

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université ABOU BEKR BELKAID –TLEMCCEN–

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 biologiques

Spécialité : Biochimie

Thème :

**Etude phytochimique et évaluation de l'activité
antioxydante des extraits et de l'huile préparés à partir des
graines d'*Elettaria cardamomum*.**

Présenté par :

SIB Radja

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

Président	BELKACEM Nacéra	MCA	Univ. Tlemcen
Examineur	BELAID-MEDJDOUB Houria	MCA	Univ. Tlemcen
Encadrant	AZZI Rachid	Pr	Univ. Tlemcen
Co-Encadrant	ABBOU Fayza	MAB	Univ. Tlemcen

Année Universitaire : 2023/2024

REMERCIEMENT

J'exprime tout d'abord mes profonds remerciements, à **Mr. AZZI Rachid**, Professeur 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 Belkaid - Tlemcen, pour avoir accepté de m'encadrer et diriger ce modeste travail, pour sa gentillesse, sa bienveillance, son soutien constant, sa disponibilité permanente et ses conseils précieux. Ce fut un véritable plaisir de travailler sous sa direction.

J'exprime également mes remerciement à **Mme BELKACEM Nacéra**, Maître de Conférence Classe A, département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaid -Tlemcen, Pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider le jury de mon mémoire.

J'adresse mes sincères remerciements à **Mme BELAID-MEDJDOUB Houria**, 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 Bekr Belkaid de Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes sincères remerciements vont également à **Mme 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 Bekr Belkaid de Tlemcen, pour son soutien et son aide précieuse pour la réalisation de la pratique de ce travail.

Dédicace

A tous les êtres chers à mon cœur,

Je dédie ce travail, avec amour.

Témoignage de ma gratitude éternelle pour votre affection inconditionnelle.

A ma grand-mère, ma mère, ma sœur et mon frère.

A Mimidou, Nissa, Assala, Fay et Omayya.

A mes collègues Loubna, Ikhlas, Sabiha, Fatima.

En hommage à mon cher grand-père adoré, modèle de sagesse et de bonté infini.

الملخص

الهيل, *Elettaria cardamomum*, بهار من عائلة الزنجبيلية, معروف بخصائصه العطرية والطبية, تحتوي بدوره على مركبات عضوية تمنحه رائحة مميزة و فوائد دوائية, بما في ذلك التأثيرات المضادة للأكسدة و المضادة للالتهاب.

يهدف هذا العمل إلى دراسة الخصائص الكيميائية النباتية, معايرة للمركبات الفينولية و تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر باستخدام اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH و إرجاع الحديد FRAP لمستخلصات الماء الخام- الميثانولي التي تم تحضيرها بواسطة الغلي و النقع, و التحليل الكيميائي للزيت المستخرج من بدور الهيل بواسطة جهاز Soxhlet .

كشفت نتائج الفحص الكيميائي عن وجود الفلويونات, العفص, الكينونات الحرة, و التيربويدات, و المركبات المرجعة.

و لقد اظهرت نتائج التحليل الكمي للمركبات الفينولية وجود الفلافونويدات و البوليفينولات بكميات متفاوتة, حيث سجل أعلى تركيز البوليفينولات للمستخلص المحضر بالنقع بنسبة 140 ± 0.005 ميكرو غرام مكافئ حمض الغاليك لكل ميكرو غرام المادة الجافة, وأعلى نسبة بالنسبة الفلافونويدات المستخلص المحضر بالغلي بنسبة 7 ± 0.00115 ميكرو غرام مكافئ حمض الغاليك لكل ميكرو غرام المادة الجافة.

كما أظهرت دراسة النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبارات DPPH و FRAP أن المستخلص المحضر بالنقع سجل قيمة CI50 تبلغ 0.15 ملغ/مل. هذه القيمة قريبة جدا من قيمة حمض الاسكوربيك (0.12 ملغ/مل). أما بالنسبة لاختبار FRAP, كشف كلا المستخلصين عن قيمة EC50 متقاربة, تتراوح ما بين 2.17 ملغ/مل لمستخلص الغلي 2.79 ملغ/مل لمستخلص النقع. هذه القيم تظل ضعيفة بالنسبة لنتائج حمض الاسكوربيك (0.06 ملغ/مل).

اما بالنسبة للزيت المستخلص من بدور الهيل فقد بلغت نسبه البوليفينولات الكلية فيه 100 ± 0.005 ميكروجرام مكافئ حمض الغاليك لكل ميليغرام المادة الجافة. كما كانت نتائج التحليل الكيميائي للزيت مطابقة لمعايير كوداس الغذائي .

الكلمات المفتاحية : الهيل, الفحص الكيميائي, المركبات الفينولية, النشاط المضاد للأكسدة, DPPH, FRAP.

Résumé

La cardamome, *Elettaria cardamomum*, une épice de la famille des Zingibéracées, est connue pour ses propriétés aromatiques et médicinales. Ses graines renferment des composés qui lui confèrent un arôme distinctif et des bienfaits pharmacologiques, incluant des effets antioxydants et anti-inflammatoires.

Ce travail s'intéresse à l'étude des propriétés phytochimiques, le dosage des composés phénoliques (Polyphénols 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, et l'analyse chimique de l'huile extraite, à partir des graines d'*E. cardamomum*.

Les résultats de criblage phytochimique des extraits bruts hydrométhanoliques 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 dans les deux extraits étudiés, avec des quantités variables d'un extrait à l'autre. La teneur la plus élevée en polyphénols a été enregistrée pour l'extrait brut préparé par macération de l'ordre de $140 \pm 0,005 \mu\text{g}$ EAG/mg ES. Tandis que, la teneur la plus élevée en flavonoïdes, a été révélée pour l'extrait brut préparé par décoction de l'ordre de $7 \pm 0,00115 \mu\text{g}$ EC/mg ES.

Les études de l'activité antioxydante réalisées à l'aide des tests DPPH et FRAP, ont montré que l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération, a révélé une CI50 de (0,15 mg/ml). Cette valeur est proche de celle obtenue pour le standard, l'acide ascorbique (0,12 mg/ml). Pour le test FRAP, les deux extraits hydrométhanoliques ont montré des valeurs d'EC50 très similaires, variant entre (2,17mg/ml) pour l'extrait (EBD), et (2,79 mg/ml) pour l'extrait (EBM), Ces résultats restent faibles par rapport au standard utilisé, l'acide ascorbique (0,06 mg/ml).

Quant à l'huile extraite à partir des graines d'*E. Cardamomum* par Soxhlet, sa teneur en polyphénols totaux était de l'ordre de $100 \pm 0,005 \mu\text{g}$ EAG/mg ES. Ainsi que les résultats de l'analyse chimique ont été conformes aux normes du Codex Alimentarius.

Mots clés : *Elettaria cardamomum*, criblage phytochimique, composés phénoliques, Activité antioxydante, DPPH, FRAP.

Abstract

Cardamom, *Elettaria cardamomum*, is a spice belonging to the Zingiberaceae family, known for its aromatic and medicinal properties. Its seeds contain compounds that give it a distinctive aroma and pharmacological benefits, including antioxidant and anti-inflammatory effects.

This study focuses on investigating the phytochemical properties, quantifying phenolic compounds (total polyphenols and flavonoids), and evaluating in vitro antioxidant activity using the DPPH free radical scavenging assay and the FRAP iron reducing power assay, of hydromethanolic crude extracts prepared by decoction and maceration, alongside chemical analysis of the extracted oil from *E. Cardamomum* seeds.

Phytochemical screening of the hydromethanolic crude extracts prepared by decoction or maceration revealed the presence of alkaloids, tannins, free quinones, terpenoids, and reducing compounds.

Phenolic compound quantification demonstrated the presence of flavonoids and polyphenols in both extracts studied, with varying quantities between extracts. The highest polyphenol content was recorded for the maceration-prepared crude extract, approximately $140 \pm 0.005 \mu\text{g EAG/mg ES}$, while the highest flavonoid content was found in the decoction-prepared crude extract, around $7 \pm 0.00115 \mu\text{g EC/mg ES}$.

Antioxidant activity studies using the DPPH and FRAP assays showed that the hydromethanolic crude extract prepared by maceration exhibited an IC₅₀ value of 0.15mg/ml, This value is close to that obtained for the standard, ascorbic acid (0.12mg/ml). For the FRAP assay, both hydromethanolic extracts showed very similar EC₅₀ values, ranging from 2.17mg/ml for the decoction-prepared extract (EBD) to 2.79mg/ml for the maceration-prepared extract (EBM), which were lower compared to the standard, ascorbic acid (0.06mg/ml).

As for the oil extracted from *E. Cardamomum* seeds by Soxhlet, its total polyphenol content was approximately $100 \pm 0.005 \mu\text{g EAG/mg ES}$, Also the results of the chemical analysis were compliant with Codex Alimentarius standards.

Keywords: *Elettaria cardamomum*, phytochemical screening, phenolic compounds, antioxidant activity, DPPH, FRAP

Tables des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

<i>Introduction</i>	1
<i>Chapitre I : La plante étudiée :Elettaria cardamomum</i>	4
I Historique.....	5
II Noms vernaculaires	5
III Classification.....	6
IV Description botanique	6
V Composition chimique	8
VI Utilisation traditionnelle	9
VI.1 Phytothérapie	9
VI.2 Culinaire	9
VII Activités biologiques de la cardamome.....	9
VII.1 Activité anti-inflammatoire	9
VII.2 Activité antidiabétique.....	10
VII.3 Activité anticancéreuse :	10
VII.4 Activité antibactérienne	10
VII.5 Activité cardioprotective	10
VII.6 Activité hépto-protective	11
VII.7 Activité anti ulcéreuse	11
VII.8 Activité anti-oxydante	11
VIII L’huile fixe des graines d’ <i>E.cardamomum</i>	11
<i>Chapitre II : Stress oxydatif</i>	12
I Introduction.....	13
II Les radicaux libres	13
III Le stress oxydatif	13
IV Système antioxydant	14
IV.1 Les antioxydants enzymatiques	14
IV.2 Les antioxydants non enzymatiques	15

V	Techniques d'évaluation de l'activité antioxydante.....	15
V.1	Méthodes spectrophotométriques	16
V.1.1	Tests basés sur le transfert d'un atome d'hydrogène (HAT).....	16
V.1.2	Tests basés sur le transfert d'un électron (SET).....	16
V.1.3	Tests en mode mixte HAT/SET	16
V.2	Méthodes électrochimiques	17
	Matériel et méthodes	19
I	Matériel végétal.....	20
II	Extraction et préparation des extraits.....	20
II.1	Extraction d'huile	20
II.2	Extraction liquide- liquide de l'huile obtenue	21
II.3	Préparation d'extrait brut hydrométhanolique par macération.....	22
II.4	Préparation d'extrait brut hydrométhanolique par décoction	23
III	Tests phytochimiques.....	26
III.1	Composés azotés.....	26
III.2	Les composés phénoliques :	26
III.3	Composés terpéniques	27
III.4	Les composés réducteurs	27
IV	Dosage des composés phénoliques	27
IV.1	Dosage des polyphénols totaux	27
IV.2	Dosage des flavonoïdes totaux	29
V	Recherche d'activité antioxydante	30
V.1	Piégeage du radical libre DPPH	30
V.2	Test du pouvoir réducteur de fer (FerricReducingAntioxidantPower; FRAP).....	31
VI	Analyse chimique d'huile	32
VI.1	Indice d'acide.....	32
VI.2	Indice de saponification	33
VI.3	Indice d'ester	34
VI.4	Indice de peroxyde.....	34
VII	Analyses statistiques.....	35
VII.1	Moyenne	35
VII.2	Ecart type.....	35
	Résultats et interprétations	36

I	Rendement d'extraction	37
II	Caractéristiques des extraits.....	37
III	Tests phytochimiques.....	38
IV	Dosage des composés phénoliques	39
IV.1	Dosage des polyphénols totaux	39
IV.2	Dosage des flavonoïdes	40
V	Recherche d'activité antioxydante	42
V.1	Piégeage du radical libre DPPH	42
V.2	Test du pouvoir réducteur de fer (FRAP).....	44
VI	L'analyse chimique d'huile.....	47
	Discussion	49
	Conclusion et prescriptives	54
	Références bibliographiques	56

Liste des abréviations

CI 50 : Concentration inhibitrice à 50%.

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

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

EBD : Extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction

EBH : extrait brut hydrométhanolique préparé à partir de l'huile

EBM : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération

EC 50 : Concentration efficace.

ERO : Espèces réactives en oxygène.

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power.

MS : Matière sèche

UV : Ultra-violet

µg Eq EAG/ mg ES : Microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait sec

µg Eq EC/ mg ES : Microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec.

Liste des figures

Figure 1: Feuilles d' <i>Elettaria cardamomum</i>	7
Figure 2: La fleur de cardamome	7
Figure 3: Capsules et graines de cardamome	8
Figure 4: Extraction d'huile par l'appareil de Soxhlet.....	21
Figure 5: Schéma récapitulatif pour la préparation d'extrait brut hydrométhanolique par macération ...	23
Figure 6: Montage d'une décoction sous-reflux	24
Figure 7: Schéma récapitulatif pour la préparation d'extrait brut hydrométhanolique par décoction	25
Figure 8: Réduction du DPPH violet en DPPH-H jaune.....	30
Figure 9: La courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	39
Figure 10: La teneur en polyphénols totaux des extraits bruts hydrométhanoliques et de l'huile, des graines d' <i>Elettaria cardamomum</i>	40
Figure 11: La courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes	41
Figure 12: La teneur en flavonoïdes des extraits hydrométhanolique des graines d' <i>Elettaria cardamomum</i>	41
Figure 13: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique.....	42
Figure 14: Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait (EBM).....	43
Figure 15: Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait (EBD)	43
Figure 16: Les valeurs des CI50 de l'acide ascorbique et des extraits bruts (EBM) et (EBD) en mg/ml, des graines d' <i>Elettaria cardamomum</i>	44
Figure 17: Pouvoir du fer d'acide ascorbique	45
Figure 18: Pouvoir réducteur du fer de l'extrait brut (EBM).....	45
Figure 19: Pouvoir réducteur du fer de l'extrait brut (EBD).....	46
Figure 20: Les valeurs des EC50 du pouvoir réducteur du fer de l'acide ascorbique et des extraits bruts (EBM) et (EBD) en mg/ml, des graines d' <i>Elettaria cardamomum</i>	46

Liste des tableaux

Tableau 1: Variation de teneur en huile essentielle des graines de <i>E. cardamome</i>	9
Tableau 2: Exemples de pathologies liées au stress oxydatif	14
Tableau 3: Méthode de dosage des polyphénols totaux	28
Tableau 4: Méthodes de dosage des flavonoïdes	29
Tableau 5: Rendement des extraits bruts hydrométhanoliques et de l'huile extraite des graines d' <i>Elettaria cardamomum</i>	37
Tableau 6: Caractéristiques des extraits bruts hydrométhanoliques	37
Tableau 7: Résultats des tests phytochimiques des graines d' <i>Elettaria cardamomum</i>	38
Tableau 8: Résultats de l'analyse chimique de l'huile extraite des grains d' <i>E. cardamomum</i>	47

Introduction

La phytothérapie puise ses racines dans les origines les plus anciennes de l'art de soigner (**Sophia, 2015**).

Dans les grandes civilisations qui ont marqué l'humanité, se trouve une bonne partie de l'histoire de l'utilisation des plantes en tant que remède (**Elhaci, 2015**). Avec le développement de la science moderne, il a été démontré que les effets phytothérapeutiques des plantes sont liés à des composés biologiquement actifs nommés métabolites secondaires (**Kralova et Jampilek, 2021**).

Parmi ces métabolites, on distingue les terpènes, les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes, tanins, ...), et les alcaloïdes (ou composés azotés). Ces molécules possèdent plusieurs activités biologiques, telles que l'activité antioxydante, antidiabétique, anti-inflammatoire, et antimicrobienne (**Vermerius et Nicholson, 2006 ; Zillich et al., 2015**).

Dans l'organisme, divers mécanismes biochimiques peuvent être activés en réponse à des facteurs environnementaux tels que la pollution, le tabagisme et l'exposition aux rayons UV. Ces mécanismes entraînent la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), qui peuvent rapidement surpasser les défenses antioxydantes. Un excès de ces ERO ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut perturber l'équilibre entre les processus pro-oxydants et antioxydants. Cette perturbation provoque des dysfonctionnements directs des biomolécules tel que l'oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides (**Belaïch et al., 2015; Boujraf et Belaïch, 2016**).

Les composés antioxydants naturels, jouent un rôle important dans la réduction du stress oxydatif, et dans l'amélioration de la fonction immunitaire en piégeant les radicaux libres, ce qui contribue à la prévention des maladies (**Tan et al., 2018**).

La cardamome (*Elettaria Cardamomum*), couramment appelée « Reine des épices », est une plante qui appartient à la famille des Zingibéracées. C'est une des épices les plus utilisées au monde et la troisième épice la plus chère après le safran et la vanille (**Sharma et al., 2011**). Les graines de cardamome sont reconnues comme un remède officiel dans la pharmacopée ayurvédique et sont commercialisées sous le nom de « GreaterCardamom » (**Bisht et al., 2011**). Elles contiennent des composés phytochimiques tels que ; les phénols, amidon, tannins, terpénoïdes, flavonoïdes, protéines et stérols (**S.Sharma et al., 2011**).

Dans notre travail, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antioxydante, des graines d'*E. cardamomum*.

Ce manuscrit est développé en deux parties :

- La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique qui repose sur deux chapitres : généralités sur la plante étudiée *Elettaria Cardamomum*, le stress oxydant, et les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.
- La deuxième partie est une partie expérimentale basée principalement sur les différentes techniques et méthodes réalisées, les différents résultats obtenus, interprétés et discutés
- Enfin, une conclusion générale qui résume notre travail.

Synthèse
Bibliographique

Chapitre I :

La plante étudiée :

Elettaria cardamomum

La cardamome, *Elettaria cardamomum* : est une plante qui appartient à la famille des Zingibéracées, couramment appelée « Reine des épices ». Originaires des forêts tropicales du Sud de l'Inde et du Sri Lanka (**Sengupta et al., 2005**), C'est l'une des épices les plus utilisées au monde et la troisième épice la plus chère après le safran et la vanille (**Sharma et al., 2011**).

I Historique

Selon « les Vedas » livres sacrés de l'hindouisme, les essences étaient déjà exploitées au moins 1600 ans avant J.-C. la cardamome est citée dans ces écrits sacrés. Les Indiens en connaissaient très bien ses propriétés médicinales, ils s'en servaient pour les soins médicaux et pour le bien-être du corps, le plus souvent en massage. Elle était particulièrement recommandée pour lutter contre les hémorroïdes et la jaunisse (**Boullard.,1997**)

En Chine, les premiers écrits chinois sur la cardamome datent de l'an 720. Selon la pharmacopée chinoise, cette épice est reconnue comme une panacée pour le traitement des troubles intestinaux, des dysenteries et des diarrhées (**Teuscher et al., 2005**)

La cardamome mot a passé dans toutes les langues de l'Europe, Dans le passé, cette épice a joué un rôle déterminant dans des événements historiques significatifs. Les épices indiennes, dont la cardamome est la reine, ont été la principale motivation derrière la décision de Christophe Colomb de l'Espagne de chercher à atteindre l'Inde, conduisant finalement à la découverte de l'Amérique. La cardamome indienne, ainsi que d'autres épices, ont provoqué les peuples romains et grecs, contribuant à l'invasion historique de l'Inde par Alexandre le Grand. Au cours des siècles suivants, cette précieuse épice a attiré l'attention des Arabes, des Portugais, des Hollandais et des Anglais, qui ont entrepris des voyages maritimes vers l'Inde pour rapporter la cardamome avec eux (**Arunachalam et Wimpelupessey, 2005**).

II Noms vernaculaires

Les dénominations internationales du mot cardamome contiennent une racine commune :

- **En Inde** : elaichi, elettari (**Christine Poirel, 2017**).
- **En anglais** : Cardamon, Cluster Cardamom, Lesser Cardamom, Malabar Cardamom,
- **En arabe** : Hhabb El Hâl, Habbu Al Hal, Hhamâmâ, Habbu Al Han (**Lim, 2013**)

La cardamome a beaucoup d'autres noms vernaculaires qui la décrivent, tels que : La " rein des épices ", La " graine des anges ", Les " graines du paradis ", L'amome, La "petite " ou la "grande " cardamome (**Teuscher et al., 2005**).

III Classification

Selon la classification botanique de Cronquist de 1981 (classification classique des angiospermes) ; *E. cardamomum* suit la classification suivante (**Cronquist., 1981**).

- **Règne** : Plantae
- **Division** : Magnoliophyta
- **Classe** : Liliopsida
- **Ordre** : Zingiberales
- **Famille** : Zingiberaceae
- **Genre** : *Elettaria*
- **Espèce** : *Elettaria Cardamomum*

IV Description botanique

La cardamome est une plante vivace de taille généralement comprise entre 2 et 3 mètres. Elle possède un rhizome long, charnu et noueux, à partir duquel émergent de multiples tiges portant des feuilles alternes, étroites et pointues, dotées d'un pétiole qui entoure la tige. Les fleurs de la cardamome se regroupent en trois ou quatre épis peu denses. Le fruit de la plante se présente sous forme d'une capsule ronde ou ovale, de couleur jaune, verdâtre ou brune. Cette capsule s'ouvre par trois valves et contient de nombreuses petites graines brunes au parfum très aromatique (**Fig. 01**) (**Devaux et Polèse., 2001**).



Figure 1: Feuilles d'*Elettaria cardamomum*

(www.jardinierparesseux.com , consulté le 02/04/2024)

- **Les fleurs :**

Les fleurs de la cardamome atteignent de 3 à 3,5 cm de long. Elles sont de couleur blanche ou vert pâle, striées de violet ou de bleu, elles sont zygomorphes et construites (**Fig. 02**) (Arvy et Gallouin.,2015).



Figure 2: La fleur de cardamome

(www.mccormickforchefs.com , consulté le 01/06/2024)

- **Les graines :**

La graine de cardamome est de couleur brun foncé à noir, d'environ 4 mm de long et 3 mm de large, irrégulièrement anguleuse, ridée transversalement, mais non piquée. Elle a une odeur caractéristique et un goût fortement aromatique (**Fig. 03**) (**Singarvel Sengottuvelu, 2011**).



Figure 3: Capsules et graines de cardamome

(www.cardamomdaysfood.com , consulté le 02/04/2024)

V Composition chimique

Des recherches portant sur la composition chimique de la cardamome révèlent sa richesse en divers composants, dont la teneur varie en fonction du climat, les conditions géographiques et les méthodes d'extraction. Le fruit séché de la cardamome contient des huiles essentielles (**Tableau 1**), Cires, stérols, des pigments, des protéines, la cellulose, les sucres, l'amidon, l'oxalate de calcium, et des minéraux (**Ravindran et Madhusoodanan, 2003 ; Nair, 2006 ; Sharma et al., 2011**).

Ils contiennent aussi des composants phénoliques et des flavonoïdes comme la quercétine, le kaempferol, la luteoline et la pelargonidine (**Sultana et al., 2010 ; Vishwakarma et al., 2014**).

Le principal composant de la graine est l'amidon, représentant jusqu'à 50%, tandis que la coque de fruit contient jusqu'à 31% de fibre brute. La teneur en huile volatile dans les graines peut atteindre 8%. Cette dernière contient environ 1,5% d' α -pinène, 1,2% de β -pinène, 2,8% de sabinène, 1,6% de myrcène, 0,2% d' α -phellandrène, 11,6% de limonène, 36,6% de 1,8-cinéol, 0,7% de γ -terpinène, 0,5% de terpinéol, 31,3% d'acétate d' α -terpinyle, 0,3% Citronellol, 0,5% nerolidol, 0,5% de géraniol, 0,2% de méthyl eugénol et 2,7% de trans-nerdilol. L'arôme de cardamome basique

est produit par une combinaison des composants principaux, du 1,8- cinéol et de l'acétate d' α -terpinyle (Panda, 2003 ; Aggarwal et Kunnumakkara., 2009).

Tableau 1: Variation de teneur en huile essentielle des graines de *E. cardaomme* (Bertile et al., 2001).

Durée et condition de conservation	% D'huile essentielle
Graines extraites à la récolte	4,8
Graines extraites de capsules stockées à l'air 14 mois	2,9
Graines extraites à la récolte conservées 6 semaines en l'air	2,4
Graines extraites à la récolte et conservées 14 mois à l'air	1,0

VI Utilisation traditionnelle

VI.1 Phytothérapie

Les graines de cardamome sont reconnues comme un remède officiel dans la pharmacopée ayurvédique et sont commercialisées sous le nom de « Greater Cardamom ». Elles sont utilisées comme antidote contre les piqûres de scorpion et les morsures de serpent (Bisht et al., 2011).

En Égypte, la cardamome était largement utilisée dans l'Antiquité pour la fabrication de parfums ainsi que pour traiter de nombreux troubles digestifs tels que l'indigestion, les flatulences, les problèmes gastro-intestinaux, les troubles stomacaux, les résolutions, les retentissements et les nausées (Marongiu et al., 2004 ; Sereshti et al., 2012).

VI.2 Culinaire

La cardamome est un ingrédient couramment utilisé dans la préparation de divers mélanges pour pains d'épices, certaines pâtisseries orientales, tartes aux fruits, garnitures de crème et riz au lait. Elle est particulièrement appréciée dans les pays arabes, où elle est ajoutée au café selon un rituel symbolisant l'hospitalité locale (Nair, 2006 ; Iserin et al., 2007 ; Botineau, 2010)

VII Activités biologiques de la cardamome

Des différentes études ont déterminé plusieurs vertus pharmacologiques et thérapeutiques d'*E. cardamomum* :

VII.1 Activité anti-inflammatoire

Les extraits éthanolique et aqueux des graines de la cardamome ont démontré une activité anti-inflammatoire. Des doses de 100 mg/ml et 200 mg/ml de ces extraits ont été examinées pour évaluer

leur efficacité anti-inflammatoire contre l'œdème de la patte induit par la carraghénane chez les rats. Les résultats ont montré que les deux extraits présentaient une activité anti-inflammatoire dose-dépendante, comparable à celle du médicament standard, le diclofénac sodique à une concentration de 100 mg/ml (**Alam et al., 2011**).

VII.2 **Activité antidiabétique**

L'extrait hydroacétonique des graines d'*E. cardamomum* présente une richesse en flavonoïdes et en tanins, deux composés reconnus pour leur capacité à inhiber les enzymes métabolisant les glucides, les amylases et les glucosidases. De manière similaire, l'extrait aqueux de cette plante a démontré une activité antidiabétique prometteuse, suggérant la présence de métabolites biologiquement actifs. En outre, cet extrait aqueux a également révélé une forte capacité d'inhibition de l'alpha-amylase *in vitro* (**Ahmed et al., 2017 ; Mehrotra et al., 2019 ; Al-Yousef et al., 2021**).

VII.3 **Activité anticancéreuse :**

Une suspension aqueuse des graines de cardamome a montré une inhibition significative de la formation de foyers de cryptes anormaux (ACF) induite par l'azoxyméthane (AOM), un agent carcinogène, chez des souris albinos suisses. Les ACF sont largement reconnus comme des lésions pré-néoplasiques précoces (**Bhattacharjee et al., 2007**).

VII.4 **Activité antibactérienne**

Les extraits d'éther de pétrole issus des graines d'*E. cardamomum* ont démontré une activité antimicrobienne en inhibant la croissance de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. De même, les extraits acétoniques, méthanolique et éthanolique de cette plante ont présenté une activité inhibitrice contre *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae* (**Kubo et al., 1991 ; Aneja et Joshi., 2009**).

VII.5 **Activité cardioprotective**

La cardamome offre une protection significative au niveau du muscle cardiaque et exerce des effets cardio-protecteurs en éliminant les radicaux libres et en déployant des activités antioxydantes. De plus, le traitement à l'extrait de cardamome entraîne une inhibition significative de l'accumulation plaquettaire, un facteur souvent impliqué dans les crises cardiaques (**Suneetha et Krishnakantha, 2005**).

VII.6 **Activité hépato-protective**

Le principe actif impliqué dans la protection hépatique est le 1,8-cinéole. Des études ont révélé que le 1,8-cinéole contenu dans des graines de la cardamome protège contre les lésions hépatiques induites par la galactosamine et le lipopolysaccharide chez les souris. Ils ont démontré qu'un prétraitement avec du 1,8-cinéole (à 400 mg/kg, par voie orale) administré 60 minutes avant l'exposition à la galactosamine-lipopolysaccharide confère une protection complète contre le choc mortel causé par les dommages hépatiques (**Santos et al., 2001**)

VII.7 **Activité anti ulcéreuse**

L'extrait méthanolique brut des fruits d'*E. cardamomum* présente une activité antiulcéreuse. Parallèlement, l'huile essentielle de cardamome inhibe de manière significative la formation d'ulcères gastriques, réduisant de 60,91% les ulcères induits par l'éthanol et l'aspirine (**Jafri et al., 2001 ; Jamal et al., 2005**).

VII.8 **Activité anti-oxydante**

L'acide protocatéchuïque, le 1,8-céineoil et l'alphaterpineol et le protocatéchualdéhyde présent dans les graines de *E. cardamome* ont montré une activité antioxydante (**Kikuzaki et al., 2001**), et ont présenté des avantages potentiels pour la santé en inhibant la peroxydation lipidique (**Jessie et Krishnakantha., 2005**). La cardamome possède des propriétés antioxydantes et peut augmenter les niveaux de glutathion et d'enzymes anti-oxydantes dans le corps (**Verma et al., 2010 ; Bisht et al., 2011 ; Das et al., 2012**).

VIII **L'huile fixe des graines d'*E. cardamomum***

L'huile fixe des graines de cardamome est principalement composée des acides oléique, palmitique et linoléique. Elle contient également d'autres acides gras en quantités moindres. Elle se caractérise par des proportions élevées d'acides gras mono-insaturés et d'acides gras saturés, De plus, elle renferme différents tocophérols, tels que l' α -tocophérol, le γ -tocophérol et le δ -tocophérol, qui possèdent une activité antioxydante. Ces composés sont connus pour leurs bienfaits potentiels pour la santé, notamment en réduisant le risque de certains cancers et de cataractes liées à l'âge. Ainsi, cette huile de cardamome pourrait jouer un rôle important dans la prévention des maladies et la promotion de la santé (**Ashokkumar et al., 2019**)

Chapitre II :
Stress oxydatif

I Introduction

L'oxygène, molécule indispensable pour la vie, peut induire des dommages cellulaires significatifs en générant des dérivés oxygénés activés, communément appelés radicaux libres. De nombreuses études épidémiologiques et cliniques ont établi le lien entre ces espèces réactives de l'oxygène (ERO) et divers processus pathologiques, tels que le cancer. Pour contrer les effets néfastes de l'oxygène, l'organisme a mis en place des mécanismes de défense antioxydants comprenant des enzymes, des vitamines, des protéines, etc. Dans des conditions physiologiques normales, ces systèmes antioxydants sont capables de réguler efficacement la production des ERO (**Pincemail et al ., 2002**)

II Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, molécule ou atome, capable d'avoir une existence indépendante en contenant un ou plusieurs électrons non appariés (électron célibataire). Le radical libre a la propriété d'être instable, très réactif avec une durée de vie très courte. Pour devenir stable, il aura toujours tendance à capter un électron dans son orbitale, par l'oxydation d'un autre composé (**Goudable et Favier ., 1997**).

La production excessive des radicaux libres entraîne une oxydation des composants cellulaires, notamment de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides, ce qui provoque des lésions directes. Les conséquences biologiques de ces dommages varient considérablement en fonction de la dose de radicaux libres et du type cellulaire exposé à cette toxicité (**Favier ., 2003**).

III Le stress oxydatif

Le stress oxydant se définit comme un état pathologique résultant d'un déséquilibre redox significatif, où les réactions prooxydantes prévalent sur les processus antioxydant (**Pincemail et al., 2002**). Ce phénomène peut découler de déficiences ou de défaillances dans les systèmes enzymatiques antioxydants, de dysfonctionnements dans la biosynthèse ou la distribution des antioxydants endogènes, ou encore d'une surproduction de radicaux libres et de composés réactifs oxygénés (**Brenneisen et al., 2005**).

Le stress oxydatif est un des facteurs qui amplifient le risque de développer des maladies multifactorielles (**Tableau 02**).

Tableau 2: Exemples de pathologies liées au stress oxydatif (**Bensakhria .,2018**)

Maladies où le stress oxydatif est la cause primordiale	Maladies où le stress oxydatif est le facteur déclencheur	Maladies entraînant un stress oxydatif secondaire
Cancers Auto-immunité, Cataracte.	Maladie d'Alzheimer, Stérilité masculine, Rhumatismes, Athéromes, asthmes.	Diabète sucré, Insuffisance rénale, Maladie de Parkinson.

IV Système antioxydant

Pour se protéger contre une production excessive d'espèces radicalaires, notre organisme dispose d'un système complexe de défense antioxydante, qui opère à la fois à l'intérieur et à l'extérieur des cellules (**Pincemail et al.,2002**). Des études ont révélé l'implication des facteurs nutritionnels, dans la modulation du stress oxydatif (**Berger .,2006**).

Les antioxydants sont des substances capables d'atténuer, d'inhiber ou de prévenir l'oxydation des substrats oxydables en neutralisant les radicaux libres, réduisant ainsi le stress oxydatif (**Kim et Lee., 2004**).

Les substances antioxydantes peuvent être classées en deux catégories distinctes : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques.

IV.1 Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont considérés comme la 1^{ère} ligne de défense contre le stress oxydant (**Haleng et al., 2007**), principalement représentée par :

- La super oxyde dismutase (SOD) : elles accélèrent 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'autres hydro peroxydes résultant de l'oxydation du cholestérol et des acides gras.

Le rôle de La glutathion réductase est de régénérer le GSH (glutathion réduit) à partir du GSSG (glutathion oxyde) tout en utilisant le NADPH comme un cofacteur (**Martinez 1995 ;Sorg.,2004**)

IV.2 Les antioxydants non enzymatiques

Ce sont des substances qui ont la capacité de préserver la cellule des attaques des (ERO).

Ces molécules ne sont pas fabriquées par les cellules elles-mêmes, mais doivent être obtenus à partir de l'alimentation ou de suppléments (**Frei et stocker.,1990**).

Parmi les antioxydants non enzymatiques, on retrouve diverses molécules aux propriétés anti-radicalaires. Certaines sont des vitamines comme :

- La vitamine C : est une petite molécule hydrosoluble, qui protège les cellules en piégeant diverses espèces réactives de l'oxygène (**Car 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 antioxydants puissants, ils sont présents dans les végétaux (**manach et al.,2004**).

V Techniques d'évaluation de l'activité antioxydante

Les méthodes et outils utilisés pour mesurer l'activité des antioxydants ont considérablement évolué au cours des dernières décennies. Les premières méthodes mesuraient l'efficacité des antioxydants contre la formation de certaines espèces de produits d'oxydation et étaient donc basées sur la mesure de l'oxydation des lipides. À ce jour, diverses analyses chimiques couplées à des technologies de détection hautement sensibles et automatisées sont employées pour évaluer l'activité antioxydante selon des mécanismes spécifiques, tels que l'activité de piégeage contre certains types de radicaux libres ou d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), le pouvoir réducteur et la chélation des métaux, entre autres. Les substrats d'oxydation ou les sondes cibles ont également été étendus des systèmes modèles alimentaires à des composés chimiques, des matériaux biologiques, des lignées cellulaires, voire des tissus vivants (**Shahidi et Zhong .,2015**)

Les différentes méthodes pour évaluer la capacité antioxydante se répartissent en trois catégories distinctes : la spectrométrie, les analyses électrochimiques et la chromatographie pour le dosage des composés phénoliques (**Moharram et Youssef .,2014**) , parmi ces tests :

V.1 Méthodes spectrophotométriques

Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* peuvent être divisées en deux grandes catégories suivant les réactions : les tests basés sur le transfert d'un atome d'hydrogène (**HAT** :Hydrogen Atom transfer), et les tests basés sur le transfert d'un simple électron (**SET** : Single Electron transfer) (**Prior et al.,2005**). Ces tests reposent sur la mesure de changements de couleur, et donc d'absorbance, suite à des réactions d'oxydo-réduction entre l'antioxydant et un substrat chromogène.

V.1.1 Tests basés sur le transfert d'un atome d'hydrogène (HAT)

Ces tests mesurent la capacité d'un antioxydant à éliminer les radicaux libres en donnant un atome d'hydrogène. Les mécanismes HAT (transfert d'atome d'hydrogène) de l'action antioxydante sont prouvés dans la réaction suivante où l'atome d'hydrogène (H) d'un phénol (ArOH) est transféré à un radical peroxy (**R1**) (**Apetre et Munteaunu., 2021**) :



Des exemples typiques de tests basés sur le HAT sont les essais de capacité d'absorption des radicaux oxygénés (ORAC), le paramètre antioxydant de piégeage total des radicaux peroxy (TRAP) et la capacité de piégeage totale des radicaux oxygénés (TOSC) (**Çekiç et al.,2013**).

V.1.2 Tests basés sur le transfert d'un électron (SET)

Ces tests détectent la capacité d'un antioxydant à transférer un électron afin de réduire les ions métalliques, les groupes carbonyles et les radicaux libres (**Wright et al.,2001**).

L'action antioxydante dans ces tests est souvent simulée avec un échantillon fluorescent ou coloré approprié au lieu de radicaux peroxy.

Les tests SET spectroscopiques, incluant le test du pouvoir antioxydant de réduction du fer (FRAP), et les tests de capacité antioxydante de réduction du cuivre (CUPRAC), mesurent la capacité d'un antioxydant à réduire un oxydant, qui change de couleur lorsqu'il est réduit. Le degré de changement de couleur est corrélé avec la concentration de la capacité antioxydante totale (**Apetre et Munteaunu., 2021**).

V.1.3 Tests en mode mixte HAT/SET

Les tests en mode mixte reposent sur l'élimination des chromophores stables comme le DPPH, impliquant à la fois les mécanismes HAT (transfert d'atome d'hydrogène), ET (transfert d'électron) et

PCET (transfert d'électron couplé au proton) (**Siddeeg et al.,2021**), Les principaux exemples de ces tests sont le test de neutralisation des radicaux DPPH, et le DMPD.

V.2 Méthodes électrochimiques

Parmi les méthodes électrochimiques récentes pour évaluer l'activité antioxydante, la voltammétrie cyclique est devenue une alternative intéressante aux tests chimiques classiques. Cette technique mesure la capacité de donation d'électrons (potentiel redox) des antioxydants par balayage voltammétrique. Le voltammogramme cyclique obtenu indique le potentiel d'oxydation et la concentration des composés antioxydants, généralement des groupements phénoliques. L'activité antioxydante est déterminée par le courant de pic anodique, le potentiel de pic d'oxydation et l'aire sous la vague anodique, qui reflètent la facilité à donner des électrons (**Ragubeer et al., 2010**).

*Partie
expérimentale*

Matériel et méthodes

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire de recherche « Antibiotiques, antifongique, physico-chimie, synthèse et activité biologique », département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, des sciences de la terre et de l'univers, université Abou BekrBelkaïd , Tlemcen.

L'objectif de cette étude est d'étudier la composition phytochimique, de doser les composés phénoliques et d'évaluer l'activité antioxydante des extraits bruts hydrométhanoliques et de l'huile, préparés à partir des grains d'*E.cardamomum*.

L'étude comporte deux parties :

- Partie 1 : Extraction du matériel végétal à partir des graines d'*Elettaria cardamomum*
- Partie 2 : Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits d'*E. cardamomum*

I Matériel végétal

Les graines d'*E.cardamomum* « Hab el Hal », objet de cette étude, ont été acquises sous forme sèche, broyées jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, et tamisés pour éliminer leurs coques chez un herboriste à Maghnia, wilaya de Tlemcen. Ces graines ont été importées d'inde.

II Extraction et préparation des extraits

II.1 Extraction d'huile

Une quantité de 25g de poudre des graines de cardamome broyées a été insérée dans une cartouche en cellulose puis dans un siphon à Soxhlet, surmonté d'un réfrigérant, et monté sur un ballon contenant 200ml d'hexane. Le solvant est chauffé à l'aide d'un chauffe ballon, à une température de 45°C pendant 4 heures (**fig. 04**).

Afin d'éliminer le solvant et obtenir une huile fixe, le mélange d'extraction obtenu est passé dans un Rotavator à 60°C, pour la concentration d'extrait..

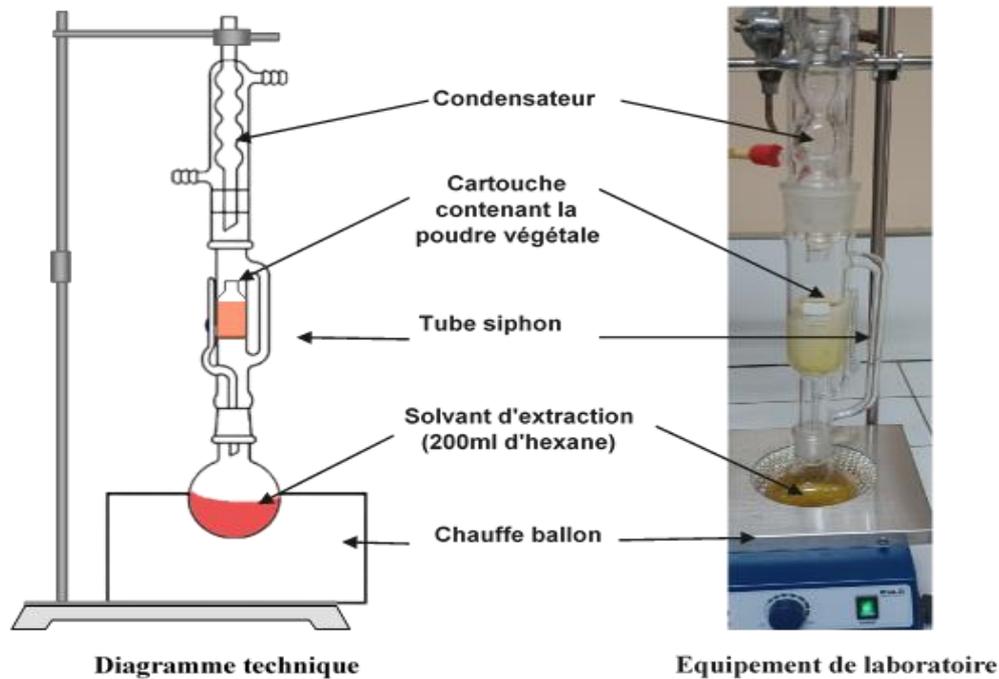


Figure 4: Extraction d'huile par l'appareil de Soxhlet (Photo LAP SAB, 2024)

Le rendement en huile est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$R (\%) = (P1 - P2 / P3) \times 100$$

- ✓ **R (%)** : Rendement exprimé en pourcentage
- ✓ **P1** : poids du tube rempli
- ✓ **P2** : poids du tube vide
- ✓ **P3** : poids de la matière végétale insérée dans la cartouche

II.2 Extraction liquide- liquide de l'huile obtenue

A partir de l'extrait évaporé, une extraction liquide-liquide a été réalisée à l'aide d'une ampoule à décanter, pour pouvoir quantifier les composés phénoliques :

- Dans l'ampoule à décanter, l'extrait a été dilué dans un mélange de 20ml méthanol, eau distillée (80/20 ; v/v), et 20ml de chloroforme.

- Le mélange a été vigoureusement agité, dégazé, puis laissé à décantation.
- Après séparation des deux phases, la phase hydrométhanolique a été récupérée.
- La phase a été séchée dans une étuve à 37°C

L'extrait brut hydrométhanolique préparé à partir de l'huile (**EBH**) est ainsi récupéré et conservé à l'abri de lumière.

II.3 Préparation d'extrait brut hydrométhanolique par macération

- Dans un Erlenmeyer, 10g de la matière végétale broyée et dégraissée sont mélangés avec 150ml du mélange eau-méthanol (20/80 ; V/V).
- La préparation est laissée macérer à température ambiante pendant 72 heures à l'abri de la lumière.
- Après filtration par papier Whatman, l'extrait hydrométhanolique récupéré est concentré à l'aide d'un Rotavapor à 60°C et séché à sec dans une étuve à 37°C (**fig. 05**)

L'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération (**EBM**) est ainsi récupéré et conservé à l'abri de lumière.

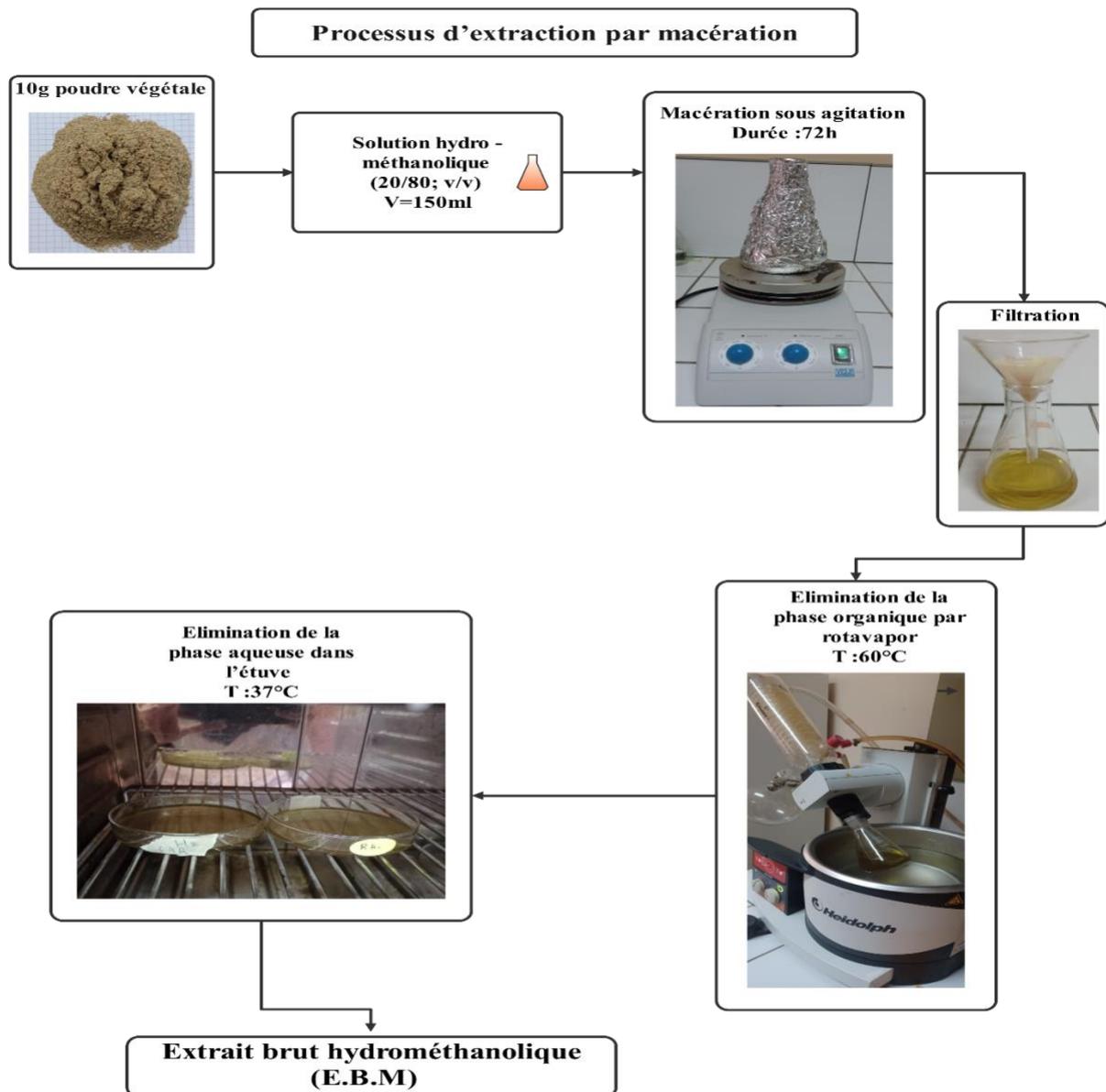


Figure 5: Schéma récapitulatif pour la préparation d'extrait brut hydrométhanolique par macération (Photos LAP SAB, 2024)

II.4 Préparation d'extrait brut hydrométhanolique par décoction

- Dans un ballon rodé surmonté d'un réfrigérant, 10g de la matière végétale broyée et dégraissée est mélangée avec 150ml d'un mélange eau-méthanol (20/80).
- Le mélange est placé sous reflux dans une chauffe ballon à une température d'ébullition stable pendant 45min (**Fig. 06**)

- La préparation est filtrée par papier Whatman
- Le filtrat est concentré dans un Rotavapor afin d'évaporer le méthanol, à une température de 60°C. puis séché à sec dans une étuve à 37°C (Fig. 07).

L'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction (EBD) est ainsi récupéré et conservé à l'abri de lumière.

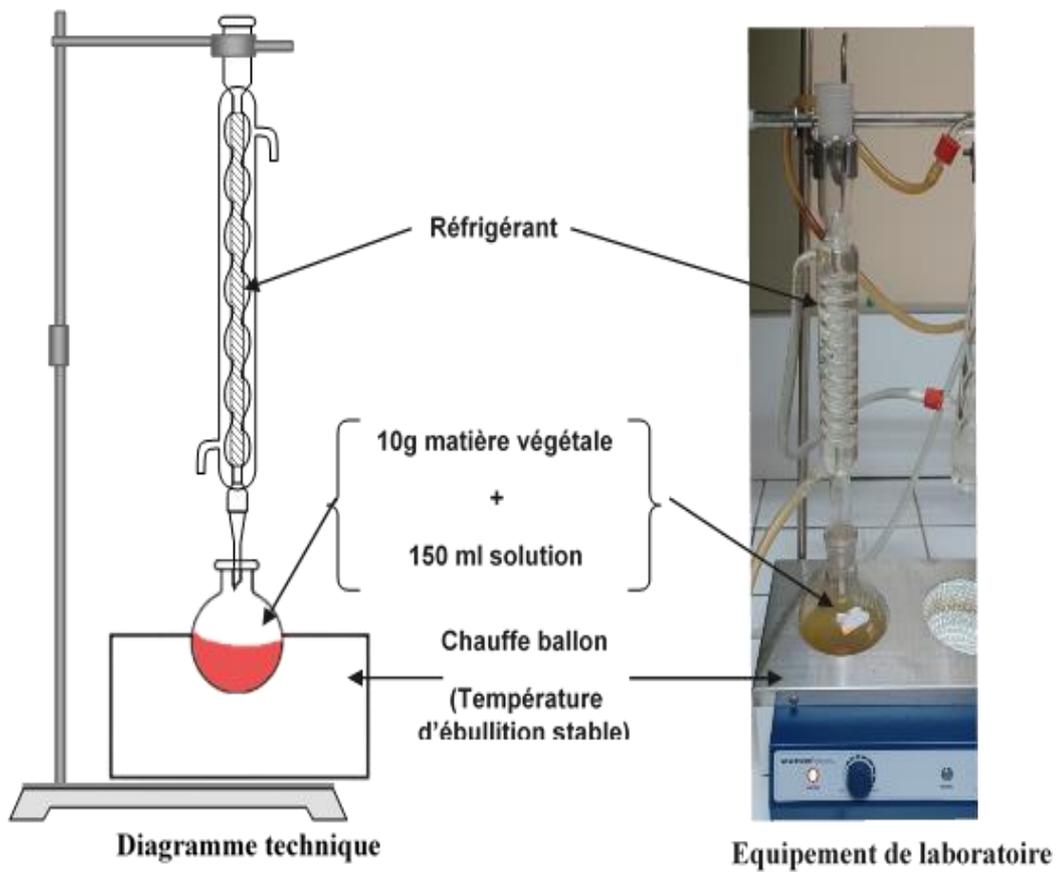


Figure 6: Montage d'une décoction sous-reflux (photo LAP SAB, 2024)

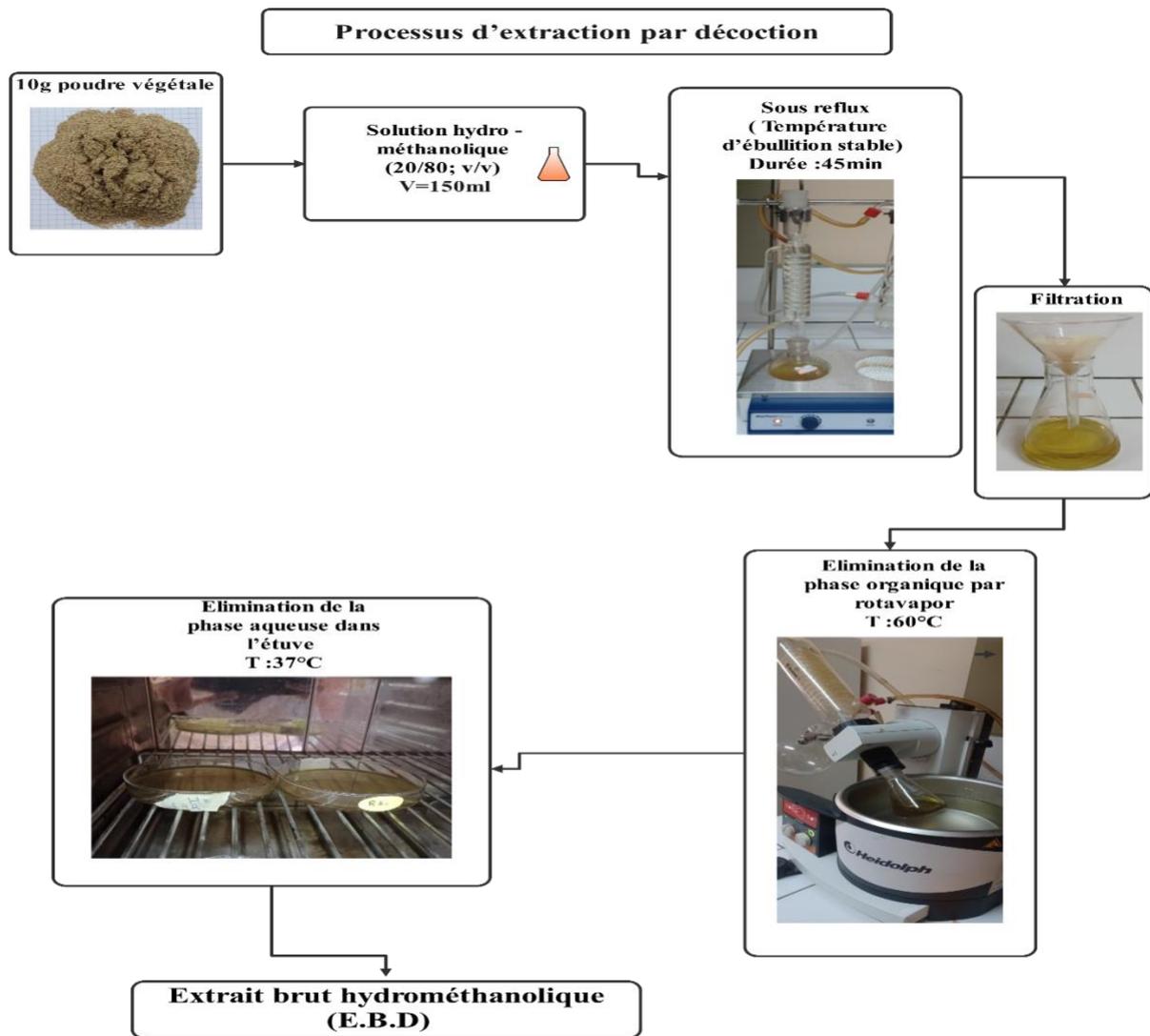


Figure 7: Schéma récapitulatif pour la préparation d'extrait brut hydrométhanolique par décoction (Photos LAP SAB, 2024)

Le rendement obtenu à partir des extraits bruts préparés par macération et décoction est calculé à l'aide de la formule 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.

III Tests phytochimiques

Une analyse qualitative a été effectuée sur les extraits bruts (EBD et EBM) des graines d'*E. Cardamomum* obtenus. Elle est basée sur des réactions de coloration, de précipitation et d'observation sous lumière ultra-violette, afin de mettre en évidence la présence des différents métabolites secondaires.

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

III.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.

III.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 FeCl_3 (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 NH_4OH (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.

III.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 supérieure à 1 cm de mousse indique la présence de saponines.

❖ **Terpénoïdes (Test de Slakowski)**

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

III.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.

IV Dosage des composés phénoliques

IV.1 Dosage des polyphénols totaux

❖ **Principe**

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

Le principe fondamental de cette méthode repose sur l'emploi du réactif "Folin-Ciocalteu", caractérisé par sa teinte jaune et constitué d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄). Ce réactif induit l'oxydation des composés phénoliques, favorisant la formation d'un complexe bleu impliquant les ions tungstène (W₈O₂₃) et molybdène (Mo₈O₂₃). La mesure de l'absorbance se réalise spécifiquement à une longueur d'onde de 680 nm.

❖ **Mode opératoire**

0,1 ml d'extrait (1 mg/ml) est combiné avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium Na₂CO₃ à 2%. Cette solution est ensuite agitée et incubée pendant 5 minutes. Par la suite, 0,1 ml de réactif Folin-Ciocalteu à 1N est ajouté, et le mélange est incubé à l'abri de la lumière et à une température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance est alors mesurée à une longueur d'onde de 680 nm en comparaison avec un blanc (**tableau 03**).

Parallèlement, une gamme d'étalonnage est préparée dans les mêmes conditions, en utilisant de l'acide gallique à différentes concentrations à un intervalle de 50 à 500 µg/ml, afin de permettre une quantification des composés phénoliques présents dans les extraits testés (**tableau 03**).

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

Tableau 3: 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	EBH	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	0,1
Na ₂ CO ₃ (2%) ml	2	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	0,1
Incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 min														
Mesure de l'absorbance à 680 nm														

EBH : L'extrait brut hydrométhanolique préparé à partir de l'huile ; **EBM** : L'extrait brut hydrométhanolique préparé macération ; **EBD** : L'extrait brut hydrométhanolique préparé décoction ;

IV.2 Dosage des flavonoïdes totaux

❖ Principe

La teneur en flavonoïdes totaux est déterminée par la méthode décrite par **Zhichene et al., (1999)**.

Le principe de cette méthode se repose sur l'oxydation des flavonoïdes en milieu alcalin par le nitrite de sodium (NaNO_2) et le chlorure d'aluminium (AlCl_3) en composant un complexe de couleur rose absorbant à 510 nm.

❖ Mode opératoire

250 μl de l'extrait (1mg/ml) est mélangée avec 1 ml d'eau distillée et 75 μl du nitrite de sodium (NaNO_2 à 15 %). Après 6 min d'incubation à température ambiante, 75 μl de chlorure d'aluminium (AlCl_3 à 10%) sont ajoutés. Après 6 min de repos à température ambiante, 1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH à 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 04**).

Une gamme d'étalonnage est préparée dans les mêmes conditions avec la catéchine à différentes concentrations de 50 à 500 $\mu\text{g/ml}$ (**Tableau 04**).

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g EC / mg ES}$).

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	M	D
[Catéchine] $\mu\text{g/ml}$	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
NaNO_2 (15%) (μl)	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
1 ^{ère} incubation pendant 6 min à température ambiante													
AlCl_3 (10%) (μl)	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
2 ^{ème} incubation pendant 6 min à température ambiante													
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
3 ^{ème} incubation à l'obscurité pendant 30 min													
Mesure de l'absorbance à 510 nm													

V Recherche d'activité antioxydante

V.1 Piégeage du radical libre DPPH

❖ Principe

Le test repose sur la capacité de l'extrait à réduire le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), ce qui induit un changement de couleur de violet foncé à une couleur jaunâtre lors de la réaction de réduction. Cette décoloration est quantifiable par spectrophotométrie (**Fig. 08**) (**Brand-Williams et al.,1995**).

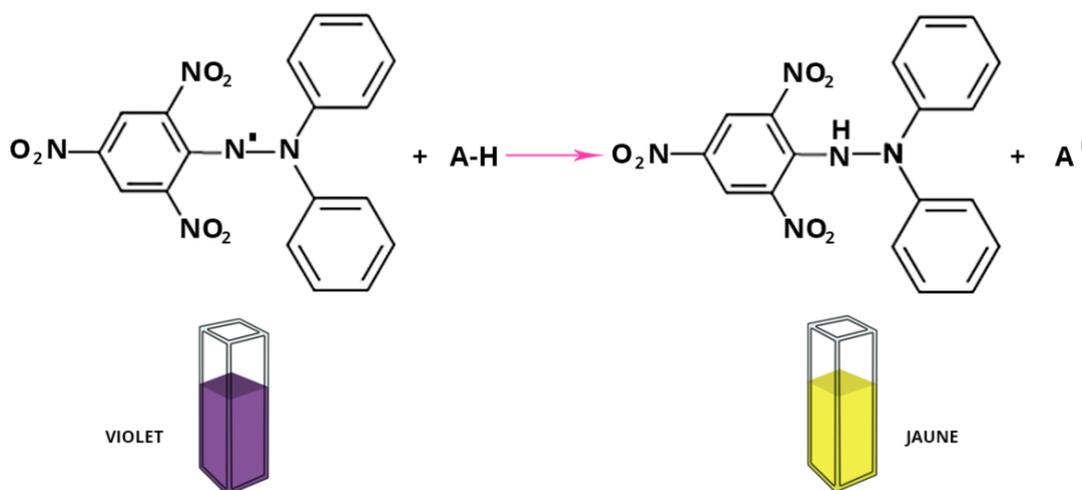


Figure 8: Réduction du DPPH violet en DPPH-H jaune

(www.chimactiv.agroparistech.fr , consulté le 25 /04 /2024)

❖ 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 1950µl d'une solution méthanolique 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 de CI50

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

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

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

V.2 Test du pouvoir réducteur de fer (FerricReducingAntioxidantPower; FRAP)

❖ Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est corrélé à son activité antioxydante. Cette technique permet d'évaluer la capacité des extraits examinés à catalyser la conversion du fer ferrique (Fe^{3+}) contenu dans le complexe $K_3[Fe(CN)_6]$ en fer ferreux (Fe^{2+}) (Karagözler et al., 2008)

❖ Mode opératoire

250µl de l'extrait à différentes concentrations est mélangé 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 ;
- L'ensemble est centrifugé pendant 10min (en cas de précipitation) ;
- 500 µl de surnageant est combiné 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 consiste en une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique, dont l'absorbance est mesurée dans des conditions identiques à celles des extraits.

Une augmentation de l'absorbance est indicative à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits examinés.

❖ Expression des résultats d'EC50

L'EC50, ou concentration efficace à 50%, représente la concentration de l'extrait où la réponse biologique atteint la moitié de sa valeur maximale. Pour calculer l'EC50, on trace des courbes de dose-réponse en traçant les absorbances en fonction des différentes concentrations d'extraits. Cette analyse permet d'identifier l'extrait le plus efficace, caractérisé par la plus faible valeur d'EC50.

VI Analyse chimique d'huile

VI.1 Indice d'acide

❖ Principe

L'acidité est un indicateur chimique clé de la qualité des huiles. L'indice d'acide consiste à neutraliser les acides libres par une solution alcoolique hydroxyde de potassium (**Benosman et Mamchaoui, 2005**).

❖ Mode opératoire

Selon le protocole expérimental stipulé dans la réglementation **CEE/2568/91** :

- Une prise d'essai d'huile de 0,5g est dissoute dans 2,5ml d'un mélange d'éthanol.
- Le mélange est titré à l'aide d'une solution KOH éthylique (0,1 N) en présence de phénolphthaléine à 2% jusqu'à l'apparition d'une couleur rose ;
- Un témoin a été réalisé dans les mêmes conditions ;

❖ Expression des résultats

L'acidité est exprimée en pourcentage d'acide oléique qui se détermine :

$$\text{Acidité (AC)\% (d'acide oléique)} = (V - V_0) * (N * M / 10 * m)$$

- ✓ **V** : volume en millilitre de KOH nécessaire pour neutraliser l'échantillon ;
- ✓ **V₀** : volume en millilitre de KOH nécessaire pour neutraliser le blanc ;
- ✓ **N** : normalité de l'hydroxyde de potassium ;
- ✓ **M** : masse molaire (g/ml) d'acide oléique qui est égale à 282g/ml ;
- ✓ **m** : masse en gramme de la prise d'essai.

VI.2 Indice de saponification

L'indice de saponification représente la quantité de milligrammes de potasse requise pour saponifier les acides gras présents dans un gramme de matière grasse. Cette mesure augmente proportionnellement à la diminution du poids moléculaire des acides gras (AFNOR, 2013).

❖ Principe

En exposant un ester à une solution concentrée et chaude de potasse, nous favorisons une réaction totale où l'alcool est régénéré, formant ainsi le sel de potassium de l'acide, et générant de nouveau l'ester.

❖ Mode opératoire

- Dans un ballon, 0,5g d'huile est mélangé avec 12,5 ml de KOH éthylique (0,5 mol/l) ;
- Porter le mélange à l'ébullition à reflux pendant 45 min,
- Laisser refroidir et ajouter des gouttes de phénolphtaléine à 2% ;
- Titrer par l'acide chlorhydrique de 0,5 mol/l ;
- Agiter jusqu'au virage à l'incolore de la phénolphtaléine
- Déterminer le volume V_1 de la neutralisation de l'échantillon
- Réaliser un témoin (1 ml d'eau distillée +25 ml de KOH éthylique), dans les mêmes conditions de l'échantillon, pour déterminer le volume V_0 du titrage.

❖ Expression des résultats

Calcul de l'indice de saponification IS (mg de KOH/g huile)

$$IS = \frac{M_{KOH} \times (V_0 - V_1) \times C_{HCl}}{m}$$

- ✓ V_0 : Volume de neutralisation de témoin en ml ;
- ✓ V_1 : Volume de neutralisation de l'échantillon en ml ;
- ✓ C_{HCl} : concentration de la solution d'acide chlorhydrique en mol/l (0,5 mol/l) ;
- ✓ M_{KOH} : masse molaire du KOH en g/mol (56,1 g/mol)
- ✓ m : masse d'huile pesée en g (0,5g).

VI.3 Indice d'ester

L'indice d'ester (IE) représente la masse en milligrammes de KOH requise pour la saponification des glycérides contenus dans un gramme de matière grasse. Il n'est pas directement mesurable, mais plutôt calculé à partir des deux indices IS (indice de saponification) et IA (indice d'acidité). Plus spécifiquement, l'IE est déterminé comme la différence entre l'indice de saponification et l'indice d'acidité ($IE = IS - IA$) (Tchouar et al., 2014)

VI.4 Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde représente la quantité des substances de l'échantillon (exprimée en milliéquivalent d'oxygène actif par kilogramme), qui oxydent l'iodure de potassium.

❖ Principe

Le principe de ce test repose sur le titrage par une solution de thiosulfate de sodium des molécules d'iode libérées par oxydation des iodures par les hydroperoxydes de l'échantillon solubilisé dans un mélange acide acétique/chloroforme.

❖ Mode opératoire

Le protocole établi par le règlement **CEE2568/91a** été adopté pour la détermination de cet indice :

- 0,5g d'huile sont mis en solution dans 5 ml de chloroforme, 7,5ml d'acide acétique glacial et 0,5ml d'une solution saturée d'iodure de potassium
- Après incubation pendant 5min à l'obscurité, 37,5ml d'eau distillée sont ajoutés
- Le mélange est titré par une solution de thiosulfate de sodium ($Na_2S_2O_3$ à 0,01 N) en présence d'empois d'amidon comme indicateur.

Un essai témoin (sans matière grasse) est réalisé dans les mêmes conditions.

❖ Expression des résultats

L'indice de peroxyde IP (m Eq/kg) est déterminé selon la formule :

$$IP \text{ (m Eq/kg)} = \frac{V - V_0}{m} \times 1000 \times N$$

- ✓ **N** : Normalité $Na_2S_2O_3$
- ✓ **V** : Volume en ml de $Na_2S_2O_3$ nécessaire pour le titrage de l'échantillon
- ✓ **V₀**: le volume de thiosulfate de sodium requis pour titrer le blanc
- ✓ **m** : masse en gramme de la prise d'essai

VII Analyses statistiques

Dans le but d'obtenir des résultats fiables et significatives pour les différents échantillons collectés, il est important de tenir compte les analyses statistiques suivantes :

VII.1 Moyenne

$$\bar{X} = \frac{(X_1 + X_2 + \dots + X_n)}{(n)} = \frac{1 \sum X_j}{n}$$

VII.2 Ecart type

$$S = \sqrt{[\sum (x_i - \bar{x})^2 / n - 1]}$$

Résultats
et
interprétations

I Rendement d'extraction

Le rendement des extraits bruts hydrométhanoliques préparés par macération et décoction, ainsi que celui de l'huile extraite, des graines d'*Elettaria cardamomum*, a été déterminé par calcul après évaporation à sec, par rapport à la masse initiale sèche de la matière végétale. Les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau 5** :

Tableau 5: Rendement des extraits bruts hydrométhanoliques et de l'huile fixe extraite des graines d'*Elettaria cardamomum*

Méthode d'extraction	Masse végétale initiale (g)	Rendement (%)
EBM	10	5,04
EBD	10	10,16
Huile	75 ,85	19,86

EBM : L'extrait brut hydrométhanolique préparé macération ; **EBD** : L'extrait brut hydrométhanolique préparé décoction ;

L'analyse des rendements des extraits bruts hydrométhanoliques et de l'huile extraites des graines d'*E. Cardamomum* révèle des variations significatives en fonction des méthodes d'extraction. La décoction, avec un rendement de 10,16 % pour les extraits bruts hydrométhanoliques, surpasse la macération, qui n'a produit qu'un rendement de 5,04%, malgré l'utilisation d'une masse végétale initiale identique. Par ailleurs, l'extraction d'huile a généré un rendement notablement plus élevé, atteignant 19,86%.

II Caractéristiques des extraits

Les caractéristiques des extraits bruts hydrométhanoliques préparés à partir des graines d'*Elettaria cardamomum* sont résumés dans le **tableau 6** :

Tableau 6: Caractéristiques des extraits bruts hydrométhanoliques

Extrait	Aspect	Couleur	Solubilité
EBM	Pâteux	Marron foncé	Eau distillée
EBD	Pâteux	Marron foncé	Eau distillée
Huile	Fluide, légèrement visqueuse	Jaune dorée	Méthanol

EBM : L'extrait brut hydrométhanolique préparé macération ; **EBD** : L'extrait brut hydrométhanolique préparé décoction ;

Suite à l'analyse des résultats, il est notable que les deux extraits bruts hydrométhanoliques, obtenus par macération et décoction à partir des graines de cardamome, ont été récupérés sous forme de pâte présentant une teinte marron foncé. De plus, ils ont exhibé une solubilité complète dans l'eau distillée. Quant à l'huile obtenue, elle présentait un aspect fluide, légèrement visqueux, couleur dorée, et elle s'est révélée soluble dans le méthanol.

III Tests phytochimiques

Afin de mettre en évidence la présence des différents métabolites secondaires, une analyse qualitative a été effectuée sur les extraits bruts (EBD et EBM) des graines d'*E. Cardamomum* obtenus, basée sur l'intensité de coloration ou de précipitation ou observation sur lumière UV . Cette intensité est proportionnelle à la quantité de la substance recherchée. Les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau 7** :

Tableau 7: Résultats des tests phytochimiques des graines d'*Elettaria cardamomum*

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

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

D'après les résultats du tableau 7, nous avons observé la présence d'alcaloïdes, de tanins, de quinones libres, ainsi que de composés réducteurs, et une forte indication de la présence de terpénoïdes, suggérée par la formation d'un anneau marron, dans les différentes préparations d'extraits bruts (EBM et EBD) des graines de cardamome. En revanche, les anthraquinones, les saponines, les flavonoïdes et les coumarines ont été absents dans l'ensemble des extraits.

IV Dosage des composés phénoliques

IV.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode spectrophotométrique à l'aide du réactif de Folin - Ciocalteu. Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme de matière sèche d'extrait obtenu ($\mu\text{g EAG} / \text{mg ES}$), en utilisant l'équation de régression linéaire ($y=0,0013x$; $R^2=0,997$) dérivée de la courbe d'étalonnage tracée d'acide gallique (**fig.09**)

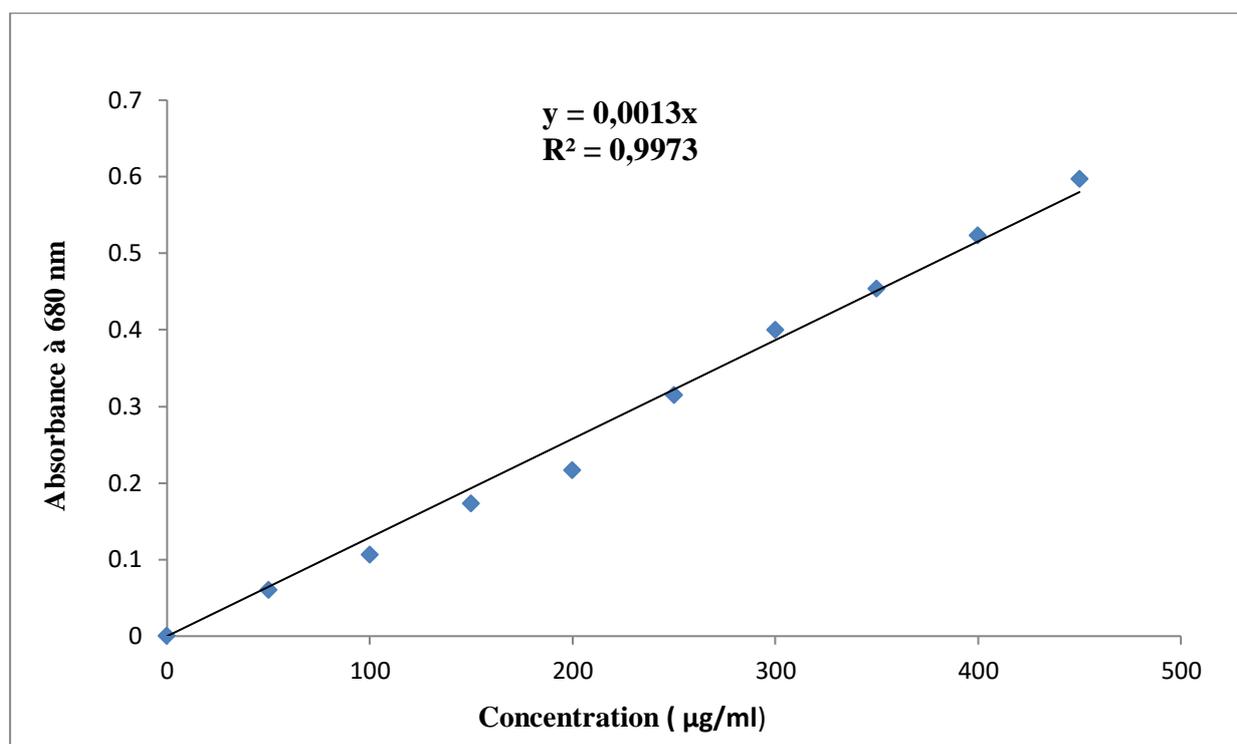
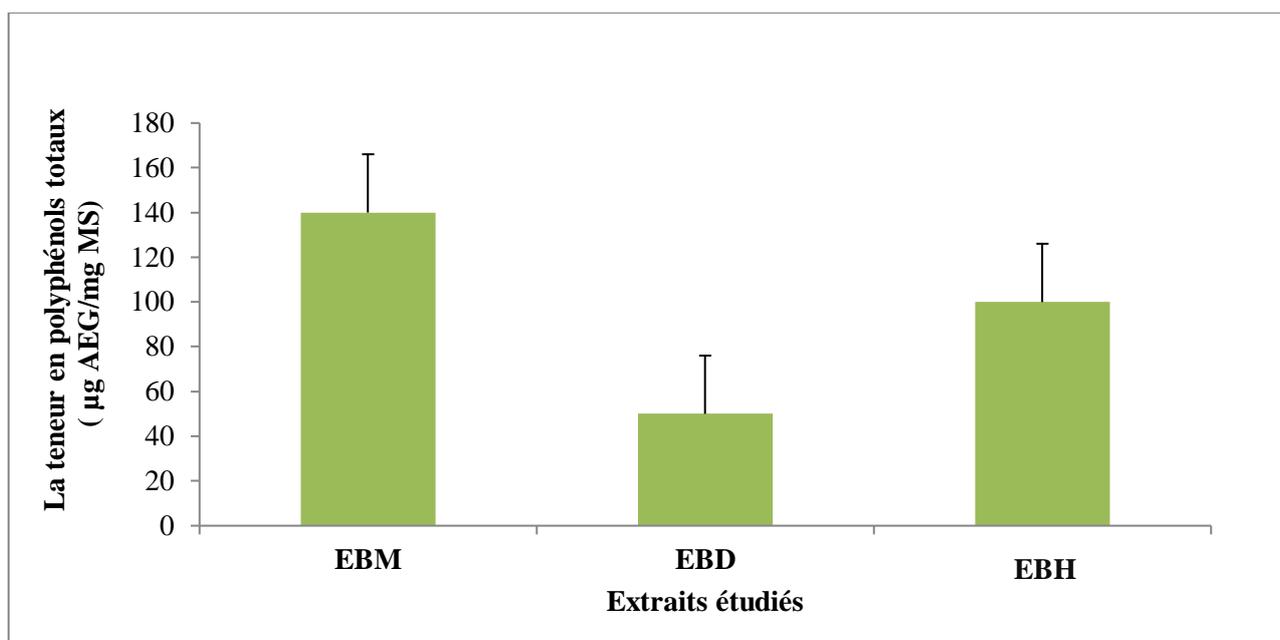


Figure 9: La courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits bruts hydrométhanoliques (EBM et EBD) et de l'huile (EBH), des graines d'*Elettaria cardamomum* sont présentées dans la (**fig.10**) :



EBM : extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ; EBD : extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; EBH : extrait brut hydrométhanolique préparé à partir de l'huile

Figure 10: La teneur en polyphénols totaux des extraits bruts hydrométhanoliques et de l'huile, des graines d'*Elettaria cardamomum*

Le dosage des polyphénols totaux a révélé que l'extrait préparé par macération (EBM) présente la teneur la plus élevée, mesurée à $140 \pm 0,005 \mu\text{g EAG/mg}$. Suivie d'extrait brut hydrométhanolique préparé à partir de l'huile (EBH) et l'extrait hydrométhanolique préparé par décoction (EBD), qui ont montré des teneurs respectives de l'ordre de $100 \pm 0,005 \mu\text{g EAG/mg ES}$ et $50 \pm 0,005 \mu\text{g EAG/mg ES}$.

IV.2 Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été quantifiés en utilisant la méthode spectrophotométrique, qui repose sur l'oxydation des flavonoïdes en milieu alcalin en présence de trichlorure d'aluminium (AlCl_3).

Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent de catéchine par mg de matière végétale sèche ($\mu\text{g EC/mg MS}$) en utilisant l'équation de la régression linéaire ($y=0,0027x$; $R^2=0,997$) de la courbe d'étalonnage tracée de la catéchine (**fig.11**) :

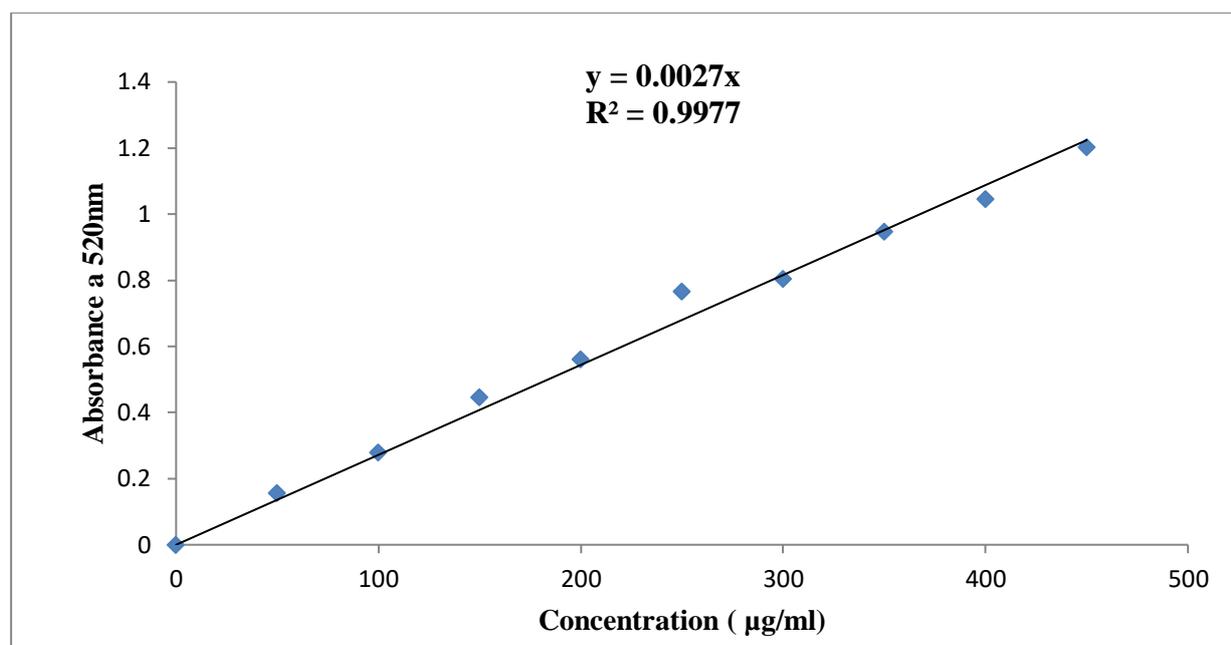
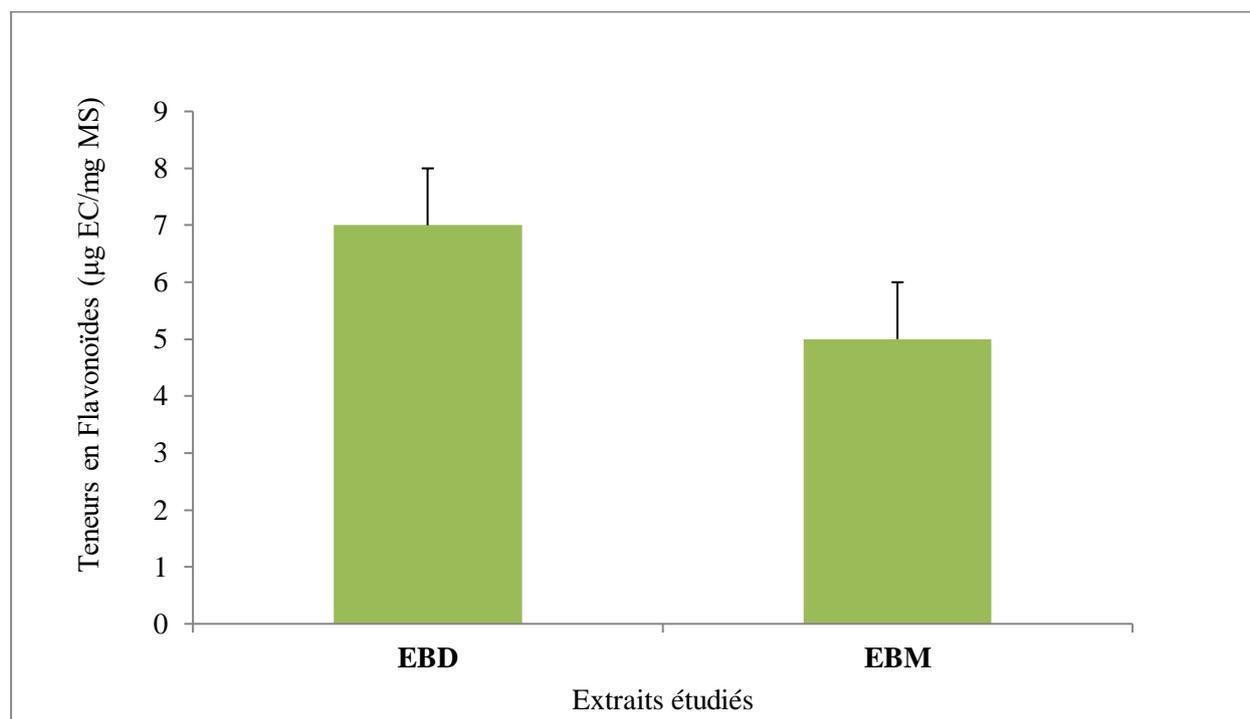


Figure 11: La courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des extraits hydrométhanolique des graines d'*Elettaria cardamomum* sont présentées dans la (Fig.12) :



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

Figure 12: La teneur en flavonoïdes des extraits hydrométhanolique des graines d'*Elettaria cardamomum*

L'extrait brut préparé par décoction (EBD) a enregistré une teneur en flavonoïdes de l'ordre de $07 \pm 0,00115 \mu\text{g EC/mg}$, supérieure par rapport à celle obtenue de l'extrait brut préparé par macération (EBM), qui a enregistré une teneur de l'ordre de $05 \pm 0,00152 \mu\text{g EC/mg ES}$. Cependant, les deux extraits ne présentent pas une richesse notable en flavonoïdes

V Recherche d'activité antioxydante

V.1 Piégeage du radical libre DPPH

Les figures (13), (14), (15) représentent respectivement le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique, de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération (EBM), et de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction (EBD), des graines d'*Elettaria cardamomum* :

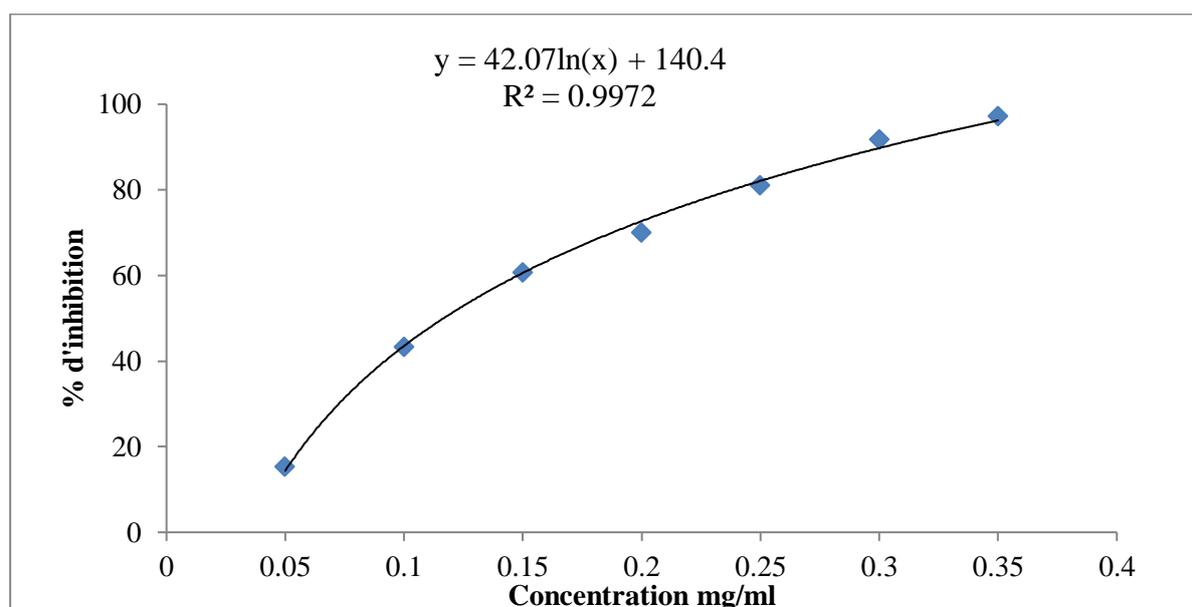


Figure 13: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique

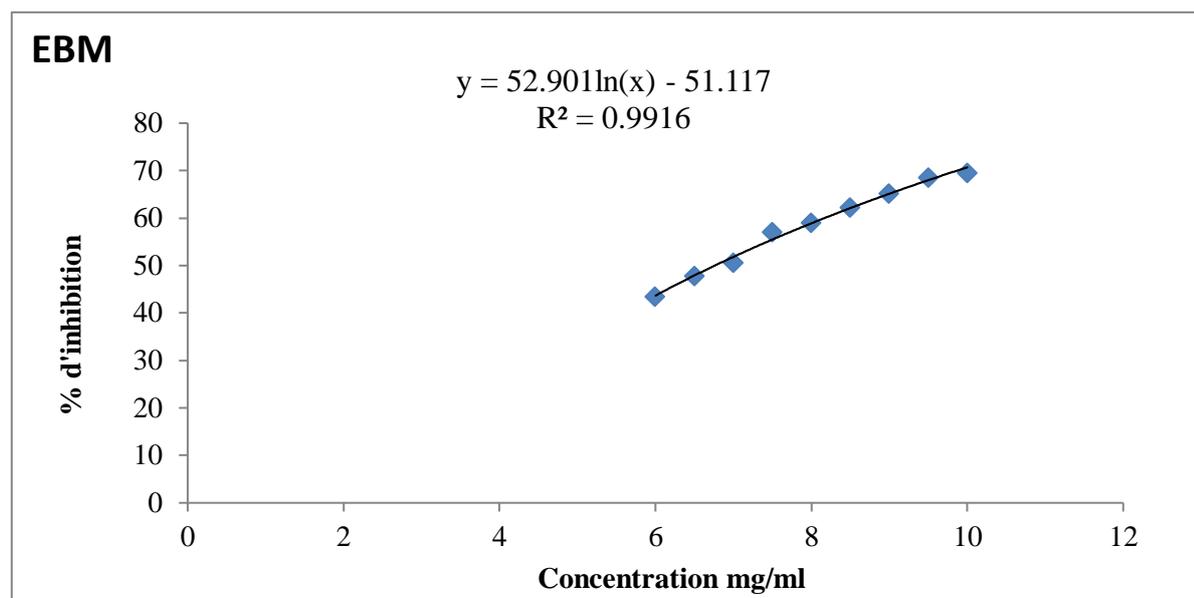


Figure 14: Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait (EBM)

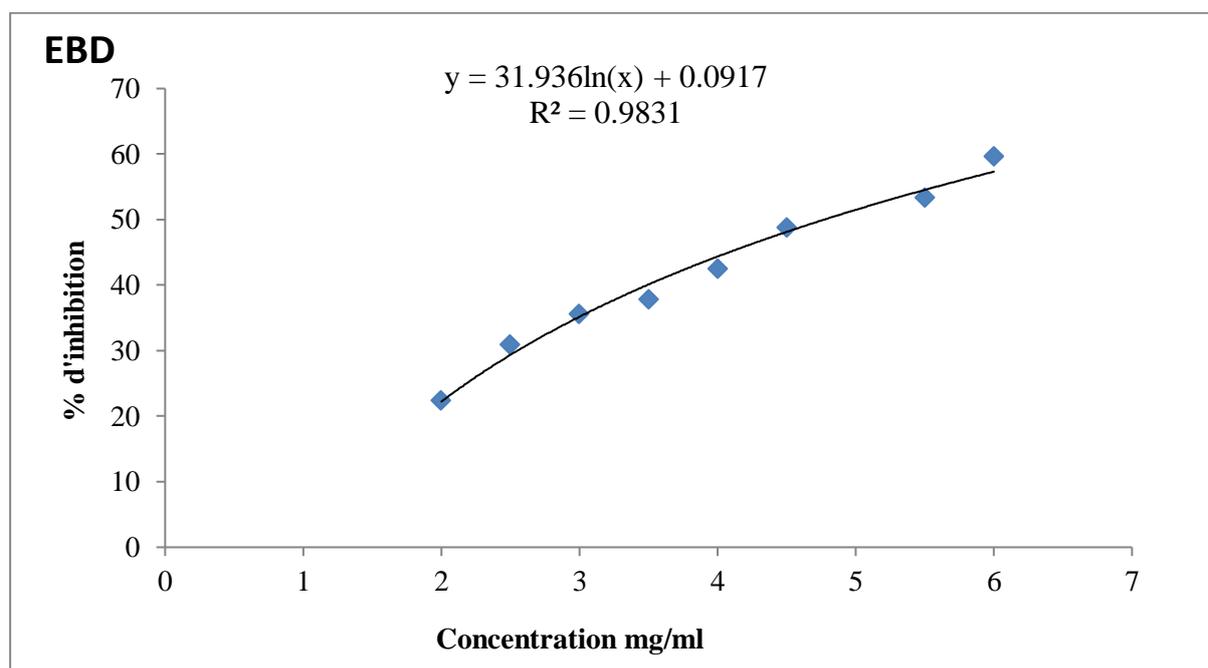
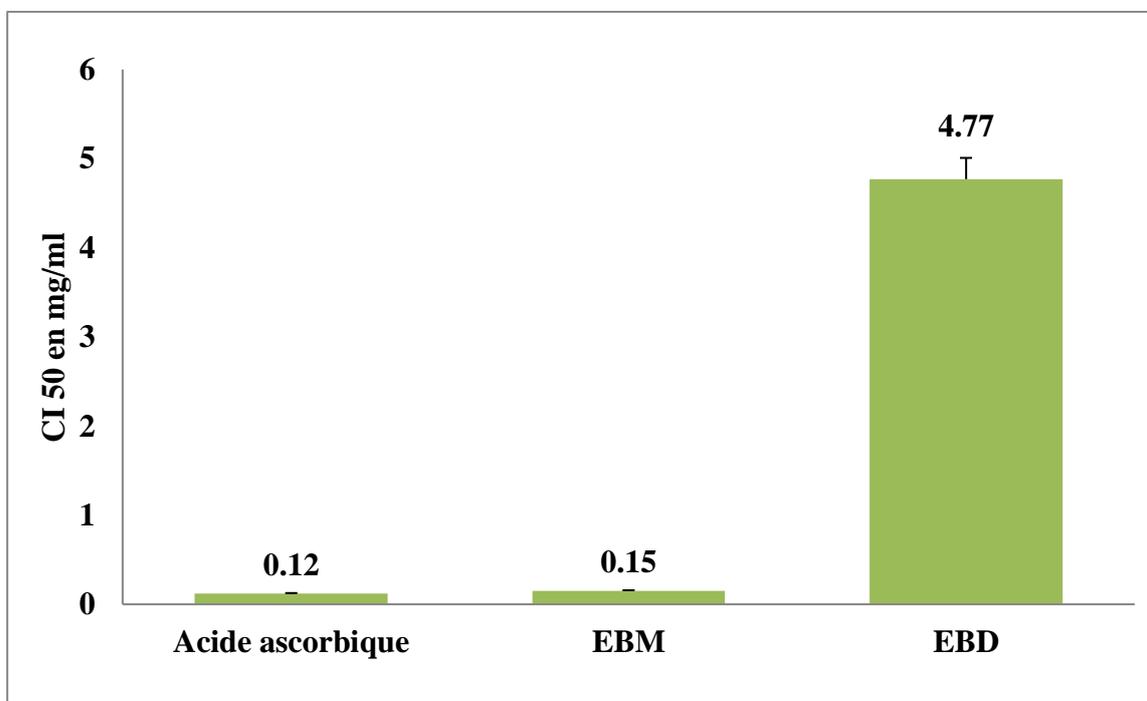


Figure 15: Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait (EBD)

Les valeurs des CI50 de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération (EBM) et de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction (EBD), ainsi que celle de la substance de référence

acide ascorbique, ont été calculées à partir de l'équation des courbes de régression logarithmique des figures (13), (14), (15).

Les résultats des CI50 sont présentés dans la (Fig.16), Cette analyse permet d'identifier l'extrait le plus efficace, caractérisé par la plus faible valeur de CI50.



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

Figure 16: Les valeurs des CI50 de l'acide ascorbique et des extraits bruts (EBM) et (EBD) en mg/ml, des graines d'*Elettaria cardamomum*.

À partir de la (fig.16) la valeur de la CI50 de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction (EBD) est 40 fois supérieure à celle du standard (l'acide ascorbique), tandis que celle de l'extrait brut hydrométhanolique par macération (EBM) est 1,25 fois plus élevée. Cela indique que l'extrait (EBD) présente une activité antioxydante significativement plus faible que celle de l'extrait (EBM), qui montre une activité légèrement supérieure, moins efficace que l'acide ascorbique.

V.2 Test du pouvoir réducteur de fer (FRAP)

Les figures (17), (18), (19) représentent respectivement les résultats du pouvoir réducteur du fer, déterminés à partir des absorbances mesurées en fonction des concentrations d'acide ascorbique, et de l'ensemble des extraits bruts hydrométhanolique (EBM) et (EBD) des graines d'*Elettaria cardamomum* :

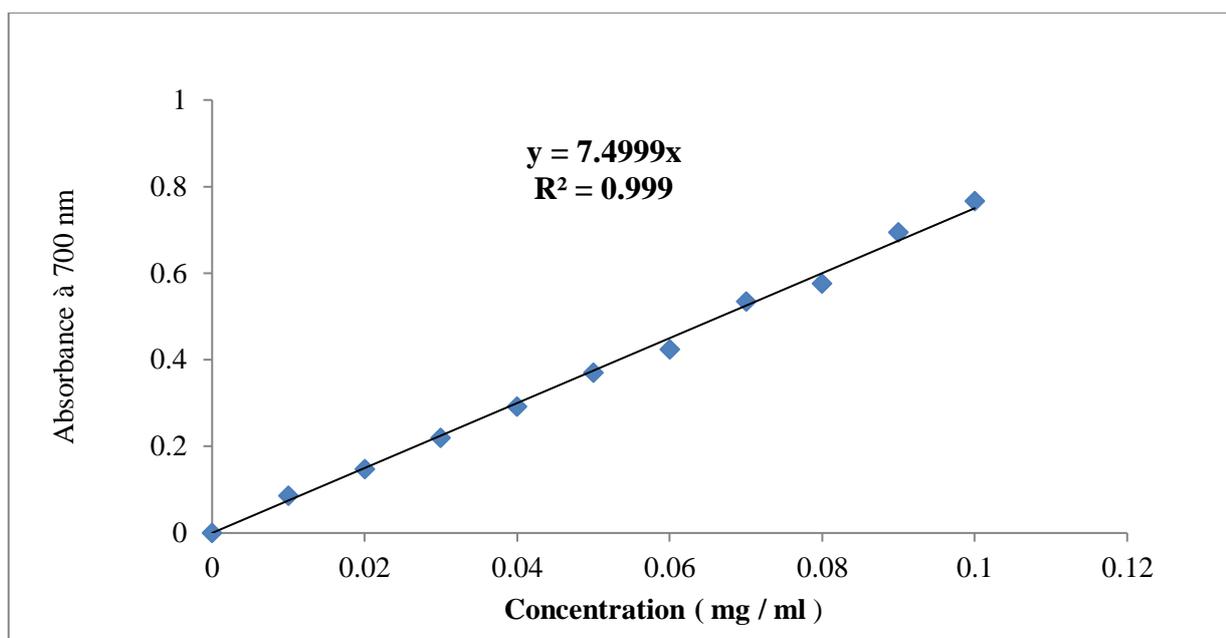


Figure 17: Pouvoir réducteur du fer d'acide ascorbique

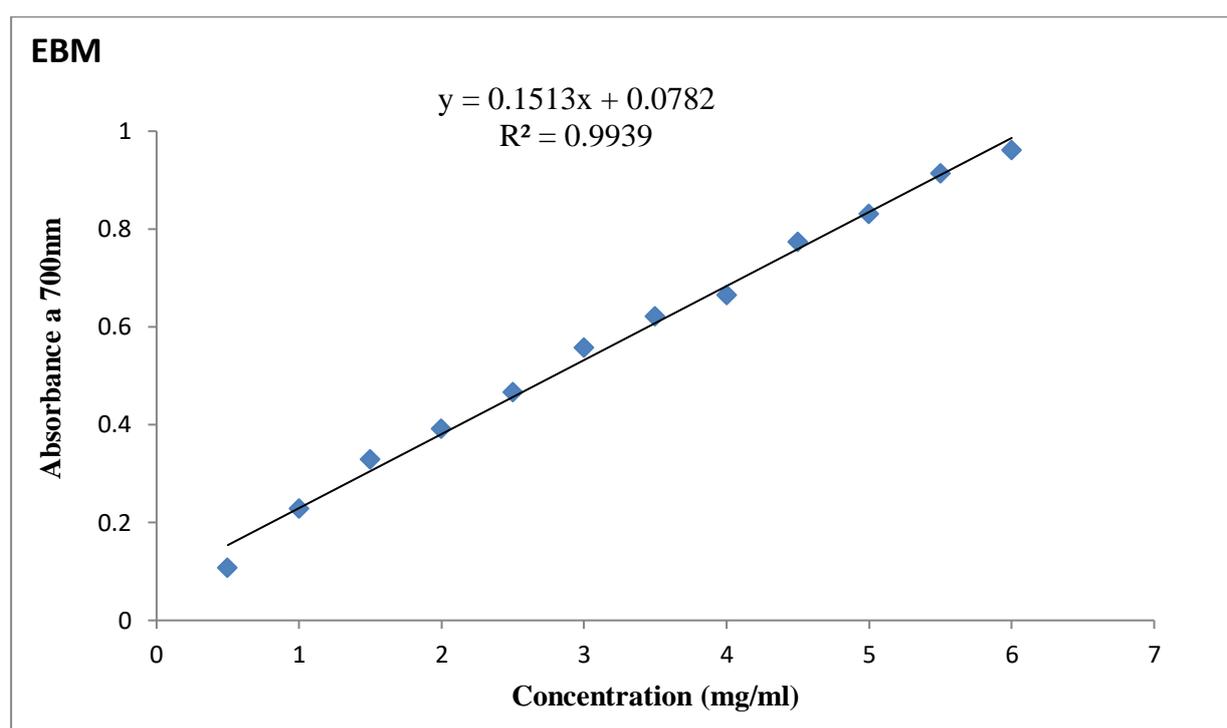


Figure 18: Pouvoir réducteur du fer de l'extrait brut (EBM)

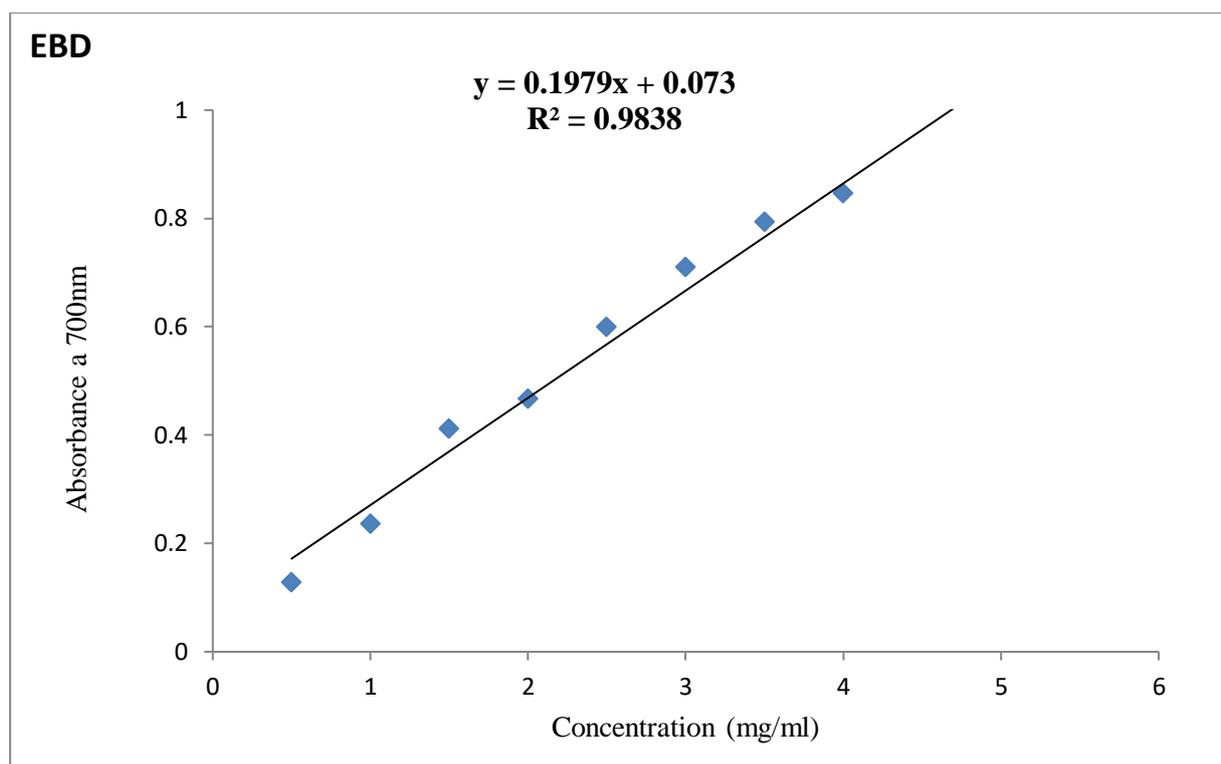


Figure 19: Pouvoir réducteur du fer de l'extrait brut (EBD)

Les valeurs d'EC50 de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération (EBM) et de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction (EBD), ainsi que celle de la substance de référence l'acide ascorbique, ont été calculées à partir de l'équation des courbes régressions linéaires des **figures (17), (18), (19)**, elles sont présentées dans la (**fig.20**) :

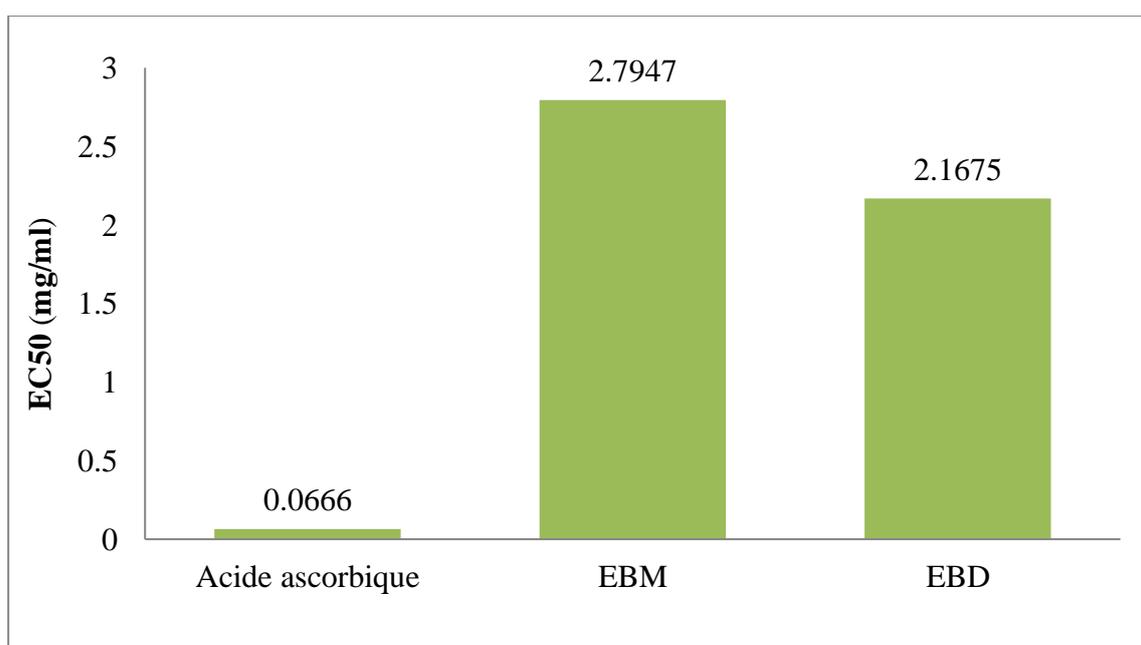


Figure 20: Les valeurs des EC50 du pouvoir réducteur du fer de l'acide ascorbique et des extraits bruts (EBM) et (EBD) en mg/ml, des graines d'*Elettaria cardamomum*.

Les résultats obtenus ont montré que la capacité des extraits à réduire le fer est largement inférieure à celle de l'acide ascorbique. Dans l'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction, le pouvoir réducteur est plus prononcé, avec une valeur de EC50 de l'ordre de 2,17 mg/ml), comparativement à l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération, qui a présenté une valeur d'EC50 de l'ordre de 2,79mg/ml.

VI L'analyse chimique d'huile

Afin d'évaluer les résultats de l'analyse chimique de notre huile extraite des grains d'*E.cardamomum*, nous nous appuyons sur les normes générales établies par le **Codex Alimentarius (CODEX-STAN 210-1999)** concernant les propriétés des huiles végétales raffinée.

Étant donné que l'extraction par solvant a été réalisée à chaud, il est envisageable que les résultats puissent être altérés lors d'une extraction à froid (ultrasons, presse, enzymatique).

Les résultats des différents indices sont présentés dans le **tableau 08** :

Tableau 8: Résultats de l'analyse chimique de l'huile extraite des grains d'E. cardamomum

Indice	Valeur obtenue	Normes (CODEX-STAN 210-1999)
Indice d'acide	0,0423 mg KOH/g d'huile	≤ 0,6 (mg KOH/g)
Indice de saponification	190,74 mg KOH/g d'huile	189-195,2 (mg KOH /g)
Indice d'ester	186,51	186-187,94
Indice de peroxyde	0 m Eq/kg	≤ 10 (m Eq/kg)

Tous les indices se situent tous dans les plages normales définies par les normes CODEX-STAN 210-1999, indiquant globalement une bonne qualité de l'huile. Notamment, l'indice de peroxyde, qui reflète le degré d'oxydation de l'huile, et qui peut indiquer sa fraîcheur et sa stabilité, une valeur de 0 est excellente et bien en dessous de la norme de 10 m Eq/kg, ce qui suggère que l'huile est fraîche et non oxydée.

Discussion

Dans notre étude, nous avons réalisé une recherche visant à analyser les composants phytochimiques des extraits bruts hydrométhanoliques des graines d'*Elettaria cardamomum*, obtenus par décoction et macération après extraction de leur huile fixe obtenue par méthode Soxhlet. Nous avons mesuré les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans ces extraits, ainsi que leur capacité à piéger les radicaux libres DPPH et à réduire le fer ferrique en fer ferreux, afin d'évaluer leur activité antioxydante. De plus, nous avons procédé au dosage des polyphénols de l'huile extraite et à une analyse chimique de celle-ci en utilisant les indices d'acide, de saponification, d'ester et de peroxyde.

Les rendements des extraits bruts hydrométhanoliques préparés par macération et décoction obtenus dans cette étude étaient respectivement d'ordre de 10,16% et 5,04%.

Le rendement d'EBM est supérieur à ceux obtenus dans l'étude menée par (**Bhatti et al., 2010**) sur différents extraits méthanoliques des graines d'*E.cardamomums* obtenus par macération (30% méthanol, 50% méthanol, 70% et méthanol absolu). Les rendements ont varié de 7,9 % à 9,4 %, le meilleur résultat étant obtenu avec l'extrait méthanolique à 70 %.

Par ailleurs, nous avons enregistré un rendement d'extraction d'huile fixe par Soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant d'extraction d'ordre 19,86%.

Shabana Ban, (2016), a enregistré un rendement de 43,76%, après extraction par Soxhlet d'huile des graines d'*E.cardamomum* provenant d'Inde en utilisant du méthanol.

Par contre, **Razboršek et al., (2021)**, ont noté seulement un rendement de 3,74% d'huile des graines d'*E.cardamomum* provenant du Guatemala, par ultrasons, en utilisant trois solvants d'extraction : méthanol à 80%, éthanol à 80% et de l'eau.

Les tests phytochimiques que nous avons réalisé sur les deux extraits bruts hydrométhanoliques obtenus par décoction (EBD) et macération (EBM) des graines d'*Elettaria cardamomum* ont révélé la présence d'alcaloïdes, de tanins, de quinones libres, ainsi que de composés réducteurs, et une forte indication de la présence de terpénoïdes. En revanche, les anthraquinones, les saponines, les flavonoïdes et les coumarines étaient absents dans l'ensemble des extraits.

L'analyse phytochimique faite par **Shaban et al .,(2016)** sur l'extrait hydrométhanolique des graines d'*E.cardamomum* venants d'Inde, a montré aussi une forte présence de terpénoïdes, ainsi que de flavonoïdes. Cependant les tests pour les alcaloïdes, les tanins, les quinones libres, les saponines, et les polyphénols étaient négatifs.

Les travaux réalisés par **Ardakania et al., (2017)** ont montré que l'extrait méthanolique des graines venantes d'Iran, contient les tanins et les flavonoïdes. Tandis que les alcaloïdes et les saponines sont

absents. En outre, de plus grandes quantités de kaempferol, de rutine et la quercétine ont été observées en utilisant la chromatographie sur couche mince.

Les analyses phytochimiques quantitatives effectuées sur les grains d'*E. cardamomum* ont permis de déterminer les teneurs en composés phénoliques. Pour l'extrait brut méthanolique (EBM), une teneur élevée en polyphénols totaux de l'ordre de $140 \pm 0,005 \mu\text{g EAG/mg ES}$ a été quantifiée. L'extrait brut (EBD) a révélé une teneur inférieure de $50 \pm 0,005 \mu\text{g EAG/mg ES}$. Concernant les flavonoïdes, une teneur de l'ordre de $7 \pm 0,00115 \mu\text{g EC/mg ES}$ a été obtenu pour l'EBD, tandis que l'EBM a présenté une teneur de l'ordre de $5 \pm 0,00152 \mu\text{g EC/mg ES}$.

Cependant, ces teneurs sont différents de ceux rapportés précédemment dans la littérature. En effet, **Ninfali et al., (2005)** et **Souri et al., (2008)** ont signalé des concentrations respectives de 148 mg/100g MS et 84,19 mg/100g MS pour les polyphénols totaux pour des extraits méthanoliques de la même espèce végétale. De plus, une étude menée par **Ho et al.,(2008)** a révélé une teneur très élevée en flavonoïdes de $226 \pm 29,8 \text{ mg EC/g MS}$ pour un extrait méthanolique.

Les travaux de **Chaleshtor et Chaleshtori., (2017)** sur l'extrait éthanolique des fruits d'*E. cardamomum* rapportent des valeurs de $19,27 \pm 0,02 \text{ mg EAG/g MS}$ pour les polyphénols totaux et $18 \pm 0,021 \text{ mg ER/g MS}$ pour les flavonoïdes. D'autre part, l'étude de **Kandikattua et al., (2017)** sur l'extrait hexanique de ces grains a montré des teneurs de $24 \pm 1,88 \text{ mg EAG/g MS}$ pour les polyphénols totaux et $13 \pm 1,14 \text{ mg EC/g MS}$ pour les flavonoïdes. Les teneurs des polyphénols sont inférieurs à celles obtenues dans notre étude, En revanche, les concentrations en flavonoïdes déterminées par ces auteurs sont supérieures aux résultats issus de notre travail.

Les niveaux de composés phénoliques varient en fonction de l'origine géographique de la plante, des méthodes d'extraction et de la polarité des solvants (**Djeridane et al., 2013 ; Gao M et Liu C Z., 2005**). La génétique, le climat, la période de récolte et les conditions de stockage influencent également ces teneurs (**Podsędek.,2007 ; Falleh et al., 2008**). Dans notre étude sur la cardamome, le faible taux de composés phénoliques totaux pourrait s'expliquer par le fait que la diosmine, son composé phénolique majoritaire (**Feng Y et al.,2020**) est pratiquement insoluble dans l'eau et peu soluble dans les solvants organiques polaires comme l'éthanol ou le méthanol (**Anwer et Shakeel.,2015**). Nous pouvons aussi suggérer que certains de ces composés pourraient avoir été retenus dans l'huile après son extraction par Soxhlet.

Le potentiel antioxydant de nos extraits a été évalué par deux méthodes : le test au DPPH pour mesurer la capacité de piégeage des radicaux libres, et le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) pour déterminer la capacité réductrice équivalente en fer ferreux.

Concernant le test au DPPH, les valeurs des concentrations inhibitrices médianes (CI50) déterminées graphiquement pour chaque extrait présentent des écarts notables. Alors que l'extrait EBD affiche une CI50 de 4,77 mg/ml, traduisant une capacité antiradicalaire relativement faible, l'extrait EBM a révélé une CI50 de 0,15 mg/ml. Cette dernière valeur est proche de celle obtenue pour l'acide ascorbique (0,12 mg/ml), ce qui suggère un pouvoir piègeur de radicaux libres DPPH très élevé pour l'extrait EBM.

Nos résultats diffèrent des données antérieures rapportant des CI50 de $167,29 \pm 1,72$ µg/ml (**Souri et al., 2008**), $217,431$ µg/ml (**Sultana et al., 2010**), $681,5 \pm 8,4$ µg/ml, (**Khalaf et al., 2008**) et $464 \pm 28,3$ µg/mL (**Kandikattua et al., 2017**) pour les extraits de graines d'*E. cardamomum* obtenus par macération. Bien qu'inférieures à notre extrait brut hydrométhanolique obtenu par décoction (4,77 mg/ml). Ces valeurs restent largement supérieures à la CI50 de 0,15 mg/ml obtenue pour notre extrait (EBM), indiquant un meilleur pouvoir antiradicalaire pour ce dernier.

Pour le test FRAP, les résultats indiquent que la capacité des extraits à réduire le fer est nettement moindre que celle de l'acide ascorbique, molécule de référence (EC50 = 0,06 mg/ml). Cependant, les deux extraits hydrométhanoliques ont montré des valeurs d'EC50 très similaires, variant entre 2,17mg/ml pour (EBD) et 2,79mg/ml pour (EBM).

Ces résultats restent inférieurs à celui obtenu par **Deepa G et al., (2013)**, où ils ont enregistré une EC50 de $4,6 \pm 0,08$ mg/g pour extrait méthanoliques des graines d'*E. cardamomum*.

La teneur en polyphénols totaux enregistrée pour notre huile extraite par Soxhlet était de $100 \pm 0,005$ µg EAG/mg ES. Cette valeur dépasse nettement les résultats obtenus par **Molaveisi et al., (2020)**, qui ont noté une valeur de polyphénols de l'ordre de 214,35 mg EAG/ 100 g MS), dans l'huile des graines d'*E. cardamomum*, préparées par hydro-distillation, ainsi que les résultats de **Imtara et al., (2022)** qui ont enregistré des teneurs variables en polyphénols des huiles des graines d'*E. cardamomum*, préparées par l'hydro-distillation, en utilisant différents solvants : 33.45 ± 0.35 pour l'extrait éthanolique, 31.06 ± 2.10 pour l'extrait méthanolique, et 20.36 ± 1.25 mg GAE/g ms pour l'extrait chloroformique.

Ces résultats mettent en évidence le potentiel antioxydant notable de notre huile, souligné par ses niveaux élevés de polyphénols totaux.

En outre, des études récentes ont été menées sur l'huile de cardamome en raison de ses bienfaits potentiels, cependant, des interrogations subsistent quant à son utilisation dans l'industrie alimentaire. Les résultats de l'analyse chimique de l'huile extraite à partir des graines d'*E. cardamomum*, ont été conformes aux normes du Codex Alimentarius. Ils confirment la qualité d'huile. En particulier, l'indice de peroxyde, un indicateur crucial du degré d'oxydation et de la fraîcheur de l'huile, qui a noté une

valeur de 0, largement inférieur à la norme de 10. Ce résultat indique une fraîcheur et une stabilité remarquables de l'huile, ce qui conforte sa qualité globale. Par conséquent, les résultats obtenus valident l'utilisation de cette huile dans l'industrie alimentaire.

Conclusion
et
perscriptives

Le présent travail de recherche a permis d'évaluer le potentiel antioxydant et de caractériser le profil phytochimique des extraits bruts hydrométhanoliques des graines *d'Elettaria cardamomum*, ainsi que de l'huile extraite par Soxhlet. Les résultats obtenus mettent en exergue des propriétés antioxydantes prometteuses.

Les analyses phytochimiques réalisées sur les extraits bruts hydrométhanoliques obtenus par décoction (EBD) et macération (EBM) des graines ont révélé la présence d'alcaloïdes, de tanins, de quinones libres, de composés réducteurs ainsi que de terpénoïdes. L'extrait brut méthanolique (EBM) s'est révélé riche en polyphénols totaux par rapport à l'extrait préparé par décoction, avec une teneur de $140 \pm 0,005$ μg équivalents d'acide gallique/mg d'extrait sec. Cet extrait a démontré une activité antiradicalaire puissante lors du test au DPPH, affichant une (CI50) de 0,15 mg/ml. Cette valeur est comparable à celle de l'acide ascorbique utilisé comme contrôle positif (0,12 mg/ml), témoignant ainsi d'une remarquable capacité de piégeage des radicaux libres.

Quant à l'huile extraite par Soxhlet, sa teneur en polyphénols totaux de $100 \pm 0,005$ μg EAG/mg ES témoigne d'un potentiel antioxydant notable, semble être à l'origine de l'indice de peroxyde de 0 obtenu, qui confirme sa fraîcheur et sa stabilité exceptionnelles, garantissant ainsi sa qualité.

Ces résultats ouvrent des perspectives prometteuses pour l'exploitation des graines de cardamome et de leur huile comme sources naturelles d'antioxydants dans divers domaines, notamment l'agroalimentaire, la cosmétique et la pharmacie. Des études supplémentaires seraient pertinentes pour approfondir l'identification structurale précise des composés phytochimiques responsables de l'activité antioxydante observée. Leur innocuité et leurs mécanismes d'action antioxydants spécifiques mériteraient également d'être investigués. Par ailleurs, des essais *in vivo* permettraient d'évaluer leurs éventuels bénéfices sur la santé, comme des propriétés anti-inflammatoires, anticancéreuses ou de prévention des maladies liées au stress oxydatif. Enfin, l'optimisation des procédés d'extraction visant à augmenter les rendements en molécules bioactives constituerait une piste intéressante pour valoriser pleinement le potentiel de cette épice.

*Références
bibliographiques*

Aggarwal, B. B., & Kunnumakkara, A. B. (2009). Molecular targets and therapeutic uses of spices: modern uses for ancient medicine. Ed. World Scientific. <https://doi.org/10.1142/7150>.

Ahmed, A. S., Ahmed, Q. U., Saxena, A. K., & Jamal, P. (2017). Evaluation of in vitro antidiabetic and antioxidant characterizations of *Elettaria cardamomum* (L.) Maton (Zingiberaceae), *Piper cubeba* L. f. (Piperaceae), and *Plumeria rubra* L. (Apocynaceae). Pakistan journal of pharmaceutical sciences, 30(1) :113-126.

Alam, K., Pathak, D., & Ansari, S. H. (2011). Evaluation of anti-inflammatory activity of Amomum subulatum fruit extract. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research, 3(1): 35-37

Al-Yousef, H. M., Alqahtani, A. S., Hassan, W. H., Alzoubi, A., & Abdelaziz, S. (2021). Chemical Profile, In Vitro Antioxidant, Pancreatic Lipase, and Alpha-Amylase Inhibition Assays of the Aqueous Extract of *Elettaria cardamomum* L. Fruits. Journal of Chemistry. <https://doi.org/10.1155/2021/5583001>.

Aneja, K.R., & Joshi, R. (2009). Antimicrobial activity of Amomum subulatum and *Elettaria cardamomum* against dental carries causing microorganisms. Ethnobot. Leaflets, 13: 840-849.

Anwer, M.K., & Shakeel, F. (2015) Measurement and correlation of solubility of diosmin in four pure solvents and β -cyclodextrin solution at 298.15 K to 333.15 K. Chin. J. Chem. Eng.23, 812–815.

Arunachalam, P., & Wimpelupessey. (2005) . Can Indian Cardamom Regain Its Enviably Status?" Facts for You, 25, (4): 21-25.

Arvy, M. P., & Gallouin, F. (2015). Épices, aromates et condiments. Editions Belin.

Ashokkumar, K., Murugan, M., Dhanya, M.K. (2019). Warkentin, T.D., Botany, traditional uses, phytochemistry and biological activities of cardamom [*Elettaria cardamomum* (L.) Maton] – A critical review, Journal of Ethnopharmacology; 246. DOI: 10.1016/j.jep.2019.112244.

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

Belaïch R., & Boujraf S. (2015) . Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. Médecine des maladies métaboliques.10(1):38-42

Berger M.M. (2006) . Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances : Nutrition clinique et métabolisme ; 20 : 48-53

Bhattacharjee, S., Rana, T., Sengupta, A. (2007). Inhibition of lipid peroxidation and enhancement of GST activity by cardamom and cinnamon during chemically induced colon carcinogenesis in Swiss albino mice. Asian Pac J Cancer Prev, 8, 578- 582

Bhatti, H. N., Zafar, F., Jamal, M. A. (2010). Evaluation of phenolic contents and antioxidant potential of methanolic extracts of green cardamom (*Elettaria cardamomum*). Asian Journal of Chemistry, 22, 4787.

Bisht, V. K., Negi, J. S., Bh, A. K., Sundriyal, R. C. (2011). Amomum subulatum Roxb: Traditional, phytochemical and biological activities-An overview. African Journal of Agricultural Research, 6, 5386-5390

Bisht, V. K., Negi, J. S., Bh, A. K., Sundriyal, R. C. (2011). Amomum subulatum Roxb: Traditional, phytochemical and biological activities-An overview. African Journal of Agricultural Research, 6, 5386-5390.

Botineau, M. (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Tec & doc.

Boullard, B. (1997). La nature des arômes et des parfums : chefs d'œuvre du monde vivant. Paris : Estem ; 1995. 223

Brenneisen, P., Steinbrenner, H, Sies H. (2005). Selenium, oxidative stress, and health aspects : Mol Aspects Med: 2005; 26: 256-267

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

Çekiç, S.D., Çetinkaya, A., Avan, A.N., Apak, R. (2013). Correlation of Total Antioxidant Capacity with Reactive Oxygen Species (ROS) Consumption Measured by Oxidative Conversion. *J. Agric. Food Chem.* 61, 5260–5270

Chaleshtor, S., et Chaleshtori, S. (2017). Reza Sharafati Chaleshtori , Farhad Sharafati-Chaleshtor : in vitro antibacterial and antioxidant properties of Elettaria cardamomum Maton extract and its effects, incorporated with chitosan, on storage time of lamb meat . Veterinary Archives 87(3):301-315

Christine Poirel. La cardamome : de l'Inde à l'officine. Sciences pharmaceutiques. 2017. Hal-01947060f.

Cronquist, A. (1981). An Integrated System of Classification of Flowering Plants, Colombia. Univercity Press. New York : 1753.

Dae-ok, Kim ., Chang Yong Lee (2004).Comprehensive Study on Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Various Polyphenolics in Scavenging a Free Radical and its Structural Relationship. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 44: 253–273.

Das, I., Acharya, A., Berry, D. L., Sen, S., Williams, E., Permaul, E., Saha, T. (2012). Antioxidative effects of the spice cardamom against non-melanoma skin cancer by modulating nuclear factor erythroid-2- related factor 2 and NF-κB signalling pathways. British Journal of Nutrition, 108, 984-997.

Deepa, G., Ayesha, s., Nishtha, K., Thankamani, M. (2013). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phytochemical compounds of Indian culinary spices . internation Food research journal 20(4) : 1711-1716.

Djeridane, A., Hamdi, A., Bensania, W., Cheifa, K., Lakhdari, I., Yousfi, M.(2015). The in vitro evaluation of antioxidative activity, α -glucosidase and α -amylaseenzyme inhibitory of natural phenolic extracts. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews, 9, 324-331.

El-Haci. I. A.(2015). Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales endémiques du sud de l'Algérie : Ammodaucus leucotrichus Coss. Et Dur., Anabasis aretioides Moq. Et Coss. Et Limoniatrum feei (Girard) Batt. Thèse de doctorat, Université abou-bekr-belkaid tlemcen, 188p

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331, 372-379.

Favier, A. (2003) . Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *l'actualité chimique* N°270.

Feng Y.; Dunshea, F.R.; Suleria, H. A. R. (2020). LC-ESI-QTOF/MS characterization of bioactive compounds from black spices and their potential antioxidant activities. *J. Food Sci. Technol.* 2020, 57, 4671–4687

Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015) : Measurement of antioxidant activity , *journal of functional food* , 18 , 757-781

Gao, M., & Liu, C. Z. (2005). Comparison of techniques for the extraction of flavonoids from cultured cells of *Saussurea medusa* Maxim. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, 1461-1463.

Goudable, J., Favier A. (1997) : Radicaux libres oxygénés et antioxydants : *Nutr Clin Métabol* ; 11 : 115-20

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10): 628-638.

Ho, S. C., Tsai, T. H., Tsai, P. J., Lin, C. C. (2008). Protective capacities of certain spices against peroxynitrite-mediated biomolecular damage. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 920-928.

Irina, G.M., & Constantin, A. (2021) . Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *J. Mol. Sci.* , 22(7), 3380

Iserin, P., Masson, M., Restellini, J. P. (Eds.). (2007). *Encyclopédie des plantes médicinales.* Larousse.

Ivanović, M., Makoter, K., Islamčević Razboršek, M. (2021). Comparative Study of Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils and Crude Extracts of Four Characteristic Zingiberaceae Herbs. *Plants*, 10, 501. <https://doi.org/10.3390/plants10030501>

Jafri, M. A., Javed, K., & Singh, S. (2001). Evaluation of the gastric antiulcerogenic effect of large cardamom (fruits of *Amomum subulatum* Roxb). *Journal of Ethnopharmacology*, 75(2-3), 89-94.

Jamal, A., Siddiqui, A., Aslam, M., Javed, K., & Jafri, M. A. (2005). Antiulcerogenic activity of *Elettaria cardamomum* Maton. and *Amomum subulatum* Roxb. seeds.

Jessie, S.W., & Krishnakantha, T.P. (2005). Inhibition of human platelet aggregation and membrane lipid peroxidation by food spice, saffron. *Mol. Cell Biochem.*, 278: 59-63.

Kandikattu, H. K., Rachitha, P., Jayashree, G. V., Krupashree, K., Sukhith, M., Majid, A., Khanum, F. (2017). Anti-inflammatory and anti-oxidant effects of Cardamom (*Elettaria repens* (Sonn.) Baill) and its phytochemical analysis by 4D GCXGC TOF-MS. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 91, 191-201.

Khalaf, N. A., Shakya, A. K., Al-Othman, A., El-Agbar, Z., Farah, H. (2008). Antioxidant activity of some common plants. *Turkish Journal of Biology*, 32, 51-55.

- Kikuzaki, H., Kawai, Y., & Nakatani, N. (2001).** 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical-scavenging active compounds from greater cardamom (*Amomum subulatum* Roxb.). *Journal of nutritional science and vitaminology* , 47(2), 167-171
- Kralova, K. et Jampilek, J. (2021).** Responses of medicinal and aromatic plants to engineered nanoparticles *Applied Sciences*, 11(4), 1–44
- Kubo, I., Himejima, M., & Muroi, H. (1991).** Antimicrobial activity of flavor components of cardamom *Elettaria cardamomum* (Zingiberaceae) seed. *Journal of agricultural and food chemistry* , 39(11), 1984-1986
- Lim, T. K. (2013).** *Elettaria cardamomum*. In *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants* (pp. 818-827). Springer, Dordrecht.
- Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S. (2004).** Comparative analysis of the oil and supercritical CO₂ extract of *Elettaria cardamomum* (L.) Maton. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 52, 6278-6282.
- Martínez-Cayuela, M. (1995)** Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*. 77: 147-161.
- Masoumi-Ardakani, Y., Mahmoudvand, H., Mirzaei, A., Esmaeilpour, K., Ghazvini, H., Khalifeh, S., Sepehri, G. (2017)** .The effect of *Elettaria cardamomum* extract on anxiety-like behavior in a rat model of post-traumatic stress disorder. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 87, 489-495.
- Mehrotra, N., Jadhav, K., Rawalgaonkar, S., Khan, S. A., & Parekh, B. (2019).** In vitro evaluation of selected Indian spices for α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities and their spice-drug interactions. *Annals of Phytomedicine*, 8(2), 43-54.
- Moharram, H.A.; Youssef, M.M(2014).** Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review. *Alex. J. Food Sci. Technol.* 11, 31–42.
- Molaveisi M., Noktehsanj Avval M., Shahidi Noghabi M., Mohammadi M.(2020).** Chemical Composition, Antiox - idant Potential, and Antimicrobial Activity of *Elettaria cardamomum* Infection Epidemiology and Mi - crobiology. *Essential Oil. Infection Epidemiology and Microbiology*;6(1):51-62
- Ragubeer, N ., Beukes, D.R., Limson, J.L. (2010)** .Critical assessment of voltammetry for rapid screening of antioxidants in marine algae , *food chemistry* , 121 , 227-232
- Nair, K. P. (2006).** The agronomy and economy of cardamom: the —queen of spices. *Advances in agronomy*, 91, 179-471
- Ninfali, P., Mea, G., Giorgini, S., Rocchi, M., Bacchiocca, M. (2005).** Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. *British Journal of Nutrition*, 93, 257-266.
- Panda, H. (2003).** *Herbal Foods and its Medicinal Values*. National Institute of Industrial Re.
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante : *Nutrition clinique et métabolisme* : 16 : 233-239
- Podsędek, A. (2007).** Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables : A review. *LWT-Food Science and Technology*, 40, 1-11.

- Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K (2005).** Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chem.* 53, 4290–4302
- Ravindran, P. N., & Madhusoodanan, K. J. (Eds). (2003).** Cardamom: the genus *Elettaria*. CRC Press.
- Santos, F.A., Silva, R.M., Tomé, A.R., Rao, V.S., Pompeu, M.M., Teixeira, M.J., De Freitas, L.A. and de Souza, V.L.(2001)** 1,8-cineole protects against liver failure in an in-vivo murine model of endotoxemic shock. *Journal of pharmacy and pharmacology* 53, 505-511.
- Sengottuvelu, S. (2011).** Cardamom (*Elettaria cardamomum* Linn. Maton) seeds in health. In *Nuts and seeds in health and disease prevention*. Academic Press. 285-291.
- Sengupta, A., Ghosh, S., Bhattacharjee, S. (2005).** Dietary cardamom inhibits the formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in mice and reduces COX-2 and iNOS expression in the colon. *Asian Pac J Cancer Prev*, 6, 118-122.
- Sereshti, H., Rohanifar, A., Bakhtiari, S., & Samadi, S. (2012).** Bifunctional ultrasound assisted extraction and determination of *Elettaria cardamomum* Maton essential oil. *Journal of Chromatography A*, 1238, 46-53.
- Shabana, B., Nashrah, A., Sharma, K.A. (2016)** .Phytochemical screening and evaluation of antimicrobial and anti-oxidant activity of *Elettaria cardamom*(Cardamom) . *journal of Applied and Natural Science* 8 (4): 1966-1970
- Sharma, S., Sharma, J., & Kaur, G. (2011).** Therapeutic uses of *Elettaria cardomum*. *International Journal of Drug Formulation and Reseach*, 2(6), 102-108
- Siddeeg, A., AlKehayez, N.M., Abu-Hiamed, H.A., Al-Sanea, E.A., AL-Farga, A.M. (2021)** . Mode of action and determination of antioxidant activity in the dietary sources: An overview. *Saudi J. Biol. Sci.* 28, 1633–1644
- Devaux, S., Jean-Marie, P. (2001)** / *Plantes aromatiques et condimentaires*. Artémis – 2001. P107.
- Sophia Jorite. (2015).** *La phytothérapie, une discipline entre passé et futur : de l’herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel*. Sciences pharmaceutiques. dumas-01188820
- Sorg, O. (2004)** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus aaaBiologies.* 327: 649-662.
- Souri, E., Amin, G., Farsam, H. (2008).** Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16, 83-87.
- Sultana, S., Ripa, F. A., Hamid, K. (2010).** Comparative antioxidant activity study of some commonly used spices in Bangladesh. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13, 340.
- Suneetha, W.J. and Krishnakantha, T.P. (2005)** cardamom extract as inhibitor of human platelet aggregation. *Phytotherapy research* 19, 437- 440.
- Tan, N., Liew and Sulaiman Rahman (2018).** Antioxidant and Oxidative Stress: A Mutual Interplay in Age-Related Diseases. *Journal of Frontiers in Pharmacology* 9: 1162.
- Tarfaoui, K., Brhadda, N., Ziri, R., Oubihi, A., Imtara, H., Haida, S., Al kamaly, O.M., Saleh, A., Parvez, M.K., Fettach, S. (2022).** Chemical Profile, Antibacterial and Antioxidant Potential

of *Zingiber officinale* Roscoe and *Elettaria cardamomum* (L.) Maton Essential Oils and Extracts. *Plants*.11(11):1487

Teuscher, E., Anton, R., et Lobstein, A. (2005). Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc éditions, Paris.

Verma, S.K., Rajeevan, V., Bordia, A., Jain, V. (2010). Greater cardamom (*Amomum subulatum* Roxb.) – A cardio-adaptogen against physical stress. *J. Herb. Med. Toxicol.*, 4(2): 55-58

Vermerius, W., & Nicholson, R. (2006). Isolation and Identification of Phenolic Compounds. In: *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer, Dordrecht, p. 35-191.

Vishwakarma, S., Chandan, K., Jeba, R. C., Khushbu, S. (2014). Comparative study of qualitative phytochemical screening and antioxidant activity of *Mentha arvensis*, *Elettaria cardamomum* and *Allium porrum*. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 4, 2538-56.

Wright, J.S., Johnson, A.E.R., DiLabio, G.A. (2001). Predicting the Activity of Phenolic Antioxidants: Theoretical Method, Analysis of Substituent Effects, and Application to Major Families of Antioxidants. *J. Am. Chem. Soc.* 123, 1173–1183.

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.

Zillich, O. V., Schweiggert- Weisz, U., Eisner, P., Kerscher, M. (2015). Polyphenols as active ingredients for cosmetic products. *International Journal of Cosmetic Science*, 37 (5): 455-464.