

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Abderrahman Mira de Bejaia
Faculté des sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires

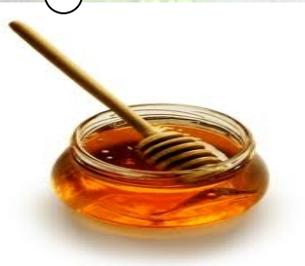
Mémoire de Fin de Cycle

Mémoire de Fin de Cycle

En vue d'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Contrôle de Qualité et Analyses

Thème

Étude comparative de la composition phénolique et du pouvoir antioxydant des extraits de *Zingiber officinalis* dans l'eau, le miel et l'huile d'olive.



Réalisé par :

Idir Lila
Ouahrani Sara



Membres du Jury :

Promotrice : M^{me} Boucheffa-Guendouze. N.
Co-promoteur : M^f Bouderies.H
Présidente : M^{me} Fella-Timzi. S.
Examinatrice 1: M^{me} IKhenach. F.
Examineur 2: M^f Boukhalfa. F.

Année 2011/2012

Created with

 **nitroPDF** professional

download the free trial online at nitropdf.com/professional



Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier le «BON DIEU» le tout puissant de nous avoir accordé patience, courage et volonté afin de réaliser mener à terme ce modeste travail.

Nous avons l'honneur et le plaisir d'exprimer notre profonde Gratitude à M^{me} Guendouze notre promotrice pour avoir accepté de nous encadrer, pour ses remarques, ses conseils et ses Orientations.

Les membres de jury d'avoir accepté d'évaluer et d'examiner ce travail.

Tout le personnel du laboratoire ZBS pour leur aide, leurs conseils et leur gentillesse surtout M^r Dahmoune farid, et Rimini housine, Dairi sofiane qui nous ont vraiment aidé durant la période du stage et nous ont entouré de leurs générosité et sa sympathie.

Toute personne qui a contribué à la réalisation de ce modeste, vraiment un grand merci pour eux.





DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail :

*Aux deux êtres qui me sont les plus chers au monde
mon père et ma mère à qui je dois le mérite d'être
arrivée là, qu'ils trouvent ici l'expression de ma
profonde gratitude et mon affection.*

A mes très chers frères :

Hakim et Salah

A mes très chères sœurs :

Ghania, Karima, Fatima, Souad et Souraya

A ma belle sœur : Salima

A mes nièces :

*Amel, Nour el Houda, Hassiba, Milissa, Imane et
Chaiema*

A mon neveu : Fahem

*A tous mes amies : Keltoum, Saïda, Zahra, Mounira,
Salma et Sara*

A mon binome, ma copine, Sara et à tout sa famille.

A tous les étudiants des deux promotions CQA et SA (2012).

LILA

Created with

 **nitro**PDF[®] professional

download the free trial online at nitropdf.com/professional



DÉDICACES

Au nom d'ALLAH le tout miséricordieux, le très miséricordieux " Gloire à toi nous n'avons de savoir que ce que tu nous as appris, certes c'est toi l'omniscient, le sage " saint Coran. Sourate 2 - Verset 32.

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour

A ceux qui m'ont encouragé et soutenues dans les moments les plus difficiles

A vous mes chers parents Le plus beau cadeau que Dieu puisse faire à un enfant, pour leur amour et leur support continu.

Que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de ma profonde reconnaissance pour tout ce que vous avez fait pour moi.

A mes chères frères Samir et Faycal et leurs épouses Naima et Malika.

A mon chère frère Docteur OUAHRANI Tarek, pour son aide, ses conseils, et son soutien tout au long de mon cursus universitaire.

A ma chère et unique sœur Docteur OUAHRANI Amina, qui est un exemple pour moi. A mon beau frère Nabil.

A mes adorables nièces et neveux que dieux les protège : Fairouze, Mellissa, Roumaissa, Amine, Maria, Kamil, Bilal et Badereddine

A mon adorable petit voisin Rayane.

A mes cousines : Ryma, Karima, Sakina, Sabine, Fatima

J'adresse aussi mes dédicaces à mes amies avec qui j'ai passé des moments agréables, en particulier à: Nadjet, Sara, Hannane, Manel, et Soussou.

A mon binome, ma copine, Lila pour sa patience et a tout sa famille.

A tous les étudiants des deux promotions CQA et SA (2012).

SARA

Created with

 **nitro**PDF[®] professional

download the free trial online at nitropdf.com/professional

Liste des abréviations

Liste des abréviations

- **AOX**: Antioxydant
- **AVC**: Accidents Vasculaires Cérébraux
- **BBBS**: Biochimie, Biophysique, Biomathématique et Scientométrie
- **BSA**: Sérum Albumine Bovine.
- **CAT**: Catalase
- **CAR** : Caroténoïdes.
- **COI**: Conseil Oléicole Internationale
- **DPPH** : 1,1- Diphényl-2-Picrylhydrazyl.
- **EAG**: Equivalent Acide Gallique.
- **ERO**: Espèces Réactives de l'Oxygène
- **EAM**: Extraction Assistée par Micro-ondes
- **EAT** : Equivalent Acide Tannique.
- **EQ** : Equivalent Quercétine.
- **Fe²⁺** Fer ferreux.
- **Fe³⁺** Fer ferrique
- **FeCl₃**: Chlorure ferrique.
- **GSHPx**: Glutathion Peroxydases
- **H₂O₂**: Peroxyde d'Hydrogène
- **HDL**: Lipoprotéine de Haute Densité.
- **IC₅₀** : Concentration d'Extrait inhibant 50% de radicaux
- **LDL**: Lipoprotéine de Faible Densité
- **MC**: Maladies Coronariennes.
- **O₂^{-•}** : Superoxyde
- **pH** Potentiel Hydrogène.
- **PF**: Poids frais
- **SOD**: Superoxyde Dismutase
- **SDS**: Sodium Dodesyl Sulfate
- **TCA**: Acide Trichloracétique
- **TEA**: Triéthanolamine

Liste des figures

Numéro de la figure	Titre de la figure	Numéro de la page
1	Rhizome du gingembre.	2
2	Zingiber officinalis.	3
3	Principales structures des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques.	11
4	Structure de base d'un flavonoïde.	11
5	Structure chimique d'un tanin hydrolysable.	12
6	Structure chimique d'un tanin condensé.	12
7	Formes actives de l'oxygène dans la cellule.	15
8	Production et neutralisation des espèces réactives de l'oxygène.	17
9	Photographie du four micro-ondes.	21
10	Procédure d'extraction des composés phénoliques.	23
11	Mécanisme de réaction de chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes.	25
12	Mécanisme réactionnel de la réduction du radical DPPH°.	26
13	Histogramme récapitulatif de la composition polyphénolique des extraits de <i>Zingiber officinalis</i> . dans l'eau, le miel, l'huile d'olive.	33
14	Effet scavenger des extraits de <i>Zingiber officinalis</i> vis-à-vis le radical DPPH°.	34
15	Pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium des trois extraits du gingembre et du standard.	36
16	Pouvoir réducteur des trois extraits du <i>Zingiber officinalis</i> par le phosphomolybdate d'ammonium.	38

Liste des tableaux

Numéro du tableau	Titre du tableau	Numéro de page
I	Classification et dénomination internationale de <i>zingiber officinallis</i>	2
II	Composition chimique du gingembre.	3
III	Propriétés pharmacologiques du gingembre.	4
IV	Propriétés biologiques du miel.	6
V	Propriétés biologiques de l'huile d'olive.	8
VI	Principales classes de composés phénoliques.	10
VII	Activités biologiques des composés phénoliques.	13
VIII	Différents radicaux libres.	15
IX	Description des différents échantillons utilisés.	20
X	Résultats du dosage des polyphénols totaux.	29
XI	Résultats du dosage des flavonoïdes.	31
XII	Résultats du dosage des tanins totaux.	32
XIII	Résultats des IC ₅₀ (mg/mL) pour le test au DPPH°.	35
XIV	Résultats des IC ₅₀ (mg/ml) du pouvoir réducteur par le ferricyanure de potassium.	36
XV	Résultats des IC ₅₀ (mg/ml) du Pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium.	38

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 1

Partie théorique

Chapitre I

I.Généralités	2
I.1.Gingembre (<i>Zingiber officinalis</i>).....	2
I.1.1. Classification et dénomination internationale.....	2
I.1.2. Description botanique	3
I.1.3.Composition chimique	3
I.1.4. Propriétés pharmacologiques du gingembre.....	3
I.2. Miel.....	5
I.2.1.Composition du miel.....	5
I.2.2.Propriétés biologiques du miel.....	5
I.3.Huile d'olive.....	7
I.3.1. Composition chimique de l'huile d'olive.....	7
I.3.2.Bienfaits de l'huile d'olive sur la santé.....	7

Chapitre II

II. Composés phénoliques.....	9
II.1. Définition	9
II.2. Biosynthèse des composés phénoliques.....	9
II.3. Classification des composés phénoliques	9
II.3.1. Composés phénoliques simples.....	10
II.3.2. Acides phénoliques.....	10
II.3.3. Flavonoïdes.....	11
II.3.4. Tanins	11
II.4. Propriétés biologiques des composés phénoliques.....	12
II.4.1.Propriété antioxydante.....	13

II.4.2. propriété antibactérienne.....	13
II.4.3. propriété anti-inflammatoire	13

Chapitre III

III. Activité antioxydante.....	14
III.1. Généralités	14
III.2. Radicaux libres	14
III.2.1. Radicaux libres primaires.....	16
III.2.2. Radicaux libres secondaires.....	16
III.3. Stress oxydant.....	16
III.4. Antioxydants	16
III.4.1. Principaux antioxydants.....	17
III.4.1.1. Enzymes endogènes.....	17
III.4.1.2. Apport exogène.....	18

Partie pratique

Chapitre IV

IV. Matériel et méthodes	20
IV.1. Matériel	20
IV.2. Méthodes.....	21
IV.2.1. Extraction des composés phénoliques assistée par micro-onde	21
IV.2.1.1. Chauffage au four à micro-ondes.....	21
IV.2.1.2. Principe d'extraction.....	21
IV.2.1.3. Facteurs influençant l'extraction.....	22
IV.2.2. Préparation des extraits.....	22
IV.2.3. Dosage des composés phénoliques	24
IV.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	24
IV.2.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	24
IV.2.3.3. Dosage des tanins totaux.....	25
IV.2.4. Détermination de l'activité antioxydante.....	26
IV.2.4.1. Test au DPPH.....	26
IV.2.4.2. Pouvoir réducteur	27

Chapitre V

V. Résultats et discussion.....	29
V.1. Dosages des composés phénoliques	29
V.1.1. Teneur en polyphénols totaux	29
V.1.2. Teneur en flavonoïdes.....	31
V.1.3. Teneur en tanins totaux	32
V.2. Activité antioxydante.....	34
V.2.1. Test au DPPH°.....	34
V.2.2. Pouvoir réducteur.....	35
Conclusion	40

Références bibliographiques

Annexes

Glossaire

Introduction

Élément indispensable à la vie, l'oxygène est également à l'origine de toxicité, d'altération, et de la dégénérescence dans l'organisme (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**). Toutefois, il peut former des espèces partiellement réduites et fortement toxiques appelées les radicaux libres ou encore les espèces réactives de l'oxygène (ERO). Aux doses faibles, les ERO sont très utiles pour l'organisme et jouent des rôles importants dans divers mécanismes physiologiques. Aux doses excessives, les ERO deviennent néfastes et toxiques pour l'organisme (**Favier, 2003**).

La surproduction des ERO au delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies telles que les maladies coronariennes (MC), les accidents vasculaires cérébraux (AVC), les cancers, la maladie d'Alzheimer, le diabète et l'hypertension (**Lean et Burns, 2001**). Pour lutter contre ces radicaux libres nocifs, notre organisme possède des systèmes de défense antioxydants, certains sont endogènes, alors que d'autres sont obtenus à partir de molécules apportées par l'alimentation (exogènes) (**Lacan, 2001**).

L'action protectrice des aliments est donc attribuée à la présence des nutriments antioxydants, spécialement les vitamines antioxydantes telles que les vitamines C et E. Toutefois, l'activité antioxydante est aussi liée à la présence des composés phénoliques qui renforcent l'efficacité du système antioxydant (**Fokou et al., 2008**).

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes comme les polyphénols, les vitamines et les caroténoïdes. De multiples études ont été faites sur les plantes médicinales telles que *Zingiber officinalis* (gingembre) et sur d'autres aliments comme le miel et l'huile d'olive ce qui dénote toute l'importance accordée à la médecine traditionnelle.

Le but de ce travail consiste en une étude comparative de la composition phénolique et de l'activité antioxydante des extraits gingembre-eau, gingembre-miel et gingembre-huile d'olive.

La première partie est consacrée à l'étude bibliographique incluant quelques généralités sur le gingembre, le miel et l'huile d'olive, des notions générales sur les composés phénoliques et un aperçu sur l'activité antioxydante.

Dans la deuxième partie, nous avons procédé au dosage des composés phénoliques des différents extraits et à l'étude de leur activité antioxydante par trois tests distincts: le pouvoir réducteur par la méthode du phosphomolybdate d'ammonium et celle du ferricyanure de potassium, et l'étude de l'effet scavenger vis-à-vis du DPPH.

Partie théorique

Chapitre I

Chapitre I

Généralités

I. Généralités

I.1. Gingembre (*Zingiber officinalis*)

Le gingembre, *Zingiber officinalis*, est l'une des espèces les plus largement utilisées de la famille des zingibéracées (**figure 1**). C'est un condiment commun pour divers aliments et boissons. Il a une longue histoire d'une utilisation médicinale qui remonte à 2500 années (**Shukla et Singh, 2007**). Le gingembre a suscité une attention croissante à cause de son activité antioxydante, anti-inflammatoire, antidiabétique et anticancéreuse (**Cheng, et al., 2011**). Sa chimie a été intensivement étudié avec plus de 100 composés identifiés dans les échantillons frais et secs (**Araya et al., 2011**).



Figure 1 : rizhome du gingembre (**Ma et Gang, 2006**).

I.1.1. Classification et dénomination internationale

La classification botanique et la dénomination internationale du gingembre est décrite dans le **tableau I**.

Tableau I: classification et dénomination internationale de *Zingiber officinalis* (**Faivre et al., 2006**).

Classification botanique		Dénomination internationale	
Règne :	Planta	Français :	gingembre
Sous-règne :	Trachéobionta	Anglais :	Ginger
Division :	Magnoliophyta (ou Angiospermes)	Arabe :	Zanjabil, Rasafil
Classe :	Liliopsida (ou Monocotylédones)	Chinois :	sang geung
Sous-classe :	Zingibéridées		
Ordre :	Scitaminales ou zingibérales		
Famille :	Zingibéracées		
Sous-famille :	Zingibéroïdées		
Genre :	Zingiber		

I.1.2. Description botanique

Le gingembre est une plante vivace tropicale herbacée, à port de roseau, qui mesure jusqu'à 3 m de haut. Son rhizome est noueux et parfumé, peau beige pâle, chair jaune pâle juteuse et parfumée. Il devient de plus en plus fibreux avec l'âge, couvert de feuilles écailleuses et pourvu à sa partie inférieure de racines cylindriques. Elle a des fleurs parfumées blanc jaune, avec des trainées rouges sur les lèvres (**figure 2**). (**Faivre et al., 2006**)



Figure2 : Zingiber officinalis. (Ma et Gang, 2006)

I.1.3.Composition chimique

Les constituants du gingembre sont nombreux et changent selon l'origine et l'état des rhizomes qu'ils soient frais ou secs (**Ali et al., 2008**). Ses différents constituants sont résumés dans le **tableau II**. (**Chrubasik et al., 2005**).

Tableau II: composition chimique du gingembre. (**Chrubasik et al.,2005**)

	Rhizome du gingembre (%)
Amidon	60%
Protéines	2.3%
lipides ou des glycolipides	10%
des glucides	12,3%
les fibres	2,4%
Composés actifs :d'huiles essentielles et oléorésine	5 à 8%

I.1.4. Propriétés pharmacologiques du gingembre

De nombreuses propriétés pharmacologiques et cliniques ont été enregistrées pour cette plante dont le rhizome montre effectivement une activité médicamenteuse (**Faivre., 2006**) (**tableau III**).

Tableau III : propriétés pharmacologiques du gingembre.

Propriétés	Rôles	Références
effet anti-oxydant	Des expériences <i>in vitro</i> et sur des animaux ont montré que le gingembre possède une activité antioxydante et pourrait se protéger contre les dommages des radicaux libres.	(Obob et al., 2010)
Effet anti-microbien	les gingerols empêchent la croissance de <i>Mycobactérium avium</i> et du <i>Mycobactérium tuberculosis</i> . L'extrait du gingembre (10 mg/kg) a une activité antimicrobienne contre <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Escherichia coli</i> et <i>Candida albicans</i>	(Obob et al., 2010) (Ali et al., 2008)
Effet Anti-cancérogène	les propriétés anticancéreuses du gingembre sont attribuables par gingerols, shogaols et zingerones.	(Peng, et al., 2012)
Effet sur le système Cardio-vasculaire	Gingérol et shogaol abaissent de la tension artérielle.	(Favre et al., 2006)
Effet Anti-inflammatoire	Les gingersols inhiberaient la synthèse des prostaglandines et des leucotriènes augmentant ainsi l'aspect antiulcéreux et anti-inflammatoire.	(Favre et al., 2006)
Effet Anti-Diabétique	Les phénols et les flavonoïdes du gingembre sont responsables de activité hypoglycémique.	(Shanmugam et al., 2011)
Effet Gastro-intestinal	Les rats alimentés avec du gingembre pendant 8 semaines montrent une augmentation de l'activité du lipase pancréatique, lipase intestinale, disaccharidases, sucrases et maltase.	(Chrubasik et al., 2005)
Effet anti-Emitique	Chez l'Homme, le gingembre réduit les nausées et vomissements postopératoires.	(Ali, et al., 2008)
Activités en usage Externe	Analgésique, action épilatoire de certains constituants de l'huile essentielle.	(Favre et al., 2006)

I.2. Miel

Le miel est un produit naturel sucré et savoureux, consommé pour sa valeur nutritive élevée et sa contribution dans la santé humaine (**Alvarez-Suarez et al., 2010**).

C'est un produit nutritif contenant de grandes quantités de divers sucres et un peu d'acides aminés, lipides, vitamines et minéraux (**Guo et al., 2011**). Il est une source d'antioxydants qui jouent un rôle important dans la santé humaine en combattant les dommages causés par les agents d'oxydation. (**Ferreira et al., 2009**)

De façon générale, le miel a une importance majeure dans la médecine traditionnelle, Il a été utilisé depuis l'antiquité, et présente un rôle dans le traitement des brûlures, les problèmes gastro-intestinal, d'asthme, les blessures infectées et chroniques, ulcères de peau, des cataractes et d'autres maux d'œil. (**Ferreira et al., 2009**).

I.2.1. Composition du miel

Le miel est constitué d'environ 181 composants (**Küçük et al., 2007**). Chimiquement, le miel comporte les sucres (70–80%), eau (10–20%) (**Ouchemoukh et al., 2007**), c'est une solution sursaturée des sucres, tels que fructose (38%) et le glucose (31%) sont les constituants principaux (**Alvarez-Suarez et al., 2010**), mais également un peu d'autres constituants comme des minéraux, protéines, vitamines, acides organiques, flavonoïdes, les acides phénoliques et des enzymes (**Bertoncelj et al., 2007**). D'autres substances mineures, tels que lipides, acides aminés sont également retrouvés (**Escuredo et al., 2012**).

La composition du miel est plutôt variable et dépend principalement de sa source florale et de certains facteurs externes, tels que les facteurs saisonniers et environnementaux (**Alvarez-Suarez et al., 2010**) et climatiques (**Silici et al., 2010**); et également au cours du traitement et pendant la période de stockage (**Saxena et al., 2010**).

I.2.2. Propriétés biologiques du miel

L'importance médicinale du miel a été documentée dans les littératures médicales les plus anciennes du monde, et depuis le temps antique le miel a été employé pour tous les deux buts alimentaires et médical. Ainsi, une branche alternative de médecine, appelée apitherapy, a été développée ces dernières années, (**Mandal et Mandal, 2011**). Les propriétés biologiques du miel sont résumées dans le **tableau IV**.

Tableau IV : propriétés biologiques du miel

	Propriétés biologiques	Références
Propriétés nutritionnelles	Il est souvent utiliser par les sportifs pour sa haute valeur énergétique : 310Kcal/100g.	(Gout, 2009)
Propriétés anti-inflammatoire	Plusieurs études ont montré l'effet du miel sur les cellules immunocompétentes intervenant lors de l'inflammation.	(Tonks et al., 2001).
Propriétés antibactériennes	Sont liées au niveau du peroxyde d'hydrogène et d'autres facteurs nonperoxide comme lysozyme, acides phénoliques et flavonoïdes. A son pH bas, en plus à sa haute osmomolarité. Il presente un effet inhibiteur autour 60 espèces des bactéries.	(Alvarez-Suarez, et al., 2010) (Bogdanov, 1997) (Mandal et Mandal, 2011)
Propriétés anti-oxydantes	Il a été avéré efficace contre les réactions nuisibles d'oxydation en nourriture. l'activité antioxydante est fortement corrélée avec le contenu en composés phénoliques totaux et avec la couleur du miel.	(Ferreira et al., 2009) (Bertoncelj et al., 2007)
Propriétés thérapeutiques	Les antioxydants du miel, sont efficaces dans la réduction du risque de maladie de coeur, cancer, déficit immunitaire, cataractes, différents processus inflammatoires. Les agents antimicrobiens sont essentiellement importants dans la réduction des maladies infectieuses, cicatrisation rapide des blessures. La stimulation des brûlures curatives et traitement d'ulcères gastriques. Le miel peut favorisez la réparation du muqueuses intestinal endommagé, et stimulez la croissance de nouveaux tissus.	(Bertoncelj et al., 2007) (Mandal et Mandal, 2011) (Alvarez-Suarez et al., 2010) (Ouchemouk et al., 2007)

I.3.Huile d'olive

L'huile d'olive représente le principal corps gras dans le régime méditerranéen et sa consommation représente plus que 50% de toutes les huiles de table (**Cerretani et al., 2009**). C'est un jus huileux extrait des olives, qui possède naturellement des caractéristiques exceptionnelles de parfum et de saveur (**Argenson et al., 1999**). C'est une huile claire, limpide, sans sédiments, de couleur jaune à jaune brune. Elle est parfaitement fluide et onctueuse, son odeur est faible et agréable et sa saveur est douce. Ses qualités varient en fonction de la variété, du degré de maturation des olives et surtout des conditions climatiques (**Perrin, 1992**).

I.3.1. Composition chimique de l'huile d'olive

L'huile d'olive est caractérisée d'une part par sa composition en acides gras, d'autre part par la présence de composants mineurs tels que les antioxydants (**Jacotot, 1997**).

Les composantes de l'huile d'olive sont souvent classées en deux catégories : la fraction saponifiable et la fraction insaponifiable (**Cavalli et al., 2004**).

- **(a) Fraction saponifiable** : Elle représente presque 98% de la composition chimique de l'huile d'olive, elle renferme des triglycérides, des esters d'acides gras ou des acides gras libres non estérifiés (**Cavalli et al., 2004**).
- **(b) Fraction non saponifiable** : Elle représente 2% seulement de la composition totale de l'huile d'olive et elle contient des stérols, hydrocarbures, colorants, phénols, flavonoïdes et composés volatiles (**Cavalli et al., 2004**).

I.3.2. Bienfaits de l'huile d'olive sur la santé

Grâce à sa teneur en acides gras monoinsaturés et à son taux élevé en antioxydants, en stérols, et en vitamines, l'huile d'olive a un impact positif sur diverses maladies (**C.O.I., 2000**). Les propriétés thérapeutiques de l'huile d'olive sont résumées dans le **tableau V**.

Tableau V : propriétés thérapeutiques de l'huile d'olive.

	Propriétés thérapeutique	Références
Effet Anti-cancérogène	<p>Les polyphénols et les acides gras monoinsaturés favorisent la destruction des substances qui facilitent la multiplication des cellules cancéreuses des seins.</p> <p>Les stérols ont également des effets bénéfiques sur le cancer du colon, du sein et de l'estomac.</p>	<p>(C.O.I, 2001)</p> <p>(Canalafuentes, 2003).</p>
Effet sur le système Cardio-vasculaire	<p>L'acide oléique favorise une diminution du risque de maladies cardiovasculaires ; il abaisse le taux de cholestérol total et de LDL dans le sang et il augmente le taux de HDL.</p> <p>les acides gras monoinsaturés permettent de prévenir l'athérosclérose.</p>	(Covas, 2007).
Effet anti-Diabétique	L'huile d'olive intervient dans le contrôle des deux types de diabète (type I et type II). sa consommation permet en effet d'améliorer les niveaux de glucose, et de l'homéostasie et la sensibilité à l'insuline.	(C.O.I, 2000).
Effet anti- vieillissement	<p>L'huile d'olive permet de prévenir l'apparition des lésions cutanées et de diminuer les symptômes de vieillissement de la peau, ainsi que la dégradation de l'ADN cellulaire. Il empêche la dégradation de l'acide hyaluronique qui donne à la peau son aspect de bonne santé.</p> <p>Le squalène présent dans l'huile d'olive, protégerait le cholestérol de la couche cornée contre l'oxydation.</p>	<p>(C.O.I, 2000).</p> <p>(C.O.I, 2000).</p>

Chapitre II

Composés phénoliques

II. Composés phénoliques

II.1. Définition

L'appellation «polyphénols» ou «composés phénoliques» regroupe plus de 8000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun: la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (**Hennebelle *et al.*, 2004**).

II.2. Biosynthèse des composés phénoliques

Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques :

- celle de l'acide shikimique ;
- celle de l'acétate.

De plus, la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte; les flavonoïdes (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

II.3. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (**tableau VI**) qui se différencient par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées), par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation,...), et par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques) (**Macheix *et al.*, 2006**).

Tableau VI: principales classes de composés phénoliques (Macheix *et al.*, 2006).

Structure	Classe
C_6	Phénols simples, benzoquinones
C_6-C_1	Acides hydroxybenzoïques
C_6-C_3	Acides hydroxycinnamiques, coumarines
C_6-C_4	Naphtoquinones
$C_6-C_2-C_6$	Stilbènes, anthraquinones
$C_6-C_3-C_6$	Flavonoïdes, isoflavonoïdes
$(C_6-C_3)_2$	Lignanes, neolignanes
$(C_6-C_3)_n$	Lignines
$(C_6-C_3-C_6)_n$	Tanins

II.3.1. Composés phénoliques simples

Ce sont des dérivés en C_6 du noyau benzénique. Ils sont rares à l'état naturel et sont issus de la décarboxylation de l'acide shikimique. L'hydroquinol, le pyrocatechol et le phloroglucinol sont parmi les phénols simples (Chira *et al.*, 2008).

II.3.2. Acides phénoliques

Ils regroupent deux classes, les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (Macheix *et al.*, 2006).

❖ Acides hydroxycinnamiques

Leur structure de base est de type C_6-C_3 (figure3-a). Ce sont des dérivés de l'acide cinnamique, ils existent généralement sous forme d'esters ou de glycosides. Les plus fréquents sont l'acide p-coumarique et ses isomères (o-et m-coumarique), les acides caféique, sinapique et férulique (Macheix *et al.*, 2006).

❖ Acides hydroxybenzoïques

Ce sont des dérivés de l'acide benzoïque, ils ont une formule de base de type C_6-C_1 (figure3-b). Ces composés sont largement répandus sous forme d'esters ou de glucosides et peuvent également être intégrés dans des structures complexes comme les tanins (Macheix *et al.*, 2006).

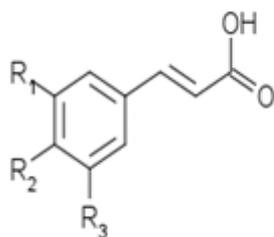
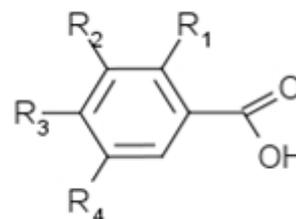
**(a): Acide hydroxycinnamique**R₁=R₂=R₃ = H Acide cinnamiqueR₁=R₃ =H, R₂=OH Acide *p*-coumariqueR₁ =R₂ =OH, R₃ =H Acide caféiqueR₁ =OCH, R₂=OH, R₃ =H Acide FéruliqueR₁=R₃ =OCH, R₂ =OH Acide sinapique**(b): Acide hydroxybenzoïque**R₁=R₂=R₃=R₄=H Acide benzoïqueR₁=R₄=H, R₂=R₃=OH Acide protocatéchiqueR₁=H, R₂=R₃=R₄=OH Acide galliqueR₁=OH, R₂=R₃=R₄=H Acide salicyliqueR₁=R₄=OH, R₂=R₃=H Acide gentisique

Figure 3: les principales structures des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques

(Chira *et al.*, 2008).

II.3.3. Flavonoïdes

La structure de base des flavonoïdes est le noyau flavane qui est composé de 15 atomes de carbone disposés en trois anneaux (C₆-C₃-C₆), qui sont appelés A, B et C (**figure 4**) (Pietta, 2000). Les flavonoïdes sont largement distribués dans les feuilles, graines, écorce et les fleurs de plantes (Heim *et al.*, 2002). Ils constituent les pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge des différents organes végétaux (Ghedira, 2005).

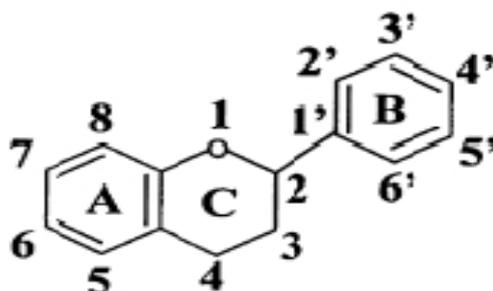


Figure 4: la structure de base d'un flavonoïde (Heim *et al.*, 2002).

II.3.4. Tanins

Les tanins ont un grand nombre de groupes hydroxyles phénoliques libres qui forment des liaisons hydrogène fortes avec les protéines et les précipitent (Reed, 1995). Ils sont généralement subdivisés en deux groupes: les tanins hydrolysables et les tanins condensés ou proanthocyanidines.

❖ Tanins hydrolysables

Ce sont des molécules complexes qui font intervenir des liaisons de type ester et qui donnent par hydrolyse une fraction glucidique et une fraction phénolique (Figure 5) (Reed, 1995).

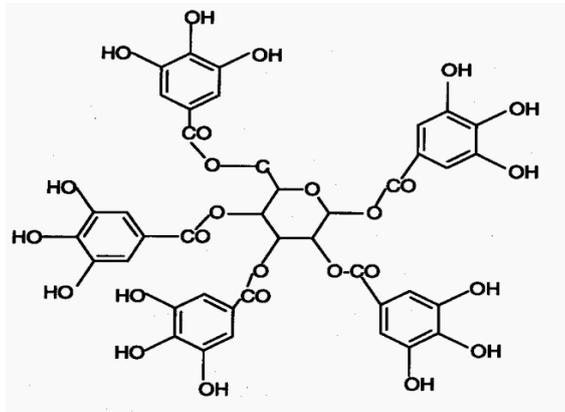


Figure 5: la structure chimique d'un tanin hydrolysable (Apak *et al.*, 2007).

❖ Proanthocyanidines

Les proanthocyanidines ou tanins condensés sont des polymères de catéchines liés par une liaison carbone interflavane, et qui n'est pas sensible à l'hydrolyse (figure 6) (Reed, 1995).

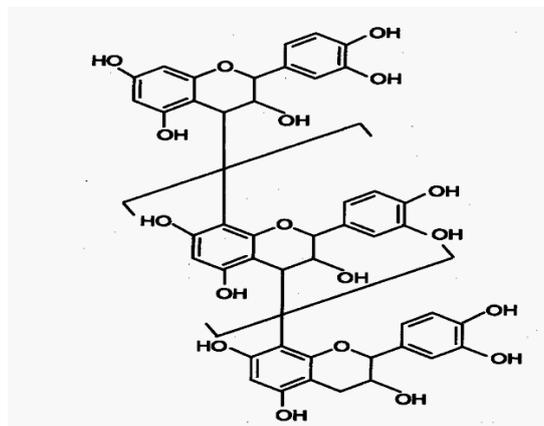


Figure 6 : structure chimique d'un tanin condensé (Apak *et al.*, 2007).

II.4. Propriétés biologiques des composés phénoliques

Les composés phénoliques ont été rapportés pour leurs multiples propriétés biologiques activités anti-inflammatoire, anti-thrombotique, analgésique, antibactérienne, antivirale, anticancéreuse (Babar Ali *et al.*, 2007), anti-allergène (Falleh *et al.*, 2008) et antioxydante (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006).

II.4.1. Propriété antioxydante

Les polyphénols protègent les constituants cellulaires contre les dommages oxydatifs et limitent le risque de beaucoup de maladies dégénératives associées au stress oxydatif (D'Archivio et al., 2007).

II.4.2. propriété antibactérienne

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tanins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes (Zeghad, 2009).

II.4.3. propriété anti-inflammatoire

In vitro, plusieurs flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire. C'est ainsi que la myricétine et la quercétine bloquent l'action des cyclo-oxygénases et des lipoxygénases à des concentrations relativement élevées (Ghedira, 2005).

Les propriétés biologiques de certains composés phénoliques sont résumées dans le tableau VII.

Tableau VII: activités biologiques des composés phénoliques (Bahorun, 1997).

Polyphénols	Activités
Acides phénols (cinnamiques et Benzoïques)	Antibactérienne, antifongique et antioxydante
Coumarines	Protectrice vasculaire et antioedémateuse
Flavonoïdes	Antitumorale, anticarcinogène, anti-inflammatoire, hypotenseur, diurétique et antioxydante
Anthocyanes	Protectrice capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Antioxydante, antitumorale, antifogique, et anti-iflammatoire
Tanins galliques et catéchiqes	Antioxydante

Chapitre III

Chapitre III

Activité antioxydante

III. Activité antioxydante

III.1. Généralités

Dans des conditions normales, notre organisme produit en permanence des molécules oxydantes, ce sont des radicaux libres primaires (O_2^- , OH^- , H_2O_2 ,...). Les systèmes de défense chargés de les éliminer sont constitués d'enzymes antioxydantes (SOD, catalase, peroxydases....), ce sont des antioxydants primaires (**Lacan, 2001**).

Dans certaines conditions (tabac, stress, pollution, radiations solaires,...), notre organisme subit un stress oxydant c'est à dire que la production de radicaux libres primaires augmente très fortement. De ce fait, les systèmes enzymatiques, sont débordés. Les radicaux libres primaires non éliminés vont alors oxyder les constituants cellulaires ce qui engendre la formation de radicaux libres secondaires (ROO^\cdot) qui sont capables de réaction d'oxydation en chaînes ce qui peut entraîner de nombreuses pathologies. Ces phénomènes d'oxydation en chaîne (peroxydation lipidique par exemple) peuvent être ralentis par des antioxydants secondaires (vitamine E, C, polyphénols,...) qui sont apportés par l'alimentation (**Lacan, 2001**).

III.2. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se réappairer, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient une réaction en chaîne (**Favier, 2003**).

Les radicaux libres réagissent avec les tissus voisins causant des lésions oxydatives, lésant ainsi les acides nucléiques, les lipides, les protéines et les hydrates de carbone (**Berger, 2006**).

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie (**Favier, 2003**).

Les principaux radicaux libres et leurs formules chimiques sont présentés dans le **tableau VIII**.

Tableau VIII: différents radicaux libres (Ekoumou, 2003).

Espèces réactives de l'oxygène	Formules chimiques
Oxygène singulet	$^1\text{O}_2$
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Oxygène moléculaire	$^3\text{O}_2$
Anion superoxyde	$\text{O}_2^{\bullet -}$
Radical hydroxyle	OH^{\bullet}
Radical peroxyde	ROO^{\bullet}
Radical hydroperoxyde	HOO^{\bullet}
Radical alkoxyde	RO^{\bullet}
Radical oxyde nitrique	NO^{\bullet}
Peroxinitrite	ONOO^-
Hypochlorite	ClO^-
Hydroperoxyde	ROOH

Parmi toutes les espèces radicalaires, il convient de distinguer les radicaux primaires des radicaux secondaires (Favier, 2003) (figure 7).

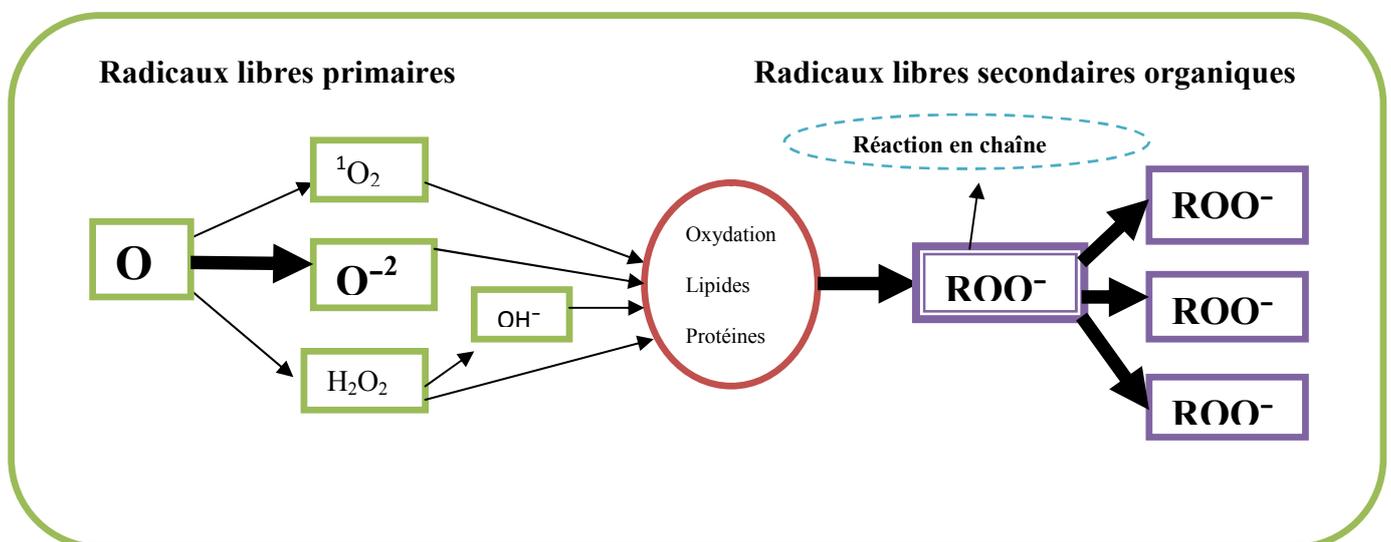


Figure 7 : les formes actives de l'oxygène dans la cellule (Lacan, 2001).

III.2.1. Radicaux libres primaires

Ce sont les plus dangereux car ils sont directement formés à partir de l'O₂. Ce sont le radical superoxyde, le radical hydroxyle, le peroxyde d'hydrogène ou encore l'oxygène singulet (**Lacan, 2001**).

III.2.2. Radicaux libres secondaires

Ils ne sont pas formés spontanément. Ils sont formés par l'action d'un radical libre primaire sur un composant cellulaire (acides nucléiques, lipides membranaires, protéines) (**Lacan, 2001**).

III.3. Stress oxydant

La perturbation de l'équilibre endogène entre radicaux libres et antioxydants, provoque des effets délétères dus, soit à une défense antioxydante défailante, soit à un état pro-oxydatif accru, nommé stress oxydant (**Berger, 2006**).

Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit (**Diallo, 2005**). L'importance des dommages du stress oxydant dépend de la cible moléculaire, de la sévérité de l'effort et du mécanisme par lequel l'effort oxydant est imposé (**Aruoma, 1999**).

Le stress oxydatif est particulièrement lié au développement des maladies coronariennes (MC), des accidents vasculaires cérébraux (AVC), des cancers et de la maladie d'Alzheimer, du diabète, de l'hypertension et des dyslipidémies, de cataracte, et du déclin intellectuel (**Lean et Burns, 2001**).

III.4. Antioxydants

Un antioxydant (AOX) est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient (**Berger, 2006**).

La lutte contre les radicaux libres fait appel à des systèmes non enzymatiques piégeant les radicaux libres (vitamines C, E, caroténoïdes, polyphénols...) et à des systèmes enzymatiques (**Levesque, 2006**).

La production d'ERO (espèces réactives de l'oxygène) et les principaux moyens de neutralisation sont schématisés dans la (figure 8).

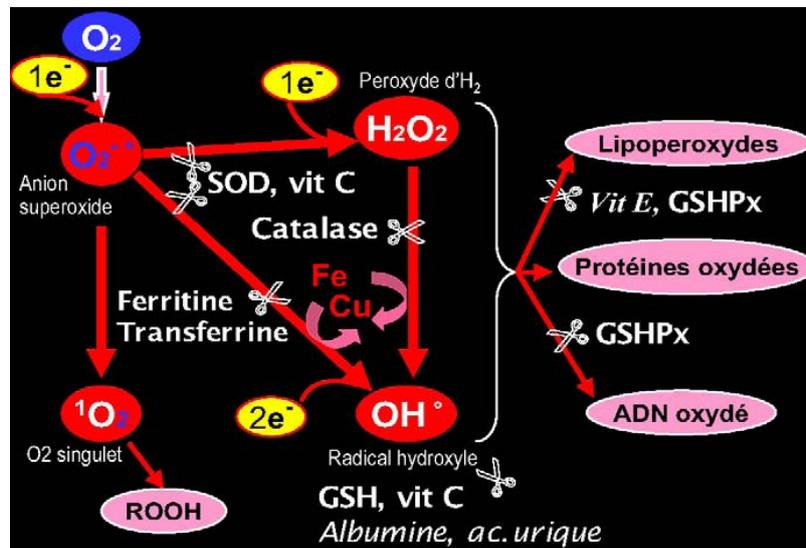


Figure 8: production et neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (Berger, 2006).

III.4.1. Principaux antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés selon leur origine en antioxydants endogènes ou exogènes. Les antioxydants endogènes sont des enzymes dont les plus connues sont produites dans le corps humain (Mates, 2000).

III.4.1.1. Enzymes endogènes

Les enzymes constituent le premier niveau de défense par le contrôle de la formation et de la prolifération des ERO (Césarini, 2004). Les principales enzymes antioxydantes sont la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase (Vincent *et al.*, 2004).

- **Superoxyde dismutase (SOD)**

Elle permet d'éliminer les radicaux superoxydes mais elle provoque l'apparition de peroxyde d'hydrogène (Goudable et Favier, 1997). C'est une des enzymes les plus abondamment synthétisées dans la cellule. La SOD est présente dans tous les compartiments cellulaires où il y a une production d' O_2 (Lacan, 2001).

- **Catalase**

Elle réduit le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en libérant de l'oxygène et de l'eau (Goudable et Favier, 1997).

- **Glutathion peroxydase (GSHPX)**

La GSHPX réduit le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et les hydroperoxydes lipidiques. Pour leur fonctionnement, elle utilise le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur sur lequel elle transfère l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG) (**Goudable et Favier, 1997**).

Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires. De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique (**Lacan, 2001**).

III.4.1.2. Apport exogène

Toutes ces défenses peuvent être renforcées par des apports exogènes en :

- ❖ **Médicaments**

Ils constituent une source importante d'antioxydants. Actuellement, les classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les antihyperlipoprotéïnémiques, les bêta-bloquants et les autres antihypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés anti-oxydantes (**Diallo, 2005**).

- ❖ **Antioxydants naturels**

- **Vitamine C ou acide ascorbique**

Trouvée dans les fruits particulièrement les agrumes, la vitamine C joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E (**Bossokpi, 2002**).

- **Vitamine E ou tocophérol**

Elle prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxydes (**Diallo, 2005**) selon la réaction décrite par **Lecerf et al. (1994)** comme suit :



- **β-carotène**

Outre son activité pro vitaminique A, le β-carotène possède la capacité de capter l'oxygène singulet (**Diallo, 2005**). Les caroténoïdes réagissent suivant cette réaction citée par **Zeb et Mehmood (2004)**.

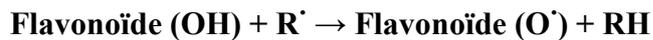


- **Composés phénoliques**

Plusieurs études ont montré que les composés phénoliques possèdent une activité antioxydante plus élevée que celle des vitamines antioxydantes et des caroténoïdes (**Podsdek, 2005**).

- ✓ **Flavonoïdes**

Selon **Ghedira (2005)**, les flavonoïdes ont la capacité de piéger les radicaux libres selon la réaction suivante:



- ✓ **Tanins**

Ces composés sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation (**Diallo, 2005**).

- **Sélénium**

Les effets bénéfiques de cet oligo-élément sur l'organisme ne sont connus que depuis un quart de siècle. Il neutralise les métaux toxiques (plomb, mercure); il aurait aussi une action préventive sur certains cancers (**Diallo, 2005**).

Partie pratique

Partie pratique

Created with

 **nitro**^{PDF} professional

download the free trial online at nitropdf.com/professional

Chapitre IV

Matériel et méthodes

IV. Matériel et méthodes

IV.1 .Matériel

Le présent travail a été réalisé sur les racines fraîches de *Zingiber officinalis*, l'huile d'olive et le miel. La description des différents échantillons utilisés est donnée dans le tableau IX.

Tableau IX : description des différents échantillons utilisés.

	Site de la récolte	Photographie
Le gingembre	Il a été fourni par un herboriste magasinier dans la ville de Bejaïa, il est importé de la chine.	
Le miel	L'échantillon de miel est collecté par un apiculteur de la région d'Amizour en 2011.	
L'huile d'olive	L'huile d'olive utilisée dans cette étude a été produite par des oliviers de la région de khellil de la commune de barbacha de la Wilaya de Bejaia. La présente étude porte sur des échantillons d'huile d'olive de la compagne agricole 2011/2012.	

IV.2. Méthodes

IV.2.1. Extraction des composés phénoliques assistée par micro-onde

Le four micro-ondes (**figure 9**) utilisé au niveau du laboratoire **BBBS**, est une micro-onde domestique qui a été modifiée et qui fonctionne à une fréquence de 2450 MHz avec une puissance de sortie maximale de 1000 Watts (une incrémentation de 100 Watts). Les dimensions de la cavité de chauffage sont de 22,5cm, 37,5cm et 38,6 cm.



Figure 9: photographie du four micro-ondes.

IV.2.1.1. Chauffage au four à micro-ondes

Le transfert de chaleur sous chauffage micro-ondes se fait de l'intérieur vers l'extérieur. Cela veut dire que le volume traité devient lui-même une source de chaleur, ce qui est complètement opposé à ce lui du chauffage conventionnel qui se fait de l'extérieur vers l'intérieur (**Ferhat, 2007**).

IV.2.1.2. Principe d'extraction

Le processus d'extraction est basé sur la capacité d'une matrice à absorber l'énergie du micro-onde. L'efficacité d'absorption est en grande partie liée aux teneurs en eau de la plante. Les molécules d'eau convertissent l'énergie des micro-ondes en chaleur ce qui provoque une élévation soudaine de la température à l'intérieur des cellules. Lorsque ces dernières sont soumises à cette contrainte thermique grave, qui dépasse la capacité de leurs expansions, cela cause leur dislocation plus rapidement et mène le dégagement de leur contenu au milieu de l'extraction (**Chemat et al., 2009**). Le temps réduit n'est pas simplement un avantage économique mais présente également moins de risque de décomposition et d'oxydation des phytoconstituants (**Uttara et al., 2009**).

Il existe deux types d'extraction assistée par micro-ondes :

- **Extraction sans solvant assistée par micro-ondes**

L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes sans ajout d'eau ou de solvant organique (**Lucchesi, 2005**).

- **Extraction avec solvant assistée par micro-ondes**

Cette méthode implique de placer la matière végétale dans un applicateur à micro-onde. L'énergie des micro-ondes est employée pour chauffer le solvant en contact avec les échantillons. Le chauffage interne de l'eau dans la matière végétale permet la rupture des tissus et le dégagement des composés actifs dans le solvant organique (**Lucchesi et al., 2007**).

IV.2.1.3. Facteurs influençant l'extraction

L'efficacité de l'extraction assistée par micro-onde (EAM) se fonde fortement sur le choix des conditions de fonctionnement et des paramètres affectant le mécanisme d'extraction et son rendement. Parmi les facteurs qui peuvent influencer l'exécution de EAM: la nature du solvant, le temps d'extraction, la puissance du micro-onde, la température, et les caractéristiques de l'échantillon (**Chan et al., 2011**).

IV.2.2. Préparation des extraits

Selon **Zou (2002)**, la méthode d'extraction doit permettre une extraction complète des composés recherchés et d'éviter la modification de leur nature chimique.

La procédure d'extraction utilisée est décrite dans la figure 10.

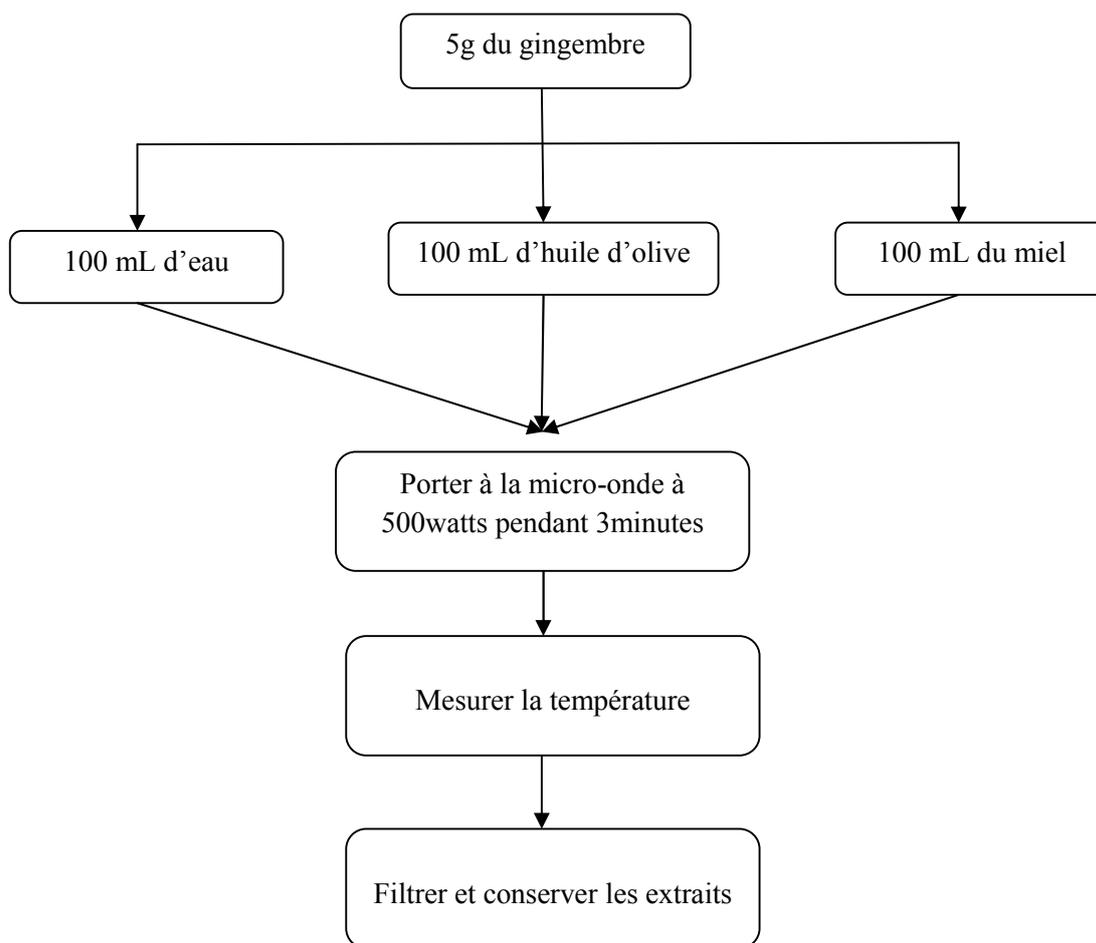


Figure 10: procédure d'extraction.

Pour l'extrait gingembre-huile d'olive, une autre étape est nécessaire afin de récupérer l'extrait polyphénolique. Elle consiste à dissoudre un gramme du mélange gingembre-huile d'olive dans 5 mL d'hexane (99%) et 5 mL de méthanol (50%). La phase méthanolique est ensuite récupérée et un deuxième lavage est réalisé, en ajoutant 3 mL d'hexane. Après centrifugation à 3500 tours/min (centrifugeuse nüve-NF 200) pendant 12 minutes, la phase méthanolique a été récupérée et va servir pour les différents analyses (Papiti et Tsimidou , 2009).

IV.2. 3. Dosage des composés phénoliques

IV.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

❖ Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Ce réactif est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène (**Boizot et Charpentier, 2006**). La coloration bleu produite est proportionnelle à la teneur en composés phénoliques (**Madi, 2010**).

❖ Mode opératoire

La teneur des composés phénoliques totaux dans les trois extraits, telle qu'elle est décrite par **Bramorski et al. (2011)**, est déterminée par la méthode de Folin –Ciocalteu selon le protocole suivant :

- 100 μ L de chaque solution d'extrait est mélangé à 2mL d'eau distillée ;
- 500 μ L du réactif de Folin-Ciocalteu est ensuite ajouté ;
- laisser réagir pendant deux minutes ;
- ajouter 1.5 mL de la solution de monocarbonate de sodium (20%) ;
- agiter et incuber à l'obscurité pendant deux heures à la température ambiante ;
- après incubation, les absorbances sont lues au spectrophotomètre (de marque SpectroScan 50) à 765nm.

La concentration des composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (**annexe I.1**).

IV.2.3.2. Dosage des flavonoïdes

❖ Principe

Le principe de la méthode repose sur un dosage colorimétrique en utilisant le chlorure d'aluminium. Après l'ajout du chlorure d'aluminium, il y aura formation d'un complexe acide labile entre les groupements hydroxyles du cycle A ou du cycle B des flavonoïdes et l'ion d'aluminium (figure 11) (**Chang et al., 2002**). Le complexe flavonoïde-aluminium formé a un maximum d'absorption à 430 nm (**Ribereau-Gayon, 1968**).

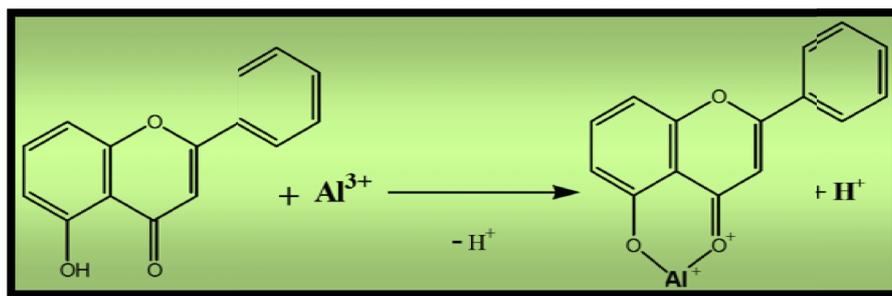


Figure 11 : mécanisme de réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes (Ribereau-Gayon, 1968).

❖ Mode opératoire

La teneur totale en flavonoïdes a été évaluée selon la méthode citée par **Djeridane *et al.* (2006)** qui est décrite comme suit :

- 1,5 mL d'échantillon a été séparément mélangé à 1,5 mL de la solution méthanolique de chlorure d'aluminium (2%) ;
- incuber à la température ambiante pendant 15 minutes ;
- lire l'absorbance du mélange de la réaction à 430 nm.

La concentration en flavonoïdes est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine (**annexe I.2**).

IV.2.3.3. Dosage des tanins totaux

❖ Principe

Les tanins ont la propriété de précipiter les protéines. La combinaison entre les tanins et les protéines se fait par l'intermédiaire de liaisons hydrogène entre les groupements OH et NH_2 des protéines et les groupements hydroxyles des tanins (**Guignard, 2001**).

Avec la méthode utilisant les sels ferriques, les tanins donnent des colorations et des précipités bleus noir ou brun verdâtre. Cette méthode de dosage consiste à utiliser la protéine sérum albumine bovine, celle-ci solubilisée à son pH isoélectrique est précipitée par les tanins de l'extrait à doser. La teneur en tanins totaux du précipité est déterminée en faisant la lecture de l'absorbance à 510 nm (**Bruneton, 1999**).

❖ Mode opératoire

L'estimation quantitative des tanins contenus dans les deux extraits est réalisée par la méthode de **Hagerman et Bulter (1978)**. Cette dernière repose sur la formation d'un complexe tanins-BSA et elle est décrite comme suit :

- 0.5 mL d'extrait est ajouté à 0.5 mL de la solution de BSA ;
- après agitation et incubation de 24 heures à 4°C, le mélange est centrifugé à 14000 tours / minutes pendant 15min;
- le surnageant est jeté et le précipité est dissout dans 2 mL de la solution SDS/TEA et 0.5 mL de FeCl₃;
- lire l'absorbance au spectrophotomètre à 510 nm.

La quantification des tanins est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide tannique (**annexe I.3**).

IV.2.4. Détermination de l'activité antioxydante

IV.2.4.1. Test au DPPH

❖ Principe

Le 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH°) est un radical libre, coloré en violet et est capable d'arracher les atomes d'hydrogène labiles des groupements OH les plus réactifs. En présence d'un antioxydant, le DPPH° est réduit en (DPPH-H) (figure n°12) (**Saadaoui et al., 2006**). Cette réaction conduit à un changement de couleur du violet au jaune et l'absorbance diminuera ainsi (**Coa et al., 2009**). Une diminution de l'absorbance indique un important pouvoir antiradicalaire de l'extrait (**Molyneux, 2004**).

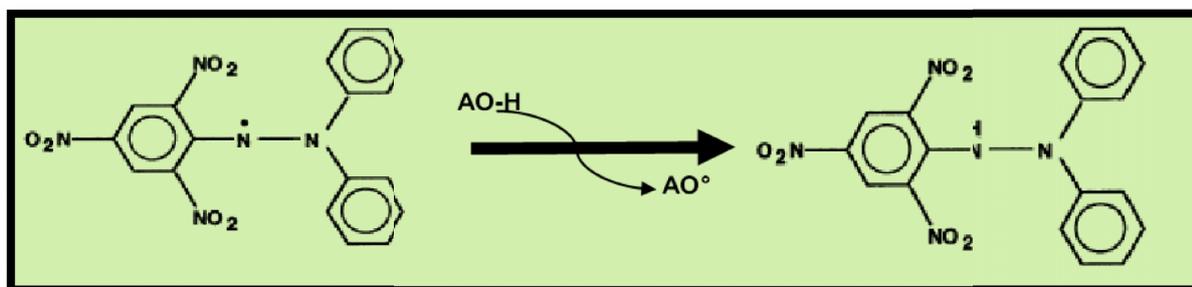


Figure 12 : mécanisme réactionnel de la réduction du radical DPPH° (**Molyneux, 2004**)

❖ Mode opératoire

Le protocole d'évaluation de l'activité antioxydante par le test du DPPH est donné selon **Bougatef *et al.* (2009)** comme suit:

- 0,15mL de la solution de DPPH° est ajouté à 1mL de chaque mélange eau-extrait à différentes concentrations;
- ajouter 1mL de méthanol;
- mélanger au vortex;
- incuber à l'obscurité et à température ambiante pendant 30min;
- lire les absorbances à 517 nm.

IV.2.4.2. Pouvoir réducteur

• Pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium

❖ Principe

Le pouvoir réducteur est estimé par l'aptitude des antioxydants présents dans les extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe ferricyanure en fer ferreux (Fe^{2+}) en présence d'un chromogène, le ferricyanure de potassium [$\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] et de l'acide trichloracétique. La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (**Wang *et al.*, 2008**).

❖ Mode opératoire

Le pouvoir réducteur des extraits a été déterminé selon la méthode décrite par **Benhammou *et al.* (2009)**:

- 0,5 mL de chaque extrait à différentes concentrations ont été mélangés avec 1mL de la solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6), et 1mL de ferricyanure de potassium (1%);
- après agitation, les mélanges ont été incubés à 50 °C pendant 20 minutes, puis 1mL d'acide trichloracétique (1%) a été ajouté;
- après une centrifugation à 3000 t/min pendant 10 minutes, 1mL de surnageant a été transféré dans un tube à essai et additionné à 1mL d'eau distillée, ensuite 0,2 mL de la solution de chlorure ferrique FeCl_3 (0,1%) fraîchement préparé est ajoutée;
- l'absorbance a été lue à 700 nm.

- **Pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium**

- ❖ **Principe**

Le test de phosphomolybdate d'ammonium est une méthode quantitative pour évaluer la capacité antioxydante. Il est basé sur la réduction du Mo^{+6} en Mo^{+5} avec la formation d'un complexe phosphate / Mo^{+5} de couleur verte en milieu acide (**Bougatf *et al.*, 2009**).

- ❖ **Mode opératoire**

L'évaluation de l'activité antioxydante est déterminée selon la méthode citée par **Silici *et al.* (2010)** selon le protocole suivant :

- 0,2 mL de chaque extrait a été additionnée à un volume de 2 mL du solvant réactif (acide sulfurique à 0,6M, phosphate de sodium à 28 mM et molybdate d'ammonium à 4 mM) ;
- après agitation au vortex; les tubes sont incubés à 90°C pendant 90 minutes; l'absorbance est ensuite lue à 695nm.

Chapitre V

Résultats et discussions

V. Résultats et discussion

V.1. Dosages des composés phénoliques

V.1.1. Teneur en polyphénols totaux

La capacité des polyphénols à réduire le réactif de Folin-Ciocalteu dépend de leurs structures chimiques, car plus le nombre de groupements fonctionnels OH est élevé, plus le contenu phénolique est élevé (**Maisuthisakul *et al.*, 2007**).

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau X.

Tableau X : résultats du dosage des polyphénols totaux.

Teneur en polyphénols totaux (mg d'EAG/ g de PF)			
	Gingembre-eau	Gingembre-miel	Gingembre-huile d'olive
Moyenne	0,72 ± 0,06	29,93 ± 1,92	0,13 ± 0,01

Les résultats obtenus révèlent que la teneur la plus élevée en polyphénols est observée dans l'extrait gingembre-miel avec une valeur de **29,93 mg d'EAG/g de PF**. Par contre l'extrait gingembre-huile présente une teneur ne dépassant pas **0,13 mg d'EAG/g de PF**.

Ces observations peuvent être expliquées par la différence de solubilité des polyphénols dans le milieu d'extraction (miel, eau, l'huile d'olive) et aussi à la présence ou absence des polyphénols dans ce dernier. Les conditions d'extraction telles que la température (micro-onde) peuvent également avoir un effet sur la composition phénoliques.

Plusieurs composés bioactifs ont été identifiés dans le miel tels que les polyphénols (**Brudzynski *et al.*, 2012**).

Selon **Pyrzynska et Biesaga (2009)**, le miel est riche en polyphénols et en flavonoïdes.

L'huile d'olive est bien connue pour son activité biologique bénéfique pour la santé humaine, en raison de la présence de composés phénoliques (**Cerretani *et al.*, 2009**). Selon **Taamalli *et al.* (2012)**, l'huile d'olive est une source potentielle de polyphénols.

Selon **Al-Farsi et Lee (2008)**, l'efficacité de l'extraction dépend non seulement de la méthode d'extraction utilisée mais aussi du solvant d'extraction.

Hayouni et al. (2007) rapportent qu'en plus de la nature du solvant, l'efficacité d'une extraction est influencée par la quantité du matériel végétal, et par le volume et la polarité du solvant.

Kruawan et kangadalampai (2006), dans leur travail sur l'extrait aqueux (obtenu par décoction) du rhizome du gingembre, ont trouvé une teneur en composés phénoliques égale à **59,86 mg d'EAG/g de PF**.

Dans une autre étude réalisée par **Hinneburg (2006)** sur le rhizome du gingembre par la méthode de l'hydrodistillation avec l'eau, la teneur trouvée en polyphénols est de **23,5 mg d'EAG/g de PF**.

Selon **Ranilla et al. (2010)**, la teneur en polyphénols obtenu par la méthode de l'agitation dans l'eau est de **3,7 mg/g de la plante**.

Dans leur étude sur les extraits hydroalcoolique (méthanol 50%) obtenu par agitation de *Zingiber officinalis* **Chan et al. (2009)**, ont trouvé une teneur en polyphénols totaux égale à **2,91 mg d'EAG/g de la plante**.

Ces valeurs sont nettement plus élevées par rapport à celle obtenues dans ce présent travail **0,72 mg d'EAG/g de PF**. Cette différence en quantités de polyphénols peut s'expliquer par l'origine de provenance, la variété, les conditions de séchage ou de stockage, l'origine géographique et surtout par la méthode et la nature du solvant d'extraction, ainsi que par les conditions d'extraction (temps, température).

Les variations de la distribution de ces métabolites secondaires peuvent être dues partiellement aux facteurs génotypiques qui commandent l'accumulation de ces derniers composés dans la plante. D'ailleurs, d'autres études suggèrent que les conditions biotiques (espèce, organe et étape physiologique) et abiotiques (salinité, luminosité, déficit en eau et facteurs édaphiques) peuvent influencer sur la composition phénolique (**Benhammou et al., 2009**).

D'après **Ksouri et al. (2008)**, l'humidité et l'aridité du milieu peuvent influencer sur la teneur en polyphénols, en tenant compte de la composition chimique du *Zingiber officinalis*.

Bodo et al. (2004), ont constaté que l'augmentation de la température a un effet négatif pouvant causer une décomposition thermique des agents antioxydants.

L'extraction par micro-onde a comme conséquence une diminution significative dans la teneur en composés phénoliques totaux (**Chan et al., 2009**).

V.1.2. Teneur en flavonoïdes

Après l'addition de la solution de chlorure d'aluminium, une couleur jaune est obtenue, dont l'intensité varie en fonction de la concentration de l'extrait en flavonoïdes. Cette coloration est due à la formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium et les flavonoïdes. L'apparition de la coloration jaune confirme la présence de flavonoïdes dans les extraits de *Zingiber officinalis*.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau XI.

Tableau XI: résultats du dosage des flavonoïdes.

Teneur en flavonoïdes ($\mu\text{g d'EQ/g de PF}$)			
	<i>Gingembre-eau</i>	<i>Gingembre-miel</i>	<i>Gingembre-huile d'olive</i>
Moyenne	$0,05 \pm 0,006$	$0,70 \pm 0,040$	$0,05 \pm 0,006$

Les résultats obtenus révèlent que l'extrait gingembre-miel présente la teneur la plus élevée en flavonoïdes qui est égale à **0,70 $\mu\text{g d'EQ/g de PF}$** , suivie des extraits du gingembre-eau et du gingembre-huile d'olive qui présentent des teneurs similaires égale à **0,05 $\mu\text{g d'EQ/g de PF}$** .

Ces observations peuvent être expliquées par la différence de solubilité des flavonoïdes. Les polyphénols moins polaires comme les flavonoïdes sont plus solubles dans les solvants moins polaires tels que l'éther de pétrole, le chloroforme et l'hexane par rapport aux extraits plus polaires (aqueux et acétate) (**Brunton, 1999**).

D'autres parts, **Makris et al. (2006)** montrent que les faibles teneurs du mélange peuvent être attribuées à la modification des groupements fonctionnels des flavonoïdes présents dans ce mélange, réduisant ainsi leur détection par la méthode de chlorure d'aluminium.

La teneur en flavonoïdes du gingembre extraite avec l'eau est énormément inférieure à celle obtenue par **Shirin et Prakash (2010)**, qui est estimée par la méthode d'agitation et qui a montré que l'extrait aqueux présente la plus grande teneur en flavonoïdes à une température de 100°C qui est de **29,8 mg d'EQ/g de PF** .

Cette différence pourrait être due à plusieurs facteurs dont la méthode et les conditions d'extraction et d'analyses, à l'origine de provenance, et aux conditions climatiques (taux d'ensoleillement).

D'après **Pyrzynska et Biesaga (2009)**, la micro-onde n'est pas recommandée pour les l'extraction des flavonoïdes, les résultats expérimentaux ont démontré que les rendements en flavonoïdes sont nettement améliorés lors de la réduction du temps d'extraction.

L'intensité du rayonnement solaire a une influence très marquée sur le métabolisme des flavonoïdes durant le développement de la plante. Les concentrations les plus importantes des flavonoïdes sont accumulées dans la partie aérienne des plantes qui est exposée à la lumière du soleil, seulement des traces sont trouvées dans les parties non exposées au-dessous de la surface du sol, qui incluent les racines et les rhizomes. (**Herrmann, 1988; Chervin et Mauguet, 2003**).

V.1.3. Teneur en tanins totaux

Après un temps d'incubation de 24 heures à une température de 4°C, un précipité blanc a été formé correspondant à la protéine précipitée par les tanins, le chlorure ferrique ajouté réagit avec les tanins qui forment par chélation un complexe de couleur marron. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau XII.

Tableau XII: Résultats du dosage des tanins totaux.

Teneur en tannins totaux (mg d'EAT/ g de PF)			
	<i>Gingembre-eau</i>	<i>Gingembre-miel</i>	<i>Gingembre-huile d'olive</i>
Moyenne	0,03 ± 0,01	0,63 ± 0,01	0,18 ± 0

Les résultats obtenus révèlent que c'est l'extrait gingembre-miel qui présente la teneur la plus élevée en tanins totaux qui est de **0,63 mg d'EAT/g de PF**, par contre la teneur la plus faible est observée dans l'extrait du gingembre-eau à **0,03 mg d'EAT/g de PF**.

Ces variations peuvent être expliquées au fait que même le milieu d'extraction (miel et l'huile) renferment des tanins totaux. **Ferreira et al. (2009)** ont obtenu une teneur élevée en tannins totaux dans différents échantillons du miel.

Selon **Shirin et Prakash (2010)**, la teneur en tanins totaux estimée par sept solvants d'extractions différents avec la méthode d'agitation a révélé que l'extrait aqueux, présente la plus grande teneur en tanins totaux à une température de (30 et 100°C) qui sont de **(13,4 et 15,1 mg d'EAT/g de PF)** respectivement.

Ces résultats sont nettement plus élevés que ceux obtenus dans cette présente étude **(0,03 mg/g d'EAT de PF)**. Cela peut être dû à la différence dans la méthode et le protocole utilisé, et aux conditions d'extraction (temps, température). Ces variations peuvent être dues également à la composition de l'échantillon, à l'origine et l'état des rhizomes qu'ils soient frais ou secs.

D'après les résultats obtenus pour les trois extraits (gingembre-eau, gingembre-miel, et gingembre-huile d'olive), et dans tous les dosages des composés phénoliques, on a constaté que la mixture du gingembre-miel est nettement plus riche en polyphénoles totaux, en flavonoïdes et en tanins totaux (figure 13).

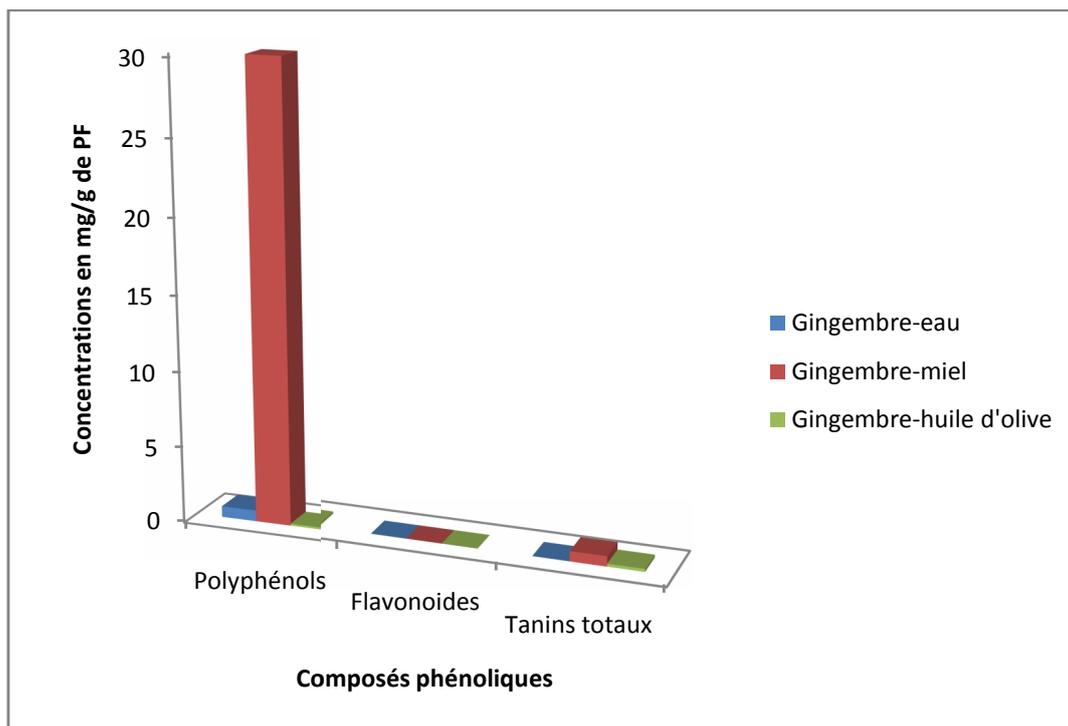


Figure 13 : histogramme récapitulatif de la composition polyphénolique des extraits de *Zingiber officinalis* dans l'eau, le miel et l'huile d'olive.

V.2. Activité antioxydante

Différentes méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydante, entre autre le test DPPH, pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium et le pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium.

V.2.1. Test au DPPH°

Cette méthode est basée sur l'utilisation d'un radical libre qui est le DPPH° (2,2 diphenyl 1 picryl hydrazyl), ce dernier est de couleur violette. En présence de donneurs de protons (antioxydants), le DPPH° vire au jaune et se réduit alors en 2,2 diphényl1 picrylhydrazine. (Maataoui *et al.*, 2006).

Les résultats du DPPH° peuvent être exprimés en terme de valeurs de IC₅₀.

Selon Andrade *et al.* (2009), le IC₅₀ est défini comme la concentration de l'extrait nécessaire pour inhiber 50% du radical DPPH°. Un faible IC₅₀ correspond à une forte capacité réductrice (Chang *et al.*, 2007). Plus il y a apport d'antioxydants, plus les radicaux DPPH° sont réduits (Hayder *et al.*, 2004).

Les résultats du test du pouvoir antiradicalaire sont présentés dans la figure 14.

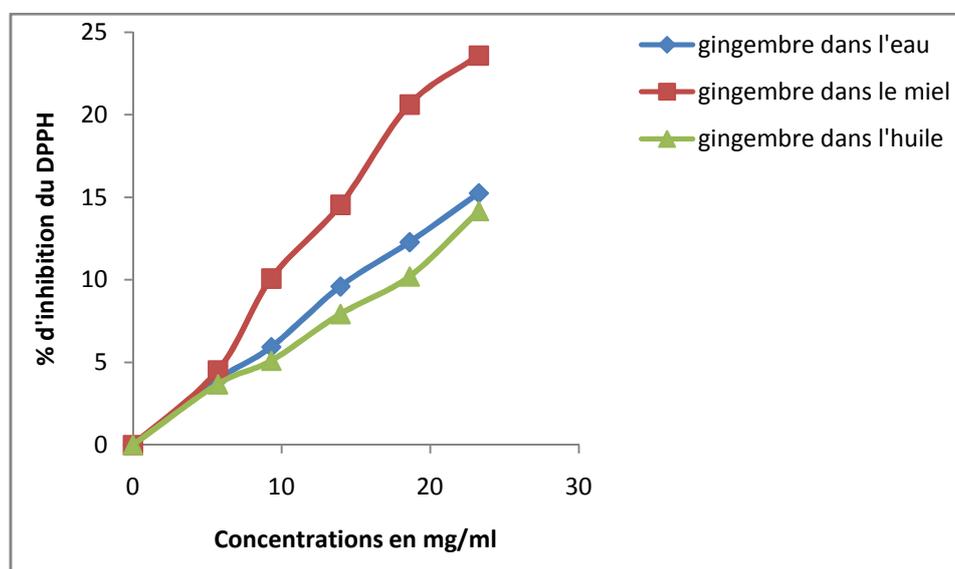


Figure 14 : Effet scavenger des extraits de *Zingiber officinalis* vis-à-vis du radical DPPH°

La valeur de IC₅₀ a été déterminée pour chaque extrait. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau XIII.

Tableau XIII : résultats des IC₅₀ (mg/mL) pour le test du DPPH°

	Gingembre-eau	Gingembre-huile d'olive	Gingembre-miel
IC ₅₀ (mg/mL)	75,89	87,006	47,65

D'après la figure 14 et les résultats du tableau XIII, l'extrait gingembre-miel possède le meilleur pouvoir antiradicalaire, suivie de celui de gingembre-eau, puis l'extrait du gingembre-huile d'olive. Ces résultats sont en corrélation avec la teneur en composés phénoliques totaux.

D'après les études réalisées par **Bossokpi (2003)**, cette discordance dans l'activité antioxydante des différents extraits est due d'une part à la différence dans la composition chimique et d'autre part à la qualité des composants tels que l'acide ascorbique, les caroténoïdes et les phénols.

Selon **Bertoncelj et al. (2007)**, l'activité antioxydante est fortement corrélée avec le contenu en composés phénoliques totaux. Près de ceci, une corrélation forte était trouvée entre l'activité antioxydante et la couleur du miel. Beaucoup de chercheurs ont constaté que les miels ayant une couleur foncée ont un contenu phénolique total plus élevé et par conséquent un plus haut pouvoir antioxydant.

Selon **Cerretani et al. (2009)**. La teneur en composés phénoliques est strictement liés à la résistance de l'huile d'olive à l'oxydation (en raison de leurs propriétés antioxydantes). En particulier, l'effet antioxydant est principalement exercé par composants l'ortho-diphénols.

Des pertes dans l'activité antioxydante des échantillons de *Zingiber officinalis* soumis à un traitement thermique ont été attribuées à la dégradation thermique des composés phénoliques. Une baisse de l'activité antioxydante peut être due à la dégradation des enzymes, et à la dégradation thermique des composés phytochimiques; et par conséquent à la perte d'activités antioxydantes enzymatiques (**Chan et al., 2009**).

V.2.2. Pouvoir réducteur

- **Pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium**

Le test du pouvoir réducteur est un bon indicateur de la capacité antioxydante qui détermine le potentiel de réduction du fer ferrique en fer ferreux (**küçük et al., 2007**) selon la réaction suivante:



Les résultats du test du pouvoir réducteur par le ferricyanure de potassium sont présentés dans la figure 15.

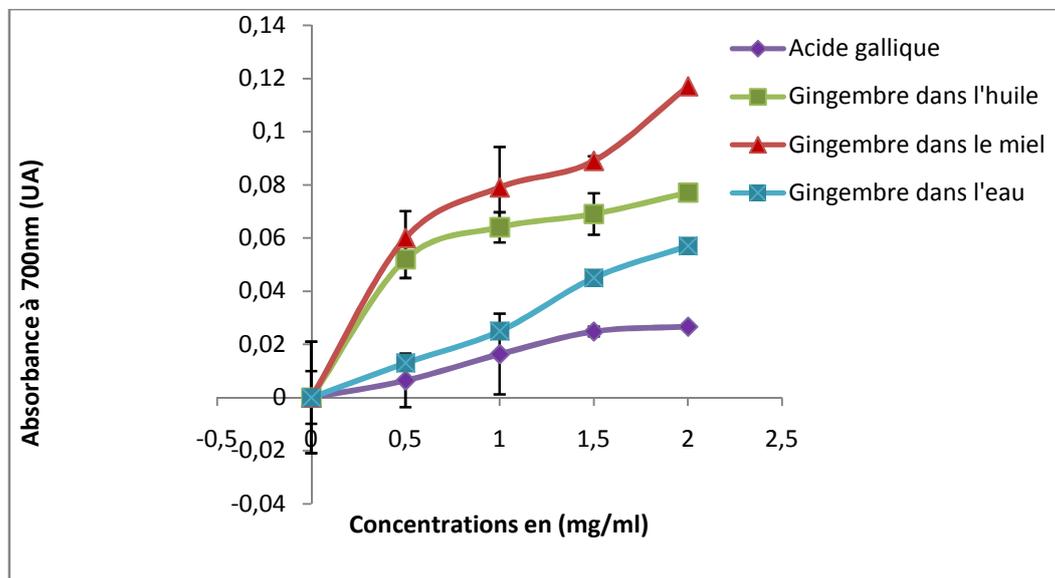


Figure 15 : pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium des trois extraits du gingembre et du standard.

La valeur IC_{50} a été déterminée pour chaque extrait et pour le standard; et les résultats obtenus sont donnés dans le tableau XIV.

Tableau XIV : résultats des IC_{50} (mg/mL) du pouvoir réducteur par le ferricyanure de potassium.

	Acide gallique	gingembre dans l'eau	gingembre dans le miel	gingembre dans l'huile d'olive
EC_{50} (mg/mL)	34,93	17,16	9,19	14,09

Les courbes obtenues (**figure 15**) indiquent que l'absorbance augmente au fur et à mesure que la concentration en extrait s'élève. Plusieurs études, ont confirmé que le pouvoir réducteur est proportionnel avec l'augmentation de concentrations (**Amessis, 2007; Moreira et al., 2008 ; Medouni, 2009**). Ces résultats peuvent être expliqués par la présence de composés donneurs d'électrons qui entraînent la réduction de Fe^{3+} en Fe^{2+} . Plus la concentration des extraits augmente plus il y a apport d'antioxydants et par conséquent, le pouvoir réducteur augmente (**Amessis, 2007**).

D'après la figure 15 et les résultats de IC_{50} présentés dans le tableau XIV, l'extrait gingembre-miel possède le plus grand pouvoir réducteur, suivie de gingembre-huile, puis gingembre-eau. Ces trois extraits présentent un pouvoir réducteur supérieur à celui de l'acide gallique.

Les écarts entre les résultats sont remarquables et pourraient être dus à la quantité des antioxydants contenues dans chaque extrait, au solvant et/ou la méthode d'extraction.

Il est à noter que le mélange miel-gingembre qui a montré le plus grand pouvoir réducteur possède la quantité la plus élevée en composés phénolique.

Par ailleurs, **Saheedeh *et al.* (2007)** ont rapporté qu'il existe une relation entre l'activité réductrice de l'ion Fe^{3+} et la teneur en polyphénols totaux.

Selon **Bellik (2009)**, la valeur d' IC_{50} obtenu pour l'extrait méthanolique du gingembre par l'hydrodistillation est de **0,56 mg/mL**, cette valeur est nettement inférieure à celle qu'on a obtenue (**17,16mg/mL**), cela implique qu'elle présente en effet un pouvoir réducteur plus élevé que celle trouvé dans cette présente étude.

Ces différences peuvent être dues à la méthode et aux conditions d'extraction utilisée, à la composition et à l'origine de provenance des échantillons, à la période de récolte, et aux conditions climatique.

- **Pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium**

La méthode du phosphomolybdate d'ammonium est basée sur la réduction du molybdate (IV) en molybdate (V) par des antioxydants (**Abdel-Hameed, 2009; Ghafour *et al.*, 2010**). Les résultats du test du pouvoir réducteur par le molybdate d'ammonium sont présentés dans la figure 16.

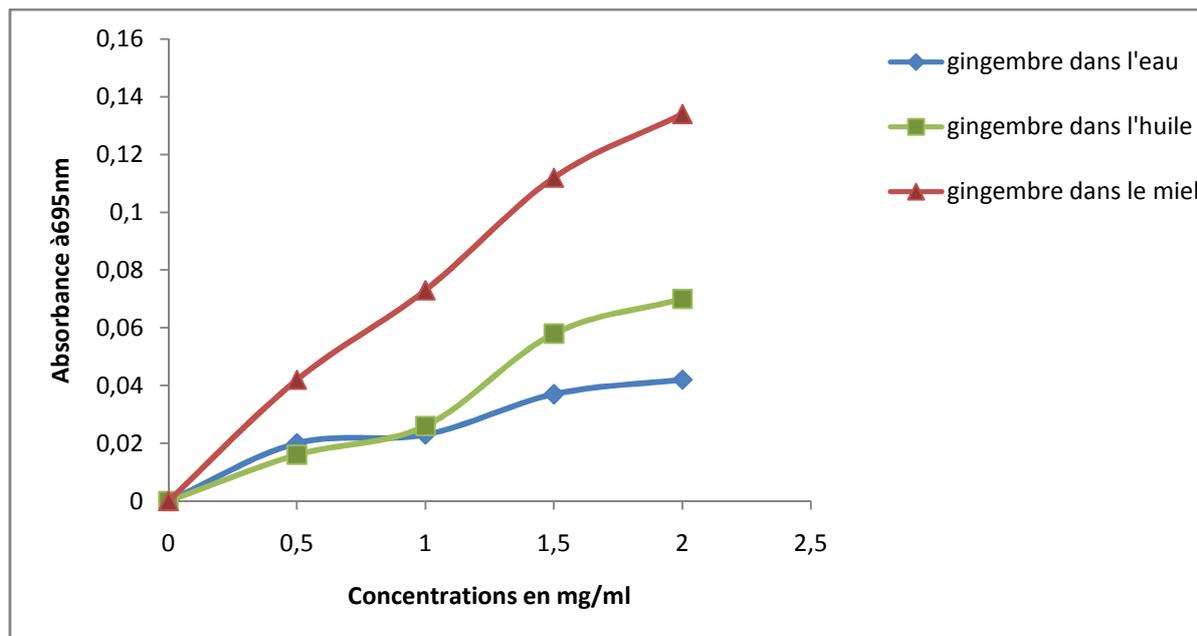


Figure 16: pouvoir réducteur des trois extraits du *Zingiber officinalis* par le phosphomolybdate d'ammonium.

Les valeurs en IC_{50} ont été déterminées pour chaque extrait et les résultats sont donnés dans le tableau XV.

Tableau XV : résultats des IC_{50} (mg/mL) du pouvoir réducteur par le ferricyanure de potassium.

	Gingembre dans l'eau	Gingembre dans le miel	Gingembre dans l'huile d'olive
IC_{50} (mg/mL)	24,54	6,79	13,66

D'après la figure 16 et les résultats du tableau XV, l'extrait gingembre-miel possède le plus grand pouvoir réducteur, suivie de l'extrait gingembre-huile, puis l'extrait gingembre-eau.

Ces différences pourraient être due à l'interaction des différents composés (phénoliques, peptides, acides organiques, et les enzymes).

L'activité antioxydante et la teneur totale en composés phénolique est différente d'un échantillon de miel à un autre en raison des différents sources florales (Aljadi *et al.*, 2004).

Le mélange gingembre-huile détient un pouvoir réducteur plus élevé que celui du gingembre-eau, malgré, sa teneur en composés phénoliques inférieure à ce dernier. Cela nous laissera supposer que les antioxydants du mélange gingembre-huile ont un pouvoir réducteur plus élevé que celui de gingembre-eau.

Selon **Meot-Duros *et al.* (2008)**, l'activité antioxydante estimée par la méthode au phosphomolybdate n'est pas due seulement aux polyphénols, mais aussi à d'autres composés tels que les acides organiques qui peuvent augmenter l'activité antioxydante.

Les études effectuées par **Jayaprakaska *et al.* (2008)** ont montrés que l'activité antioxydante dépend de la teneur en composés phénoliques des échantillons et de la position et du nombre de groupements hydroxylés.

Selon **Ferreira *et al.* (2009)**, la nature et la structure des composés phénoliques, ainsi que la présence d'autres composés non phénoliques tels que les enzymes et les substances non enzymatiques (vitamines et acides aminés) peuvent également intervenir dans l'activité antioxydante du miel.

Conclusion et perspectives

Le gingembre, le miel et l'huile d'olive ont été choisis sur la base de leurs utilisations en médecine traditionnelle, de plus ils ont été cités dans le coran. D'ailleurs, ils sont largement connus et réputés pour leurs vertus thérapeutiques.

La présente étude nous a permis de comparer les teneurs en composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins totaux) et l'activité antioxydante des extraits: gingembre-miel, gingembre-huile d'olive et gingembre-eau en utilisant la méthode d'extraction assistée par micro-onde.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux montrent que l'extrait gingembre-miel est le plus riche en ces composés avec une teneur de **29,93 mg d'EAG/g de PF**. Tandis que la quantité la plus faible a été enregistrée dans l'extrait gingembre-huile d'olive, et qui est de **0,13 mg d'EAG/g de PF**.

Les résultats du dosage des flavonoïdes révèlent que l'extrait gingembre-miel présente la teneur la plus élevée qui est égale de **0,7 µg d'EQ/g de PF**, Par contre les extraits gingembre-huile, gingembre-eau présentent des concentrations similaires.

En ce qui concerne la teneur des extraits en tanins totaux, le dosage a révélé une quantité élevée dans la mixture gingembre-miel soit **0,63 mg d'EAT/g de PF**, par contre la teneur la plus faible a été enregistrée dans l'extrait gingembre-eau qui de **0,03 mg d'EAT/g de PF**.

L'évaluation des propriétés antioxydantes par le pouvoir réducteur, ainsi que l'activité antiradicalaire par le test du DPPH° révèle que l'extrait gingembre-miel manifeste la plus forte activité antioxydante. Les résultats des EC₅₀ trouvés ont confirmé la propriété antioxydante de chaque extrait.

Les résultats de la présente étude restent préliminaires. Il serait donc intéressant d'approfondir cette étude en faisant des recherches plus poussées. Il est souhaitable :

- optimiser les conditions d'extraction assistée par micro-onde (temps et puissance) ;
- réaliser une analyse pour la détermination des antioxydants présents dans le miel et l'huile d'olive séparément ;
- évaluer *in vivo* l'activité antioxydante des composés isolés pour une meilleure compréhension du mode d'action des molécules antioxydantes ;
- élargir cette étude sur d'autres aspects tels que l'activité anti-inflammatoire et antimicrobienne.

Références bibliographiques



- **Abdel-Hameed, E.S. (2009).** Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian Ficus species leaf samples. *Food Chemistry*, 114: 1271-1277.
- **Akroum, S. (2006),** Etude des propriétés biochimiques des polyphénols et tannins issus de *Rosmarinus officinalis* et *Vicia faba L.*, Université Mentouri de Constantine, p. 14.
- **Ali, B. H., Blunden, G., Tanira, M. O., et Nemmar, A. (2008).** Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a review of recent research. *Food and chemical Toxicology*. **46(2)**:409-420.
- **Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Diaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, E., Astolfi, P., Bompadre, S., et Battino, M. (2010).** Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food Chem Toxicol*, **48(8-9)**:2490-2499.
- **Al-Farsi M.A et lee C.V. (2008).** Optimization of Phenolic and Dietary Fibre Extraction from Date Seeds. *Food Chemistry*.**108**: 977-985.
- **Aljadi, A. M et Kamaruddin, M. Y. (2004).** Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry*, **85(4)**:513-518.
- **Amessis N. (2007).** Etude du pouvoir antioxydant des extraits phénoliques des plantes médicinales de la région de la basse Kabylie. Université Abderrahmane Mire (Bejaia).Thèse de magistère.p 70.
- **Andrade. D, Gil. C, Brietenfeld. L, Domingues. F et Duarte. A.P(2009).** Bioactive extracts from citrus Iadamifer and *Arbutus unedo L.* Industrial corp and products journal, (**30**): 165-167
- **Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., özyürek, M. Esin çelik, S., Bekataşoğlu, B., Işil, B.K et Özyurt, D.2007.** Comparative evaluation of various total antioxydant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules*. **12**: 1496-1547
- **Araya, J. J., Zhang, H., Prisinzano, T. E., Mitscher, L. A., et Timmermann, B. N. (2011).** Identification of unprecedented purine-containing compounds, the zingerines, from ginger rhizomes (*Zingiber officinale* Roscoe) using a phase-trafficking approach. *Phytochemistry*.
- **Argenson C., Régis S., Jourdain J.M. et Vaysse P. (1999).** Elaboration de l'huile d'olive in l'olivier. Ed : Ctifl. ISBN **2-87911-86-6**: 163-189.
- **Aruoma, O I. (1999).** Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pacific J Clin Nutr*. **8**: 53-63

B

- **Babar Ali, M., Hahn, E.J., et Paek, K.Y. (2007)** Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molecules*. **12**: 607-621.
- **Bahorun T., 1997.**Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Recherche Council, Réduit, Mauritius. pp :83-94.
- **Bellik, Y. (2009).** Activités biologiques des substances actives du gingembre (*Zingiber officinalis roscoe*). Université Abderrahmane Mire (Bejaia). Mémoire de Magister. p 58.
- **Benhammou, N., Bekkara, F. A., et Kadifkova Panovska, T. (2009).** Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *Comptes Rendus Chimie*, **12(12)** :1259-1266.
- **Berger, M. M. (2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, **20(1)** : 48-53
- **Bertoncelj, J., Dobersek, U., Jamnik, M., et Golob, T. (2007).** Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, **105(2)**: 822-828.
- **Bodo R, Azzouz A et Hausler R. (2004).**Antioxidant Activity of Water Hyacinth Compoents. *Plant Science* .166:893:899.
- **Bogdanov, S.(1997).**Nature and origin of the antibacterial substances in honey. *LWT-Food Science and Technology*
- **Bossokpi, I(2002).** Etudes des activités biologique de fagara xanthoxyloides LAM(Rutaceae) Thèse de pharmacie, barako, **(64)**: 133.
- **Boizot, N., et Charpentier, J. P. (2006).** Méthode rapide d’évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d’un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l’INRA, Numéro spécial*, 79-82.
- **Bossokpi. I.P.L(2003).** Etude des activités biologiques de Fagara Zanthosyloides lam (Rutaceae) thèse de doctorat. Université de Bamaco, **(34)** : 127.
- **Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y., et Nasri, M. (2009).** Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chemistry*, **114(4)**: 1198-1205.
- **Bramorski, A., da Rosa Cherem, A., Mezdri, T., Melo, S. S., Deschamps, F. C., Gonzaga, L. V., Rockenbach, I. I., et Fett, R. (2011).** Chemical composition and antioxidant activity of *Gaylussacia brasiliensis* (camarinha) grown in Brazil. *Food Research International*, **44(7)**: 2134-2138.
- **Bruneton, J. (1999).**Pharmacognosie.Phytochimie. plantes medicinales.Technique et documentation.Edition, *Lavoisier*, **3** : 232-389.

- **Brudzynski, K., Abubaker, K., & Miotto, D. (2012).** Unraveling a mechanism of honey antibacterial action: Polyphenol/H₂O₂-induced oxidative effect on bacterial cell growth and on DNA degradation. *Food Chemistry*, 133(2), 329-336.

C

- **Çam M et Hisil Y. (2010).** Pressurised water extraction of polyphenols from pomegranate peels. *Food Chemistry*.doi:10.1016/j. Food chemistry .2010.05.011.sous presse.
- **Canalafuente, E.L.** Diabète et société : les bienfaits de l'huile d'olive, décembre 2003, vol 48, N°4, PP. 36-38.
- **Cao L., Yong si J., LiLu Y., Sun H., Jin W., Li Z., Hong Zhao X. et le Pan R. (2009).** Essential oil composition, antimicrobial and antioxydant properties of Mosla chinensis maxin. *Food chemistry* .115:801-805.
- **Carretero, A.,Fernandez-Gutierrez, A. (2006)** Advances in the analysis of phenolic compounds inproducts derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*
- **Cavalli, J. F., Fernandez, X., Lizzani-Cuvelier, L., et Loiseau, A. M. (2004).** Characterization of volatile compounds of French and Spanish virgin olive oils by HS-SPME: Identification of quality-freshness markers. *Food Chemistry*, 88(1): 151-157.
- **Cerretani, L., Bendini, A., Rodriguez-Estrada, M. T., Vittadini, E., et Chiavaro, E. (2009).** Microwave heating of different commercial categories of olive oil: Part I. Effect on chemical oxidative stability indices and phenolic compounds. *Food Chemistry*, 115(4), 1381-1388.
- **Césarini J-P, 2004,** Sélénium: Actualités, Ed. John Libbey Eurotext, p. 13
- **Chan, C. H., Yusoff, R., Ngoh, G. C., et Kung, F. W. (2011).** Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants. *J Chromatogr A*, 1218(37), 6213-6225.
- **Chan, E. W. C., Lim, Y. Y., Wong, S. K., Lim, K. K., Tan, S. P., Lianto, F. S., et Yong, M. Y. (2009).** Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. *Food Chemistry*, 113(1), 166-172.
- **Chan E.W.C. ; Lim Y.Y. ;Wong L.F. ; Lianto F.S. ; Wong S.K. ;Lim K.K. ; Joe C.E. ; and Lim T.Y.(2008).** Antioxidant and Tyrosinase Inhibition Propreties of Leaves and Rhizomes of Ginger Species. *Food chemistry*. 109:477-483.
- **Chang C.C., Yang M.H., Wen H.M. et Chern J-C. (2002).** Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*.10 (3):178-182.
- **Chang, H.-C.; Huang G.-J.; Agrawal, D.C. ; Wu, C.-R.; and Tsay, H.-S.(2007).** Antioxydant activities and polyphénol contents of six folk medicinal ferns used as "Gusuibu". *Botanical Studies*. 48: 397-406.
- **Chervin Ch. et Mauget G. C. (2003).** Les sources de variabilité des qualités nutritionnelles des fruits et légumes. *Fruits et légumes dans l'alimentation*, 173-235.

- **Chemat F, Abert Vian M. et Huma Z.E. (2009)** microwave assisted – separations: green chemistry in action. In Jeffrey T. Pearlman. Green Chemistry Research Trends. Nova Science Publishers, 1, 1:30.
- **Cheng, X. L., Liu, Q., Peng, Y. B., Qi, L. W., et Li, P. (2011).** Steamed ginger (*Zingiber officinale*): Changed chemical profile and increased anticancer potential. *Food Chemistry*.
- **Chira,K., Suh,J.H ., Saucier,C et Teissédre, P.L.(2008).**Les polyphénols du raisin.*phytotérapie.6* :75-82 .
- **Chrubasik, S., Pittler, M., et Roufogalis, B. (2005).** Zingiberis rhizoma: a comprehensive review on the ginger effect and efficacy profiles. *Phytomedicine, 12(9):*684-701.
- **Covas, M. I. (2007).** Olive oil and the cardiovascular system. *Pharmacological Research, 55(3) :* 175-186.
- **COI. Conseil Oléicole Internationale.** La récolte des olives : conférence scientifique sur le régime alimentaire Méditerranéen. *Olivae, Février 2001, N°85, P. 14*
- **COI. Conseil Oléicole Internationale.** Conférence internationale sur le régime méditerranées : synthèse des conclusions de la rencontre scientifique. *Olivae, Octobre (2000), N°83, PP. 20-21.*

D

- **D'Arhivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C. et Masella R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. Istituto Superiore di Sanita, Rome. **4:** 348-361.
- **Diallo A. (2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (*MYRTACEAE*). Thèse de Doctorat. Mali.
- **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., et Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry, 97(4) :*654-660.
- **Dugasani, S., Pichika, M. R., Nadarajah, V. D., Balijepalli, M. K., Tandra, S., et Korlakunta, J. N. (2010).** Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of [6]-gingerol,[8]-gingerol,[10]-gingerol and [6]-shogaol. *Journal of ethnopharmacology, 127(2):*515-520.

E

- **Ekoumou, M. (2003).** Etudes phytochimique et pharmacologiques des recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et des cystites Thèse pharmacie, Kamako, **(32) :** 145.
- **Escuredo, O., Silva, L. R., Valentão, P., Seijo, M. C., et Andrade, P. B. (2012).** Assessing *Rubus* honey value: Pollen and phenolic compounds content and antibacterial capacity. *Food Chemistry, 130(3),* 671-678.

F

- **Faivre, C., Lejeune, R., Staub, H., et Goetz, P. (2006).** Zingiber officinale Roscoe. *Phytothérapie*, **4(2)** : 99-102.
- **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdely, C. (2008)** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. 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*. 108-115.
- **Ferreira, I. C. F. R., Aires, E., Barreira, J. C. M., et Estevinho, L. M. (2009).** Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*, **114(4)**:1438-1443.
- **Ferhat M. A., Meklati B. Y. et Chemat F. (2007)** Comparison of different isolation methods of essential oil from Citrus fruits: cold pressing, hydrodistillation and microwave 'dry' distillation. *Flavour Fragr. J.* **22**: 494–504
- **Fokou, E. ; Ponka, R. ; Tchegnimba, A. S. ; Ngu, B. et Tchouaguep, M. F. (2008).** Alimentation et statut en deux micronutriments antioxydants (zinc et vitamine C) de quelques patients camerounais hypertendus. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, **22** :4-9.

G

- **Ghafoor, K., Park, J. et Choi Y.-H. (2010).** Optimization of supercritical fluid extraction of bioactive compounds from grape (*Vitis labrusca* B.) peel by using response surface methodology. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **11**: 485–490.
- **Ghedira , K. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. **4**: 162-169
- **Gout J. (2009).** Le miel. Edition Jean-Paul Gisserot, Paris, 64.
- **Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A et Fernandez-Gutierrez, A. (2006)** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **41**: 1220-1234.
- **Goudable, J., et Favier, A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, **11(2)** : 115-120.
- **Guignard J. L. (2001).** abrégé de botanique. Systématique moléculaire .Ed. 12. Masson : 290
- **Guo, W., Liu, Y., Zhu, X., et Wang, S. (2011).** Temperature-dependent dielectric properties of honey associated with dielectric heating. *Journal of Food Engineering*, **102(3)**:209-216.

H

- **Han, X., Shen, T., et Lou, H. (2007).** Dietary polyphenols and their biological significance. *Int. J. Mol. Sci.* **8**:950-988.
- **Hagerman et Butler. (1978).** protein precipitation method for the quantitative determination of tannins, *Journal of Agriculture Food and Chemistry*, 26(4), p. 809-812.
- **Hayder N., Abdelwahed A., Kilani S., benAmmar R., Mahmoud A., Ghedir k. et Chekir Ghedira k.(2004).** Antigenotoxic and free radical scavenging activities of extracts from (Tunisian) *Myrtus communis*. *Mutation Research*. **564**:89-95.
- **Hayouni E.A, Abderabba M, Bouix M, et Hamdi M. (2007).** The Effects of Solvents and Extraction Method on the Phenolic Contents and Biological Activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L and *Juniperus phenolicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*. **105**: 1126-1134.
- **Hennebelle, T., Sahpaz, S et Bailleul, F. 2004.** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. **1**: 3-6
- **Heim, K. E., Tagliaferro, A.R et Bobilya D.J. (2002).** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*. **13**: 572-584.
- **Herrmann K. (1988).** On the Occurrence of Flavonol and Flavone glycoside in vegetables. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*. 1986.1-5.
- **Hinneburg I, Damien Dorman H.J et Hiltunen R. (2006).** Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chemistry*. **97**:122-129.

J

- **Jacotot, B. (1997).** Nutrition : Interet nutritionnel de la consommation de l'huile d'olive. *OCL*, **5** :373-374. –
- **Jayaprakasha, G. K., Girenavar, B et Patil, B. S. (2008).** Antioxidant capacity of pummelo and navel oranges: Extraction efficiency of solvents in sequence. *LWT*, **41**: 376-384.

K

- **Koechlin-Ramonatxo, C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, **20(4)** : 165-177.
- **Kruanwan, k, and Kangsadalampai K. (2006).** Antioxidant activity, Phenolic Compound Content and Antimutagenic Activity of Some Water Extract of Herbs. *Thai J. Pharm. Sci.* **30**: 28-35.
- **Ksouri R, Megdiche W, Falleh H, Trabelsi N, Boulaaba M, Smaoui A et Abdelly C. (2008).** Influence of Biological, Environmental and Technical Factors on Phenolic Content and Antioxidant Activity of a salt-spice-herbal mixture Against Free Radical Induction. *Journal of Ethnopharmacology*. **105**:76-83.

- **Kulusic, T. ; Radonic, A. ; Katalinic, V. ; et Milos, M. (2004).** Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food chemistry*. 85: 633-640.
- **Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoğlu, Ş., Ulusoy, E., Baltacı, C., et Candan, F. (2007).** Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, **100(2)**: 526-534.

L

- **Lacan, D. (2001)**Oxydants /Antioxydants : un équilibre important.
- **Lean, M., et Burns, J. (2001).** Tentatives pharmacologiques et nutritionnelles pour corriger le stress oxydatif. *JOURNEES ANNUELLES DE DIABETOLOGIE DE L HOTEL DIEU*, 87-96.
- **Levesque E. (2006).**Oligoéléments et stress oxydant. *Alimentation et Santé*. p : 2-3.
- **Lecerf, J.M. Luc, G et Fruchart, J.C. (1994).** Vitamine E, antioxydants et athérosclérose. *Revue Médecine science Interne*. **15** : 641-649.
- **Lucchesi, M. E. (2005).** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles.
- **Lucchesi M.E., Jacqueline Smadja., Steven Bradshaw et Louw W, Chemat F. (2005).** Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L.: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *Journal of Food Engineering*, **79** :1079-1086.
- **Lucchesi, M. E. (2005).** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles.

M

- **Ma, X., et Gang, D. R. (2006).** Metabolic profiling of in vitro micropropagated and conventionally greenhouse grown ginger (*Zingiber officinale*). *Phytochemistry*, **67(20)**, 2239-2255.
- **Maataoui BS, Hmyene A et Hilali S. (2006)** .Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*). *Lebanese Science Journal*, **1**, 7.
- **Macheix, J.J., Fleuriet, A et Sarni-Manchado, P. (2006).** Composés phénoliques dans la plante, structure, biosynthèse, répartition et rôle. In : Les polyphénols en agroalimentaire. Edition *Technologie et document*. Paris, p2-10.
- **Madi A, (2010),** Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques, thèse de doctorat, Université Mentouri Constantine, p.20-22
- **Maisuthisakul P., Suttajit M. et Pongsawatmanit R., 2007.** Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chemistry*, **100** : 1409-1418.
- **Makris, D. P., Kallithraka, S. et Kefalas, P. (2006).** Flavonols in grapes, grape products and wines: Burden, profile and influential parameters. *Journal of Food Composition and Analysis*, **19**: 396 – 404.

- **Maksimovic, Z., Malencic, D., et Kovacevic, N. (2005).** Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts. *Bioresour Technol*, **96(8)** : 873-877.
- **Mandal, M. D et Mandal, S. (2011).** Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *1(2)*, 154-160.
- **Mandal, V.,Mohan, Y., et Hemalatha, S. (2007).** Microwave Assisted Extraction – An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal plant research. *Pharmacognosy Reviews*, **1 (1):**7-18
- **Martin S et Andriantsitohaina R. (2002)** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. **51:**304-315
- **Mates, (2000).** Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicologie*, **153:** 83-104.
- **Medouni S. (2009).** Etude des propriétés biologiques « Interaction avec l'ovalbumine, activité antioxydante et antibactérienne » des extraits phénoliques de quelques plantes médicinales de la région de Bejaia. Université Abderrahmane Mire (Bejaia). Mémoire de Magister. p 53.
- **Meot-Duros L., Floch G.L. et Magné C. 2008.** Radical scavenging ,antioxidant and antimicrobial activities of halophytic species. *Journal of Ethnopharmacology*.**116:**258-262.
- **Molyneux, (2004),** Use of DPPH to estimate antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science Technology*, **26 (2):** 211-219.
- **Moreira L., Dias L.G., Pereira J.A. et Estevinho L. (2008).** Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*. **46:** 3482-3485.

N

- **Naczki, M. et Shahidi, F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, **1054:** 95-111

O

- **Oboh, G., Akinyemi, A. J., et Ademiluyi, A. O. (2010).** Antioxidant and inhibitory effect of red ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) and white ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on Fe²⁺ induced lipid peroxidation in rat brain in vitro. *Experimental and Toxicologic Pathology*.
- **Ouchemoukh, S., Louaileche, H., et Schweitzer, P. (2007).** Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control*, **18(1):**52-58.

P

- **Papiti V. T. et Tsimidou M. Z. (2009).** Looking through the qualities of a fluorimetric assay for the total phenol content estimation in virgin olive oil, olive fruit or leaf polar extract. *Food Chemistry*, **112:** 246-252.

- Peng, F., Tao, Q., Wu, X., Dou, H., Spencer, S., Mang, C., Xu, L., Sun, L., Zhao, Y., et Li, H. (2012). Cytotoxic, cytoprotective and antioxidant effects of isolated phenolic compounds from fresh ginger. *Fitoterapia*.
- Perrin J.L., (1992). Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'huile d'olive. *Rev. Fran. Corps Gras*, 1/2: 25-31.
- Pérez-Serradilla, J. A., et Luque de Castro, M. D. (2011). Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from wine lees and spray-drying of the extract. *Food Chemistry*, 124(4):1652-1659.
- Pietta , P.G . (2000). Flavonoids as Antioxidants . *Journal of Natural Products*. 63: 1035-1042.
- Podsedek A. (2005). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables.40:1-11.
- Pratt D. E. et Hudson B. J. F., 1990. Natural antioxidants not exploited commercially In Food Antioxidants. *Elsevier applied science* : 171-190.
- Pyrzyńska, K., et Biesaga, M. (2009). Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 28(7) : 893-902.

R

- Ranilla L G, Known Y-I, Apostolidis E et Shetty K. (2010). Phenolic Compounds, Antioxidant Activity and in Vitro inhibitory Potential Against key Enzymes relevant for Hyperglycemia and Hypertension of Commonly Used medicinal Plants, Herbs and Spices in Latin America. *Bioresource technology*. 101:4676-4689.
- Reed J.D. (1995) .Nutritional Toxicology of Tannins and Related,Polyphenols in Forage Legumes. *Medicine Science*.73:1516-1528
- Ribereau-Gayon P. (1968).Notion générales sur composés phénoliques.les composés généraux des végétaux. Ed.Dunod :1-27

S

- Saxena, S., Gautam, S., et Sharma, A. (2010). Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chemistry*, 118(2):391-397.
- Saadaoui B., Bekir J., Akrouf J., Ammar S., Mahjoub A. et Mars M.(2006). Etude de la composition et du pouvoir antioxydant des composés phénoliques de quelques espèces végétales de l'aride Tunisien. *Sipama*.312-316.
- Saeedeh A.D et Urooj A. (2007). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica L.*) leaves. *Food Chemistry*. 102 :1233–1240
- Shanmugam, K. R., Mallikarjuna, K., Kesireddy, N., & Sathyavelu Reddy, K. (2011). Neuroprotective effect of ginger on anti-oxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food and chemical Toxicology*, 49(4), 893-897.
- Shukla, Y., et Singh, M. (2007). Cancer preventive properties of ginger: a brief review. *Food and chemical Toxicology*, 45(5): 683-690.

- **Shirin, A et Prakash, A. (2010).** Chemical composition and antioxidant properties of ginger root (*Zingiber officinale*). *Journal of Medicinal Plants Research*, **4(24)**: 2674-2679.
- **Silici, S., Sagdic, O., et Ekici, L. (2010).** Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of *Rhododendron* honeys. *Food Chemistry*, **121(1)**: 238-243.
- **Soares, A. A., de Souza, C. G. M., Daniel, F. M., Ferrari, G. P., da Costa, S. M. G., et Peralta, R. M. (2009).** Antioxidant activity and total phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murril) in two stages of maturity. *Food Chemistry*, **112(4)** : 775-781

T

- **Taamalli, A., Arráez-Román, D., Barrajon-Catalán, E., Ruiz-Torres, V., Pérez-Sánchez, A., Herrero, M., Ibañez, E., Micol, V., Zarrouk, M., Segura-Carretero, A., et Fernández-Gutiérrez, A. (2012).** Use of advanced techniques for the extraction of phenolic compounds from Tunisian olive leaves: Phenolic composition and cytotoxicity against human breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*().sous presse
- **Tonks A.(2001).** Stimulation of TNF- α release in monocytes by honey. *Cytokine*, **14**, 4, p240-242.

U

- **Uttara, J., Vijaya M et Joshi, SV. (2009).** comparative study of conventional and microwave assisted extraction of some indigenous drugs. *Research J.Pharm. and Tech*, **2 (2)**: 417-41

V

- **Vincent ,A M.;Russeli, J W.;Low, P et Feldnan E L, (2004),** Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic Neuropathy Departement of Neurology, *Endocrine Reviews* **25 (4)**: 612-628.

W

- **Wang H., Zhao M., Yang B., Jiang Y. et Rao G. (2008).** Identification of polyphenols in tobacco leaf and their antioxidant and antimicrobial activities. *Food Chemistry*. **107**:1399-1406

Z

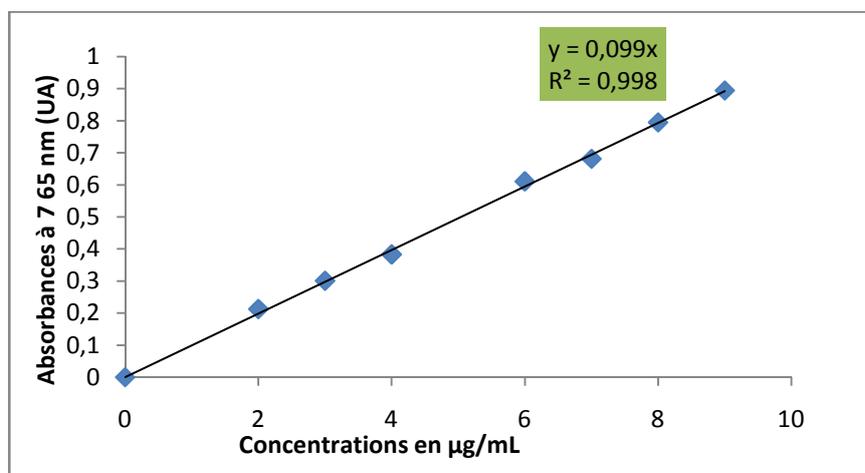
- **Zeb, A., et Mehmood, S. (2004).** Carotenoids Contents from Various Sources and Their Potential Health Applications. *Journal of Nutrition* **3**: 199-204

- **Zeghad N, 2009**, Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne, Université Mentouri Constantine, p. 46-47.
- **Zhao, X., Ao, Q., Du, F., Zhu, J., et Liu, J. (2010)**. Surface characterization of ginger powder examined by X-ray photoelectron spectroscopy and scanning electron microscopy. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 79(2), 494-500.
- **Zoo K, Chen H et Deng Y. (2002)**. Simultaneous Determination of Catechins, caffeine and Gallique acids in green, Oolong, Black and Up-erh teas Using HPLC with photodiode array detector. *Talanta* 57: 307-316.

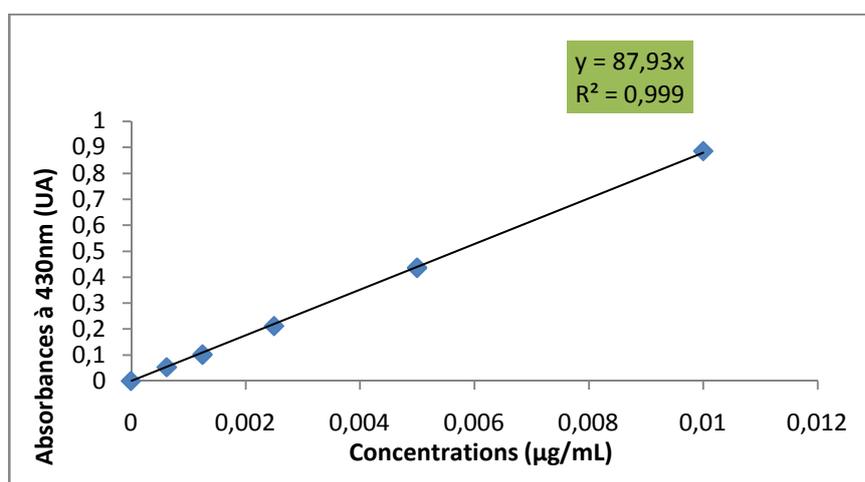
Annexes

Annexes I : courbes d'étalonnage

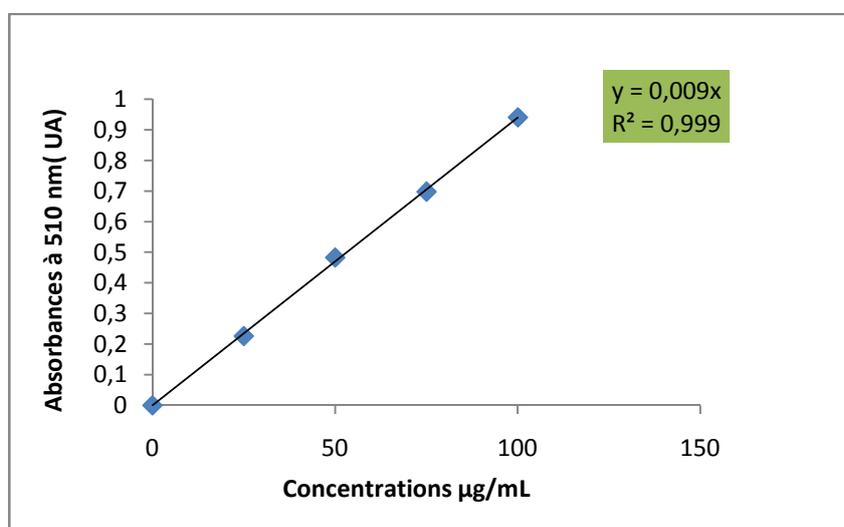
1- Courbe d'étalonnage du dosage des polyphénols totaux.



2- Courbe d'étalonnage du dosage des flavonoïdes



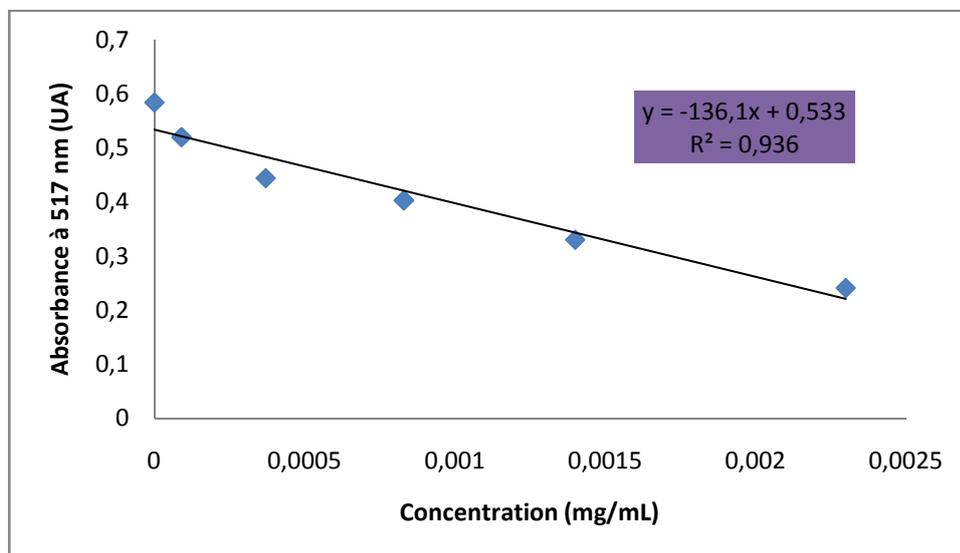
3- Courbe d'étalonnage du dosage des tanins totaux



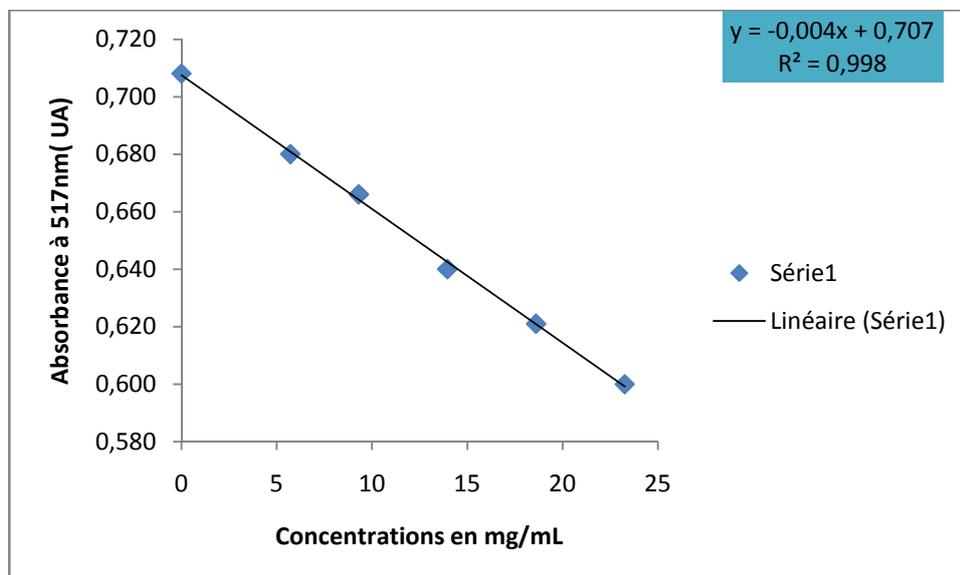
Annexe II : courbes représentant les EC_{50}

1- Représentation d' EC_{50} du DPPH

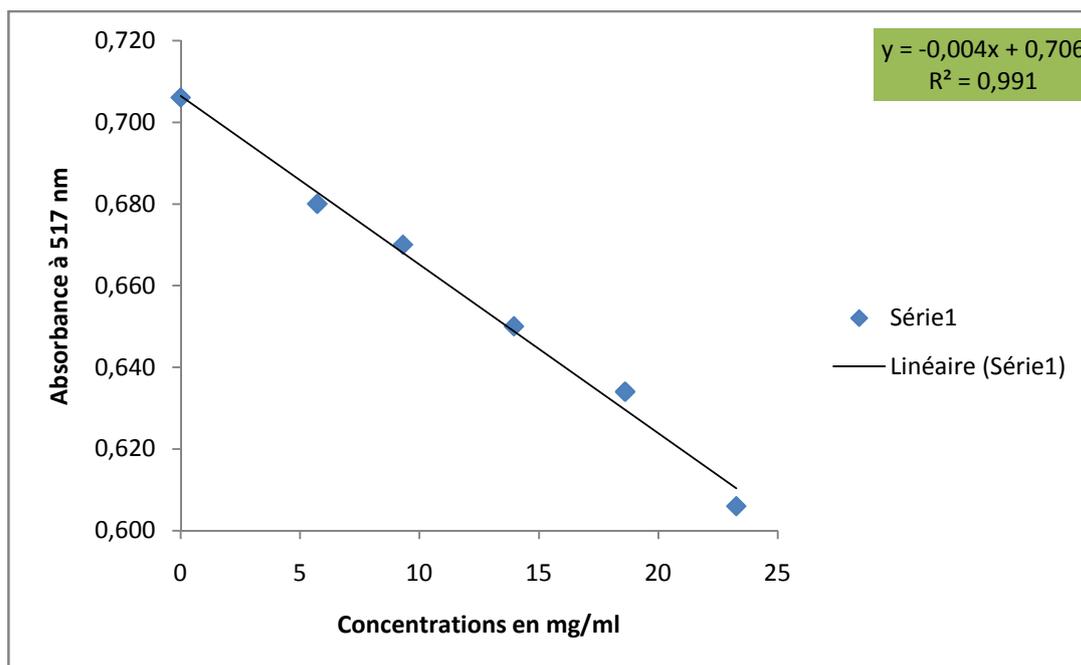
1.1.Solution de l'acide gallique



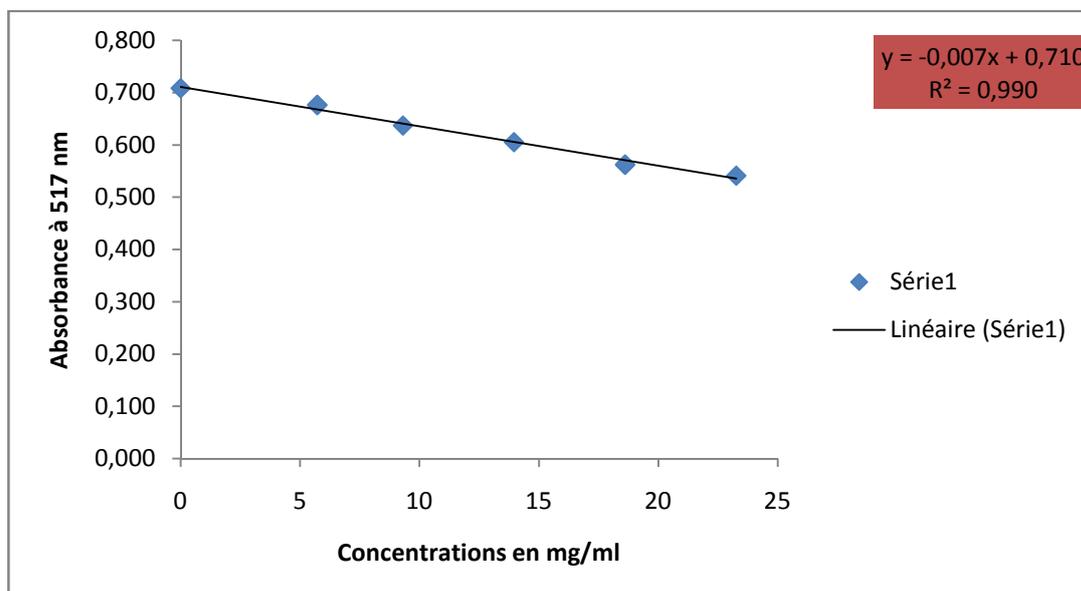
1.2.Gingembre-eau.



1.3. Gingembre dans l'huile

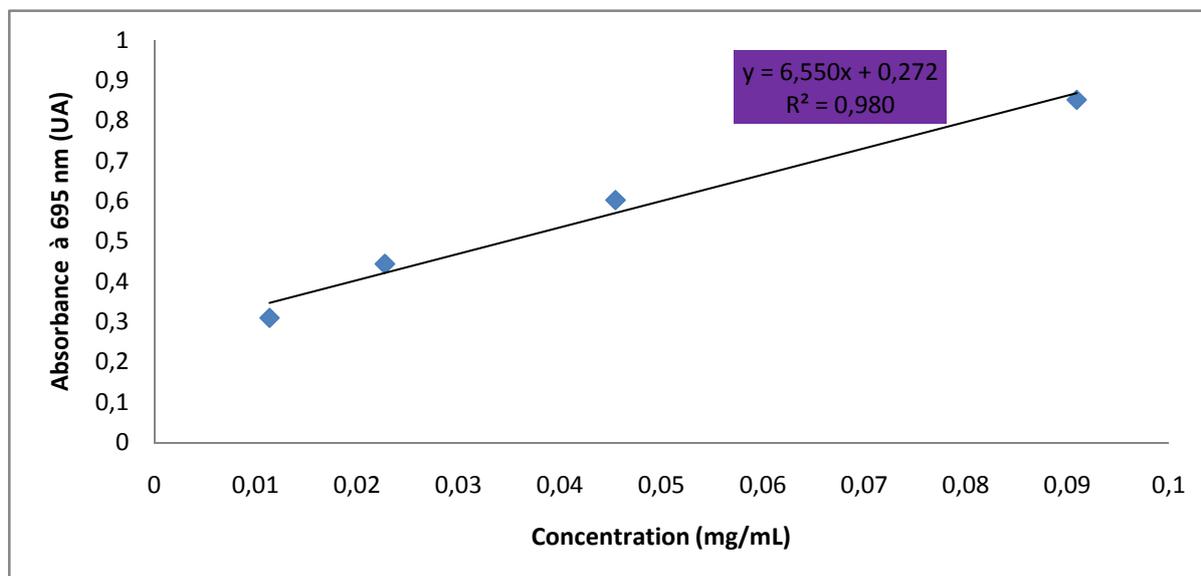


1.4. Gingembre-miel

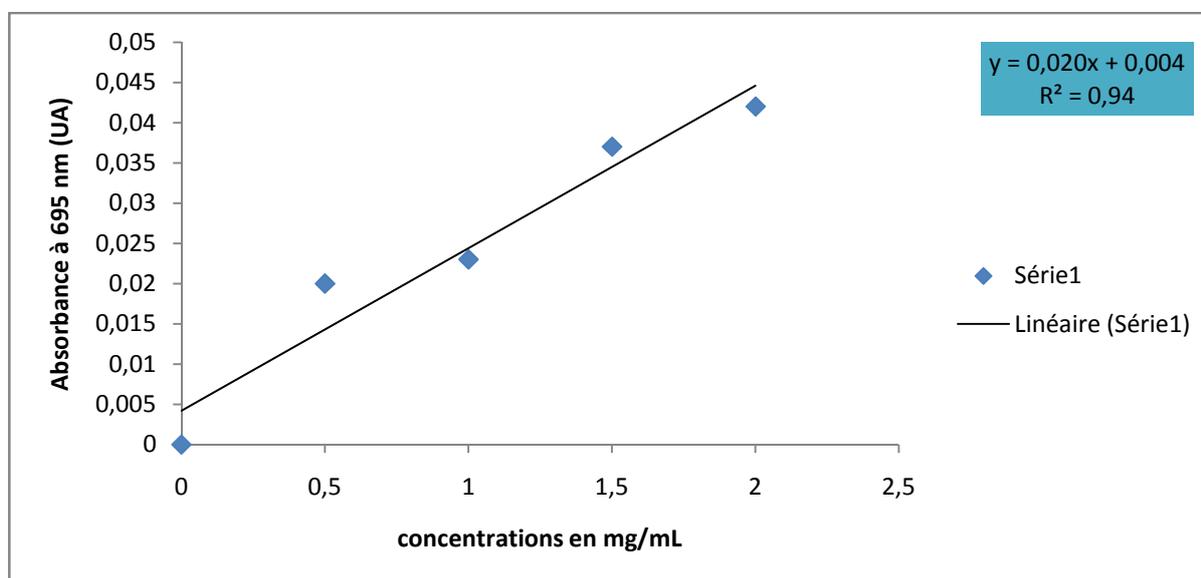


2. Représentation d'EC₅₀ du pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium

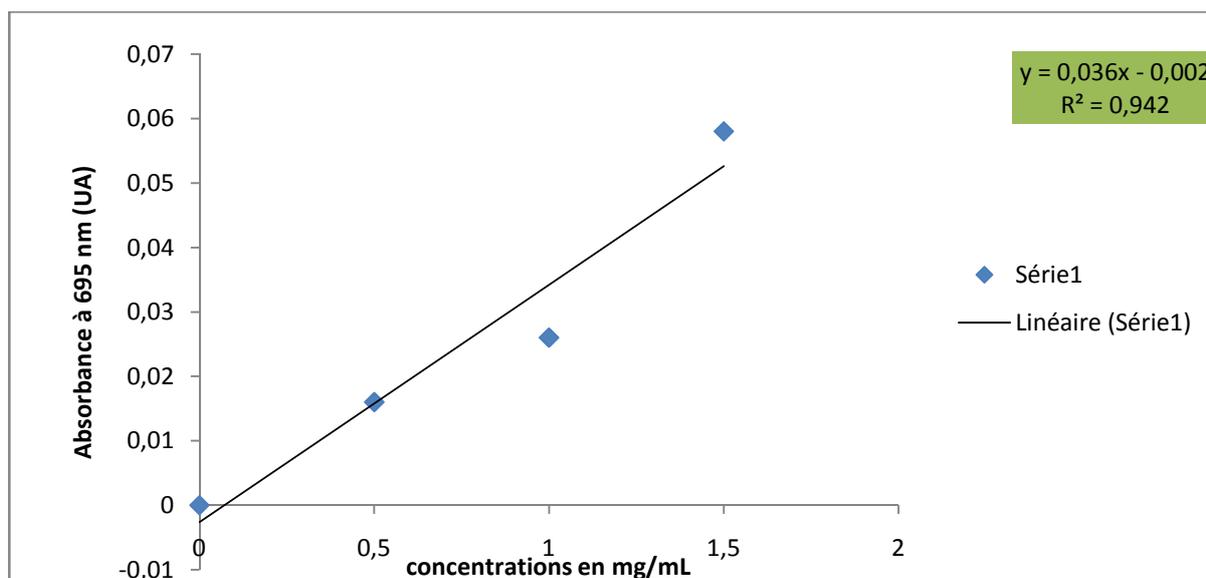
2.1. Solution de l'acide gallique



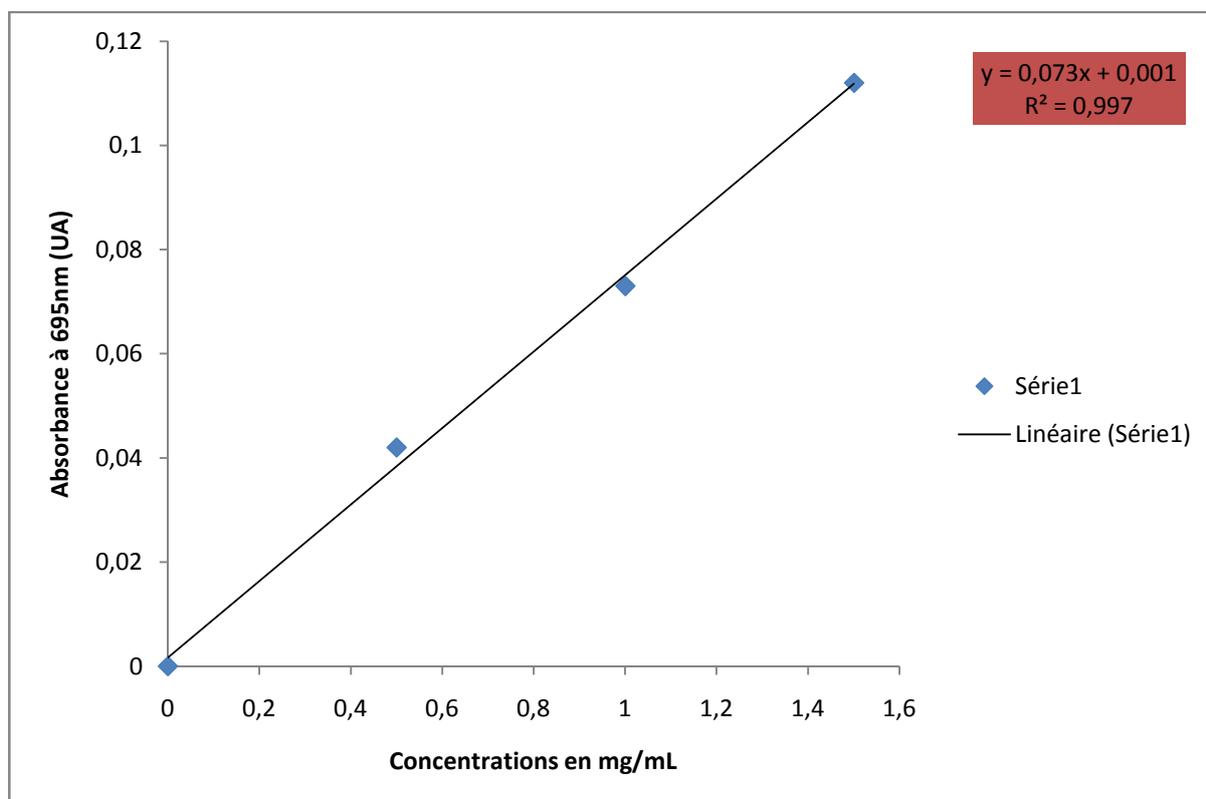
2.2. Gingembre-l'eau



2.3. Gingembre-huile d'olive.

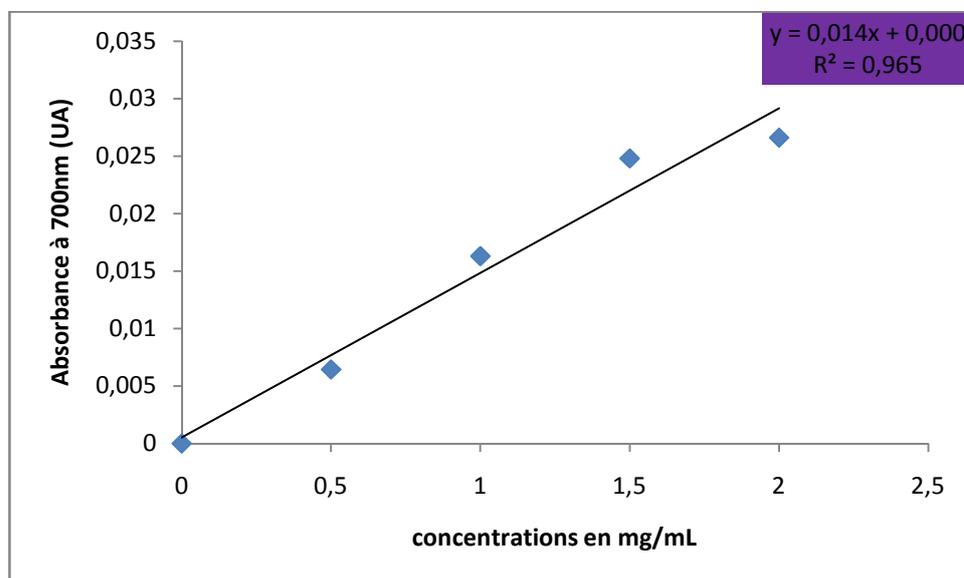


2.4. Gingembre-miel

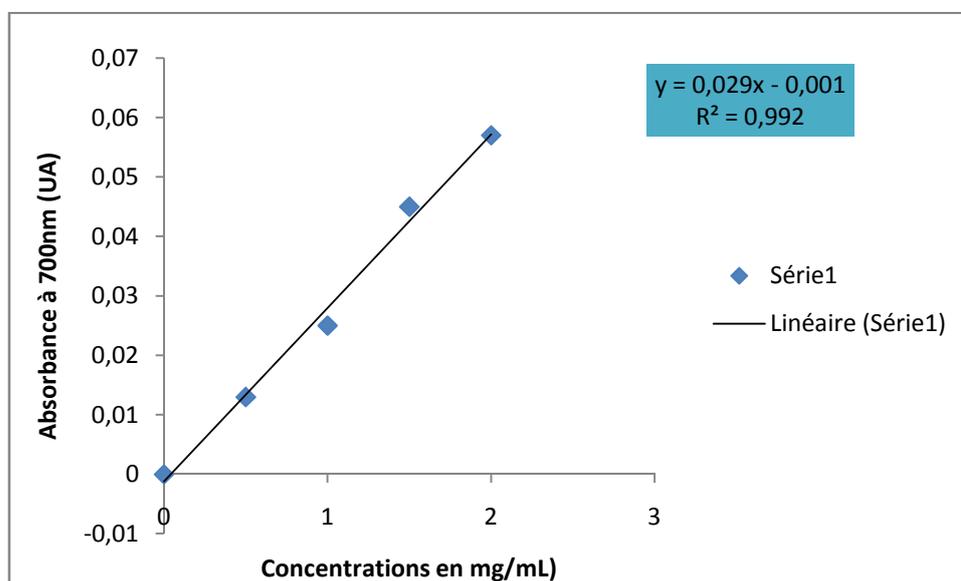


3. Représentation d'EC 50 pour le pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium

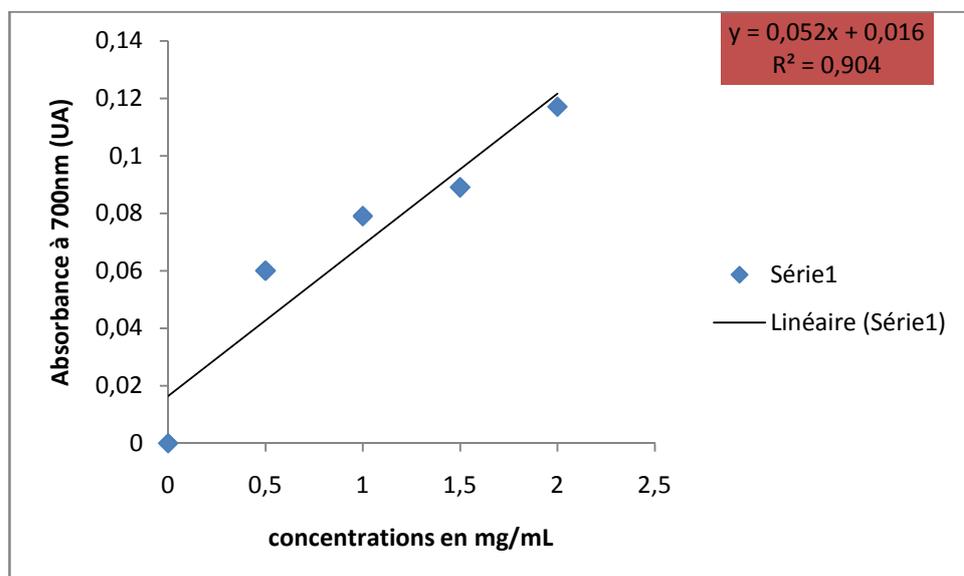
3.1. Solution de l'acide gallique



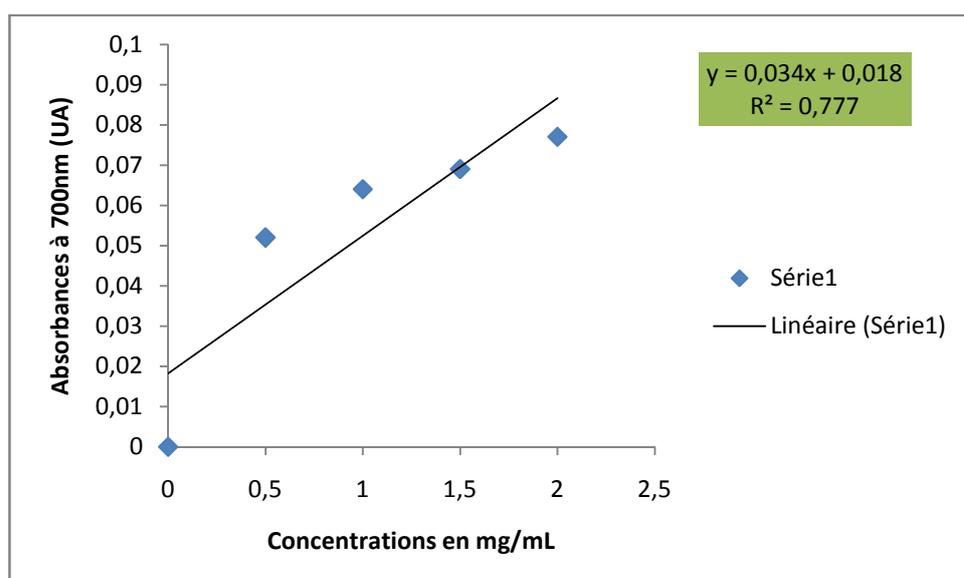
3.2. Extrait du gingembre-eau



3.3. Extrait du gingembre-miel

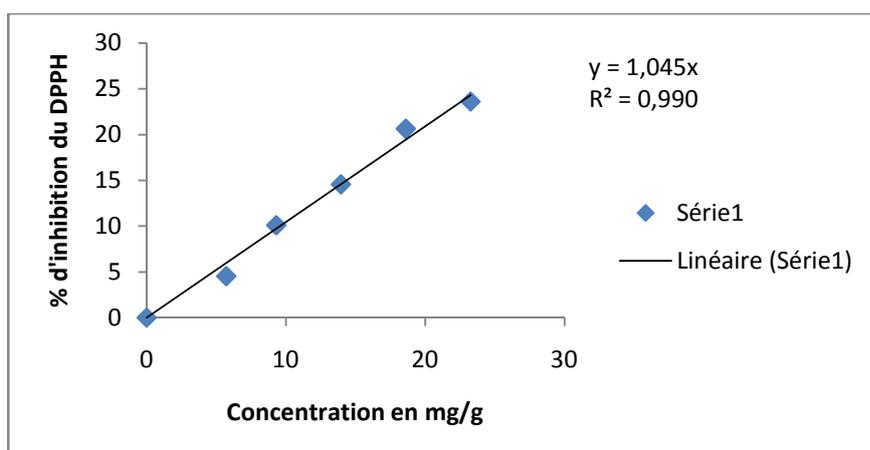


3.4. Extrait du gingembre-huile d'olive.

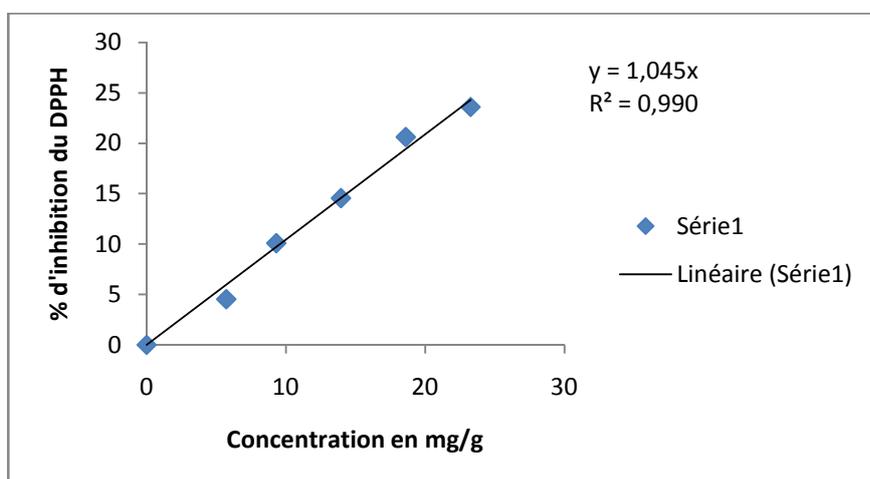


Annexe III : Courbes représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH par les extraits (gingembre-eau, gingembre-huile d'olive, gingembre -miel) en fonction des concentrations

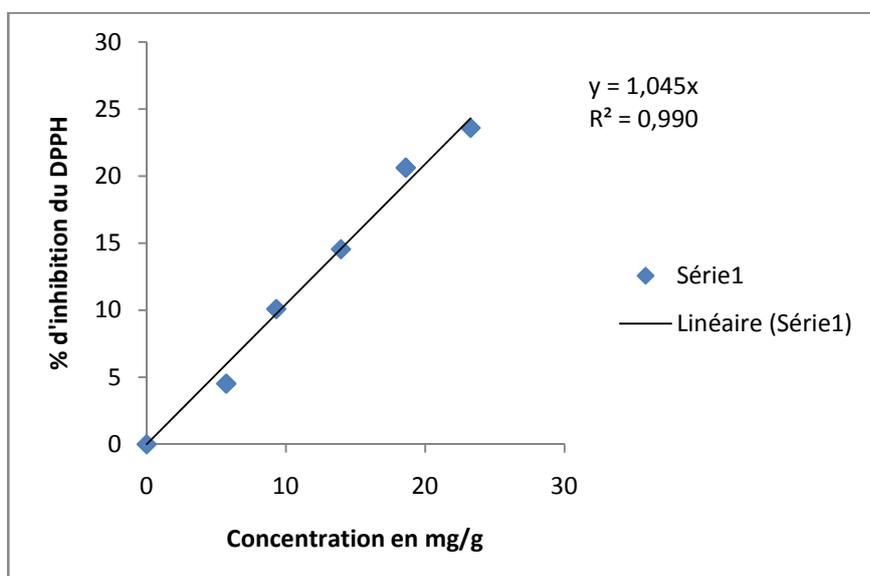
1. Gingembre-eau



2. Gingembre-huile d'olive



3. Gingembre-miel



Annexe VI: préparation de différentes solutions utilisées

Solution	Réactifs
Tampon A	Acide acétique glacial 200 mM 0.994 g de NaCl (170 mM) pH ajusté à 4,9 avec NaOH
Solution BSA	1 mg de BSA 10 mL de Tampon A
SDS/ TEA (5%), pH= 9,4	5 g de SDS 5 g de TEA Ajouter 100 mL d'eau distillée Et ajuster le pH à 9,4.
Chlorure ferrique (FeCl₃) PM= 270, 33 g/mol	0.1 g de chlorure ferrique dans 100 mL d'eau distillée (10 mM)
Solution de chlorure d'aluminium AlCl₃ (20%)	0,4 g de AlCl ₃ 20 mL d'eau distillée
Solution de carbonate de Sodium NaCO₃ (20%)	6 g de NaCO ₃ 30 mL d'eau distillée
Tampon phosphate, 0,2 M, pH= 6,6	1,115 g de K ₂ HPO ₄ 1,809 g de KH ₂ PO ₄ Ajouter 100 mL d'eau distillée
Acide trichloracétique TCA (1%), PM = 163,39 g/mol	1 g de TCA (CCl ₃ COOH), 100 mL d'eau distillée
Ferricyanure de potassium K₃Fe (CN)₆ (1%), PM=329,26g/mol	0,4 g de ferricyanure de potassium 40 mL d'eau distillé
Solution de DPPH (10⁻³ M)	0,0197 g de DPPH dans 50 mL de méthanol
Acide gallique PM= 188,14 g/mol	1,411 mg d'acide gallique dans 25 mL (0,3mM)
Réactif ferrique 2%	2% sulfate d'ammonium ferrique dans 2M d'HCl { 1,72ml de HCl 8,28ml de eau distillée 0,2g de sulfate d'ammonium

Acide sulfurique H₂ SO₄ Phosphate de sodium Molybdate d'ammonium	Réactif molybdique	3,313 mL (0,6 mM, pur à 96%, PM= 98,07 g/mol) 0,4368 g (28 mM , PM= 156,01 g/mol) 0,4943 g (4 mM , PM= 1235, 86 g/mol) Ajuster à 100 mL d'eau distillée
méthanol à 50%		5ml du méthanol à 50% plus 5 ml d'eau distillée

VII. Mesure de la température :

La température des extraits qui à été mesurer à l'aide d'un thermomètre juste après leur sortie de la micro-onde

	Température (°C)
Gingembre dans l'eau	84°C
Gingembre dans le miel	97°C
Gingembre dans l'huile d'olive	97°C

Glossaire

Glossaire

- ❖ **Accident vasculaire cérébral (AVC):** appelé **attaque cérébrale**, est un déficit neurologique soudain d'origine vasculaire causé par un infarctus ou une hémorragie au niveau du cerveau.
- ❖ **Analgésique:** soulage ou supprime la douleur.
- ❖ **Anticarcinogène:** empêche le développement d'un cancer.
- ❖ **Athérosclérose:** maladie des artères caractérisée par un épaissement de leur paroi, lié au dépôt d'une plaque d'athérome (dépôt lipidique riche en cholestérol).
- ❖ **Anti-inflammatoire:** qui fait dégonfler, et diminuer l'irritation. La plus part des anti-inflammatoires sont aussi des antidouleurs.
- ❖ **Astringent:** qualifie la sensation complexe produite dans la bouche par une solution aqueuse de produits tels que certains tanins.
- ❖ **Apoptose:** processus de la mort cellulaire programmé.
- ❖ **Cancer:** tumeur maligne formée par la prolifération désordonnée des cellules d'un tissu ou d'un organe.
- ❖ **Cataracte:** opacification du cristallin de l'œil ou de sa membrane.
- ❖ **Diabète:** Trouble de métabolisme des glucides dû à une insuffisance de la sécrétion d'insuline par le pancréas et caractérisé par une hyperglycémie et la présence de sucres dans les urines.
- ❖ **Diabète de type:** diabète insulino-dépendant.
- ❖ **Diabète de type 2:** diabète non insulino-dépendant.
- ❖ **Diurétique:** substance qui active la sécrétion des urines.
- ❖ **Glutathion:** molécule formée d'acide glutamique, de cystéine et de glycocolle, qui joue dans l'organisme un rôle important de transporteur d'hydrogène.
- ❖ **Le gingérol** ou [6]-gingérol: est un composé phénolique de la famille des vanilloïdes au goût piquant.
- ❖ **L'homéostasie:** l'homéostasie est l'équilibre dynamique qui nous maintient en vie.

- ❖ **Maladie d'Alzheimer:** est une maladie neurodégénérative du tissu cérébral qui entraîne la perte progressive et irréversible des fonctions mentales et notamment de la mémoire
- ❖ **Maladie dégénérative :** maladie (souvent génétique) dans laquelle un ou plusieurs organes sont progressivement dégradés.
- ❖ **Maladie coronarienne :** définit une maladie touchant les artères coronaires du cœur.
- ❖ **Prostaglandine :** substance hormonale dérivée d'acides gras, naturellement présente dans la plus parts des organes et tissus des mammifères.
- ❖ **Scavenger:** agent chélateur ou complexant des molécules (antiradicalaire).
- ❖ **Vasodilatateur:** substance qui augmente le calibre des vaisseaux sanguins.
- ❖ **Squéléne:** C'est un lipide de composition hydrocarbonée naturellement produit par tous les organismes supérieurs y compris les humains (Il est notamment retrouvé dans le sébum humain).
- ❖ **Vivace:** se dit d'une plante qui vit au moins deux ans.

Résumé

Zingiber officinalis (gingembre), miel et huile d'olive sont des aliments très utilisés depuis l'antiquité pour traiter différentes maladies. Le présent travail porte sur une étude comparative de la composition phénolique et de l'activité antioxydante de trois mélanges: gingembre-miel, gingembre-eau et gingembre-huile d'olive.

D'après les résultats obtenus, on a constaté que l'extrait gingembre-miel est nettement plus riche en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins totaux avec des teneurs qui sont respectivement de **29,93 mg d'EAG/g de poids frais, 0,7 µg d'EQ/g de poids frais, 0,63 mg d'EAT/g de poids frais**. Par contre la plus faible teneur en polyphénols totaux et a été enregistrée dans le mélange gingembre-huile d'olive avec une valeur de **0,13 mg d'EAG/g de poids frais**. Tandis que la teneur la plus faible en tanins totaux a été enregistrée dans l'extrait gingembre-eau **0,03 mg d'EAT/g de poids frais**.

L'évaluation des propriétés antioxydantes par le pouvoir réducteur, ainsi que l'activité antiradicalaire par le test du DPPH° révèle que l'extrait du gingembre-miel possède le plus grand pouvoir réducteur et le meilleur pouvoir antiradicalaire.

Mots clés : *Zingiber officinalis*, miel, huile d'olive, composés phénoliques, activité antioxydante.

Abstract

Zingiber officinalis (ginger), honey and olive oil, are very used food since antiquity to treat various diseases. This work concerns a comparative study of the phenolic composition and antioxidant activity of three mixtures: ginger-honey, ginger-water and ginger-olive oil.

According to the results obtained, one noted that the extract of ginger-honey is richer in total polyphenols, flavonoïds and total tannins which contents respectively **29,93 mg of GAE/g of fresh weight, 0,7 µg of QE/g of fresh weight and 0,63 mg of TAE/g of fresh weight**. But the lowest contents of total polyphenols and flavonoïds were recorded in the extract of ginger-olive oil with contents of **0,13 mg of GAE/g of fresh weight**. While the lowest content of total tannins was recorded in the extract ginger-water **0,03 mg of TAE/g of fresh weight**.

The evaluation of the antioxidant properties by the reducing power, and the antiradical activity using DPPH test, showed that the extract of the ginger-honey has the most powerful reduction and the best capacity antiradical.

Key words: *Zingiber officinalis*, honey, olive oil, phenolic compounds and antioxidant activity.