

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université ABOU BEKR BELKAID –TLEMCEM–
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire :

Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie :

Synthèse et activités biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en sciences biologique

Spécialité : Biochimie

Thème:

**Etude phytochimique et évaluation de l'activité
antioxydante des extraits préparés des rhizomes de *Zingiber
officinale***

Présenté par :

M^{elle} TERBECHE Ikhlas

Soutenu le 24-06-2024 devant les membres de jury :

Président	RAHMOUN Mohammed Nadjib	Pr	Univ. Tlemcen
Examineur	MEZOUAR Dounia	MCA	Univ. Tlemcen
Encadrant	AZZI Rachid	Pr	Univ. Tlemcen
Co-Encadrant	ABBOU Fayza	MAB	Univ. Tlemcen

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciements

Je remercie ALLAH le tout PUISSANT et miséricordieux pour toute la force et le courage qu'il nous a accordé durant ces cinq précieuses années ainsi que la volonté pour dépasser toutes les difficultés.

Je voudrais exprimer mes profonds remerciements et ma reconnaissance envers mon encadreur, M. AZZI Rachid, Professeur, au département de biologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers de l'université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid. Tout d'abord, je le remercie d'avoir accepté d'encadrer ce travail et de m'avoir prodigué de précieux conseils, fait preuve de patience et s'est rendu disponible tout au long de ces mois. De plus, ses précieuses informations ont enrichi ce travail de manière significative.

J'exprime également mes remerciements à *Mr RAHMOUN Mohammed Nadjib*, professe à faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bakr Belkaïd - Tlemcen, pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury ainsi que pour sa sympathie.

J'adresse mes sincères remerciements à *M^{elle} MEZOUAR Dounia*, maître de conférences classe A, au département de Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers Université Abou Bakr Belkaïd de Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes sincères remerciements vont également à *M^{elle} ABBOU Fayza*, maître assistant de classe B, au département de Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers Université Abou Bakr Belkaïd de Tlemcen, pour son soutien et son aide pour la réalisation de la pratique de ce travail.

C'est un grand merci que j'adresse à tous le personnel et les membres du laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimiques, Synthèse et activité biologique de l'Université de Tlemcen pour leurs gentillesse et leurs conseils.

Dédicaces

A l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail A la mémoire de *mon cher père* « Mohamed » Vous occupez une place spéciale dans mon cœur.

Que Dieu vous accueille dans son vaste paradis.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse ; qui a supporté ma faiblesse, mes humeurs et mon stress

Mon adorable maman.

À mes chers frères « *Dr. Rabah* et *Mohamed Amine* » et chères sœurs « *Meriem* et *Asma* » qui m'ont toujours soutenu et encouragé. Que Dieu vous garde et vous protège. Votre amour ont été inestimables pour moi.

À mon fiancé «*Anas*» qui m'encourage toujours d'aller plus loin merci pour ton soutien.

À mes collègues de la promotion Biochimie, *MEHAOUI Sabiha*, *SIB Radja*, *CHERIFI Loubna*, *MENDLI Fatima*, Avec qui j'ai partagé les joies et les difficultés durant ces années, je vous remercie pour notre camaraderie et notre soutien mutuel.

À mes meilleures amies, *Bouchra*, *Marwa*, *Iness*, *Nesrine*

A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

Avec tout mon amour et ma gratitude, Ikhlas

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction _____ 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I: La plante étudiée : Zingiber officinale.

1. Nom vernaculaire _____	4
2. Classification botanique de gingembre _____	4
3. Description botanique de gingembre (zingiber officinale) _____	4
4. Répartition géographique _____	6
5. Composition phytochimique _____	7
6. Utilisation thérapeutique _____	8
7. Les activités biologiques _____	9
7.1 Activité antioxydante	
7.2 Activité antidiabétique	
7.3 Activité anticancéreuse	
7.4 Activité antimicrobienne	
7.5 Activité anti-inflammatoire	

Chapitre II: Stress oxydatif

1. Le stress oxydatif _____	12
2. Radicaux libres _____	12
3. Les antioxydants _____	13
3.1 Les antioxydante enzymatiques	
3.2 Les antioxydants non enzymatiques	
4. Méthoode de recherche de l'activité antioxydante _____	14
4.1 Test DPPH(2,2-diphenyle-1-picrylhydrazyl) _____	14
4.2 Test de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) _____	14
4.3 Test de (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) _____	15
4.4 Test CUPRAC (Cupric ion reducing antioxidant capacity): _____	15

Partie expérimentale :Matériel et méthodes

1 Matériel végétal _____	16
2 Préparation des extraits _____	16
2.1 Extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération	
2.2 Extrait brut hydro-méthanolique prépaé par Décoction (sous reflux)	
2.3 Extraitsbruthydro-acétonique préparé par macération	
2.4 Calcul des rendements	

3	Séparation de l'extrait hydro-acétonique par chromatographies	18
3.1	Chromatographie sur colonne	
3.2	Chromatographie sur couche mince (CCM)	
4	Tests phytochimique	19
4.1	Les composés azotés Alcaloïdes	
4.2	Les composés phénoliques Les tanins Les flavonoïdes Les quinones libres Anthraquinones Les coumarines :Fluorescence UV	
4.4	Les composés terpéniques Les saponines (test de mousse) Terpénoïdes (Test de Slakowski)	
4.4	Les composés réducteurs	
5	Dosage des composés phénoliques	21
5.1	Dosage des polyphénols totaux	
5.2	Dosage des flavonoïdes totaux	
6	Evaluation de l'activité antioxydante	23
6.1	Test du piégeage du radical DPPH	
6.2	Test de pouvoir réducteur de fer (Ferric Reducing Antioxidant Power ; FRAP)	
7	Analyses statistiques	26
	Résultats et interprétations	
1.	Rendement d' extracion	28
2.	Caractéristiques des extraits obtenus	28
3.	Tests phytochimiques	29
4.	Dosage des composés phénoliques	30
5.	Recherche de l'activité antioxydante	33
5.1	Piégeage du radical libre (DPPH)	
5.2	Pouvoir réducteur de fer (FRAP)	
6.	Séparation de l'extrait hydroacétonique par chromatographies	38
	Discussion	40
	Conclusion et prescriptives	43
	Références bibliographiques	45

Liste des abréviations

COX : cyclooxygénase.

LOX : lipoxygénase.

LBS : lipopolysaccharide.

NF- κ B : facteur nucléaire kappa B.

CUPRAC: Cupric ion reducing antioxidant capacity.

ERO : Espèces réactives en oxygène.

ERA : Espèces réactives d'azote.

SOD : superoxyde dismutases.

EBM : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération.

EBD : Extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction.

EBA : Extrait brut hydroacétonique.

DPPH: 2,2-diphenyle-1-picrylhydrazyle.

DPPH-H: 2, 2Diphenyl 1 picryl hydrazine.

CI₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%.

EC₅₀: Concentration efficace.

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power.

UV: ultra-violet.

V/V : Volume/Volume.

μ g Eq AG/ mg ES : Microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait sec.

Mg Eq C/ mg ES : Microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec.

Liste des figures

Figure 01: A : Rhizome de <i>Zingiber officinale</i> var. <i>Amarum</i> , B : <i>Zingiber officinale</i> var <i>Roscoe</i> et C: <i>Zingiber officinale</i> var. <i>Rubrum</i> . _____	3
Figure 02: Différentes parties de la plante de « <i>zingiber officinale</i> ». _____	5
Figure 03: Le Rhizome de « <i>Zingiber Officinale</i> ». _____	5
Figure 04: Répartition mondiale des plantes de la famille des Zingibéracées. _____	6
Figure 05: phytoconstituants présents dans <i>Z.officinale</i> . _____	8
Figure 06:: Mécanisme d'action antibactérienne du gingembre et ses composés actifs. _____	10
Figure 07: Mécanisme moléculaire anti-inflammatoire des principaux composants de gingembre . _____	11
Figure 08: Balance antioxydants /radicaux libres. _____	12
Figure 09: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe et ripyridyltriazine ferrique Fe(III)-TPTZ et un antioxydant. _____	14
Figure 10: Structure de l'acide 2, 2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). _____	15
Figure 11: Montage décoction sous-reflux. _____	17
Figure 12: Structure chimique du radical libre DPPH (2,2Diphenyle-1-Picryl-Hydrazyl). _____	24
Figure 13: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH). _____	24
Figure 14: La courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux. _____	30
Figure 15: La teneur en polyphénols totaux (μg EAG/ mg MS), dans les différentes préparations de la partie Rhizome séché du gingembre. _____	31
Figure 16: Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes. _____	32
Figure 17: La teneur en flavonoïdes (μg EC/ mg ES), dans les différentes préparations de la partie Rhizome séché du gingembre. _____	32
Figure 18: Courbe des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration en acide ascorbique. _____	33
Figure 19: Courbe des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération (EBM). _____	34
Figure 20: Courbe des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction (EBD). _____	34
Figure 21: Valeurs d'CI50 pour EBM et EBD et l'acide ascorbique. _____	35
Figure 22: pouvoir réducteur du fer en présence de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération (EBM) de la partie rhizome séché de <i>zingiber officinale</i> . _____	36

Figure 23: pouvoir réducteur du fer en présence de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction (EBD) de la partie rhizome séché de <i>zingiber officinale</i> . _____	36
Figure 24: pouvoir réducteur du fer en présence acide ascorbique _____	37
Figure 25: Gromatogramme de la séparation des fractions obtenues de l'extrait hydroacétonique préparé par macération de la partie rhizome séché de <i>Zingiber officinale</i> , révélé sous lumière UV. _____	38

Liste des tableaux

Tableau 01: Noms vernaculaires du gingembre .	4
Tableau 02: Constituants phytochimiques actifs du <i>zingiberofficinale</i> .	7
Tableau 03: Méthode de dosage des polyphénols totaux.	22
Tableau 04: Méthode de dosage des flavonoïdes.	23
Tableau 05: Rendement d'extraction de différente préparation de Rhizome séché du gingembre (<i>Zingiber officinale</i>).	28
Tableau 06: caractéristiques des extraits bruts hydrométhanoliquespréparés de Rhizome séché du gingembre (<i>Zingiber officinale</i>).	28
Tableau 06: Résultats des tests phytochimiques des extraits bruts hydrométhanoliques par (EBD,EBM) et hydroacétonique (EBA) de Rhizome séché du gingembre (<i>Zingiber officinale</i>).	29
Tableau 08: Les valeurs EC ₅₀ des différents extraits de la partie rhizome séché de zingiber <i>officinale</i> .	37
Tableau 09: Valeurs des rapports Frantaux (Rf) de chaque fraction obtenue de l'extrait hydroacétonique préparé par macération de la partie rhizome séché de zingiber <i>officinale</i> .	39

الملخص

تلعب التوابل والنباتات الطبية دورًا مهمًا في صناعة الأدوية وفي الاستخدامات المتنوعة للحياة اليومية. الزنجبيل (*Zingiber officinale*) نبات عشبي معمر ينتمي إلى عائلة الزنجبيليات، يستخدم لأكثر من 200 عام لقيمه الطبية والغذائية.

يستند الهدف من هذه العمل إلى دراسة الخصائص الكيميائية النباتية، معايرة للمركبات الفينولية (البوليفينول الكلي والفلافونويدات)، وتقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر باستخدام اختبار تثبيط الجذر الحرة DPPH وإرجاع الحديد FRAP، لمستخلصات الماء الخام –الميثانول والتي تم تحضيرها بواسطة الغلي والنقع، وكذلك فصل الأصباغ باستخدام طرق كروماتوغرافية.

كشفت نتائج الفحص الكيميائي النباتي لمستخلصات الماء الخام –الميثانول والتي تم تحضيرها بواسطة الغلي والنقع عن وجود ألكلويدات،العفص وكينونات حرة وتربينويدات ومركبات مختزلة.

أظهرت نتائج التحليل الكمي للمركبات الفينولية وجود الفلافونويدات والبوليفينولات الكلي في المستخلصين المدروسين، مع اختلاف الكميات من مستخلص إلى آخر. وسُجل أعلى محتوى إجمالي من البوليفينولات في المستخلص الخام المحضر عن طريق الغليان، حيث بلغ $236,66 \pm 0,005$ ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك لكل ميليغرام المادة الجافة. بينما كشف عن أعلى محتوى من الفلافونويدات في المستخلص الخام المحضر عن طريق النقع، عند $43,33 \pm 0,012$ ميكروغرام مكافئ الكاتشين لكل ميليغرام المادة الجافة.

سجل المستخلص الخام الماء –الميثانول المحضر بالنقع أفضل قدرة على التقاط الجذور الحرة DPPH ، بقيمة التركيز النصفى المثبط IC_{50} بمقدار 0.73 ملغ/مل. وهذا النشاط قريب من النشاط الذي تم الحصول عليه من طرف حمض الأسكوربيك الذي سجل تركيز النصفى المثبط IC_{50} بمقدار 0.12 ملغ/لتر. وبالمثل، أظهر كلا المستخلصين الخامين الماء –الميثانول قوة إرجاع للحديد، التركيز النصفى الفعال EC_{50} بمقدار 0.65 ملغ/مل للمستخلص المحضر بالنقع و0.73 ملغ/مل للمستخلص المحضر بالغليان. إلا أن هذه النتائج ضعيفة مقارنة بالمعيار المستخدم، حمض الأسكوربيك (التركيز النصفى الفعال EC_{50} يساوي 0.06 ملغ/مل).

الكلمات المفتاحية: *Zingiber officinale*، الزنجبيل، الفحص الكيميائي، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، FRAP، DPPH.

Résumé

Les épices et les plantes médicinales jouent un rôle crucial dans l'industrie pharmaceutique et dans l'utilisation diverse de la vie quotidienne. Le *Zingiber officinale* est une plante herbacée vivace appartient à la famille Zingibéracées, utilisé depuis plus de 200 ans pour ses valeurs médicinales et nutritionnelles.

Ce travail s'intéresse à l'étude des propriétés phytochimiques, le dosage des composés phénoliques (poly phénols totaux et flavonoïdes), et l'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* par le test du piégeage du radical libre DPPH, et le test du pouvoir réducteur de fer FRAP, des extraits bruts hydrométhanoliques préparés par décoction et macération, ainsi que la séparation des pigments à l'aide de méthodes chromatographiques.

Les résultats de criblage phytochimique des extraits bruts hydrométhanolique préparés par décoction ou macération ont révélé la présence d'alcaloïdes, de tanins, de quinones libres, de terpénoïdes, ainsi que de composés réducteurs.

Les dosages des composés phénoliques ont montré la présence des flavonoïdes et des polyphénols totaux dans les deux extraits étudiés, avec des quantités variables d'un extrait à l'autre. La teneur la plus élevée en polyphénols totaux a été enregistrée pour l'extrait brut préparé par décoction de l'ordre de $236,66 \pm 0,005 \mu\text{g EAG/mg ES}$. Tandis que, la teneur la plus élevée en flavonoïdes, a été révélée pour l'extrait brut préparé par macération de l'ordre de $43,33 \pm 0,012 \mu\text{g EC/mg ES}$.

L'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération a enregistré la meilleure capacité du piégeage du radical libre DPPH, une valeur de C150 de l'ordre de 0,73 mg/ml. Cette activité est proche de celle obtenue pour le standard, l'acide ascorbique qui a noté une C150 de l'ordre de 0,12mg/l. De même. Pour les deux extraits bruts hydrométhanoliques ont montré un pouvoir réducteur du Fer, avec des d'EC50 d'ordre de 0,65mg/ml pour l'extrait préparé par macération et 0,73 mg/ml pour l'extrait préparé par décoction, Ces résultats restent faibles par rapport au standard utilisé, l'acide ascorbique (EC50 égale à 0,06 mg/ml).

Mots clés : *Zingiber officinale*, criblage phytochimique, composés phénoliques. Activité antioxydante, DPPH, FRAP.

Abstract

Spices and medicinal plants play a crucial role in the pharmaceutical industry and diverse uses in daily life. *Zingiber officinale* is a perennial herbaceous plant belonging to the Zingiberaceae family, used for more than 200 years for its medicinal and nutritional values.

This work focuses on the study of phytochemical properties, the quantification of phenolic compounds (total polyphenols and flavonoids), and the evaluation of in vitro antioxidant activity by the DPPH free radical scavenging test and the FRAP iron reducing power test, of crude hydromethanolic extracts prepared by decoction and maceration, as well as the separation of pigments using chromatographic methods.

The phytochemical screening results of the crude hydromethanolic extracts prepared by decoction or maceration revealed the presence of alkaloids, tannins, free quinones, terpenoids, as well as reducing compounds.

The quantification of phenolic compounds showed the presence of flavonoids and total polyphenols in the two studied extracts, with varying amounts from one extract to another. The highest total polyphenol content was recorded for the crude extract prepared by decoction, in the order of 236.66 ± 0.005 μg EAG/mg ES. While the highest flavonoid content was revealed for the crude extract prepared by maceration, in the order of 43.33 ± 0.012 μg EC/mg ES.

The crude hydromethanolic extract prepared by maceration recorded the best DPPH free radical scavenging capacity, with a IC_{50} value of 0.73 mg/ml. This activity is close to that obtained for the standard, ascorbic acid, which had an IC_{50} of 0.12 mg/l. Similarly, both crude hydromethanolic extracts showed iron reducing power, with EC_{50} values of 0.65 mg/ml for the extract prepared by maceration and 0.73 mg/ml for the extract prepared by decoction. These results remain weak compared to the standard used, ascorbic acid (EC_{50} equal to 0.06 mg/ml).

Keywords: *Zingiber officinale*, phytochemical screening, phenolic compounds, antioxidant activity, DPPH, FRAP.

Introduction

La phytothérapie représente une médecine alternative qui exploite les extraits de plantes ou leurs parties, comme les feuilles, les fleurs, les racines, les écorces et les graines, dans un domaine thérapeutique. **(Ekor, 2014).**

Ces derniers temps, un intérêt croissant s'est porté sur les herbes et les épices en tant que source d'antioxydants, qui peuvent être utilisés pour se protéger contre les effets néfastes du stress **(Mata et al., 2007).**

Les épices sont considérées comme des plantes médicinales lorsqu'au moins une partie d'entre elles possède des propriétés curatives ou préventives contre une ou plusieurs maladies **(Mata et al., 2007).** Ce sont des parties aromatiques de plantes, riches en saveurs intenses, utilisées en petite quantité en cuisine comme conservateurs, assaisonnements ou colorants. Elles renferment de nombreux principes actifs ou métabolites secondaires qui sont largement utilisés en thérapeutique en tant qu'agents préventifs. Parmi ces métabolites, on trouve les composés phénoliques (polyphénols totaux) qui représentent une ressource largement exploitée par les industries agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique **(Manandhar, 1995 ; Boukri, 2014).**

Le stress oxydant est lié à de nombreuses pathologies, par exemple l'athérosclérose, les cancers, le diabète de type 2, les maladies neurodégénératives et rhumatismales. C'est pour cela que la recherche sur les antioxydants dans les plantes s'est beaucoup développée ces dernières années, afin de permettre de trouver les meilleurs antioxydants possibles dans l'espoir de protéger notre santé et même guérir ces différentes maladies **(Guillouty, 2016).**

L'espèce *Zingiber officinale* qui est consommé dans le monde entier comme une épice pour plus de 200 ans, est un agent aromatisant de l'ancien temps, utilisée traditionnellement dans la médecine asiatique et chinoise. Sa richesse en métabolites secondaires et plus spécifiquement shagaol et gingerol lui confèrent plusieurs effets biologiques telles que les activités anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antidiabétiques, anticancéreuses et antioxydantes **(Shahrajabian et al., 2019).**

Dans notre travail, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antioxydante, de Rhizome séché du gingembre (*Zingiber officinale*), comprenant :

- Le criblage phytochimique de rhizome séché du gingembre (*Zingiber officinale*) ;
- Le dosage des composés phénoliques ;

- L'évaluation de l'activité antioxydante par méthode de piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer (FRAP), des extraits bruts hydro-méthanolique, préparés par macération et décoction ;
- La séparation des colorants par méthodes chromatographiques.

Ce manuscrit est développé en deux parties :

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique et se compose de deux chapitres :

- Le chapitre I : représente les généralités sur la plante étudiée *Zingiber officinale*.
- Le chapitre II : englobe le stress oxydant et les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.

La deuxième partie est une partie expérimentale basée principalement sur l'extraction des différents extraits de Rhizome séché du gingembre (*Zingiber officinale*), les tests phytochimiques, le dosage des composés phénolique, l'évaluation de l'activité antioxydant de ces extraits, et la séparation des colorants par méthodes chromatographiques.

Enfin, une conclusion générale qui résume notre travail.

Synthèse bibliographique

Chapitre I

La plante étudiée :
Zingiber officinale

Le *Zingiber officinale*, aussi connu sous le nom de « Zanjabil » ou « le gingembre », est une plante herbacée vivace de la famille des Zingibéracées et du genre Zingiber (Marwat et al., 2015), largement cultivée dans les régions tropicales et subtropicales (Haniadka et al., 2013). Il est l'une des herbes les plus couramment utilisées en Asie, Amérique centrale, du Sud et Afrique depuis longtemps, pour traiter divers troubles (Aleem et al., 2020).

Trois variétés d'espèce de *Zingiber officinale* sont connues (Figure 1) : le gingembre géant ou le gingembre blanc (*Zingiber officinale* var. Roscoe), le petit gingembre blanc ou le gingembre empré (*Zingiber officinale* var. Amarum) et le gingembre rouge (*Zingiber officinale* var. Rubrum) (Figure 1) (Syafitri et al., 2018).

Les rhizomes de *Zingiber officinale* sont les composants essentiels, souvent employés pour améliorer la saveur et l'arôme des aliments et utilisés dans le domaine pharmaceutique en raison de la présence importante de composés bioactifs (Tozetto et al., 2019).

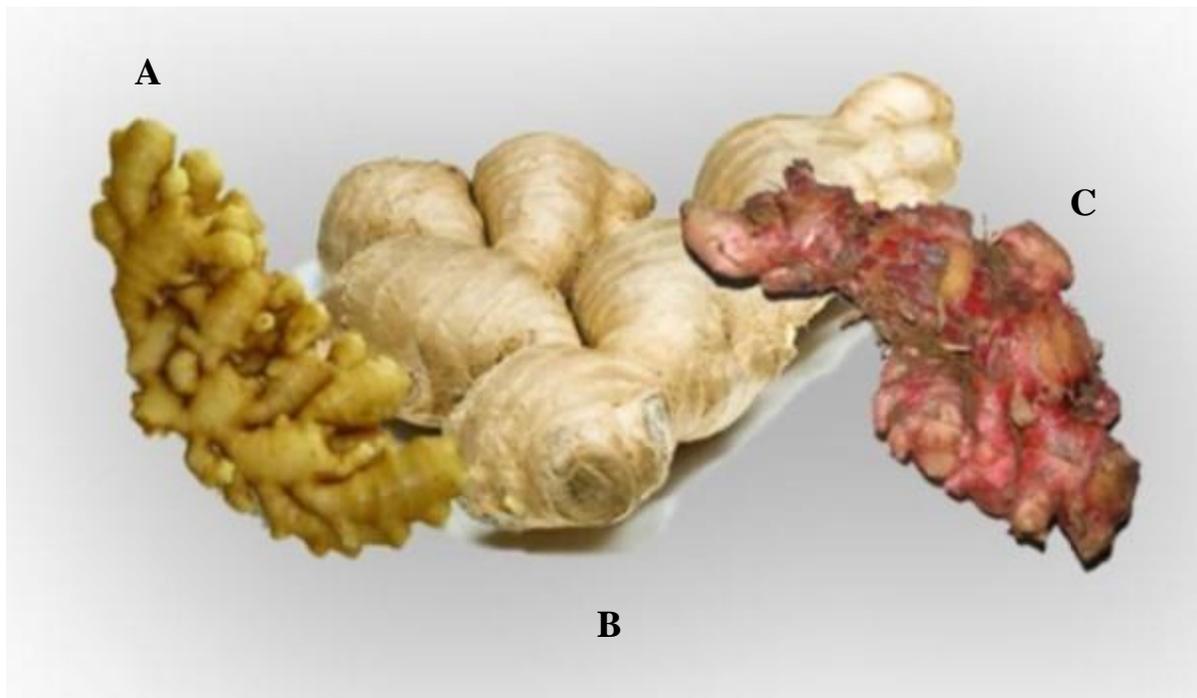


Figure01:A : Rhizome de *Zingiber officinale* var. *Amarum*, B : *Zingiber officinale* var. *Roscoe* et C:*Zingiber officinale* var. *Rubrum* (Syafitri et al., 2018).

1. Noms vernaculaires

Le tableau 01 résume les différents noms vernaculaires du gingembre, par différentes langues

Tableau 01 : Noms vernaculaires du gingembre (Ross, 2005).

Nom Botanique	<i>Zingiber officinale</i>
Nom Français	Gingembre
Nom Anglais	Gingerroot ou Ginger
Nom Berbère	Skenjbir ou Skenjbil
Nom Arabe	Zanjabil
Nom Chinois	Shenjiang pour le frais gangiang pour le sec

2. Classification botanique du gingembre

Selon (Faivre et al., 2006 ; Gigon, 2012), la classification botanique du gingembre est comme suit

Règne	Plantae
Sous-règne	Trachéobionta
Super division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Sous -classe	Zingibéridae
Ordre	Zingibérales
Famille	Zingiberaceae
Sous famille	Zingibéroïdes
Genre	Zingiber
Genre Espèce	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe

3. Description botanique de gingembre (*Zingiber officinale*)

Zingiber officinale est une plante tropicale herbacée vivace atteignant jusqu'à 90cm de hauteur en culture, poussant dans les régions ensoleillées et humides, appartenant à la famille des zingibéracées (Figure 02) (Braga et al., 2006).

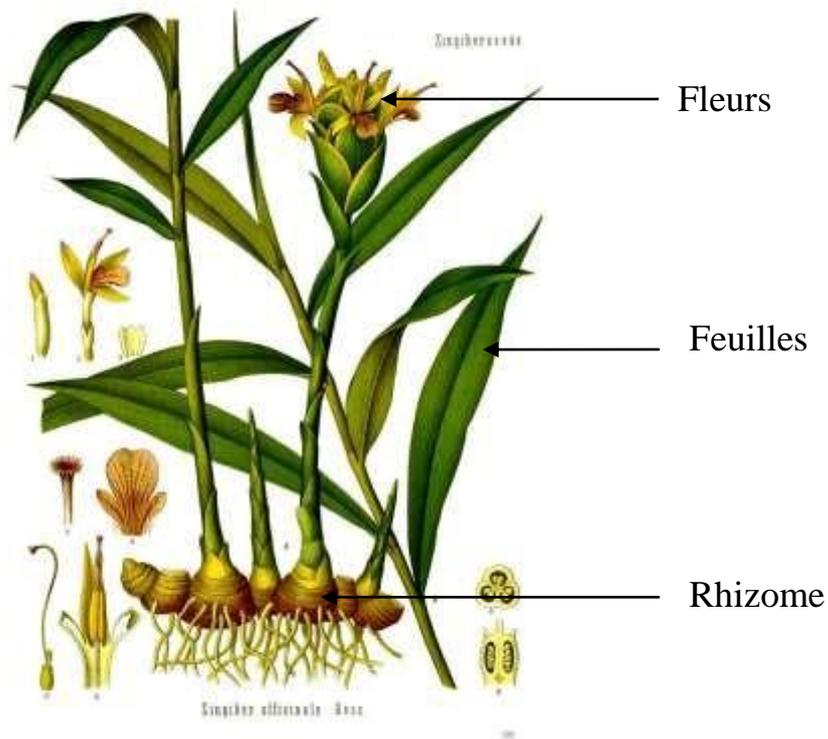


Figure 02: Différentes parties de la plante de «*Zingiber Officinale*» (Gigon, 2012).

Son épais rhizome représente la partie souterraine de la plante qui possède généralement une peau beige pâle avec une pulpe de couleur variant du jaunâtre au jaune foncé. Ils ont une structure allongée à l'intérieur avec des formes irrégulières comme des tubercules ramifiés qui ressemble aux doigts achevés par des bourgeons (Deme et al., 2021). Il présente une odeur aromatique et une saveur piquante et chaude (Figure 03) (Allais, 2009).



Figure 03 : Le Rhizome de «*Zingiber Officinale* » (Gupta et Sharma, 2014).

La partie aérienne est formée des feuilles et des tiges. Les tiges sont dressées et peuvent être stériles longues ou florifères (courtes et fertiles) (Deme et al., 2021), Tandis que les feuilles sont alternes, linéaires et lancéolées pouvant atteindre jusqu'à une vingtaine de centimètre.

L'inflorescence se présente en court épi axillaire, à tige couverte d'écailles montre la fin delà floraison, avec des fleurs parfumées de différentes couleurs, blanc, rouge et jaune entourées de bractée vert pale, formant des épis denses (Allais,2009 ;Deme et al.,2021).

4. Répartition géographique

Comme toutes les Zingibéracées, le gingembre est majoritairement cultivé dans les pays de l'hémisphère sud (**figure 04**):

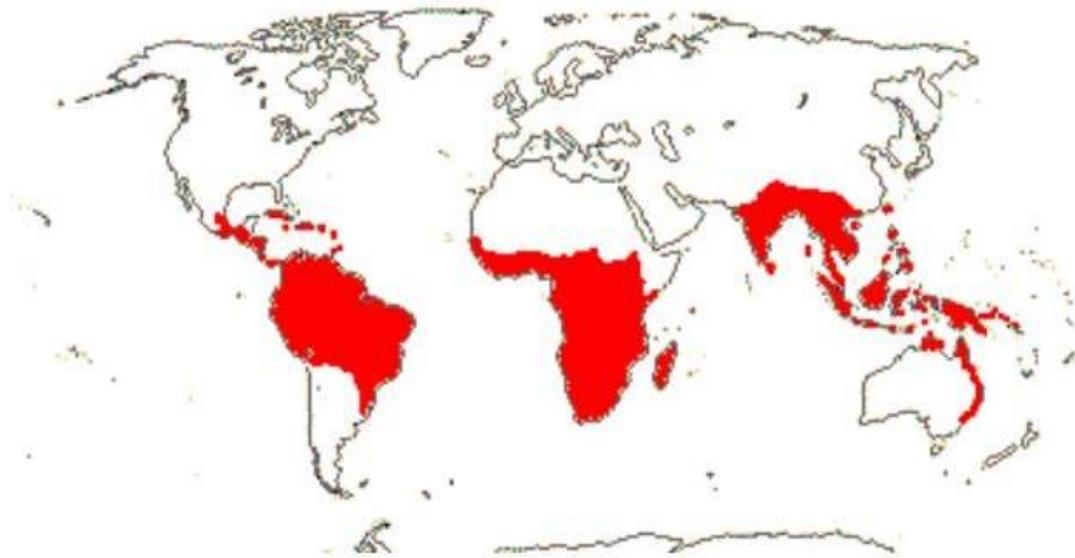


Figure04:Répartition mondiale des plantes de la famille des Zingibéracées (Butin, 2017).

La Chine et l'Inde sont les principaux pays exportateurs du gingembre : environ la moitié de la production mondiale provient de leurs exportations. Les autres pays d'Asie du Sud Est (Japon, Indonésie, Bangladesh, Thaïlande notamment) ont également leur propre production.

Le Cameroun, l'Ethiopie et le Nigeria produisent la plupart du gingembre originaire d'Afrique, tandis que la production du continent américain se concentre sur la Jamaïque et la République Dominicaine (Butin, 2017). Par cette diversité de pays producteurs, on distingue plusieurs types de gingembre, de qualité et de saveurs variables :

- Le gingembre de Chine est principalement commercialisé sous forme confite, et a un goût plus léger que les autres. Les méthodes de stérilisation de la plante utilisent parfois des produits toxiques, ce qui limite ses importations en Europe;

- Le gingembre indien a un goût piquant et citronné, et est divisé en sous catégories en fonction de la région productrice : Bengale, Malabar, Calicut, Cochin. Il est très souvent exporté, sous forme sèche ;
- Le gingembre africain possède un goût corsé, son huile essentielle sert surtout aux filières cosmétique et alimentaire ;
- Le gingembre de Jamaïque considéré de bonne qualité, à l'arôme délicat, son utilisation est fréquente en cuisine ;
- On note également la présence du gingembre du Brésil, qui est utilisé sous forme fraîche, et le gingembre d'Australie, qui entre dans la fabrication de confiseries (**Pinson, 2012**).

5. Composition phytochimique

D'après des études phytochimiques, le rhizome de gingembre renferme une multitude de composés biologiquement actifs qui lui confèrent des effets thérapeutiques. Les principales composantes phytochimiques de *Zingiber officinale* incluraient des huiles essentielles, des acide phénoliques, des flavonoïdes, des glucides, des protéines, des alcaloïdes, des glycosides, des saponines, des stéroïdes, des terpénoïdes et des tanins en tant que principaux groupes phytochimiques (**Roufogalis, 2014**). Dans le **tableau 2**, tous les produits chimiques sont répertoriés en fonction de leur classe chimique. Les structures de ces phytocomposés ont été représentées dans la Figure **05**.

Tableau2 : Constituants phytochimiques actifs du *Zingiber officinale* (**Swarupananda et Dipanjan, 2022**).

Classe chimique	Nom des composés
Échafaudages (piquants non volatils)	Gingérols (GN), Shogaols, Paradols, Zingerone
Sesquiterpène	Zingibérène, β -Sesquiphellandrène, β -Bésabolène
Monoterpénoïde	β -phellandrène, cinéol et citral
Vitamines	Vit. B5, B6, E.
Minéral	Fer, magnésium,phosphore, calcium, sodium

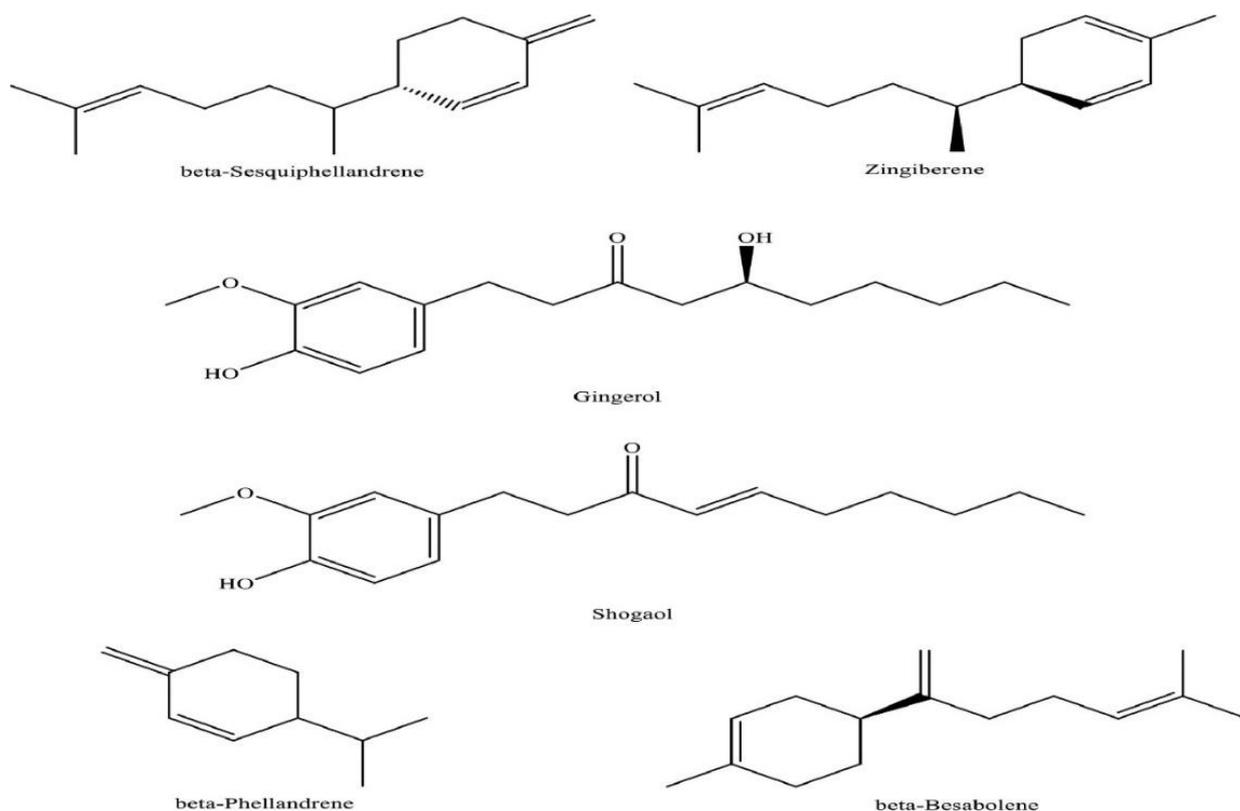


Figure 05 : Phytoconstituants présents dans *Z. officinale*.
(Swarupananda et Dipanjan ,2022).

6. Utilisation thérapeutique

Ces dernières années, le gingembre (*Zingiber officinale*) a fait l'objet de nombreuses études scientifiques approfondies visant à explorer ses propriétés médicinales. Grâce à des techniques de pointe, une grande variété de composés bioactifs a pu être isolés à partir des différentes parties de cette plante (Syafitri et al., 2018).

Zingiber officinale peut être utile comme carminatif, diurétique et antiémétique. Ses rhizomes séchés sont couramment employés pour soigner les nausées, les indigestions et combattre les flatulences. De plus, une préparation à base de ces rhizomes trempés dans de l'eau chaude s'avère efficace pour soulager les douleurs abdominales (Amir et al., 2011).

Le gingembre est connu aussi par ses effets hépato protecteurs, antiallergiques (Lai et al., 2016) (Kawamoto et al., 2015), antiémétique, antilipémique, antiathéromateuse, antipyrétique et antiagrégant plaquettaire (Thomson et al., 2002).

Il est utilisé dans certaines affections tels que la maladie d'Alzheimer, l'anorexie, l'anxiété, les allergies, le vieillissement, le choléra, le syndrome du côlon irritable, la diarrhée, le rhume et la grippe, la migraine, les céphalées en grappe (**Tauheedet al., 2017**).

De plus, le traitement au gingembre pourrait diminuer les pertes sanguines chez les femmes (saignements menstruels abondants) (**Kashefi et al., 2014**).

Des études démontrent l'efficacité du gingembre dans le soulagement des nausées liées à la grossesse (**Haji SeidJavadi et al., 2013**).

7. Activités biologiques

7.1. Activité antioxydante

Les propriétés antioxydantes du gingembre sont attribuées à des composés bioactifs comme les gingérols et les shogaols, qui ont la capacité de neutraliser les radicaux libres (**Abolaji et al., 2017 ; Srinivasan et al., 2019**). Cependant, le gingembre et ses composés phytochimiques (6-gingérol et zingérone) ont démontré la capacité de prévenir ou d'inhiber la peroxydation lipidique in vitro (**Haniadka et al., 2013**). Le 6-gingérol assure la protection des cellules HL-60 contre le stress oxydatif et pourrait être un protecteur principal contre les dommages d'ADN causés par le H₂O₂. De plus, il peut agir comme un piège des radicaux d'oxygène (**Agrahari et al., 2015**).

7.2. Activité antidiabétique

Le gingembre a montré ses effets antidiabétiques en aidant le foie et le pancréas à se décongestionner, donc c'est un très bon remède pour le diabète de type 2 (**Semwal et al., 2015**). Par conséquent, le gingembre aide à stabiliser le taux de sucre dans le sang en protégeant les cellules β pancréatiques, en augmentant la synthèse et la sensibilité de l'insuline (**Srinivasan, 2017**).

7.3. Activité anticancéreuse

Les études sur le cancer de la peau, du tractus gastro-intestinal, du côlon et du sein ont démontré les effets chimio-préventifs du gingembre. Il y a un mécanisme impliqué dans ces effets qui favorise la capture des radicaux libres, les voies antioxydantes, les changements dans les expressions géniques et l'induction de l'apoptose, ce qui entraîne une réduction de l'apparition, de la promotion et de la progression des tumeurs (**Ramakrishnan, 2013; Ghasemzadeh et al., 2015**).

7.4. Activité antimicrobienne

Le gingembre a démontré des propriétés antibactériennes, antifongiques et antivirales significatives (Moon et al., 2018). La présence de gingembre a inhibé la croissance d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* multirésistante aux médicaments en ayant un impact sur l'intégrité de la membrane et en évitant la formation de biofilms (Chakotiya et al., 2017). De plus, l'utilisation des extraits de gingembre a permis de prévenir la formation de biofilms, la production de glucanes et l'adhérence de *Streptococcus mutans* en réduisant la virulence des gènes (Hasan et al., 2015).

Le gingembre et ses composés bioactifs ont un effet antibactérien direct sur la membrane cellulaire en détruisant sa structure et en augmentant sa perméabilité, cela entraîne la dégradation des fonctions structurelles essentielles des bactéries, ce qui entraîne à la fin la mort des cellules bactériennes (Figure 06) (Wang et al., 2020). De plus, les composés du gingembre, tels que le γ -terpinène et le citral, ont démontré des propriétés antifongiques efficaces contre *Aspergillus flavus* et ont diminué l'expression de certains gènes liés à la production de l'aflatoxine (Nerilo et al., 2016 ; Moon et al., 2018).

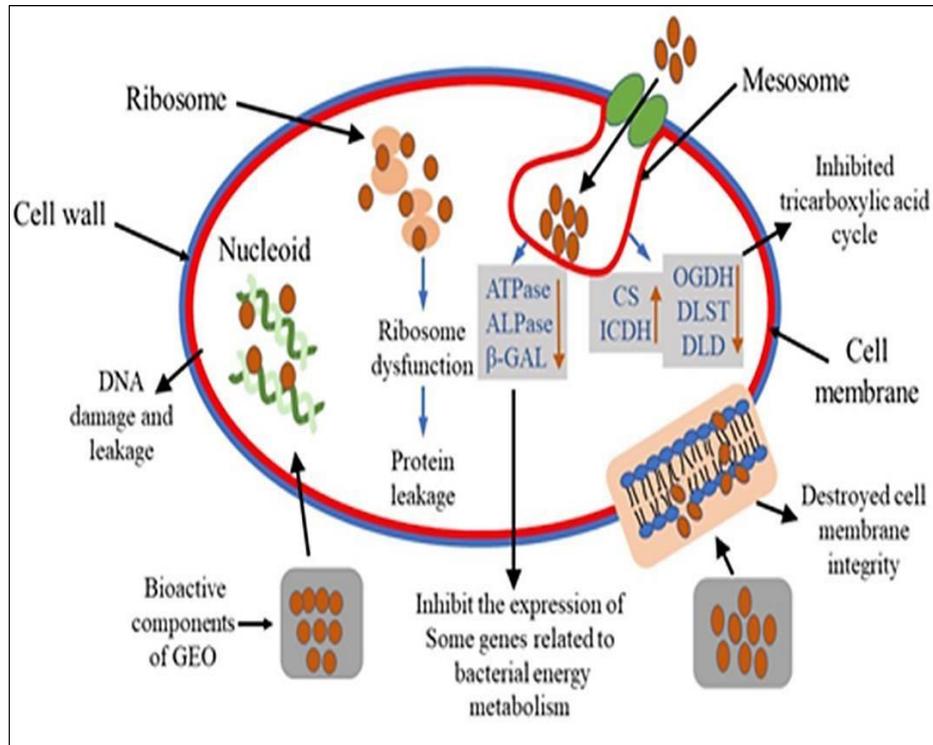


Figure06: Mécanisme d'action antibactérienne du gingembre et ses composés actifs (Wang et al., 2020).

7.5. Activité Anti-inflammatoire

Les effets anti-inflammatoires du gingembre et de ses composants ont été démontrés dans différentes formes d'inflammation aiguë et chronique (Song et al., 2016). L'action anti-inflammatoire résulte de l'inhibition simultanée de la cyclooxygénase (COX) et de la 5-lipoxygénase (LOX), des enzymes essentielles pour réguler l'induction des gènes inflammatoires (Ali et al., 2008).

La synthèse des prostaglandines est inhibée par le gingembre en inhibant la cyclooxygénase (COX-1 et COX-2). De plus, il supprime la production des leucotriènes en inhibant la 5 lipoxygénase (5-LOX). Selon (Srinivasan et al., 2019), le gingembre possède une double propriété pharmacologique en tant qu'inhibiteur de la COX et de la 5-lipoxygénase (5-LOX), ce qui peut entraîner un profil thérapeutique amélioré et moins d'effets secondaires. Dans les macrophages activés par le lipopolysaccharide (LPS) (Srinivasan et al., 2019), la 1-dehydro-10-gingéridone, l'un des composants piquants du gingembre, a diminué l'activation du NF- κ B et l'expression des gènes régulés par le NF- κ B en bloquant l'inhibiteur du facteur nucléaire kappa-B kinase (IKK β) (Figure 07) (Lee et al., 2012).

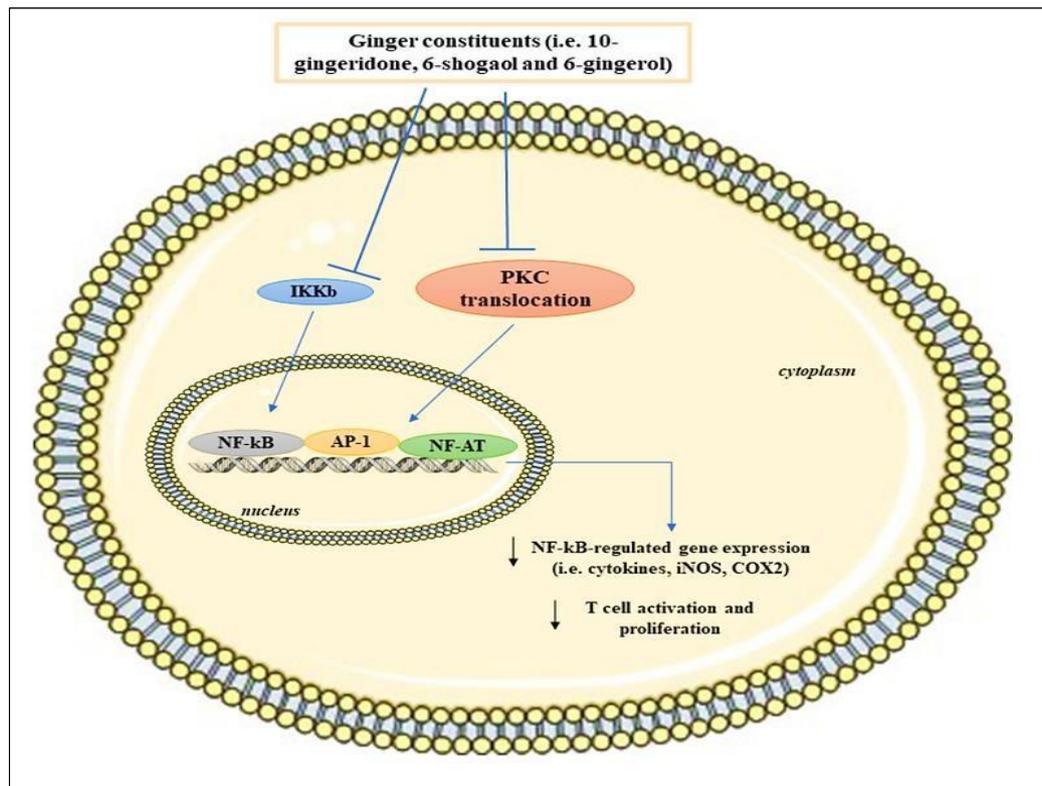


Figure 07: Mécanisme moléculaire anti-inflammatoire des principaux composants de gingembre (Pagano et al., 2021).

Chapitre II

Stress oxydatif

2. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif a été défini comme le déséquilibre entre la présence d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (ERO et ERA) et la capacité de l'organisme à neutraliser leur action par les systèmes de protection antioxydants (**Figure 08**) (**Persson et al., 2014**).

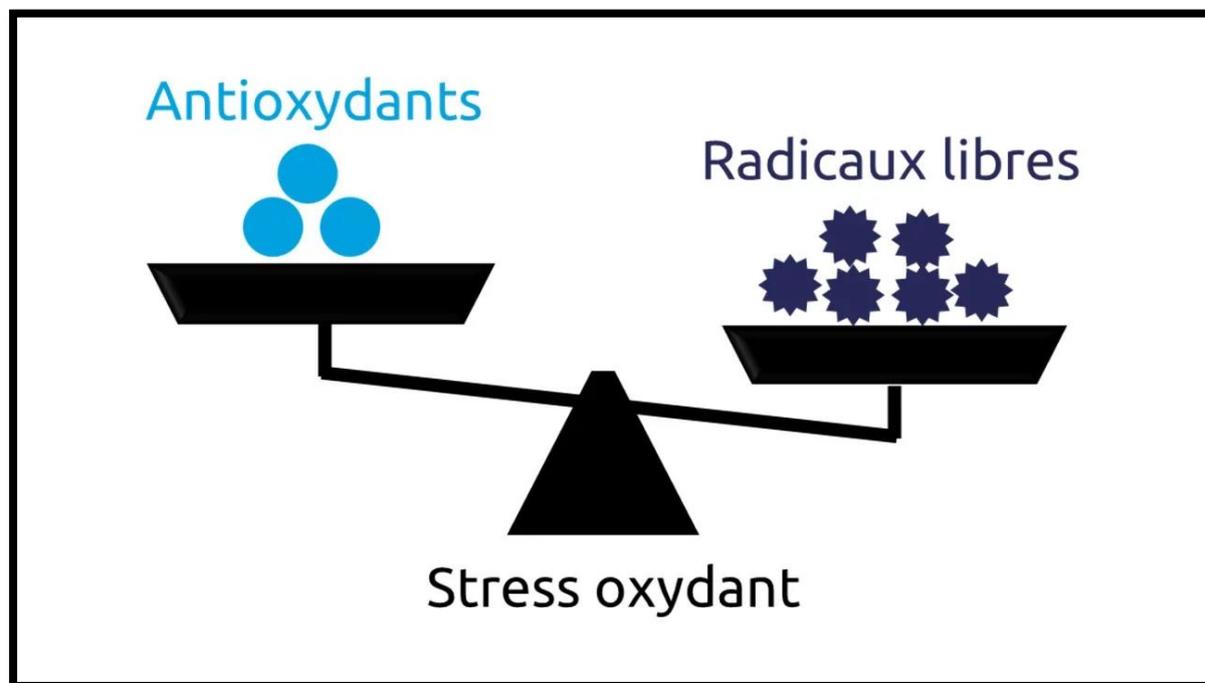


Figure08:Balance antioxydants /radicaux libres (**Nimse et al., 2015**)

Le stress oxydatif est impliqué dans de très nombreuses pathologies comme facteur déclenchant ou associé à des complications (**Favier, 2003**). Il peut être associé à l'athérosclérose, l'asthme, l'arthrite, l'hyperoxie, l'hépatite, l'attaque cardiaque, les vasospasmes, les traumatismes, les accidents vasculaires cérébraux, les pigments d'âge, les dermatites, les dommages de la rétine, les parodontites et les cancers (**Cohen et al., 2000; Packer et Weber, 2001**). Néanmoins, Le seul facteur commun favorisant le stress oxydant est l'âge, dans la mesure où le vieillissement affaiblit les réponses antioxydantes et perturbe la respiration mitochondriale (**Favier, 2003**).

3. Radicaux Libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atome ou molécule) qui contiennent un ou plusieurs électrons non appariés « célibataire » sur l'orbitale externe. Cet électron naît suite à un apport d'énergie susceptible et suffisant pour se ré appairier, qui a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner en stabilité, déstabilisant ainsi d'autres molécules (**Fontaine, 2007**).

4. Les antioxydants

Un antioxydant est une molécule naturelle ou synthétique qui inhibent ou retardent l'oxydation d'autres molécules en intervenant à différents stades du processus d'oxydation (Maurent, 2017). C'est une molécule suffisamment stable pour donner un électron à un radical libre déchaîné et le neutraliser, réduisant ainsi sa capacité d'endommager (Nimse et al., 2015).

Il peut agir de différentes façons : piéger les composés qui initient la réaction radicalaire, piéger les ions métalliques tel que Fe^{2+} , neutraliser l'anion Superoxyde pour éviter la formation de peroxydes, terminer la réaction de propagation dans la réaction radicalaire mise en place ou réduire la concentration en O_2 (Maurent, 2017).

Les antioxydants peuvent être classés de différentes façons : naturels et synthétiques ; polaires et non polaires ; enzymatiques et non enzymatiques ; endogènes et exogènes ; et par les mécanismes dans lesquels ils sont impliqués (Mirończuk-Chodakowska et al., 2018).

4.1. Les antioxydants enzymatiques

Il s'agit principalement de trois enzymes :

- La super oxyde dismutase (SOD) : Elle accélère la dismutation de l'anion super oxyde en peroxyde d'hydrogène (Zelko et al., 2002).

- La catalase : présente en particulier dans les hématies et les peroxysomes hépatiques. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Sorg, 2004).

- La glutathion peroxydase et réductase : Elles sont localisées dans le cytosol et les mitochondries. La glutathion peroxydase joue un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène et d'autre hydro peroxydes résultant de l'oxydation du cholestérol et des acides gras. La glutathion réductase (GR), quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH (glutathion réduit) à partir du GSSG (glutathion oxyde) tout en utilisant le NADPH comme cofacteur (Martínez-Cayuela, 1995 ; Sorg, 2004).

3.2. Les antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques sont des substances qui ont la capacité de préserver les cellules des attaques des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces molécules ne sont pas fabriquées par les cellules elles-mêmes, mais doivent être obtenues à partir de l'alimentation ou de suppléments (Frei et Stocker, 1990).

Voici quelques types d'antioxydants non enzymatiques :

- Vitamine C : C'est un antioxydant soluble dans l'eau qui protège les cellules contre les dommages causés par les ERO (Carr et Maggini, 2017).
- La vitamine E : est un antioxydant liposoluble qui préserve les cellules des dommages oxydatifs causés par les ERO (Azzi et Stocker, 2000).
- Flavonoïdes : Ce sont des composés d'origine végétale qui ont des propriétés antioxydantes et peuvent protéger les cellules contre les dommages oxydatifs (Manach et al., 2004).

5. Méthode de recherche de l'activité antioxydante

5.1. Test DPPH• (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) est l'une des méthodes les plus courantes pour évaluer l'activité antiradicalaire. Elle consiste à mesurer l'effet d'un composé sur la décoloration du radical DPPH. La réduction de la couleur violet foncé du DPPH est proportionnelle à la capacité antiradicalaire du composé testé (Mensor et al., 2001).

5.2. Test de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

La méthode FRAP, en présence d'un antioxydant (AH), repose sur la transformation de l'ion ferrique (Fe³⁺) en ion ferreux (Fe²⁺). Cette réduction permet l'apparition d'une couleur bleue intense quantifiée par spectrophotométrie à 710 nm (Ou et al., 2001 ; Hammoudi, 2015).

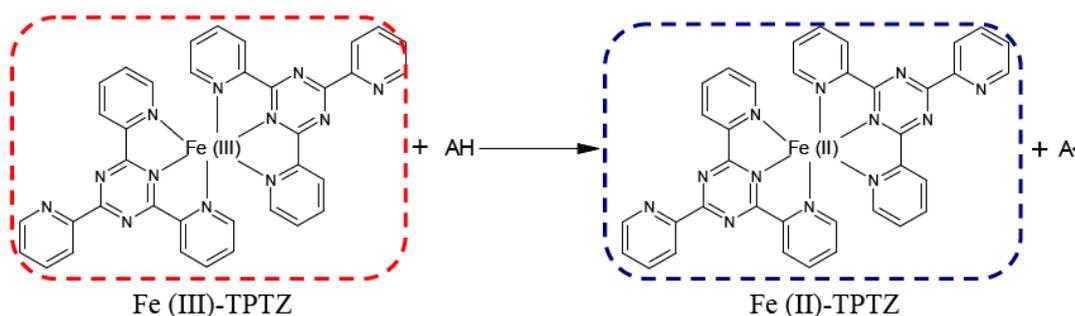


Figure09: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)-TPTZ et un antioxydant (AH) (Michel, 2011).

5.3. Test de 3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique (ABTS)

Le test ABTS a été rapporté pour la première fois par Miller et Rice-Evan et est basé sur la capacité de piégeage des antioxydants de l'anion radical à longue durée de vie $ABTS^{\bullet+}$ (**Figure 10**). La perte de $ABTS^{\bullet+}$ est mesurée par spectrophotométrie à 734 nm. La solution d' $ABTS^{\bullet+}$ est générée par l'oxydation de la molécule stable $ABTS$ avec le $K_2S_2O_8$, qui est intensément coloré. L' $ABTS^{\bullet+}$ est soluble dans l'eau et les solvants organiques et n'est pas affecté par la force ionique, il peut donc être utilisé dans une variété de milieux pour déterminer la capacité antioxydante hydrophile et lipophile des extraits (**Prior et al. 2005**).

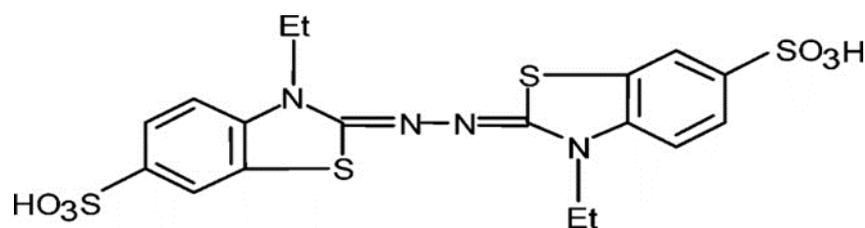


Figure 10: Structure de l'acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

5.4. Test CUPRAC (Cupric ion reducing antioxidant capacity)

La méthode CUPRAC (Cupric ion reducing antioxidant capacity) est basée sur le suivi de la réduction de l'absorbance accrue du complexe néocuproïne (Nc), cuivre (Cu^{+2}) $Nc-Cu^{+2}$.

En effet, en présence d'un agent antioxydant, ce test se base sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe $Nc-Cu^{+2}$ de couleur bleu, produisant un complexe chromogène de $Nc-Cu^+$ de couleur jaune mesurable à 450 nm (**Apak et al., 2004**).

Matériel et méthodes

Notre partie expérimentale a été réalisée au sein de laboratoire de recherche « Antibiotiques, antifongiques, physico - chimie, synthèse et activité Biologique », département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.

Ce travail a pour objectif l'étude phytochimique, le dosage des composés phénoliques, la séparation des colorants par méthodes chromatographiques et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits préparés de la partie rhizome séché de *Zingiber officinale*.

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude correspond aux rhizomes du gingembre (*Zingiber officinale*). Ils sont achetés chez un herboriste de la wilaya de Tlemcen, sous forme de rhizome séché.

Une fois le matériel végétal, les échantillons ont été broyés à l'aide d'un mortier. Ces poudres ont été conservées dans des bocaux en verre, hermétiquement et à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

2. Préparation des extraits

Deux méthodes ont été adoptées pour la préparation de deux extraits bruts hydro-méthanolique :

2.1. Extrait brut hydro-méthanolique préparé par Macération

- 10 g de la matière végétale sèche est mis dans un erlenmeyer avec 150 ml du mélange eau/méthanol (20/80 : v/v) ;
- Le mélange est laissé macéré à une température ambiante pendant 48 h à l'abri de lumière ;
- Après macération, la filtration est réalisée sur un papier filtre ;
- Le méthanol est évaporé à l'aide d'un Rotavapor à 60 °C ;
- Après évaporation, 10 ml de l'extrait brut est récupéré dans un tube à vis afin de réaliser les tests phytochimiques et le reste est séché dans une étuve à 35 °C.

L'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération (**EBM**) est conservé dans un Eppendorf pour des analyses phytochimiques et biologiques.

2.2. Extrait brut hydro-méthanolique préparé par Décoction (sous reflux)

- 10 g de la matière végétale sèche est introduite dans un ballon rodé, avec 200 ml du mélange eau/méthanol (20/80 : v/v), surmonté d'un réfrigérant (**Figure 11**);
- Le mélange est porté à une décoction sous reflux pendant 45 min ;
- L'extrait obtenu est filtré à l'aide d'un papier filtre ;
- Le méthanol est évaporé à l'aide d'un Rotavapor à 60 °C ;
- Après évaporation, 10 ml de l'extrait brut est récupéré dans un tube à vise afin de réaliser les tests phytochimiques et le reste est séché dans une étuve à 35 °C.

L'extrait brut hydrométhanolique préparé par Décoction (**EBD**) est conservé dans un Eppendorf pour des analyses phytochimiques et biologiques.

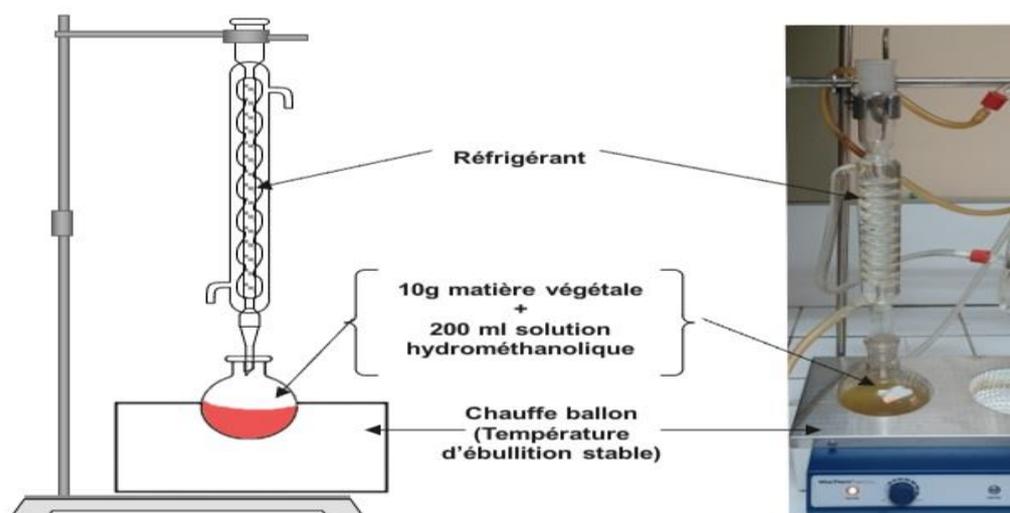


Figure 11 : Montage décoction sous-reflux

2.3. Extrait brut hydro-acétonique préparé par macération

- Dans un Erlenmeyer, nous avons mélangé 10g de la matière végétale avec 150ml du mélange eau-Acétone (20/80 : v/v) ;
- Le mélange est laissé macérer à température ambiante pendant 48 heures ;
- Le mélange est filtré ;

L'extrait brut hydro-Acétonique préparé par macération (EBA) est ainsi récupéré et conservé dans un flacon à 4°C, pour la séparation des colorants.

2.4. Calcul des rendements

Les rendements obtenus à partir des extraits bruts hydro-méthanolique préparés par macération ou décoction, sont calculés à partir de l'équation suivante :

$$R (\%) = (M1 / M0) \times 100$$

- ✓ R (%) : rendement exprimé en pourcentage.
- ✓ M1 : masse en gramme « g » de l'extrait sec obtenu.
- ✓ M0 : masse en gramme « g » du matériel végétal.

3. Séparation de l'extrait hydro-acétonique par chromatographies

❖ Définition

La chromatographie est une méthode physique et chimique de séparation et d'identification basée sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile.

3.1. Chromatographie sur Colonne

❖ Principe

La chromatographie sur colonne est une méthode préparative ; elle permet la séparation des constituants d'un mélange et leur isolement, à partir d'échantillons dont la masse peut atteindre plusieurs grammes.

❖ Préparation de la colonne

- Verser le gel de silice jusqu'aux 2/3 de la hauteur de la colonne ;
- Verser du dichlorométhane petit à petit ;
- Homogénéiser à l'aide de la tige métallique afin de gélifier la silice ;
- Remettre éventuellement de dichlorométhane jusqu'à ce que celle-ci coule par le bas de la colonne ;
- Lorsque le niveau de dichlorométhane arrive à la limite supérieure de la silice, déposer à l'aide d'une pipette pasteur quelques gouttes d'extrait brut Hydro-Acétonique ;
- Laisser l'extrait brut hydro-Acétonique pénétrer dans la silice jusqu'au début de la séparation ;
- Recueillir le premier colorant dans un tube à hémolyse ;
- Lorsque le premier colorant est entièrement récupéré recueillir le deuxième colorant dans un autre tube à hémolyse.

3.2. Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

❖ Principe

La chromatographie sur couche mince (CCM) utilise des phases stationnaires solides fixées sur des supports rigides maintenus verticaux dans une cuve à chromatographie. La phase mobile est un solvant organique (ou un mélange de solvants) qui est déposé au fond de la cuve à la base de chromatographie. Cette phase mobile monte par capillarité le long de la plaque.

La CCM se déroule en trois étapes : préparation de la cuve, préparation de la plaque, et élution.

❖ Préparation de la cuve chromatographique

- Mettre l'éluant (dichlorométhane) au fond de la cuve sur une hauteur de 0,5cm ;
- Fermer la cuve afin de la saturer de vapeur d'éluant.

❖ Préparation de la plaque

- Tracer au crayon un trait à 1 cm du bas de la plaque ;
- Sur ce trait tracer 3 petits points à 1 cm de distance où seront déposées les taches (l'extrait brut Hydro-Acétonique, fractions 1, fractions 2) ;
- Déposer à l'aide d'une micropipette (ou pipette Pasteur) les solutions sur chaque point.

❖ Élution

- Introduire la plaque position verticale dans la cuve Fermer de façon étanche pour assurer la saturation ;
- Laisser le temps nécessaire pour que le solvant monte par capillarité jusqu'à 1 cm environ du bord supérieur de la plaque.
- Sortir la plaque et laisser sécher, en position verticale, dans un endroit ventilé.
- Les taches sont détectées par observation sous lampe UV (366nm).

4. Tests phytochimiques

Des tests phytochimiques ont été réalisés sur les extraits bruts (**EBD**, **EBM** et **EBA**) obtenus, dans le but de mettre en évidence les différents métabolites secondaires présents dans le Rhizome séché. La présence ou l'absence de ces molécules s'exprime par des réactions de coloration, précipitation ou mousse.

Ces tests ont été menés selon les techniques de caractérisation qualitatives décrites par **Bruneton, (1999) Harborne, (1998)**.

4.1. Composés azotés

❖ Les alcaloïdes

Dans deux tubes à essai, introduire 0,5 ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl (1%) et ajouter 0,5 ml de réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5ml de réactif de Wagner dans le second tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement, révèle la présence d'alcaloïdes.

4.2. Les composés phénoliques

❖ Les tanins

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 0,25 ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ (1%). Le mélange est incubé pendant 15 min à température ambiante. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

❖ Les flavonoïdes

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1 ml de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose ou rouge ou jaune prouve la présence des flavonoïdes.

❖ Les quinones libres

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 0,1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH à 1%). L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres.

❖ Anthraquinones

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1ml de NH₄OH (10%) puis agiter. L'apparition d'une coloration violette indique la présence des anthraquinones.

❖ Les coumarines : Fluorescence UV

Dans deux tubes à essai, introduire 1ml de l'extrait à analyser, prendre le premier comme témoin et ajouter à l'autre 0,1 ml de NH₄OH (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière UV à 366 nm. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

4.3. Composés terpéniques

❖ Les saponines (test de mousse)

Dans un tube à essai, introduire 10 ml de l'extrait à analyser, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur de mousse persistante supérieure à 1cm indique la présence de saponines.

❖ Terpénoïdes

Test de Slakowski: Dans un tube à essai, introduire 1 ml de l'extrait à analyser, ajouter 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

4.4. Les composés réducteurs

Dans un tube à essai, ajouter 1 ml de liqueur de Fehling (0,5 ml réactif A et 0,5 ml réactif B) à 1 ml d'extrait à analyser et incuber l'ensemble 08 min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

5. Dosage des composés phénoliques

5.1. Dosages des polyphénols totaux

❖ Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène ayant une absorption maximale à 700 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans l'échantillon (**Vermerius et Nicholson, 2006**).

❖ Mode opératoire

Les polyphénols totaux ont été déterminés par méthode spectrophotométrique suivant le protocole décrit par **Vermerius et Nicholson (2006)**.

0,1 ml d'extrait (1mg/ml) est mélangé avec 2 ml de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3 à 2%). L'ensemble est agité et incubé pendant 5 minutes. Puis, 0,1ml du réactif Folin-Ciocalteu 1N est ajouté. Le mélange final est incubé à une température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 700 nm contre un blanc.

Une courbe d'étalonnage est établie en parallèle dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant l'acide gallique comme étalon, avec des concentrations variant de 50 à 500µg/ml (**Tableau 3**).

Les résultats sont exprimés en en microgramme Equivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec (µg EAG/ mg ES).

Chaque essai est répété 3 fois.

Tableau3: Méthode de dosage des polyphénols totaux

	La gamme d'étalon (acide gallique)											Extraits (1mg/ml)	
	B	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	EBM	EBD
[Acide gallique] µg/ml	B	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	-	-
Acide gallique (ml)	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-
Eau distillée (ml)	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extraits (ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1
Na ₂ CO ₃ (2%) ml	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Agitation et incubation pendant 5 min													
Folin-Ciocalteu (1N) (ml)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 min													
Mesure de l'absorbance à 680 nm													

5.2. Dosage des flavonoïdes totaux

❖ Principe

Le principe de cette méthode se repose sur l'oxydation des flavonoïdes en milieu alcalin, en présence du nitrite de sodium (NaNO₂) et du chlorure d'aluminium (AlCl₃) en composant un complexe de couleur rose absorbant à 510 nm.

❖ Mode opératoire

La teneur en flavonoïdes totaux est déterminée par le test de du trichlorure d'aluminium selon la méthode décrite par **Zhichene et al., (1999)**.

250 µl d'extrait (1mg/ml) sont mélangés avec 1ml d'eau distillée et 75 µl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO₂) à 15%. Après 6 min d'incubation à température ambiante, 75 µl de chlorure d'aluminium AlCl₃ à 10% sont ajoutés. Après 6 min de repos à température ambiante 1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) (4%) est apporté au mélange. Le volume total est complété à 2,5 ml d'eau distillée. La solution finale est bien mélangée et gardée à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 510nm contre un blanc (**Tableau 4**).

Une gamme d'étalonnage est préparée dans les mêmes conditions avec la catéchine à différentes concentrations de 1, 25 à 500µg/ml (**Tableau 4**).

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec (µg EC /mg ES).

Tableau 4: Méthodes de dosage des flavonoïdes

	La gamme d'étalon (catéchine)											Extraits (1mg/ml)	
	B	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	EBM	EBD
[Catéchine] µg/ml	B	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	-	-
Catéchine (µl)	-	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	-	-
Extrait (µl)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	250	250
Eau distillée (µl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1 ère incubation pendant 6min à température ambiante													
NaNO ₂ (15%) (µl)	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
2ème incubation pendant 6min à température ambiante													
AlCl ₃ (10%) (µl)	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
NaOH(4%) (µl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Eau distillée (µl)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3ème incubation pendant 6min à température ambiante													
Mesurer de l'absorbance à 510nm													

6. Evaluation de l'activité antioxydante

6.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

Le composé chimique (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) (Figure13) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (**Popovici et al., 2010**).

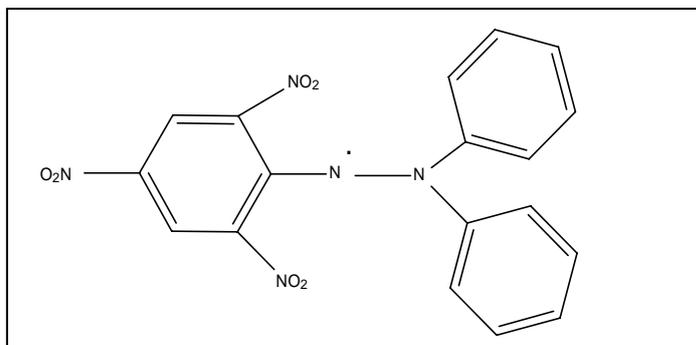


Figure12 : Structure chimique du radical libreDPPH (2,2Diphényle-1-Picryl-Hydrazyl).

❖ Principe

La réduction du radical libre DPPH• (2,2'-Diphényle-1-Picryl Hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV- Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH. (2.2 Diphényl -1- PicrylHydrazyl) de couleur violette se réduit en (2.2 Diphényl 1 Picryl-Hydrazine) de couleur jaune (**Figure 14**) (**Parejo et al.,(2003)**).

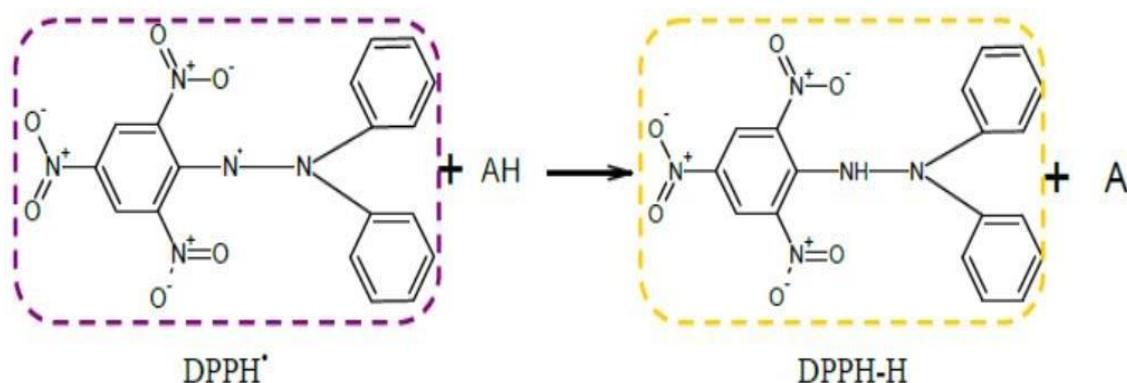


Figure 13: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH) (**Michel, 2011**).

❖ **Mode opératoire**

Le test de DPPH a été réalisé suivant la méthode décrite par **Bektas et al., (2005)**

Une série de concentration des extraits étudiés est préparée dans l'eau distillée. 50µl de chacune sont ajoutés à 1950 µl d'une solution méthanoliques de DPPH.

Pour chaque concentration d'extrait, un blanc est préparé, en mélangeant 50µl de chaque concentration avec 1950µl de l'eau distillée.

Un témoin négatif est aussi préparé, en ajoutant à 50µl méthanol, 1950µl d'une solution méthanoliques de DPPH.

Dans les mêmes conditions, un témoin positif est préparé en utilisant l'acide ascorbique à différentes concentrations.

Après une période d'incubation de 30 min, l'absorbance est mesurée à 517nm.

Chaque essai est répété 3 fois.

❖ **Expression des résultats :**

L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I %) a été calculée de la manière suivante :

$$I \% = [(A \text{ blanc} - A \text{ échantillon}) / A \text{ blanc}] \times 100.$$

- Une courbe des concentrations de l'extrait en fonction de I % est tracée pour déterminer CI50, défini comme la concentration d'extrait nécessaire pour diminuer la concentration du DPPH initiale de 50%.

6.2. Pouvoir réducteur de fer (FRAP)

❖ **Principe**

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) (**Karagözler et al., 2008**).

❖ **Mode opératoire**

- 250µl de l'extrait à différentes concentrations sont mélangés avec 250µl d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 250µl d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ (1%).
- L'ensemble est incubé à 50°C pendant 20 minutes dans l'étuve.
- Après refroidissement des tubes, 250µl de l'acide trichloracétique TCA (10%) est ajouté ;
- 500 µl de surnageant sont combinés avec 500µl d'eau distillée et 100µl d'une solution aqueuse de chlorure de fer $FeCl_3$ (0,1%).
- L'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 700 nm contre un blanc, préparé en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée.

Pour chaque concentration, le test est répété 3fois.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les extraits dans différentes concentration (0,01 à 0,1 mg/ml).

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

❖ **Expression des résultats**

L'EC50 est définie comme étant la concentration efficace de l'extrait qui donne une réponse demi-maximale.

Pour calculer l'EC50, nous avons tracé des courbes de régressions linéaires des absorbances obtenus en fonction des différentes concentrations utilisées pour les différents extraits de la plante étudiée.

L'extrait le plus efficace est déterminé par la valeur d'EC50 la plus faible en EC 50.

7. Analyses Statistiques

Les teneurs en composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits étudiés sont présentés par la moyenne et l'écart-type de trois répétitions :

➤ la moyenne :

$$\bar{x} = \frac{n_1 \times x_1 + n_2 \times x_2 + \dots + n_p \times x_p}{n_1 + n_2 + \dots + n_p}$$

➤ l'écart-type :

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Résultats et interprétation

1. Rendement d'extraction

Les rendements d'extraction des extraits bruts hydrométhanoliques préparés par macération (EBM) ou décoction (EBD), à partir de Rhizome séché du gingembre (*Zingiber officinale*) ont été calculés, après évaporation à sec, par rapport à la masse végétale initiale sèche. Les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau5**.

Tableau 5 : Rendement d'extraction de différente préparation de Rhizome séché du gingembre (*Zingiber officinale*)

Extraits	Masse végétale initiale (g)	Rendement (%)
EBM	10	8,87
EBD	10	10,63

EBD : extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **EBM** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération.

Les résultats obtenu sont montré que l'extrait brut hydrométhanolique préparer par décoction (EBD) a présenté le rendement le plus élevé (10,63%), suivi par l'extrait brut hydrométhanolique préparer par macération (EBM) (8,87%).

2. Caractéristiques des extraits

Les caractéristiques des extraits bruts hydrométhanoliques préparés à partir de Rhizome séché du gingembre (*Zingiber officinale*) sont résumés dans le **Tableau n° 06** :

Tableau 06 : caractéristiques des extraits bruts hydrométhanoliques préparés de Rhizome séché du gingembre (*Zingiber officinale*)

Extrait	Aspect	Couleur	Solubilité
EBM	Pâteux	Jaune	Eau distillée
EBD	Pâteux	Jaune	Eau distillée

EBD : extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **EBM** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération.

Suite à l'analyse des résultats, il est notable que les deux extraits bruts hydrométhanoliques, obtenus par macération et décoction à partir de Rhizome séché du gingembre, ont été récupérés sous forme de pate présentant une teinte jaune.

De plus, Le test de solubilité nous a permis de noter que les deux extraits bruts (EBD et EBM) sont solubles dans l'eau distillée.

3. Tests phytochimiques

Afin de déterminer la présence ou l'absence des différentes familles de métabolites secondaires dans les extraits préparés à partir de Rhizome séché du gingembre (*Zingiber officinale*), des tests phytochimiques ont été réalisés. Ces tests sont en relation avec l'intensité de coloration ou de précipité, qui sont proportionnelle à la quantité de la substance recherchée. Les résultats obtenus sont représentés dans le (**Tableau 07**).

Tableau 07 : Résultats des tests phytochimiques des extraits bruts hydrométhanoliques par (EBD, EBM) et hydroacétonique (EBA) de Rhizome séché du gingembre (*Zingiber officinale*).

Métabolites secondaires	Réactifs	EBM	EBD	EBA
Alcaloïdes	Mayer	+	+	+
	Wagner	+	+	+
Tanins	FeCl ₃	+	+	+
Flavonoïdes	HCl+Mg ⁺²	-	-	-
Quinones libres	NaOH (1%)	+	+	+
Anthraquinones	NH ₄ OH (10%)	-	-	-
Coumarines	NH ₄ OH (10%) +Fluorescence UV	-	-	-
Saponines	Indice de mousse	-	-	-
Terpénoïdes	Test de Slakowski	-	+	+
Composés réducteurs	Liqueur de Fehling	+	+	+

EBD : extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction ; **EBM** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ; **EBA** : extrait brut hydro-acétonique préparé par macération. (+) : présence ; (-) : absence.

Selon les résultats mentionnés dans le **Tableau 7**, nous avons révélé la présence des alcaloïdes, des tanins, des quinones libres, des terpénoïdes et des composés réducteurs dans les différentes préparations d'extraits bruts (EBM, EBD et EBA) de la partie séchée du Rhizome du gingembre. Par contre, les anthraquinones, les flavonoïdes, les saponines et les coumarines sont notés absents dans l'ensemble des extraits.

Par ailleurs, nous avons noté l'absence des terpénoïdes seulement dans l'extrait brut préparé par macération (EBM).

4. Dosage des composés phénoliques

4.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique, en utilisant le réactif de Folin - Ciocalteu.

Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent d'acide gallique par mg de la matière sèche d'extrait obtenu (μg EAG / mg ES), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (**Figure 14**).

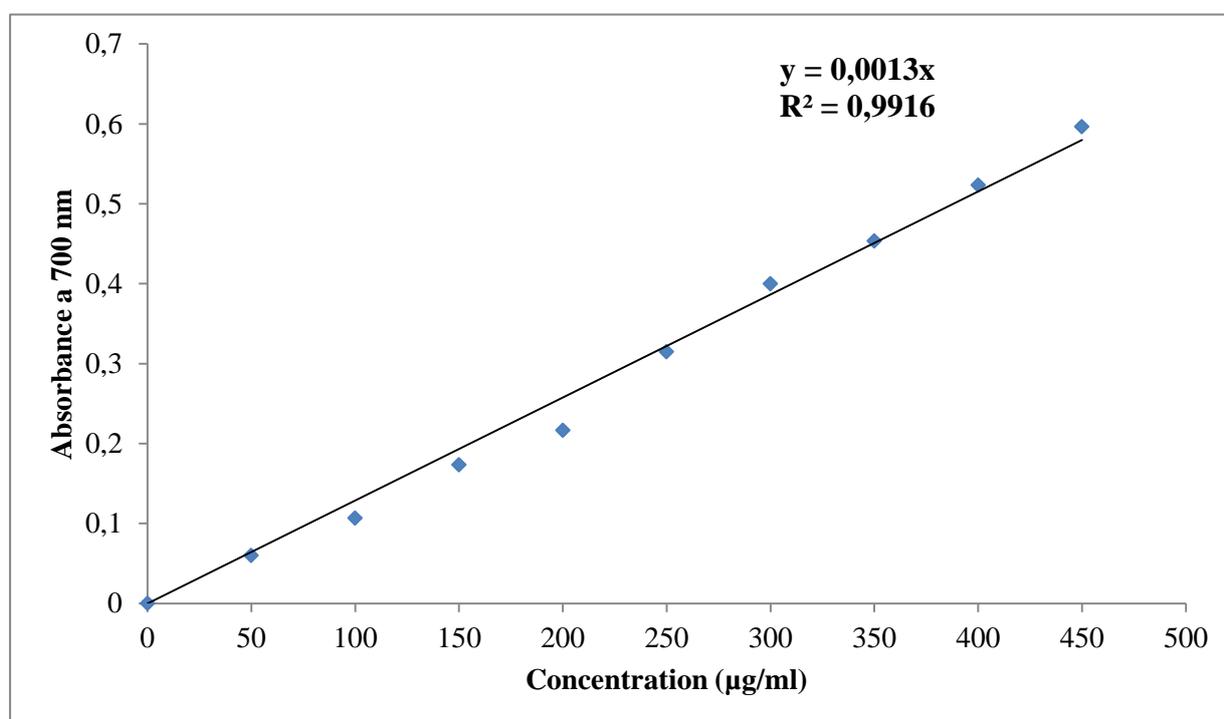
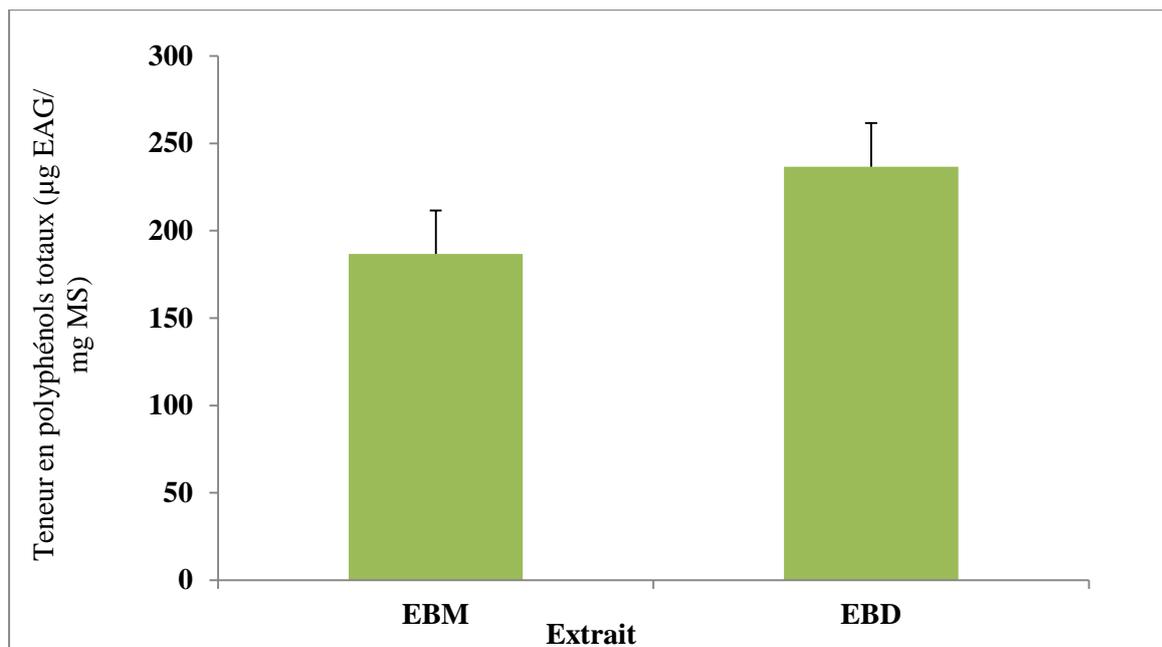


Figure 14 : La courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Les teneurs en polyphénols totaux de la partie Rhizome séché du gingembre sont présentées dans la (**Figure 15**).



EBD : extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **EBM** : Extrait bruthydrométhanolique préparé par macération.

Figure 15 : La teneur en polyphénols totaux (µg EAG/ mg MS), dans les différentes préparations de la partie Rhizome séché du gingembre.

Le dosage des polyphénols totaux a montré que l'extrait brut préparé par décoction (EBD) renferme la teneur la plus élevée ($236,66 \pm 0,005 \mu\text{g EAG/mg ES}$), suivie par l'extrait brut préparé par macération (EBM) avec une teneur de ($186,66 \pm 0,005 \mu\text{g EAG/mg ES}$).

4.2. Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes ont été déterminées par méthodes spectrophotométrique, en utilisant la méthode basée sur leur oxydation en milieu alcalin, en présence du nitrite de sodium (NaNO_2) et du chlorure d'aluminium (AlCl_3).

Les résultats obtenus sont exprimés en µg équivalent de catéchine par mg de matière végétale sèche (µg EC/mg MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de la catéchine (**Figure 16**).

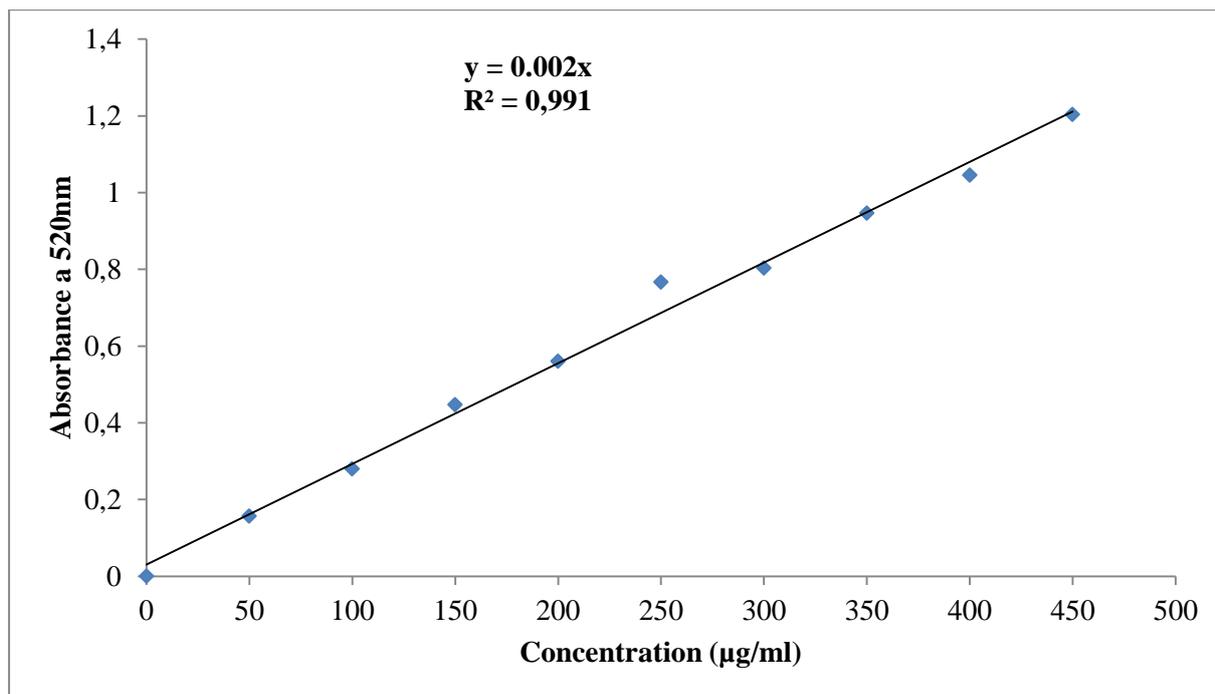
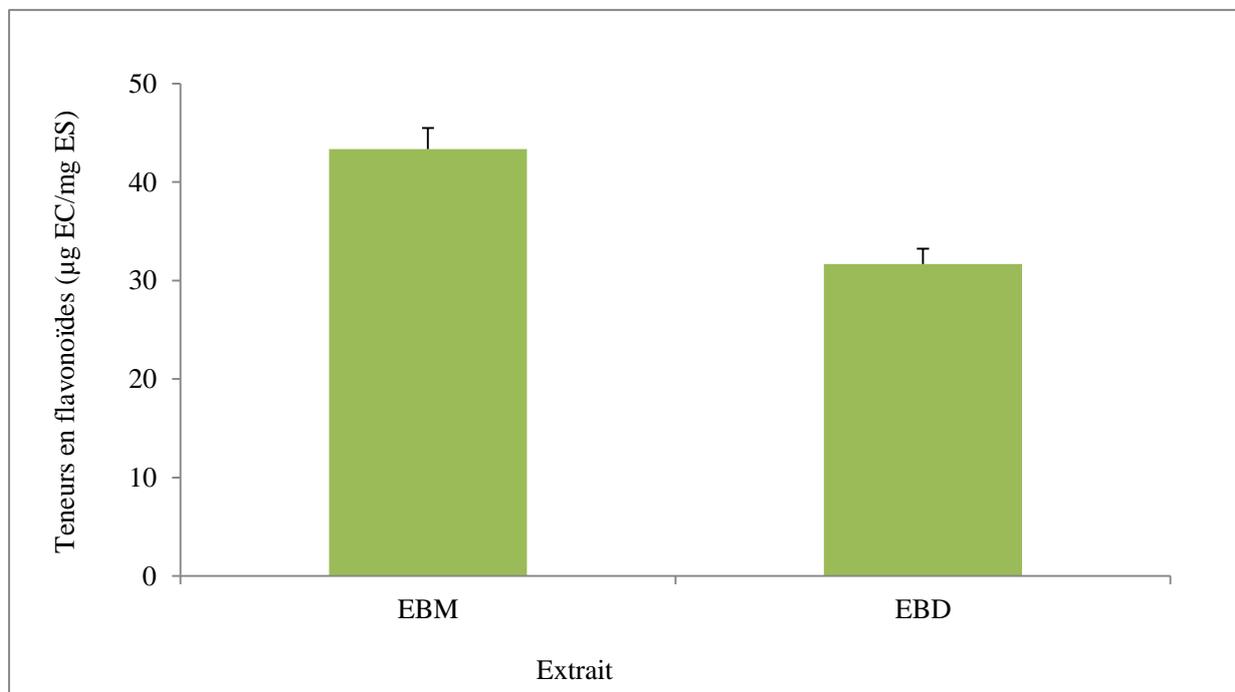


Figure 16 : Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

Les teneurs en flavonoïdes de la partie Rhizome séché du gingembre sont présentées dans la figure suivante :



EBD : extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **EBM** : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération.

Figure 17 : La teneur en flavonoïdes ($\mu\text{g EC/ mg ES}$), dans les différentes préparations de la partie Rhizome séché du gingembre.

Les teneurs en flavonoïdes totaux (**Figure 17**) ont montré que l'extrait brut préparé par macération (EBM) renferme la teneur le plus élevée ($43,33 \pm 0,012\mu\text{g EC/mg ES}$), suivie par l'extrait brut préparé par décoction (EBD) avec une teneur de ($31,66 \pm 0,015\mu\text{g EC/mg ES}$).

5. Recherche de l'activité antioxydante

Dans cette partie, nous avons testé l'effet antioxydant des extraits bruts eau-méthanol (EBD et EBM), préparés de la partie rhizome séché de *Zingiber officinale*. Par deux méthodes : méthode de piégeage du radical (DPPH) et la méthode du pouvoir réducteur de fer (FRAP).

5.1. Piégeage du radical libre DPPH

Les figures (18) et (19) et (20) représentent le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique et d'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération et d'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction respectivement.

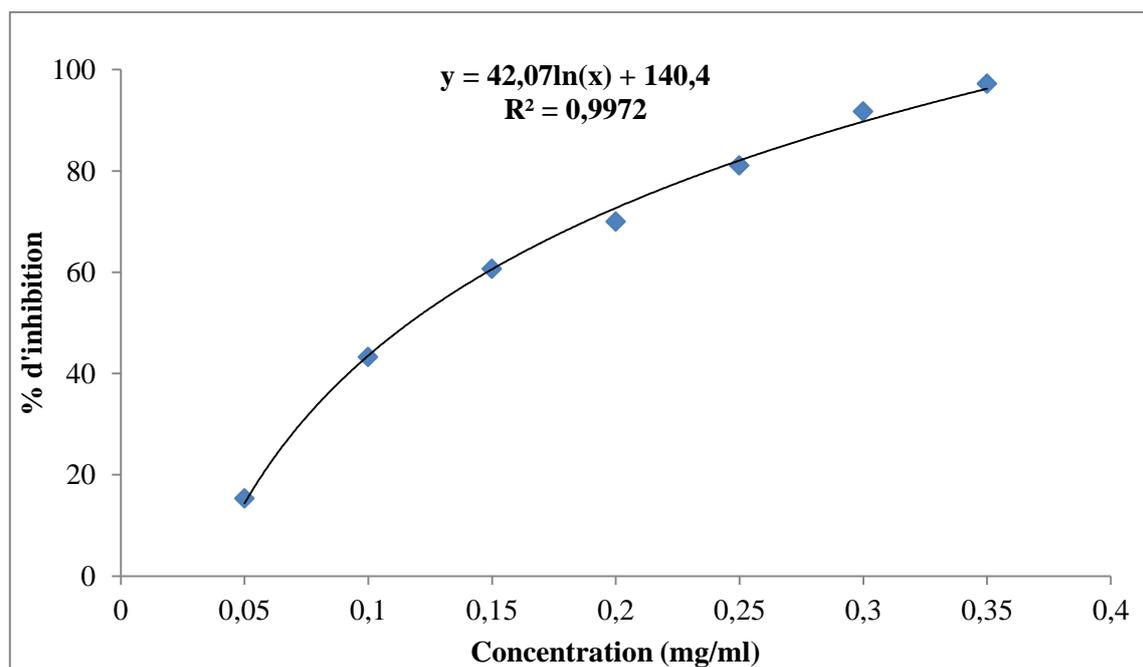


Figure 18: Courbe des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration en acide ascorbique.

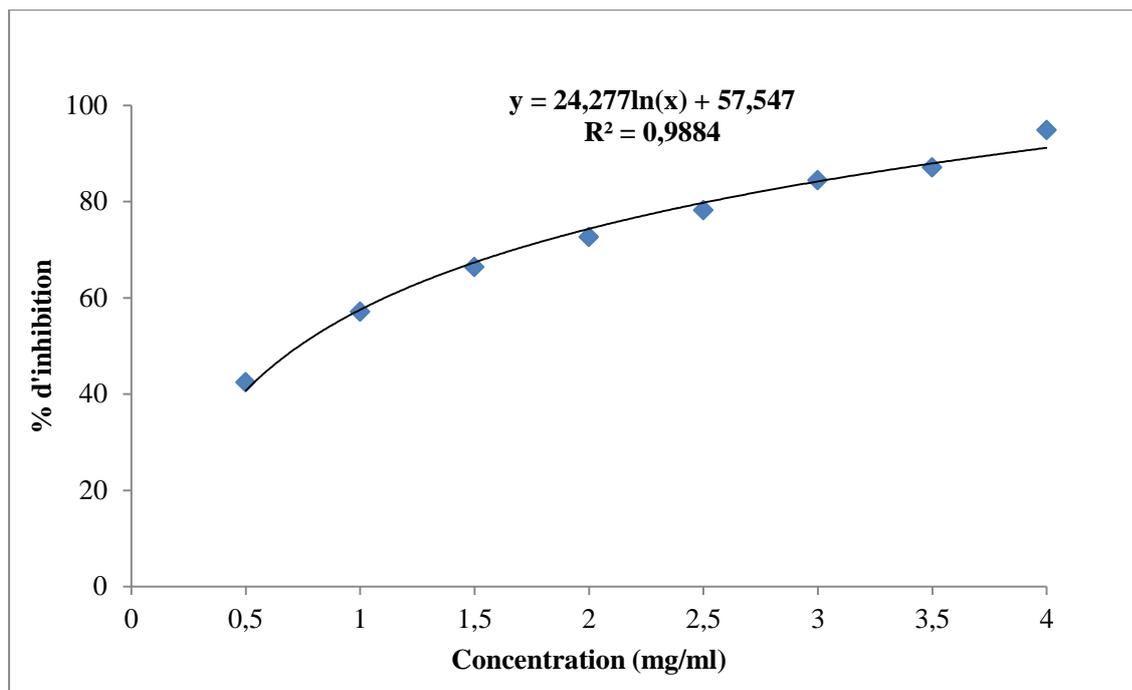


Figure 19: Courbe des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération (EBM).

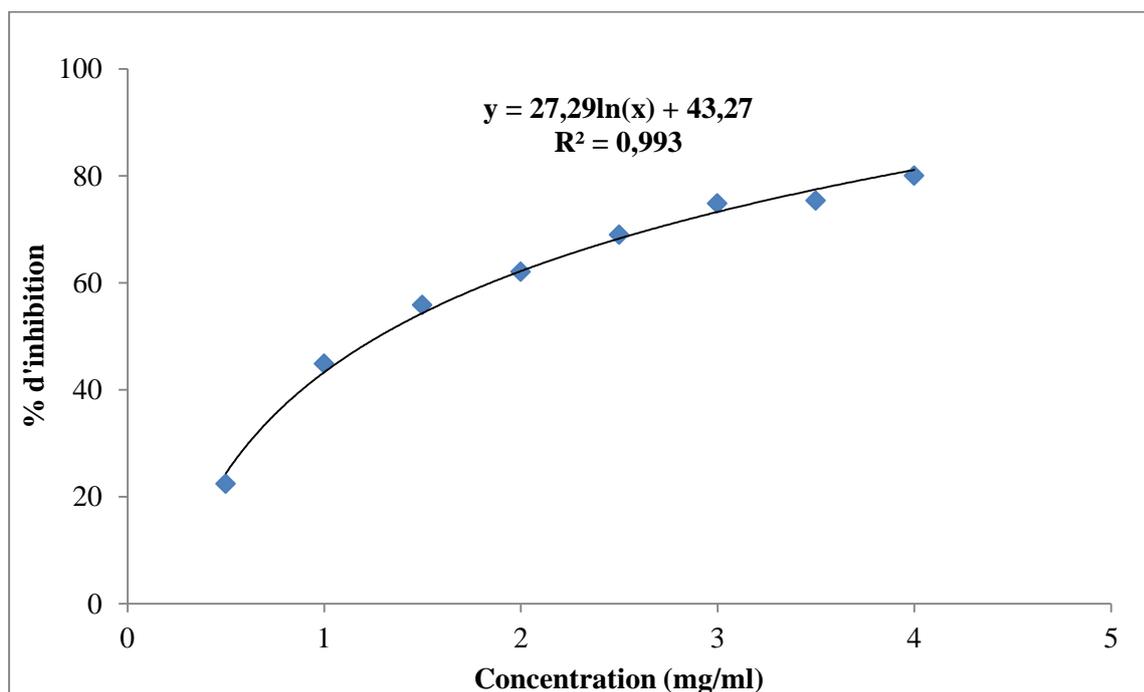
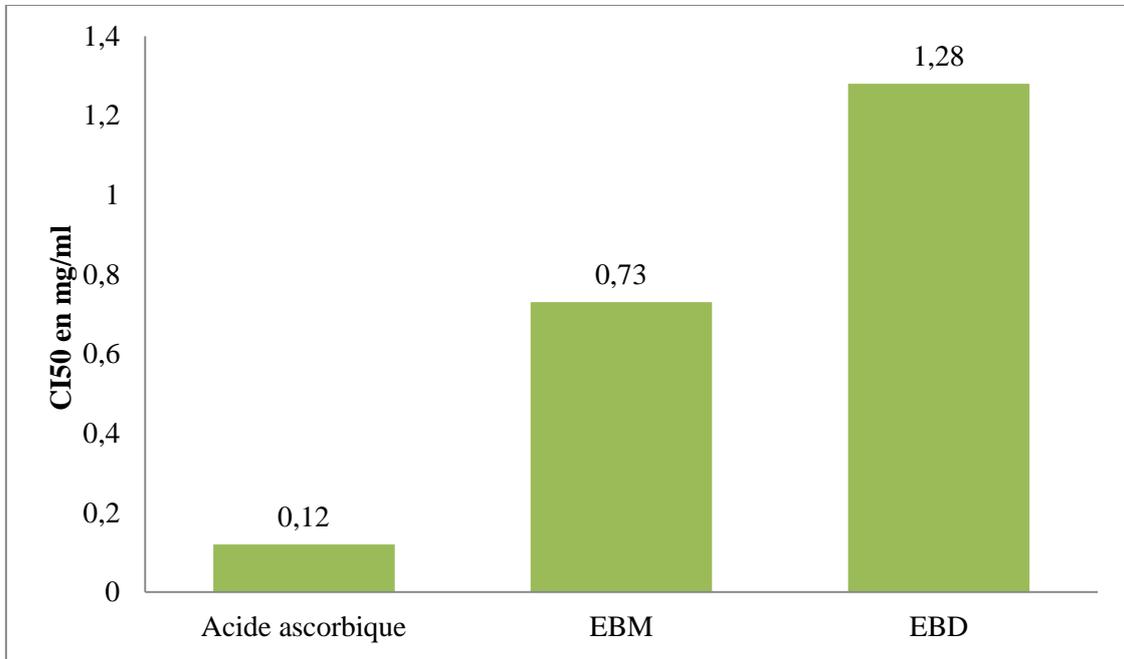


Figure 20: Courbe des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction (EBD).

➤ **Détermination de la concentration inhibitrice de 50% (CI50)**

Les valeurs de la CI50 des extraits EBM et EBD et de l'acide ascorbique ont été déterminées graphiquement à partir de l'équation de la courbe de régression logarithmiques des figures (18) et (19) et (20). Les résultats d'CI50 sont présentés dans la figure (21).



EBM : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ; EBD : Extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction

Figure 21 : valeurs d'CI50 pour EBM et EBD et l'acide ascorbique.

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que la capacité antioxydante la plus élevée qui correspond à la valeur d'CI50 la plus faible a été enregistrée en présence de l'extrait brut préparé par macération (EBM) avec une concentration d'CI50 égale à 0,73 mg/ml suivi par l'extrait brut préparé par décoction (EBD) avec concentration d'CI50 égale à 1,28 mg/ml.

Cette activité reste faible par rapport à celle obtenus par l'acide ascorbique qui a noté une CI50 de l'ordre de 0,12 mg/ml. La valeur d'CI50 d'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction est 10 fois plus élevée par rapport à celle du standard (l'acide ascorbique).

5.2. Pouvoir réducteur de fer (FRAP)

Les résultats obtenus du pouvoir réducteur de fer des différents extraits de la partie rhizome séché de *Zingiber officinale* et de l'acide ascorbique sont représentés dans les figures suivantes :

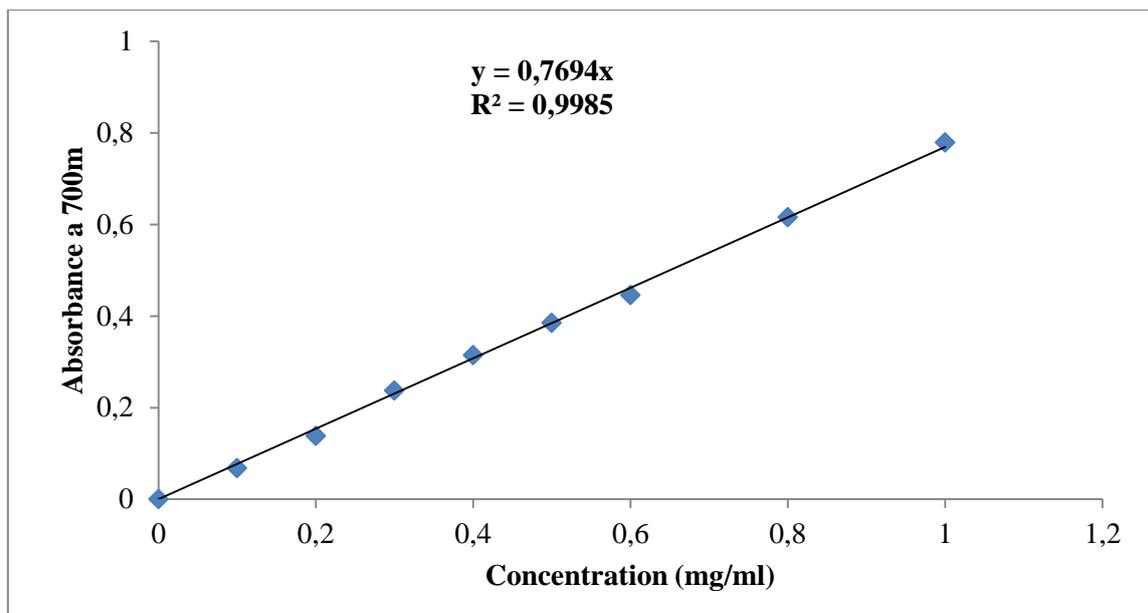


Figure22:Pouvoir réducteur du fer en présence de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération (EBM) de la partie rhizome séché de *Zingiber officinale*.

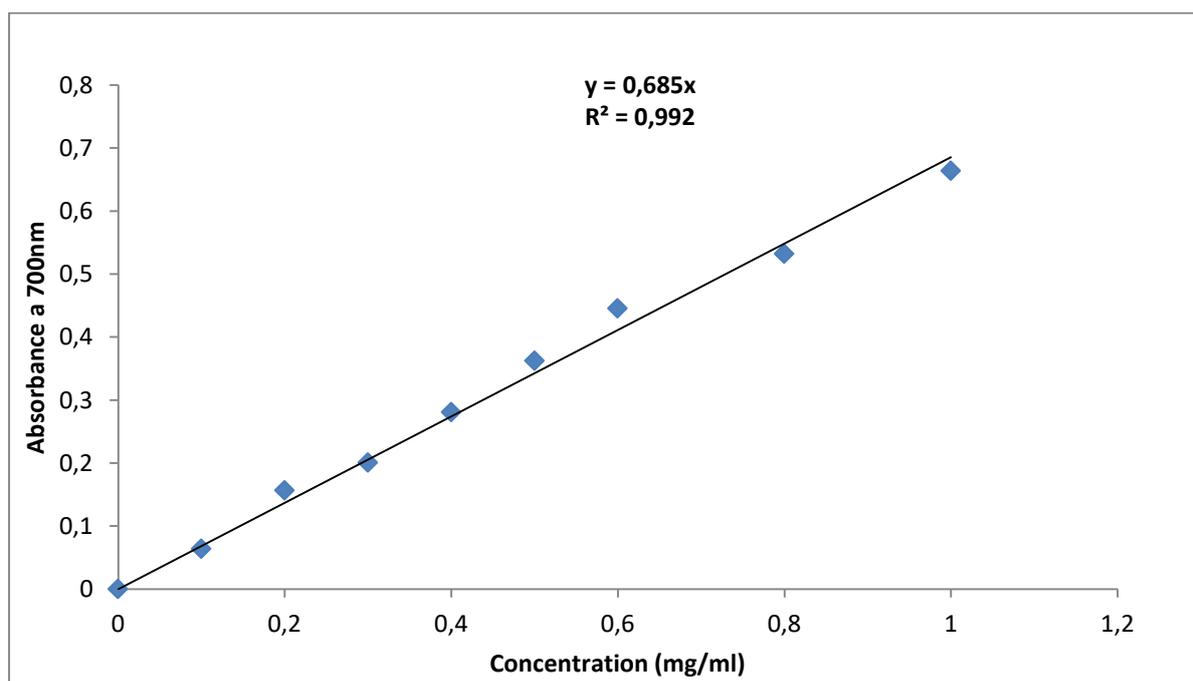


Figure23:Pouvoir réducteur du fer en présence de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction (EBD) de la partie rhizome séché de *Zingiber officinale*.

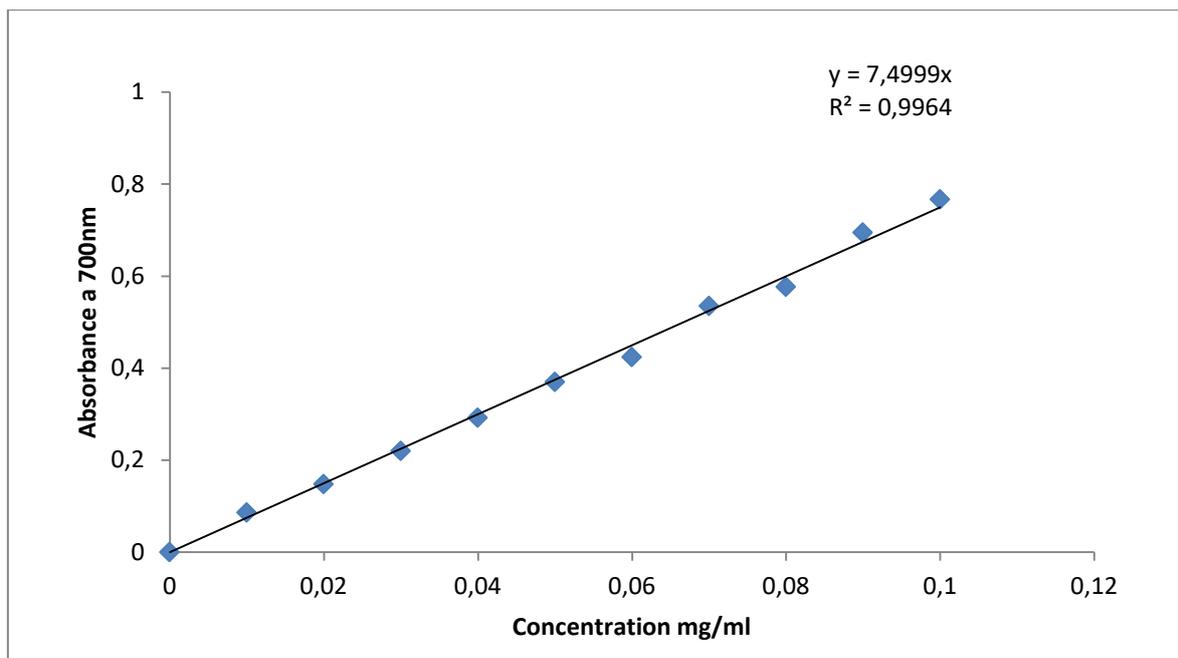


Figure 24 : Pouvoir réducteur du fer en présence acide ascorbique.

À partir des équations de la régression linéaire des courbes d'absorbances en fonction des différentes concentrations des extraits étudiés, nous avons déterminé les EC50 (concentration efficace de l'extrait qui donne une réponse demi-maximale) de chaque extrait de *Zingiber officinale* et de l'acide ascorbique.

Le tableau suivant regroupe les différents résultats d'EC50:

Tableau 08: Les valeurs EC50 des différents extraits de la partie rhizome séché de *Zingiber officinale*

Extrait	EC50 (mg/ml)
Acide ascorbique	0,066
EBM	0,65
EBD	0,73

EBM : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ; EBD : Extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction

Selon les résultats enregistrés, nous avons obtenu une meilleure activité antioxydante pour l'extrait brut préparé macération (EBM) avec une concentration d'EC50 égale à 0,65 mg/ml suivi par l'EBD avec concentration d'EC50 égale à 0,73 mg/ml. Mais cette activité reste faible par rapport à celle obtenus en présence de l'acide ascorbique (EC 50 de l'ordre de 0,066 mg/ml).

6. Séparation de l'extrait hydroacétonique par chromatographies

Dans le but de la séparation et de l'isolement des fractions de l'extrait hydroacétonique préparé par macération de la partie rhizome séché de *Zingiber officinale*, nous avons réalisé une chromatographie sur colonne, contenant le gel de silice, en phase stationnaire et le dichlorométhane, en phase mobile ; suivie d'une chromatographie sur couche mince (CCM), contenant la même nature des phases.

Les résultats obtenus, ont permis de récupérer deux fractions par chromatographie sur colonne de couleur jaune clair et jaune.

Ces fractions, et après une séparation sur couche mince et une révélation sous une lampe UV à 366nm, sont présentées en 3 à 4 fractions, de différents rapports frontaux (Rf) (**Figure 25, Tableau 09**).

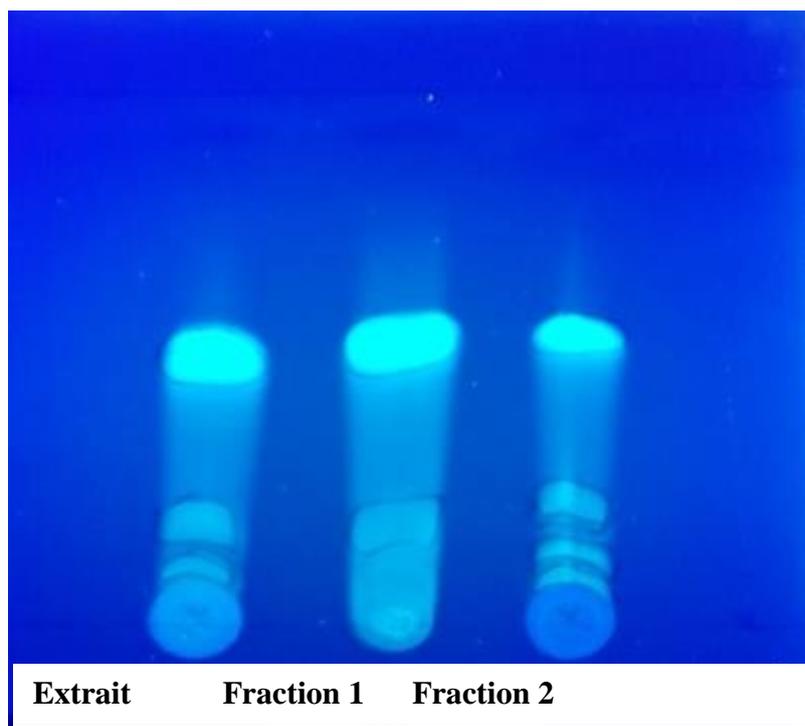


Figure 25 : Gromatogramme de la séparation des fractions obtenues de l'extrait hydroacétonique préparé par macération de la partie rhizome séché de *Zingiber officinale*, révélé sous lumière UV

Tableau 09 : Valeurs des rapports Frantaux (Rf) de chaque fraction obtenue del'extrait hydroacétonique préparé par macération de la partie rhizome séché de *Zingiber officinale*.

Extrait	Fraction 01	Fraction 02
Rf E1 =0,48	RfF1=0,5	Rf F2=0,5
RfE2=0,19	Rf F1=0,18	Rf F2=0,22
Rf E3=0,11		Rf F2=0,13
		Rf F2=0,09

Discussion

Le gingembre est une épice de cuisine qui appartient à la famille de Zingibéracées. Cette plante réputée annuelle est couramment utilisée comme aliment, aromatisant, et remède maison pour soulager le rhume et les maux de tête (**Nandkangre et al., 2015; Sharma, 2017; Kausar et al., 2021**).

De plus, en raison de sa composition remarquable en composants bioactifs tels que le 6 gingérol, la zingérone et le 6 shogaol, qui lui confèrent diverses propriétés pharmacologiques telles que les activités antioxydantes, antidiabétiques, anti-inflammatoires et anti-ulcéreuses, *Zingiber officinale* a fait l'objet d'études par de nombreux chercheurs pour sa grande application thérapeutiques et pharmacologiques (**Kumar et al., 2011;Gigon, 2012 ; Ali et al., 2018; Oueslati et al., 2018**).De ce fait, notre travail est basé sur l'étude phytochimique et la recherche de l'activité antioxydante des extraits bruts eau-méthanol préparés par décoction ou macération de la partie rhizome séché de *Zingiber officinale*. Il se base sur des tests phytochimiques, le dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux, la séparation des fractions par méthodes chromatographiques et l'évaluation de l'activité antioxydante par deux méthodes DPPH (piégeage de radical libre DPPH') et FRAP (pouvoir réducteur de fer).

Le calcul des rendements d'extractions nous a permis d'enregistrer des pourcentages de 10,63% pour l'extrait brut hydrométhanolique préparer par décoction (EBD), suivi par l'extrait brut hydrométhanolique préparer par macération (EBM) 8,87%.

Les recherches menées par **Marrelli et al.,(2015)** sur la peau et la pulpe de *Zingiber officinale* Roscoe ont révélé des rendements d'environ 2,3 % pour les extraits à base d'eau-éthanol.

Par ailleurs, **Andriyani et al.,(2015)** ont noté des rendements d'ordre de 7,59% ,4,75%pour les extraits bruts éthanolique après un processus de séchage de 24h et 48h , respectivement.

Cette variation est probablement due au choix du solvant, à la méthode et le temps d'extraction, à la température, à la région et à la période de récolte.

Les résultats de criblage phytochimique ont souligné la présence des alcaloïdes, des tannins, des quinones libres, des Terpénoïdes et des composés réducteurs dans les différentes préparations d'extraits bruts (EBM, EBD et EBA) de la partie séchée du Rhizome du gingembre, et l'absence des anthraquinones, des flavonoïdes, des saponines et des coumarines.

Par ailleurs, nous avons noté l'absence des Terpénoïdes seulement dans l'extrait brut préparé par macération (EBM).

Ces résultats, dont la majorité sont en accord avec ceux rapportés aux travaux suivants avec quelques différences qui peuvent être dû au type de solvant utilisé ou même à la méthode d'extraction :

Kaushik et Goyal (2011), ont indiqué la présence des Terpénoïdes, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des tanins et l'absence des saponines et des stéroïdes.

Osabor et al.,(2015), ont indiqué la présence des glycosides cardiaque, des alcaloïdes, des saponines, des flavonoïdes, des polyphénols, des sucres réducteurs et l'absence des tanins, des Phlobatannin, des anthraquinones et des antranoides.

Chiejina et Ukeh, (2012), ont indiqué la présence des tanins, des Phlobatannin, des stéroïdes, des Terpénoïdes, des saponines, des flavonoïdes, des alcaloïdes.

En plus des tests qualitatifs, nous avons également mesuré la quantité de polyphénols totaux et de flavonoïdes dans les différents extraits que nous avons préparés.

Les résultats ont montré que l'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction (EBD) a renfermé la teneur la plus élevée en polyphénols de l'ordre de $236,66 \pm 0,005 \mu\text{g EAG/mg ES}$, suivie par l'extrait brut préparé par macération (EBM) avec une teneur de l'ordre de $186,66 \pm 0,005 \mu\text{g EAG/mg ES}$.

Par ailleurs, les teneurs les plus élevées en flavonoïdes ont été enregistré pour l'extrait brut préparé par macération (EBM) avec une teneur de l'ordre de $43,33 \pm 0,012 \mu\text{g EC/mg ES}$, suivie par l'extrait préparé par décoction (EBD) avec une teneur de l'ordre de $31,66 \pm 0,015 \mu\text{g EC/mg ES}$.

Saiah et al., (2018) ont souligné des teneurs en polyphénols de l'ordre de $14,41 \pm 1,55 \text{ mg EAG / g}$ et des teneurs en flavonoïdes et de l'ordre de $4,66 \pm 0,24 \text{ mg QE/g}$, pour un extrait méthanolique.

Marrelli et al.,(2015) ont montré des teneurs en polyphénols totaux comprises entre $81,00 \pm 2,78 \text{ mg EAG/ g}$ et $178,50 \pm 7,55 \text{ mg EAG/ g}$ et des teneurs en flavonoïdes comprises entre $2,02 \pm 0,07 \text{ mg EC/g E}$ et $6,990 \pm 0,18 \text{ mg EC/g E}$ utilisant la plante sous différentes forme soit pulpe soit peau.

Ali et al., (2018) ont noté des teneurs en phénols totaux de l'ordre de $60,34 \pm 0,43 \text{ mg EAG/ g ES}$ pour l'extrait chloroforme-méthanol, $52,17 \pm 2,41 \text{ mg EAG/ g ES}$ pour l'éther de pétrole, et pour les mêmes extraits ils ont noté des teneurs en flavonoïdes totaux utilisant l'acide

Quercétine comme standard et qui ont été de l'ordre de $40,25 \pm 0,21$ mg EQ/ g ES pour l'extrait chloroforme-méthanol, $6,55 \pm 0,20$ mg EQ/ g ES pour éther de pétrole.

Les résultats indiquent que les rhizomes séchés de *Zingiber officinale* sont riches en composés phénoliques, avec des variations de teneurs en fonction du solvant utilisé et de la région de récolte.

Deux méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des extraits préparés de notre plante : l'activité antiradicalaire a été évaluée en utilisant la méthode de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrozyl), qui est représentée par CI50, et l'activité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode du pouvoir de réduction du Fer (FRAP), qui est représentée par EC 50.

Nous avons enregistré le meilleur pouvoir réducteur du fer pour l'extrait brut préparé par macération (EBM) avec une EC 50 d'ordre de 0,65 mg/ml suivi par l'extrait brut préparé par décoction (EBD) avec une EC 50 d'ordre de 0,73 mg/ml.

De plus, l'analyse du piégeage du radical DPPH a révélé que les extraits préparés à partir du rhizome séché de *Zingiber officinale* ont une activité antiradicalaire satisfaisante, notamment les extraits bruts EBM et EBD qui ont affiché des CI50 d'environ 0,73 et 1,28 mg/ml respectivement. Ce taux d'activité demeure faible par rapport à celui obtenu avec l'acide ascorbique, où nous avons enregistré une CI50 d'environ 0,12mg/ml.

Ces résultats sont en accord avec les résultats des travaux de **Yeh et al ., (2014)**, pour le test DPPH des deux extraits de *Zingiber officinale*, ont montré un effet anti radicalaire proche à nos résultats obtenus avec des valeurs des CI 50 d'ordre de 0,14 mg/ml pour l'extrait éthanolique et 0,65 mg/ml pour l'extrait aqueux.

Selon l'étude de **Ghafoor et al (2020)** l'extrait méthanolique de gingembre séché après 24h et 48 ont enregistré des CI 50 égale à 5,75 et 0,71g/ml, respectivement.

De même, **Sanwal et al., (2010)** et **Osae et al., (2019)** ont souligné un effet antioxydant par méthode de FRAP des extraits bruts méthanoliques des rhizomes de gingembre de la région d'Inde et de la chine avec des EC50 de l'ordre de 3,63 mg TE/g et 78,21 mg/TE/gdw, respectivement.

Conclusion et perspectives

Les herbes et les épices, qui font partie intégrante de l'alimentation humaine, sont utilisés depuis des milliers d'années pour rehausser la saveur, la couleur et l'arôme des aliments, ainsi pour ses valeurs médicinales.

Dans ce travail, nous avons mené une étude photochimique et une évaluation de l'activité antioxydante des extraits préparés de la partie rhizomes séchés de *Zingiber officinale*, dans le but de mieux comprendre ses propriétés et d'envisager son utilisation valorisante.

Les résultats obtenus ont conduit aux conclusions suivantes :

- Les extraits bruts préparés par macération et décoction ont enregistré les meilleurs rendements d'ordre de 10, 63%, 8,87%, respectivement.
- Les tests phytochimiques ont permis de mettre en évidence la présence des alcaloïdes, de tanins, de quinones, de terpènes, et de composés réducteurs, et l'absence des anthraquinones, de flavonoïdes, de saponines, et de coumarine ;
- Le dosage des composés phénoliques a montré la richesse des extraits préparés en polyphénols totaux
- L'évaluation quantitative des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu, a montré que l'extrait brut préparé par décoction est le plus riche, avec des teneurs de l'ordre de $236,66 \pm 0,005 \mu\text{gEAG}/\text{mg ES}$;
- L'évaluation quantitative des flavonoïdes, par la méthode de chlorure d'aluminium (AlCl_3), a montré que l'extrait brut préparé par macération renferme la teneur la plus élevée de l'ordre de $43,33 \pm 0,012 \mu\text{g EC}/\text{mg ES}$.
- L'extrait brut préparé par macération a présenté le meilleur pouvoir antioxydant avec des valeurs de CI 50 de l'ordre de 0,73 mg/ml pour le test DPPH (piégeage du radical du DPPH) et d'EC 50 0,65mg/ml pour le test FRAP (pouvoir réducteur du Fer). Cette activité reste faible par rapport à celle de standard utilisé (acide ascorbique).

Cette étude reste préliminaire et mérite d'être approfondie par d'autres recherches complémentaires qui s'intéressent à :

- Améliorer le rendement par le changement des solvants et les méthodes d'extraction.
- Evaluer l'activité antioxydante par différentes méthodes : ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2, 2'-azinobis-3 ethylbenzothiazoline-6-sulfonique), CUPRAC (Cupric reducing antioxidant capacity) Bêta-carotène.

- Evaluer d'autres activités biologiques (antidiabétique, antimicrobienne, anti inflammatoire...).
- Etudier la plante sous différentes formes, que ce soit sous forme de pulpe ou de peau.
- Etude de l'utilisation de cette plante dans les régimes alimentaires pour réduire l'obésité.
- Etude de l'implication de cette plante dans les produits cosmétiques.

Références bibliographiques

A

Abolaji, A. O., Ojo, M., Afolabi, T. T., Arowoogun, M. D., Nwawolor, D., & Farombi, E. O. (2017). Protective properties of 6-gingerol-rich fraction from *Zingiber officinale* (Ginger) on chlorpyrifos-induced oxidative damage and inflammation in the brain, ovary and uterus of rats. *Chemico-Biological Interactions*, 270, 15-23. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.03.017>.

Agrahari,,Prabhudutta., Navne & ,. Verma.,Wajahat., Khan,Darbari. (2015). A brief study on zingiber officinale. *Journal of Drug Discovery and Therapeutics*, 3, 20-27.

Aleem, M., Khan, M. I., Shakshaz, F. A., Akbari, N., & Anwar, D. (2020). Botany, phytochemistry and antimicrobial activity of ginger (*Zingiber officinale*) : A review. *International Journal of Herbal Medicine*, 8(6), 36-49. <https://doi.org/10.22271/flora.2020.v8.i6a.705>.

Ali, A.M.A., El-Nour, M.E.M., & Yagi, S.M. (2018). Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) rhizome, callus and callus treated with some elicitors. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 16, 677–682. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.03.003>.

Ali, B. H., Blunden, G., Tanira, M. O., & amp; Nemmar, A. (2008). Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a review of recent research. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 409–420.

Allais, D. (2009).Phytothérapie: Le gingembre. *Actualités Pharmaceutiques* 53–54.

Amir, M., Khan, A., Mujeeb, M., Ahmad, A., Usmani, S.,&Akhtar, M. (2011).Phytochemical Analysis and in vitro Antioxidant Activity of *Zingiber officinale*. *Free Radicals and Antioxidants*, 1(4), 75-81. <https://doi.org/10.5530/ax.2011.4.12>.

Andriyani, R., Budiati, T.A., & Pudjiraharti, S. (2015).Effect of Extraction Method on Total Flavonoid, Total Phenolic Content, Antioxidant and Anti-bacterial Activity of *Zingiberis Officinale* Rhizome. *Procedia Chemistry* 16, 149–154. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2015.12.023>.

Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M.,& amp; Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using theircupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: cuprac method. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 52 (26): 7970–7981.

Azzi, A., & amp; Stocker, A. (2000).Vitamin E: non-antioxidant roles. *Progress in lipid Research*, 39(3), 231-255.

B

Boukri N El H. (2014). Contribution à l'étude phytochimique des extraitsbruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. ». Thèse de doctorat, Université KASDI MERBAH Ouargla.

Braga M.E.M., Moreschi S.R.M., Meireles M.A.A. (2006). Effects of Supercritical Fluid Extraction on Curcuma longa L. and Zingiber officinale R. Starches, Carbohydrate Polymers, 63: 340-346 p.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie: Phytochimie, plantes médicinales (3e éd.). Paris: Technique & Documentation.

Butin A. (2017). Le gingembre : de son utilisation ancestrale à un avenir prometteur, thèse doctorat, université de Lorraine, France. P 11.

C

Carr, A. C., & Maggini, S. (2017). Vitamin C and immune function. Nutrients, 9(11), 1211.

Chakotiya, A. S., Tanwar, A., Narula, A., & Sharma, R. K. (2017). Zingiber officinale: Its antibacterial activity on Pseudomonas aeruginosa and mode of action evaluated by flow cytometry. Microbial Pathogenesis, 107, 254–260.

Chiejina, N.V., & Ukeh, J.A. (2012). Antimicrobial properties and phytochemical analysis of methanolic extracts of Aframomum melegueta and Zingiber officinale on fungal diseases of tomato fruit. Journal of Natural Sciences Research 2, 10–15.

Cohen J H, Kristal A R & Stanford J L (2000). Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. Journal of the National Cancer Institute, 92, 61-68.

D

Deme, K., Konate, M., Mahamadi Ouedraogo, H., Sanou, J., & Sawadogo, M. (2021). Importance, Genetic Diversity and Prospects for Varietal Improvement of Ginger (Zingiber officinale Roscoe) in Burkina Faso. World Journal of Agricultural Research 9, 92–99. <https://doi.org/10.12691/wjar-9-3-3>.

E

Ekor, M. (2014). The growing use of herbal medicines: Issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. Frontiers in pharmacology, 4, 177.

F

Faivre Cl., Lejeune L., Staub H., Goetz P. 2006. Zingiber officinale Roscoe. Phytothérapie, 2 : 99-102.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, 11-12, 108-115.

Fontaine E. (2007). Radicaux libres; in: «Traité de nutrition artificielle de l'adulte». © Springer- Verlag France, Paris 2007.

Frei, B., & Stocker, R. (1990).Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma.Dans C. Vigo-Pelfrey (Ed.), Membrane lipidoxidation (Vol. 2, pp. 251-272). CRC Press.

G

Ghafoor, K., Al Juhaimi, F., Özcan, M.M., Uslu, N., Babiker, E.E., & Mohamed Ahmed, I.A. (2020).Total phenolics, total carotenoids, individual phenolics and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) rhizome as affected by drying methods.LWT - Food Science and Technology126, 109354.<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109354>.

Ghasemzadeh A., Jaafer H.Z.E. & Rahmat A., 2015, Optimization protocol for the extraction of 6- gingerol and 6-shogaol from *Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade and improving antioxidant and anticancer activity using response surface. BMC Complementary and Alternative Medicine, 15:1-10.

Gigon, F. (2012). Le gingembre, une épice contre la nausée. Phytothérapie 10.

Guillouty A. 2016. Plantes médicinales et antioxydants.Thèse de Doctorat, Université Toulouse III-Paul Sabatier).101 p.

H

Haji SeidJavadi, E., Salehi, F., & Mashrabi, O. (2013). Comparing the Effectiveness of Vitamin B6 and Ginger in Treatment of Pregnancy-Induced Nausea and Vomiting.Obstetrics and Gynecology International, 2013, 1-4. <https://doi.org/10.1155/2013/927834>.

Hammoudi, R. (2015). Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien. Thèse de doctorat en biologie. Univrsité, KasdiMerbah- Ouargla.

Haniadka, R., Saldanha, E., Sunita, V., Palatty, P. L., Fayad, R., & Baliga, M. S. (2013). A review of the gastroprotective effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). Food & Function, 4(6), 845.<https://doi.org/10.1039/c3fo30337c>.

Harborne, J.B. (1998). Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis (3rd ed.). London: Chapman and Hall.

Hasan,S., Danishuddin, M.,& amp; Khan, A. U. (2015). Inhibitory effect of zingiberofficinale towards Streptococcus mutans virulence and caries development: in vitro and in vivo studies. BMC Microbiology, 15(1), 1–14.

K

Kashefi, F., Khajehei, M., Alavinia, M., Golmakani, E., & Asili, J.(2014). Effect of Ginger (*Zingiber officinale*) on Heavy Menstrual Bleeding: A Placebo-Controlled, Randomized Clinical Trial. PhytotherapyResearch, 29(1), 114-119. <https://doi.org/10.1002/ptr.5235>.

Kausar, T., Anwar, S., Hanan, E., Yaseen, M., Aboelnaga, S.M.H., & Azad, Z.R.A.A. (2021).Therapeutic Role of Ginger (*Zingiber officinale*) - A Review. Journal of Pharmaceutical Research International 9–16. <https://doi.org/10.9734/jpri/2021/v33i29B31584>.

Kaushik, P., & Goyal, P. (2011). Evaluation of Various Crude Extracts of *Zingiber officinale* Rhizome for Potential Antibacterial Activity: A Study *in vitro*; *Advances in Microbiology* 01, 7–12. <https://doi.org/10.4236/aim.2011.11002>.

Kawamoto, Y., Ueno, Y., Nakahashi, E., Obayashi, M., Sugihara, K., Qiao, S., Iida, M., Kumasaka, M. Y., Yajima, I., Goto, Y., Ohgami, N., Kato, M., & Takeda, K. (2015). Prevention of allergic rhinitis by ginger and the molecular basis of immunosuppression by 6-gingerol through T cell inactivation. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 27, 112-122. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.08.025>.

Kumar Gupta, S., & Sharma, A. (2014). Medicinal properties of Zingiber.

Kumar, G., Karthik, L., & Rao, K.B. (2011b) . A review on pharmacological and phytochemical properties of *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae). *Journal of Pharmacy Research* 4, 2963–2966.

L

Lai, Y. S., Lee, W. C., Lin, Y. E., Ho, C. T., Lu, K. H., Lin, S. H., Panyod, S., Chu, Y. L., & Sheen, L. Y. (2016). Ginger Essential Oil Ameliorates Hepatic Injury and Lipid Accumulation in High Fat Diet- Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(10), 2062-2071. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b06159>.

Lee, H. Y., Park, S. H., Lee, M., Kim, H., Ryu, S. Y., Kim, N. D., Hwang, B. Y., Hong, J. T., Han, S., & Kim, Y. (2012). 1-Dehydro-[10]-gingerdione from ginger inhibits IKK β activity for NF- κ B activation and suppresses NF- κ B-regulated expression of inflammatory genes. *British Journal of Pharmacology*, 167(1), 128–140.

M

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.

Manandhar NP (1995). «Substitute spice in Nepal. *Journal of Herbs. Spices and Medicinal Plants* » P 7-77.

Marrelli, M., Menichini, F., & Conforti, F. (2015). A comparative study of *Zingiber officinale* Roscoe pulp and peel: phytochemical composition and evaluation of antitumour activity. *Natural Product Research* 29, 2045-2049. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1020491>.

Martínez-Cayuela, M. (1995) Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*. 77: 147-161.

Marwat, S. K., Shoaib, M., Khan, E. A., Rehman, F., & Ullah, H. (2015). Phytochemistry and bioactivities of Quranic plant, zanjabil-ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a review. *Am Eurasian J Agric Environ Sci*, 15(5), 707-713.

Mata A.T., Proenc C., Ferreira A R., Serralheiro M.L.M., Nogueira J.M.F & Araujo M.E.M. (2007).Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices.Food Chem. Vol 103: 778-786.

Maurent.K, Synthèse de composés phénoliques de type diarylheptanoïde, évaluation de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Thèse de Doctorat Chimie organique, Université Paul Sabatier de Toulouse, 2017.

Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leitão, G. G., Reis, A. S., Santos, T. C. D., Coube, C.S., & Leitão, S. G. (2001). Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. Phytotherapy research, 15(2), 127-130.

Michel T. 2011.-Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*).Thèse doctorat Université Orléans.

Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A.M. & Zujko, M.E. (2018). Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. Advances in Medical Sciences, 63(1), 68-78.

Moon, Y.-S., Lee, H.-S., & Lee, S.-E. (2018). Inhibitory effects of three monoterpenes from ginger essential oil on growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* and their gene regulation in aflatoxin biosynthesis. Applied Biological Chemistry, 61(2), 243–250.

N

Nandkangre, H., Ouedraogo, M., & Sawadogo, M. (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, 861. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i2.25>.

Nerilo, S. B., Rocha, G. H. O., Tomoike, C., Mossini, S. A. G., Grespan, R., Mikcha, J. M. G., & Machinski Jr, M. (2016).Antifungal properties and inhibitory effects upon aflatoxin production by *Zingiber officinale* essential oil in *Aspergillus flavus*.International Journal of Food Science & Technology, 51(2), 286–292.

Nimse, S.B. & Pal, D. (2015).Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. RSC Advances, 5(35), 27986-28006.

O

Osabor, V., Basse, F., & Umoh, U. (2015).Phytochemical Screening and Quantitative Evaluation of Nutritional Values of *Zingiber officinale* (Ginger).American Chemical Science Journal 8, 16.<https://doi.org/10.9734/ACSJ/2015/16915>.

Osa, R., Zhou, C., Tchabo, W., Xu, B., Bonah, E., Alenyorege, E.A., & Ma, H. (2019). Optimization of osmosonication pretreatment of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) using response surface methodology: Effect on antioxidant activity, enzyme inactivation, phenolic compounds, and physical properties. Journal Food Process Engineering 42.<https://doi.org/10.1111/jfpe.13218>.

Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 49: 4619 – 4626

Oueslati, S., Gharsalli, W., Abdelkarim, M., Aissa-Fennira, F., & Ksouri, R. (2018). Biochemical evaluation and exploration of the antioxidant, antibacterial and anticancer potential of *Zingiber officinale*. *Journal of New Sciences* 54, 3561–3568.

P

Packer L & Weber S U (2001). The role of vitamin E in the emerging field of nutraceuticals. In: Kramer K, Hoppe P P and Packer L. *Nutraceuticals in health and disease prevention*. New York (Marcel Dekker), pp: 27-43.

Pagano, E., Souto, E. B., Durazzo, A., Sharifi-Rad, J., Lucarini, M., Souto, S. B., Salehi, B., Zam, W., Montanaro, V., & Lucariello, G. (2021). Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) as a nutraceutical: Focus on the metabolic, analgesic, and antiinflammatory effects. *Phytotherapy Research*, 35(5), 2403–2417.

Parejo, I., et al., Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Lifesciences*, 2003. **73**(13):p.1667-1681.

Persson, T., Popescu, B. O. & Cedazo-Minguez, A. (2014). Oxidative stress in Alzheimer's disease: Why did antioxidant therapy fail?. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014.

Pinson C. Curcuma et gingembre – un concentré de bienfaits pour votre santé et votre beauté. Eyrolles Ed. 2012. pp 18-20.

Popovici, C., I. Saykova, & B. Tylkowski, Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. 2010.

Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290–4302.

R

Ramakrishnan, R. 2013. Anticancer properties of *zingiber officinale*—ginger. *Pharmaceutical Sciences (IJMPS)*, 3:11-20.

Ross, Ivan A. (2005). *Medicinal Plants of the World. Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses*. 1ere Edition. Totowa, New Jersey: Humana Press, 3: 648. (ISBN: 1-59259-887-0). 87–91. <https://doi.org/10.1007/s10298-012-0695-4>.

Roufogalis, Zingiber officinale BD : perspectives futures sur son potentiel dans la prévention et le traitement du diabète et des états prédiabétiques. *Nouveau J. Sci.* (2014), 10.1155/2014/674684.

S

- Saiah, W., Halzoune, H., Djaziri, R., Tabani, K., Koceir, E.A., & Omari, N. (2018).**Antioxidant and gastroprotective actions of butanol fraction of *Zingiber officinale* against diclofenac sodium-induced gastric damage in rats.*Journal of Food Biochemistry* 42, e12456.<https://doi.org/10.1111/jfbc.12456>.
- Sanwal, S.K., Rai, N., Singh, J., & Buragohain, J. (2010).** Antioxidant phytochemicals and gingerol content in diploid and tetraploid clones of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Scientia Horticulturae* 124, 280–285. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.01.003>.
- Semwal R.B., Semwal D.K., Combrinck S. & Viljoen A.M., 2015,**Gingerols and shogaols:Important nutraceutical principles from ginger. *phytochemistry*, 117, 554–568 p.
- Shahrajabian, M. H., Sun, W., & Cheng, Q. (2019).**Clinical aspects and health benefits of ginger (*Zingiber officinale*) in both traditional Chinese medicine and modern industry.*ActaAgriculturaeScandinavica, Section B — Soil& Plant Science*, 69(6), 546-556. <https://doi.org/10.1080/09064710.2019.1606930>.
- Sharma, Y. (2017).** Ginger (*Zingiberofficinale*)-an elixir of life a review.*The Pharma Innovation Journal* 6, 22.
- Song, W., Song, C., Shan, Y., Lu, W., Zhang, J., Hu, P., Wu, X., Li, L., & Guo, S. (2016).** The antioxidative effects of three lactobacilli on high-fat diet induced obese mice. *RSC Advances*, 6(70), 65808–65815.
- Sorg, O.(2004)** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendusaaa Biologies*. 327: 649-662.
- Srinivasan, K., Adhya, P., & Sharma, S. S. (2019).**Nutraceutical potential of ginger. *Nutraceuticals in Veterinary Medicine*, 51–70.
- Srinivasan.K. 2017.** Ginger rhizomes (*Zingiber officinale*): A spicewith multiple health beneficial potentials. *Pharma Nutrition*, 5:18-28.
- Swarupananda Mukjerjee , Dipanjan Karati (2022)** A mechanistic view on phytochemistry, pharmacognostic properties, and pharmacological activities of phytocompounds present in *Zingiberofficinale*: A comprehensive review. DOI: [org/10.1016/j.prmcm.2022.100173](https://doi.org/10.1016/j.prmcm.2022.100173).
- Syafitri, D. M., Levita, J., Mutakin, M., &Diantini, A. (2018).** A Review : Is Ginger (*Zingiberofficinale* var. Roscoe) Potential for Future Phytomedicine ? *Indonesian Journal of Applied Sciences*, 8(1).<https://doi.org/10.24198/jjas.v8i1.16466>.

T

- Tauheed, A., Ali, A., & Zaigham, M. (2017).**Zanjabeel (*Zingiber officinale* rosc.): a household rhizome with immense therapeutic potential and its utilization in unani medicine. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8, 13.

Thomson, M., Al-Qattan, K., Al-Sawan, S., Alnaqeb, M., Khan, I., & Ali, M. (2002). The use of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) as a potential anti-inflammatory and antithrombotic agent. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 67(6), 475-478. <https://doi.org/10.1054/plef.2002.0441>.

Tozetto, I. M., nascimento, R F. D., Oliveira, m. H. D., Van Beik, j., & Canteri, M. H. G. (2019). Production and physicochemical characterization of craft beer with ginger (*Zingiber officinale*). *Food Science and Technology*, 39(4), 962-970. <https://doi.org/10.1590/fst.16518>.

V

Vermerius, W.A. & Nicholson, G.B. (2006). Phenomenological transport models in concrete. Springer.

W

Wang, X., Shen, Y., Thakur, K., Han, J., Zhang, J.-G., Hu, F., & Wei, Z.-J. (2020). Antibacterial activity and mechanism of ginger essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 25(17), 3955.

Y

Yeh, H., Chuang, C., Chen, H., Wan, C., Chen, T., & Lin, L. (2014). Bioactive components analysis of two various gingers (*Zingiber officinale* Roscoe) and antioxidant effect of ginger extracts. *LWT - Food Science and Technology* 55, 329–334. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.08.003>.

Z

Zelko, I. N., Mariani, T. J., & Folz, R. J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(3), 337-349.