale* est très riche en composants bioactives, le screening phytochimique montre la présence des flavonoïdes, tanins condensés, saponosides et des alcaloïdes. Des différences sont enregistrées entre les différents extraits en fonction de la méthode d'extraction appliquée et sa durée. À titre d'exemple, les extraits obtenus par la technique d'extraction par sonication durant 40 minutes sont très riches en alcaloïdes, flavonoïdes et en acides organiques. Les extraits issus d'une extraction par sonication pendant 20 minutes et par eau surchauffée durant 20 minutes sont les plus pauvres en matières bioactives, plus précisément la forme fraîche de la plante, dont on remarque d'après ces résultats l'absence des tanins, des acides organiques et des alcaloïdes. L'extraction par eau surchauffée a favorisé l'extraction de l'amidon, avec abondance. Cependant, pour 20 minutes d'extraction à haute température, on remarque deux phases dans le tube de mise en évidence de l'amidon la partie supérieure de l'extrait est transparente alors que le virage du couleur vers le noir est observé dans le fond du tube. Ceci peut être expliqué par la dégradation de l'amidon en amylose et amylopectine sous l'effet d'une température dépassant 100°C.

Dans cette étude, selon la nature fraîche ou séché de la plante et les durées d'extraction choisies pour chaque technique, les extraits obtenus de la technique d'extraction par eau surchauffée sont très riches en matières actives par comparaison aux autres extraits issus par sonication et par Soxhlet. La température permet en effet d'augmenter la diffusivité du solvant dans la matrice (Gourguillon et al., 2016).

Selon Joy et al. (1998), la différence entre les extraits des deux formes de gingembre, c'est dans la composition chimique de ces derniers, dont le constituant major est le gingérol, du gingembre frais, sa concentration est plus faible dans le gingembre séché, tandis que la concentration en shogaol augmente dans l'extrait du gingembre sec et diminue dans les

extraits de gingembre frais. Aussi la richesse des extraits des rhizomes frais en vitamine C totalement absente dans les extraits de la forme séchée de cette plante.

L'étude de l'influence de ces techniques d'extraction sur la capacité antioxydante de *Zingiber officinale* montre qu'une grande différence est observée déjà entre les deux formes de la plante pour la même technique d'extraction. Dont les extraits de la forme fraîche issus par la technique Soxhlet présentent un pouvoir antioxydant très important, l'activité antiradicalaire augmente en fonction des concentrations. Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH* dépasse 68.69% pour une concentration de 80% (V/V). Par contre, pour la forme séchée nous avons constaté une relation inversement proportionnelle entre le pouvoir antioxydant et les deux concentration 20%(V/V) et 40%(V/V), dont le pourcentage d'inhibition est de l'ordre de 34,34% et 19.72% respectivement. Alors que pour les fortes concentrations nous avons enregistrée des valeurs de densité optique très élevées d'où des chiffres négatifs sont obtenus lors de la conversion des résultats en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH*. Ceci peut être due à la présence des acides gras relativement élevée par rapport aux autres techniques d'extraction appliquées.

Le pouvoir antioxydant enregistrée pour les extraits de la forme séchée issus de l'extraction par sonication sont les meilleurs par rapport aux extraits de la forme fraîche. Le pourcentage d'inhibition du radical libre est de l'ordre de 82,37% pour un extrait de 80%(V/V) et atteint 88.68% après 35 minutes. D'après ces résultats, on remarque que l'activité antioxydante des extraits de la forme fraîche de *Zingiber officinale* est stable durant les 35 minutes. Ceci selon la nature chimique des molécules extraites de gingembre frais. D'après Rolland (2004), les antioxydants primaires ou radicalaires ou vrais, qui permettent l'interruption de la chaîne autocatalytique : $AH + R\bullet \rightarrow A\bullet + RH$. Il existe un autre groupe d'antioxydant nommé secondaire, ou préventifs qui assurent l'inhibition de la production des radicaux libres.

L'extrait issu d'une extraction par eau surchauffée (EA10') a donné le meilleur résultat par rapport à l'ensemble de techniques utilisées dans cette étude. Une durée d'extraction par eau surchauffée de 20 minutes (EA20'Sec) a généré un extrait dont le pouvoir antioxydant est très faible (27,10%), ceci est due essentiellement par la thermodestruction des quelques molécules thermolabiles.

Stoilova et ses collaborateurs (2007) ont trouvés que les oléorésines qui sont présentés dans l'extrait du gingembre possèdent une très bonne capacité scavenger de 90% avec une

IC50 de 0,64 mg/ml. Le gingembre contient également quelques flavonoïdes comme la quercétine, la rutine, fisetine, morine, acide gallique, acide ferulique, acide vanillique (Ghasemzadeh et al., 2010).

Plusieurs études confirment que les groupes phénoliques présents dans les huiles essentielles et les oléorésines tels que l'eugenol, les shogaols, le zingerone, les gingerdiols, les gingerols, le diacetoxy-[6]-gingerdiol jouent un rôle scavenger très important envers le radical DPPH (Sekiwa et al., 2000 ; Singh et al., 2008).

Conclusion & perspectives

Conclusion et perspectives

Apprendre à reconnaître les plantes à caractère bénéfique pour l'organisme et se méfier de celles ayant un effet néfaste est une nécessité naturelle. Le gingembre ou bien *Zingiber officinale*, est une plante qui appartient à la famille des Zingibéracées et représente l'une des plantes médicinales les plus anciennes connues par l'être humain.

L'objectif principal visé dans ce mémoire est de comparer les différentes techniques d'extraction vis-à-vis le rendement de l'extrait brut obtenu de chaque technique, la composition en substances naturelles extraites et l'activité antioxydante de chaque extrait issu de ces différentes méthodes en fonction de conditions proportionnelles à chacune. On s'intéresse beaucoup plus dans cette étude à la composition chimique et à l'évaluation de l'activité antioxydante des rhizomes de la plante *Zingiber officinale*, connue pour sa capacité à guérir de nombreuses maladies.

La première partie est consacrée à l'extraction appliquée par trois méthodes différentes : l'extraction Soxhlet, l'extraction par sonication ou ultrason et l'extraction par eau surchauffée. D'une manière générale, on a remarqué que le rendement de l'extraction change selon la technique d'extraction appliquées et selon la nature de l'échantillon soit sèche ou fraîche. Les résultats du rendement des extraits issus des trois méthodes d'extraction montrent que le rendement le plus élevé est enregistré par la technique d'extraction par sonication, 95% pour l'échantillon frais et 86% pour l'extrait dérivé de la forme sèche.

La deuxième partie du travail c'était le screening phytochimique réalisé sur tous les extraits des rhizomes de *Zingiber officinale*, ce qui a révélé la richesse de cette plante en métabolites secondaires, notant que des différences bien nettes sont enregistrées entre les deux formes fraîche et séché des extraits de rhizome de cette plante, ainsi qu'entre les extraits issus de différentes techniques d'extractions. Les différences les plus marquées sont notées pour les saponosides, flavonoïdes, tanins condensés, acides organiques et l'amidon. On a mis en évidence la présence de l'amidon dans tous les extraits des deux formes de la plante aussi pour les acides organiques sauf pour les extraits obtenus après 20 minutes d'extraction par sonication ou par eau surchauffée.

Dans cette étude, selon la nature fraîche ou séché de la plante et les durées d'extraction choisies pour chaque technique, les extraits obtenus de la technique d'extraction par eau

surchauffée sont très riches en matières actives par comparaison aux autres extraits issus par sonication et par Soxhlet.

S'agissant de la plus importante partie de notre travail consacrée sur l'activité antiradicalaire des extraits dilués qui a montré une capacité de piégeage du radical DPPH ; la plus intéressante activité antioxydante c'était celle de l'extrait de la plante sèche issu d'une extraction par eau surchauffée, de l'ordre de 89,54% pour la concentration 80%(v/v) à 10 minute. Tandis que le pouvoir antioxydant enregistrée pour les extraits de la forme séchée issus par sonication sont les meilleurs par rapport aux extraits de la forme fraîche. Le pourcentage d'inhibition du radical libre était de l'ordre de 82,37% pour un extrait de 80%(V/V) et atteint 88.68% après 35 minutes.

D'une autre part le pouvoir antioxydant des extraits de gingembre issus de la technique de Soxhlet précisément l'extrait de la plante fraîche a donnée des valeurs plus élevés 68,69% pour la concentration 80%(v/v). Par contre, pour l'extrait de la plante sèche l'activité antioxydante est inversement proportionnelle avec les différentes doses appliquées. Cette activité antiradicalaire ne dépasse pas 35.86% pour une concentration de 20% (v/v).

Les résultats obtenus mettent en exergue, la richesse des rhizomes de *Zingiber officinale* en métabolites secondaires, ainsi qu'un pouvoir antiradicalaire remarquable, ce qui pourrait la rendre une source potentielle de molécules bioactives en thérapeutique.

Les résultats obtenus ne constituent bien évidemment qu'une première étape dans la recherche des substances naturelles biologiquement actives. Pour compléter cette étude, il serait souhaitable :

- ✓ De déterminer la composition chimique exacte de chaque extrait par la technique chromatographique liquide de haute performance (HPLC).
- ✓ D'isoler et identifier les principes actifs responsables de l'activité antiradicalaire.
- ✓ De vérifier l'action synergique et/ou additive entre les différentes molécules bioactives.
- ✓ De tester les molécules isolées, *in vivo*, sur différents modèles biologiques.
- ✓ D'étudier d'autres activités biologiques (antibactérienne, antidiabétique, anticancéreuse, anti-inflammatoire...).

Enfin, comme suite à ce travail, on propose l'implémentation de la technique d'extraction la plus efficace présentée dans ce mémoire qui est l'extraction par l'eau surchauffée à 10 minute, dans le but de vérifier expérimentalement les résultats trouvés, en pratique.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Agarwal, A., and Prabakaran, S. A. (2005). "Mechanism, measurement, and prevention of oxidative stress in male reproductive physiology."
- Aourousseau, B. (2002). "Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits." *Productions Animales*, 15(1), 67-82.
- Al-Nahain A, Jahan R, Rahmatullah M. Zingiber officinale : A Potential Plant against Rheumatoid Arthritis. *Arthritis*. 2014 ;2014 :159089.
- Atamer, A. (2008). The importance of paraoxonase 1 activity, nitricoxide and lipidperoxidation in hepatosteatosi. *J. Int. Med.Res*,36 : 771-776p.

B

- Badeau, M. (2006). Effets d'un antioxydant, le tempol, sur les actions métaboliques et vasculaires de l'insuline chez le rat insulino-résistant avec un surplus de poids. Effets de l'insuline sur le transport du glucose dans le muscle squelettique, la réactivité vasculaire, l'expression des protéines eNOS, le stress oxydatif et les effets hémodynamiques régionaux, Université Laval.
- Baudin, B. (2006). "Oxidative stress and cardiovascular pathology." *MT Cardio*, 2(1), 43-52.
- Bationo, F., Savadogo, A., Kabore, D., Ouattara, L., Ouedraogo, H. G., Savadogo, B., and Traore, A. (2015). "Storage influence on beta-carotene and alpha- tocopherol contents of solar-dried *Spirulina platensis* (Spirulina)." *African Journal of Food Science*, 9(12), 546-554.
- Bode AM et Dong I F F, Wachtel-Galor S. (2011). *Herbal Medicine-Biomolecular and chemical Aspects*. 2ed Edition CRC Press. Citer dans le Mémoire Master (2015) : Etude de l'effet d'un régime irrégulier du Zingiber officinale sur le réarrangement de

la matrice extracellulaire de différents segments de l'aorte chez les rats AlbinosWistar traité par une dose cytotoxique du DL-Méthionine, 20 p.

- Bounatirou.S, S. Smiti, M.G. Miguel, L. Faleiro, M.N. Rejeb, M. Neffati, M.M. Costa, A.C. Figueiredo, J.G. Barroso, L.G. Pedro, Food Chem . 105 (2007) 146–155.
- Bourgou S, Serairi Bej R., Medini R. Ksouri F., 2016. Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'Euphorbia helioscopia. Agri.Biotech.
- Bozin B., Mimica-Duric N., Samojlik I., Goran A. and Igc R. (2008). Phenolics as antioxydants in garlic (*Allium sativum* L. Alliaceae).
- Block G. (1992). Vitamin C status and cancer. Epidemiological of reduced risk. Ann NY Acad Sci, 669 :280–90.
- Bruneton J. (2009). Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales 4eme édition. Technique et Documentation. Paris, 1269 p.

C

- Camille Migdal, Mireille Serres., 2011.Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. Médecine/sciences ; 27 : 405-12.
- Carr AC, Frei B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. Am J Clin Nutr, 69 :1086–107.
- Congo M. (2012). Étude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica*L. (Salvadoraceae). Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso.P42.

D

- Datta C., Dutta A., Dutta D. et Chaudhuri S., 2011, Adsorption of polyphenols from ginger rhizomes on an anion exchange resin Amberlite IR-400 – Study on effect of pH and temperature, procedia food Science, 1, 893 – 899.
- Delattre J., Beaudeau J. L., Bonnefont D. et Rousselot. (2005). Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques, 87-108 p.

- Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi Hassani L.M., Badoc A., Gmira N. (2003) Screening phytochimique d'une endémique Ibéro-Marocaine, *Thymelaelythroïdes*. Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux, 142, 61-78.

E

- Efraigne J.O. D, Pincemai L. J 2008, Stress oxydant et antioxydants, Rev Med Liège ; 63 : Synthèse : 10-19.
- Elkirdasy A., Shousha S., Alrohaimi A.H. et Arshad M.F., 2015, Hematological and immunobiochemical study of green tea and ginger extracts in experimentally induced diabetic rabbits, *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 72, 497-506.
- El-Olemy M.M., Al-Muhtadi F.J., Afifi A.A. (1994) *Experimental Phytochemistry. A Laboratory Manual*. King Saud University Press, Riyadh, Saudi Arabia.

F

- Faivre Cl., Lejeune L., Staub H., Goetz P. (2006). *Zingiber officinale* Roscoe, *Phytothérapie*, 2: 99-102p.
- Fransworth N.R., Akerele O. et Bingel A.S. (1985). Medicinal plants in therapy. *Bulletin of the World Health Organization*. 63(6) : 965-981.

G

- Gardès-Albert, M., Bonnefont- Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., and Jore, D. (2003). "Espèces réactives de l'oxygène." *L'actualité chimique*, 91.
- Gigon. F. (2012). Le gingembre, une épice contre la nausée. *Phéto*, 10 : 87-91p.
- Gourguillon Lorène, Destandau Émilie, Lobstein Annelise, Esellier Éricl, 2016. Comparaison de différentes méthodes d'extraction d'acides dicaféoylquiniques à partir d'une plante halophile Comparison of different ways to extract dicaffeoylquinic acids from a halophytic plant. *Comptes Rendus Chimie*, Volume 19, Issue 9, September 2016, Pages 1133-1141.

- Grait, S. (2015). Etude du pouvoir antioxydant d'une plante médicinale (*Urginea maritima* L).

H

- Hagerman AE, Muller-Harvey I, Makkar HPS (2000). Quantification of tanins in tree foliage. FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in food and Agriculture. Vienna, 26p.
- Halliwell B., J. M. C. Gutteridge. (2008). Free Radicals in Biology and Medicine. Fourth Edition. Oxford University Press. Citer dans la Thèse de Doctorat (2015): Implication du stress oxydant dans plusieurs affections du cheval athlète : revue bibliographique, 44-61 p.
- Hireche Massaouda, 2013. Dosage des polyphénols de la tomate et étude de leur pouvoir antioxydant. Université de Hassiba Ben Bouali, Chlef, Algérie.

I

- Iserin P. (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, préparation, soins. Dorling Kindersley Limited 2nd Edition (Londres) : 11.

L

- Lemoine, A. (2006). Vitamines dans la pratique clinique de tous les jours. EMC - Traité de médecine AKOS, 1(1), pp.1-7.

M

- Marc, F., Davin, A., Deglene-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M. and Fritsch, P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. Médecine/sciences, 20(4), pp.458-463.
- Mukherjee D., Singh C. B., Dey S., Mandal S., Ghosh J., Mallick S., Hussain A., Swapana N., Ross S.A. et Pal C., 2016, Induction of apoptosis by zerumbone isolated from *Zingiber zerumbet* (L.) Smith in protozoan parasite *Leishmania donovani* due to oxidative stress, The Brazilian Journal of infectious diseases, 20, 48–55.

N

- Nandkangre Hervé, Mahamadou Sawadogo, Ouedraogo Mahama, 2015.Caractérisation du système de production du gingembre (Zingiber officinale Rosc.) au Burkina Faso : Potentialités, contraintes et perspectives. International Journal of Biological and Chemical Sciences 9(2) :861. DOI : 10.4314/ijbcs. V9i2.25.
- Newsholme, P., Haber, E., Hirabara, S., Rebelato, E., Procopio, J.,Morgan, D., Oliveira-Emilio, H., Carpinelli, A., and Curi, R. (2007)."Diabetes associated cell stress and dysfunction: role of mitochondrial and non-mitochondrial ROS production and activity." The Journal of physiology, 583(1), 9-24.
- N'guessan K., Kadja B., Zirihi G N., Traoré D and Aké -Assi L. (2009) screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays krobou (agboville, côte-d'ivoire). Sciences & nature. Vol 6 N°1 : 1-15.

O

- Ok S. et Jeong W.S., 2012, Optimization of Extraction Conditions for the 6-Shogaol-rich extract from Ginger (Zingiber officinale Roscoe), Previsional and Nutritional Food Sciences, 17, 166-171.
- Okuda T. (2005). Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry* 66 : 2012–2031.

P

- Paramdeep G. Efficacy and tolerability of ginger (Zingiber officinale) in patients of osteoarthritis of knee. Indian J Physiol Pharmacol. 2013 Apr-Jun ;57(2) :177-83.
- Penchev Petko Ivanov, 2010.Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions, P129.

- Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., and Defraigne, J. (1999). "Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer." *Medi-Sphere*, 97, 29-33.
- Prasad KN, Yang B, Dong X, Jiang G, Zhang H, Xie H and Jiang Y. (2009). Flavonoid contents and antioxidant activities from *Cinnamomum* species. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10 :627-632p.

R

- Rolland Yohan, 2004. Antioxydants naturels végétaux. *OCL VOL. 11 N° 6*.

S

- Samarth R.M., Panawar M., Soni A., Kumar M., (2008). Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extract, *Food Chemistry*, 106,868-873.
- Sanchez-Moreno C. (2002). Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*, 8(3) : 121-137.
- Senhaji O., Faid M., Elyachioui M., Dehhaoui M. (2005) Etude de l'activité antifongique de divers extraits de cannelle. *Journal de Mycologie Médicale*, 15, 220-229.
- Servais, S. (2004). Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone : effets de l'âge et d'une supplémentation en oméga-3, Université Claude Bernard-Lyon I.
- Sharma C., Ahmed T., Sasidharan S., Ahmed M., Hussain A. (2009). Use of Gemcitabine and Ginger Extract Infusion May Improve the Efficiency of Cervical Cancer Treatment, *African Journal of Biotechnology*, 8 : 7087-7093p.
- Speck B. Fotsch U. Fotsch C. (2014). Connaissance des herbes, *Gingembre *Zingiber officinale**. E GK-caisse de santé. Siège principale Brislachstrasse 2/4242 Laufon, 4p.
- Stevenson, D. and Hurst, R. (2007). Polyphenolic phytochemicals –just antioxidants or much more ? *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(22), pp.2900-2916.

- Subash kumarGupta1., Anand Sharma.,2014-Medicinal properties of *Zingiber officinale* Roscoe -A Review. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR JPBS) e-ISSN : 2278-3008, p-ISSN :2319-7676. Volume 9, Issue 5 Ver. V. PP 124-129.

T

- Tanaka K., Arita M., Sakurai H., Ono N. et Tezuka Y., 2015, Analysis of chemical properties of edible and medicinal ginger by metabolomics approach , bioMed research international, 2015, 1-7.

V

- Vincent, A. M., Russell, J. W., Low, P., and Feldman, E. L. (2004)."Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy." Endocrine reviews, 25(4), 612-628.

Y

- Yamahara J, Mochizuki M, Rong HQ et al (1998) The anti-ulcer effect in rats of ginger constituents. Journal of Ethnopharmacology 23 :299-304.

ANNEXES

ANNEXE I

Préparation des réactifs

Bleu de Bromothymol (BBT) :

Nom français : 4,4'-(3H-2,1-Benzoxathiol-3-ylidène) bis(2-bromo-3-méthyl-6-(1-méthyléthyl) phénol) S, S-dioxide. Il est préparé comme suit :

- (BBT) Dissoudre 4 g de bleu de Bromothymol dans 200 ml d'alcool à 95 %.
- Ajouter 200 ml d'eau distillée bouillie et refroidie à l'abri de l'air et de la soude (solide) jusqu'à l'obtention de la coloration verte.
- Ajuster ensuite à 1000 ml avec de l'eau distillée bouillie et refroidie à l'abri de l'air.

Le BBT est jaune en milieu acide et bleu en milieu basique, sa zone de virage est comprise entre pH=5,8 et pH=7,4.

Réactif de Dragendorff :

Il est utilisé pour déterminer la présence de alcaloïdes, en particulier dans les extraits naturels, et il est obtenu comme suit :

- Dissoudre 5g de carbonate de bismuth et 25g d'iodure de potassium dans 50mL d'eau distillée.
- Mélanger avec 10mL d'HCL concentré et compléter à 100mL avec de l'eau distillée.

ANNEXE II

Résultats de l'activité antioxydante

Tableau 1 : valeurs moyennes des taux d'inhibition du radical libre DPPH· Des extraits obtenus par la technique Soxhlet.

	5	10	15	20	25	30	35
ESOX-S20	35,86	34,76	34,34	33,93	34,34	34,07	34,34
ESOX-S40	26,34	26,21	25,93	25,93	26,07	26,21	19,72
ESOX-S60	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ESOX-S80	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	5	10	15	20	25	30	35
ESOX-F20	11,31	11,17	11,45	12,28	12,97	13,52	14,62
ESOX-F40	47,31	49,10	51,17	52,69	56,00	53,52	57,52
ESOX-F60	39,03	41,52	48,28	54,62	55,86	55,72	57,79
ESOX-F80	47,45	55,59	62,62	65,66	66,48	67,17	68,69

Tableau 2 : valeurs moyennes des taux d'inhibition du radical libre DPPH· Des extraits obtenus par sonication pendant 40 minutes.

	5	10	15	20	25	30
Sn40-Sch20	44,61	47,01	48,53	48,53	49,62	50,92
Sn40-Sch40	78,67	79,76	80,96	82,59	83,90	84,77
Sn40-Sch60	76,93	77,58	78,89	79,76	80,96	82,05
Sn40-Sch80	82,37	80,96	83,79	87,70	86,94	88,68
	5	10	15	20	25	30
Sn40-Fch20	21,98	21,44	21,22	21,65	20,89	20,57
Sn40-Fch40	8,71	8,27	7,51	6,86	6,31	5,66
Sn40-Fch60	29,82	29,71	29,82	29,82	29,92	29,92
Sn40-Fch80	35,26	35,04	35,36	35,36	35,69	35,47

Tableau 3 : valeurs moyennes des taux d'inhibition du radicale libre DPPH· Des extraits obtenus par sonication pendant 20 minutes.

	5	10	15	20	25	30	35
Sn20-Sch20	27,91	28,46	29,02	29,29	29,71	29,92	30,12
Sn20-Sch40	45,98	47,78	48,61	49,86	51,94	53,32	53,88
Sn20-Sch60	53,81	56,37	58,31	59,76	62,19	63,71	65,10
Sn20-Sch80	66,14	68,01	70,08	72,44	73,89	75,97	77,29
	5	10	15	20	25	30	35
Sn20-Fch20	51,52	51,32	51,11	50,83	50,69	50,28	50,07
Sn20-Fch40	52,98	53,05	52,77	52,63	52,70	52,35	52,29
Sn20-Fch60	58,03	58,17	58,17	58,24	58,17	57,96	57,96
Sn20-Fch80	63,57	63,23	63,02	63,85	64,13	63,99	63,23

Tableau 4 : valeurs moyennes des taux d'inhibition du radicale libre DPPH· Des extraits obtenus par eau surchauffée pendant 10 minutes.

	5	10	15	20	25	30	35
EA10'-Sch20	37,11	40,35	41,53	42,86	44,48	45,80	46,69
EA10'-Sch40	58,91	65,24	66,86	69,81	72,61	74,67	76,58
EA10'-Sch60	77,91	80,71	84,68	85,57	86,89	90,43	90,87
EA10'-Sch80	80,27	84,39	82,33	84,09	89,10	88,81	89,54
	5	10	15	20	25	30	35
EA10'-Fch20	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
EA10'-Fch40	3,09	16,79	3,68	3,83	3,98	3,98	3,98
EA10'-Fch60	8,84	9,43	9,72	10,01	10,31	10,46	10,75
EA10'-Fch80	9,72	10,75	11,19	11,78	12,37	12,67	13,40

Tableau 5 : valeurs moyennes des taux d'inhibition du radicale libre DPPH· Des extraits obtenus par eau surchauffée pendant 20 minutes.

	5	10	15	20	25	30	35
EA20'-S20	9,28	61,48	8,84	8,70	8,55	8,26	7,83
EA20'-S40	13,91	13,91	14,20	14,20	14,20	14,20	13,91
EA20'-S60	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
EA20'-S80	20,29	21,74	23,19	24,35	25,51	26,38	27,10
	5	10	15	20	25	30	35
EA20'-F20	14,64	14,20	14,64	14,93	15,36	15,22	16,81
EA20'-F40	38,26	37,54	37,68	37,68	38,12	37,25	42,17
EA20'-F60	43,62	42,32	42,75	42,75	43,04	44,06	46,09
EA20'-F80	39,13	40,58	40,87	41,88	42,75	43,62	45,07