



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques

Référence 2020 / 2021

# MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Fondamentale et Appliquée

---

Présenté et soutenu par :  
**DEHINA Nermine et SADAoui Reguaia**

*Le:* dimanche 4 juillet 2021

## Thème

**Détermination des composés phénolique  
par HPLC-MS/MS et évaluation de l'activité  
antioxydante de rhizome de  
«*Zingiber Officinale Roscoe*»  
-Analyse d'article-**

---

### Jury:

|      |                |     |                      |            |
|------|----------------|-----|----------------------|------------|
| M.   | SIMOZRAG Ahmed | MCA | Université de Biskra | Président  |
| Mme. | Asma MEDDOUR   | MCB | Université de Biskra | Rapporteur |
| Mme. | Asma BOUCIF    | MCB | Université de Biskra | Examineur  |

Année universitaire : 2020/2021



## *Remerciements*

Tout d'abord nous tiens à remercier *ALLAH* le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour mener à bien la conduite de ce travail de recherche.

Un grand remerciement à nos *Chers Parent* pour tout ...

On tient à remercier et exprimer nos profondes gratitudes au Chef De Département De Science De La Nature Et De La Vie ; Université Mohamed Khider Biskra.

Nos remerciements s'adressent particulièrement au Docteur *MEDDOUR Asma* pour leur encadrement de qualité, sa motivation professionnelle, ses conseils et critiques constructives, ses corrections, sa gentillesse et sa patience ainsi pour le temps qu'elle a consacré à la réalisation de ce travail.

Nos vifs remerciements vont aux membre de jury pour avoir accepté de juger notre présente étude.

De peur d'en avoir oublier, je souhaite remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de ce parcours universitaire.

*Merci*



## Dédicace

Je tiens c'est avec grande plaisir que je dédie ce modeste travail :

*A l'homme*, mon précieux offre de dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect

Mon chère père ***Yassine***.

*A la femme*, qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non âmes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse

Mon adorable mère ***Nora***.

A mes chères frères ***Abd- El Halime*** et ***Ayoub***.

A mes chères sœurs ***Houria*** et ***Nour- El Hayat***.

A la femme de mon frère ***Houda*** et mes neveux ***Jawad*** et ***Nedjma***.

A ma chère « **SAOUDI Imane** »

☼ Puisse ***dieu*** vous donne santé, bonheur, courage, et surtout réussite ! ☼

A ma chère binôme « **SAADAOUI Roukia** », pour son entente et sa sympathie.

A tous mes professeurs que ce soit de primaire, moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieurs.

A tous mes ***Amies***,

BEGHDADI Meriem et Khalissa, BERRAMDANI Amel, SAKER Saousan, BERRICHE Hanane, HAMDANE Salwa, HFID Adila, BARKA Amina, Khalil Ahlem, ATTIA Nouha,

A toute personne qui occupe une place dans mon cœur, sans les quels tout ceci n'aurait aucun sens !



*Nermine*

## Dédicace

Avant tout,

Je remercie *Allah* qui m'a éclairé le chemin et m'a donné le courage et la patience, d'aller jusqu'à le bout du rêve.

Je dédie cet effort et mon travail à :

*Mon père*, qui a travaillé si dur pour que j'atteigne ce rang.

*Ma chère mère*, qui est restée debout pour mon succès,

☞ Pour eux tout l'amour et l'appréciation ☞

À mes *frères*, mes *sœurs*, tout ma *famille*, mes *amis* et mes *proches* !



Reguaia

# Table de matière

|                              |     |
|------------------------------|-----|
| Liste des tableaux.....      | I   |
| Liste des figures .....      | II  |
| Liste des abréviations ..... | III |
| Introduction.....            | 1   |

## Partie bibliographique

### Chapitre 01: Généralité sur le *Zingiber Officinale Roscoe*

|                                       |   |
|---------------------------------------|---|
| 1.1. Classification botanique.....    | 3 |
| 1.2. Description botanique.....       | 3 |
| 1.2.1. La partie souterraine .....    | 4 |
| 1.2.2. La partie aérienne .....       | 4 |
| 1.3. Répartition géographique.....    | 4 |
| 1.4. Utilisation traditionnelle ..... | 4 |
| 1.5. Composition chimique.....        | 4 |

### Chapitre 02: Le stress oxydatif

|   |    |
|---|----|
| 2.1. Définition .....                       | 6  |
| 2.2. Radicaux libres .....                  | 6  |
| 2.3. Antioxydants .....                     | 7  |
| 2.4. Types d'antioxydants.....              | 8  |
| 2.4.1. Antioxydants enzymatiques.....       | 8  |
| 2.4.1.1. Superoxyde dismutase (SOD).....    | 8  |
| 2.4.1.2. Catalase .....                     | 8  |
| 2.4.1.3. Glutathionne peroxydase (GPx)..... | 8  |
| 2.4.2. Antioxydants non enzymatiques.....   | 10 |

## Deuxième partie: partie expérimentale

### Chapitre 03: Matériel et méthodes

|  |    |
|--|----|
| 3.1. Matériel.....                                       | 11 |
| 3.1.1. Matériel biologique.....                          | 11 |
| 3.1.2. Produits chimiques et matériel instrumental ..... | 12 |
| 3.1.3. Appareillage .....                                | 12 |
| 3.2. Méthodes.....                                       | 13 |

|          |   |    |
|----------|---|----|
| 3.2.1.   | Préparation des extraits .....  | 13 |
| 3.2.1.1. | Extraction éthanolique.....   | 13 |
| 3.2.1.2. | Extraction aqueuse .....  | 14 |
| 3.2.2.   | Etude de l'activité antioxydante .....                                | 14 |
| 3.2.2.1. | Détermination de l'activité antioxydante totale.....                  | 14 |
| 3.2.2.2. | Test de pouvoir réducteur de Fe <sup>3+</sup> .....                   | 15 |
| 3.2.2.3. | Test de pouvoir réducteur Cu <sup>2+</sup> .....                      | 16 |
| 3.2.2.4. | Activité chélatante sur les ions ferreux (Fe <sup>2+</sup> ) .....    | 17 |
| 3.2.2.5. | Activité de piégeage des radicaux libres DPPH.....                    | 17 |
| 3.2.2.6. | Activité de piégeage des radicaux libres DMPD .....                   | 18 |
| 3.2.3.   | Détermination de la teneur phénolique totale.....                     | 19 |
| 3.2.4.   | Détermination de la teneur totale en flavonoïdes .....                | 19 |
| 3.2.5.   | Méthode HPLC-MS/MS et quantification de certains acides-phénols ..... | 20 |
| 3.2.6.   | Analyses statistiques .....   | 21 |

## **Chapitre 04: Résultats et discussion**

|          |  |    |
|----------|--|----|
| 4.1.     | Teneur totale en composé phénoliques et en flavonoïdes ..... | 22 |
| 4.2.     | La quantification de quelque acides-phénoliques.....         | 24 |
| 4.3.     | Evaluation de l'activité antioxydante .....                  | 27 |
| 4.3.1.   | Activité antioxydante totale.....                            | 28 |
| 4.3.2.   | Les pouvoirs Réducteurs .....                                | 29 |
| 4.3.2.1. | Test FRAP .....  | 29 |
| 4.3.2.2. | Dosage CUPRAC.....   | 30 |
| 4.3.3.   | Test de chélation des métaux.....                            | 31 |
| 4.3.4.   | Activités de piégeage des radicaux .....                     | 32 |
| 4.3.4.1. | Test de piégeage DPPH.....                                   | 32 |
| 4.3.4.2. | Test de balayage DMPD +.....                                 | 33 |

**Conclusion**.....34

**Référence bibliographique** .....35

**Résumé**

## Liste des tableaux

|   |    |
|---|----|
| <b>Tableau 1.</b> Classification de gingembre. ....   | 3  |
| <b>Tableau 2.</b> Localisation et action des antioxydants enzymatiques ( Finaud <i>et al.</i> , 2006). ....                 | 9  |
| <b>Tableau 3.</b> Localisation et action des antioxydants non enzymatiques ( Finaud <i>et al.</i> , 2006).....              | 10 |
| <b>Tableau 4.</b> Composé utilisé comme étalon en HPLC-MS/MS. ....  | 13 |
| <b>Tableau 5.</b> Teneur des composés phénolique totaux et flavonoïdes de différents extraits de rhizome de gingembre. .... | 22 |
| <b>Tableau 6.</b> Les composés phénoliques dans l'EEG et l'EAG par la technique HPLC-MS/MS. ...                             | 24 |

## Liste des figures

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure 1.</b> (A) le <i>zingiber officinale</i> , (B) le rhizome de gingembre (Gigon, 2012). .....   | 3  |
| <b>Figure 2.</b> Origine des différents radicaux libres oxygénés et ERO (Favier, 2003) .....  | 7  |
| <b>Figure 3.</b> Présentation géographique de la région d'étude (site web1). .....  | 11 |
| <b>Figure 4.</b> Chromatogramme des standards fait par HPLC-MS/MS. ....   | 25 |
| <b>Figure 5.</b> Profile HPLC d'extrait EAG (A) et EEG(B). .....  | 26 |
| <b>Figure 6.</b> Activités antioxydantes d'extraits aqueux et éthanolique de gingembre : (A) activité antioxydante totale (B) activité réductrice de Fe <sup>3+</sup> (C) activité réductrice de cu <sup>2+</sup> (D) activité chélatante de Fe <sup>2+</sup> (E) activité de piégeage DPPH et (F) activité de piégeage du DMPD+ à différentes concentrations des échantillons de gingembre ..... | 28 |

## Liste des abréviations

**Abs:** Absorbance.

**Ac:** Absorbance of the control réaction (absorbance de la réaction de contrôle).

**As:** Absorbance of the sample (Absorbance de l'échantillon).

**ADN:** Acide désoxyribonucléique.

**ANOVA:** analyse of variance.

**BHA:** Hydroxyanisole butylé.

**BHT:** Hydroxytoluène butylé.

**CAT :** Catalase.

**CH<sub>3</sub>COOK:** Acétate de potassium.

**CI<sub>50</sub> :** Concentration inhibitrice à 50%.

**Coenzyme Q10:** Upiquinon10.

**Covide-19:** coronavirus disease 2019 (maladie de coronavirus 2019).

**Cu<sup>2+</sup>:** Nitrate de cuivre.

**CuCl<sub>2</sub>:** Chlorure de cuivre (II).

**CUPRAC:** CUPric Reducing Antioxidant Capacity. (Capacité antioxydante par réduction de cuivre).

**Cu-Zn-SOD:** Superoxyde Dismutase 1 (SOD1).

**DMPD:** N, N-diméthyl-1,4-diaminobenzène.

**DPPH:** 1,1-diphényl 2-picryl-hydrazyl.

**EAG:** Extrait aqueux de Gingembre.

**EEG:** Extrait éthanolique de gingembre.

**EDTA:** Acide éthylène Diamine tétra-acétique.

**EOA:** Espèces Oxygénées Activées.

**ERO:** Espèces réactives de l'oxygène.

**ERA:** Espèces Réactives de l'Azote.

**ERS:** Espèces réactives du soufre.

**Fe<sup>2+</sup>:** Ion Fer (II).

**Fe<sup>3+</sup>**: Ion Fer (III).

**FeCl<sub>3</sub>**: Chlorure de fer (III).

**FeSO<sub>4</sub>**: Sulfate Ferreux.

**FRAP**: Fluorescence Recovery After Photobleaching (Pouvoir réducteur de fer).

**Ferrozine**: 3- (2-pyridyl) - 5,6-bis (acide 4-phényl-sulfonique) - 1,2,4-triazine.

**GAE**: Gallic Acid Equivalent (Equivalent d'acide gallique).

**GPX**: Glutathion Peroxydase.

**G<sub>6</sub>PD**: Glucose -6-Phosphate Déshydrogénase.

**GSH**: le Glutathion réduit.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**: Peroxyde d'Hydrogène.

**H<sub>2</sub>**: Dihydrogène.

**H<sub>2</sub>O**: Monoxyde de dihydrogène (la formule brute de l'eau).

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**: Hydrogène peroxyde (Peroxyde d'hydrogène).

**HOCL**: Hypochlorite d'hydrogène.

**HPLC**: High Performance Liquid Chromatography (La chromatographie en phase liquide à haute performance).

**K<sub>3</sub>Fe**: Ferricyanure de Potassium.

**LC-ESI-QTOF/MS**: Liquid Chromatography Electrospray Ionization Quadrupole Time-Of-Flight Mass Spectrometry.

**LDL**: Low Density Lipoprotein.

**LSD**: least significant difference.

**Mn-SOD**: Superoxyde dismutase 2 (SOD2).

**MS/MS**: Spectrométrie de masse en tandem.

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>**: Carbonate de sodium.

**Nc**: Néocuproïne.

**NO•**: Monoxyde d'azote.

**NO<sub>2</sub>•**: Dioxyde d'azote.

**NO<sub>3</sub>**: Nitrate.

**•OH** : radical hydroxyl.

**O<sub>2</sub><sup>•</sup>**: L'oxygène moléculaire.

**Psi**: Unité de pression.

**PG**: Propyl Gallate.

**QE**: Quercetin Equivalent (Equivalent de quercétine).

**RO<sup>•</sup>** : Radicaux alcoxyde.

**ROO<sup>••</sup>** : Radicaux Peroxyde.

**ROOH**: Hydroperoxydes.

**RP-HPLC-DAD**: High-performance liquid chromatography (HPLC) with Diode Array Detector (DAD).

**SOD**: Superoxyde dismutase.

**SPSS**: statistical Package for the Social Sciences.

**TAE**: Tanique Acid Equivalents (Equivalent d'acide Tanique).

**TE** : Trolox Equivalent (Equivalent de Trolox).

**TCA**: 2'-bipyridine et l'acide trichloracétique.

**Toko** :  $\alpha$ -Tocophérol.

**Trolox** : Acide 6-hydroxy- 2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique.

**TPTZ**: 2,3,5- TriPhenylTetraZolium chloride. (Chlorure de 2,3,5-Triphényltétrazolium).

**TR**: Temps de Rétention.

**Tris-HCl** : Tris (hydroxy méthyl) aminomethane hydrochloride, Trizma hydrochloride, TRIS hydrochloride, Tromethane hydrochloride.

**Tween-20**: Monolaurate de polyoxyéthylène sorbitane.

**Vitamine A**: Rétinol.

**Vitamine C**: Acide ascorbique.

**Vitamine E**: Tocophérol.

**UV**: Ultraviolet.

**UV-VIS**: Spectroscopie ultraviolet-visible.

# **Introduction**

## Introduction

Les plantes aromatiques médicinales constituent une source inépuisable de molécules biologiquement actives (terpènes, polyphénols, alcaloïdes...) (Oueslati *et al.*, 2018). Ces métabolites secondaires sont utilisés dans diverses industries telles que les industries cosmétiques, agroalimentaires, pharmaceutiques (Oueslati *et al.*, 2018).

Parmi ces plantes, on cite les zingibéracées qui ont des fortes propriétés aromatiques et médicinales (Rahath Kubra et Jagan Mohan Rao, 2012). Cette famille contient environ 1300 espèces dans 50 genres importants en médecine dont zingiber (Rahath Kubra et Jagan Mohan Rao, 2012).

Le gingembre (*Zingiber Officinale Roscoe*) est une herbacée annuelle vivace (Nandkangre *et al.*, 2015), largement utilisée comme agent aromatique et herbe médicinale depuis des siècles (Anh *et al.*, 2020). La consommation de rhizome de gingembre est un remède traditionnel typique pour soulager les problèmes de santé notamment la douleur, la nausée et les vomissements (Li *et al.*, 2019) et cité par (Mao *et al.*, 2019).

De plus, de nombreuses études ont démontrées que le gingembre possède un potentiel de prévenir et de guérir plusieurs maladies, telles que les maladies neurodégénératives (Ho *et al.*, 2013), les maladies cardiovasculaires (Akinyemi *et al.*, 2015), l'obésité (Suk *et al.*, 2017), diabète sucré (Wei *et al.*, 2017), nausées et vomissements induits par la chimiothérapie (Walstab *et al.*, 2013), et trouble respiratoire (Townsend *et al.*, 2013) et cités par (Mao *et al.*, 2019) ; Où il a été suggéré que le gingembre à des effets anti-inflammatoires, anti-cancéreuses, hépato-protecteurs (Mohamed *et al.*, 2015), néphro-protectives (Mahmoud *et al.*, 2011), propriété androgène (Ghlassi *et al.*, 2013), potentiel anti-glycation (Nagendra *et al.*, 2013) et effet antioxydants (Nagendra *et al.*, 2013).

Dans plusieurs maladies graves notamment celles liées au vieillissement, le stress est le facteur déclenchant originale (Zbadi *et al.*, 2018). Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre les systèmes producteurs d'espèces réactives d'oxygène (ERO) et des systèmes antioxydants enzymatiques ou non enzymatiques (Zbadi *et al.*, 2018).

Le traitement du stress et les recherches sont de plus en plus axés sur la façon de maintenir l'équilibre ou de restaurer l'homéostasie d'oxydo-réduction, de traiter les processus pathologiques

et de favoriser les processus physiologiques (Lozada *et al.*, 2009) soit par des substances naturelles antioxydantes de l'organisme (défenses antioxydants enzymatiques ou non enzymatique) soit par les antioxydants synthétiques (Wang *et al.*, 2017).

Les systèmes antioxydants natif ne sont généralement pas suffisantes pour prévenir les organismes vivants des dommages oxydatifs (Wang *et al.*, 2017). Par conséquent, il existe un intérêt croissant pour la recherche d'antioxydants d'origine végétale naturelle pour piéger les radicaux libres et empêcher le corps humain du stress oxydatif (Mosquera *et al.*, 2007). En effet le gingembre est recommandé pour son haute potentiel antioxydant (Bellik *et al.*, 2014) et cité par (Oueslati *et al.*, 2018).

A cause que nous n'avons pas fait le travail pratique - de fait des conditions sanitaires qui nous empêchaient (diffusion de virus SARS-COV-2) -, nous avons analysé et discuté les résultats (avec d'autres travaux) d'un article scientifique intitulé : Antioxidant activity and phenolic compounds of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC-MS/MS, en considérant ce dernier comme notre travail, dont ses objectifs sont :

- ✓ Quantification des polyphénols totaux et les flavonoïdes.
- ✓ Détermination de quelque acide phénolique en utilisant la méthode HPLC-MS/MS à partir des extraits aqueux et éthanolique de rhizome de gingembre.
- ✓ Analyse des propriétés antioxydantes des extraits aqueux et éthanolique de rhizome de gingembre en les comparant avec des antioxydants synthétiques connue (BHA, BHT, Trolox,  $\alpha$ -tocophérol).

La présente étude consiste en :

- ✓ Une partie bibliographique comporte deux chapitres ; le premier contient des généralités sur le gingembre et le deuxième sur le stress oxydatif.
- ✓ Une partie expérimentale subdivisé en deux chapitres :
  - Le premier chapitre englobe le matériel et les méthodes.
  - Le deuxième chapitre contient les résultats et les discussions.

**Première partie :**

**Synthèse**

**bibliographique**

**Chapitre 01 :**  
**Généralité sur**  
***Le zingiber officinale***

## Chapitre 1: Généralité sur le *zingiber officinale Roscoe*

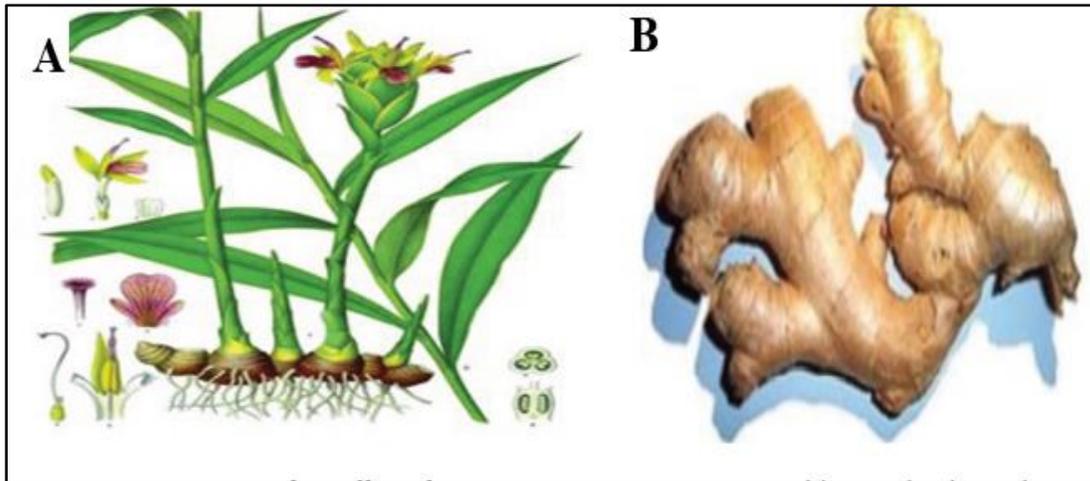
### 1.1.Classification botanique

Selon Faivre *et al.* (2006) ; Gigon (2012) la classification de gingembre est comme suite :

**Tableau 1.** Classification de gingembre.

|                     |                                   |
|---------------------|-----------------------------------|
| <b>Règne</b>        | Plantae                           |
| <b>Sous règne</b>   | Trachéobionta                     |
| <b>Division</b>     | Angiospermes (Magnoliophyta)      |
| <b>Classe</b>       | Monocotylédones (liliopsida)      |
| <b>Sous classe</b>  | Zingibéridées                     |
| <b>Ordre</b>        | Zingibérales (Scitaminales)       |
| <b>Famille</b>      | Zingibéracées                     |
| <b>Sous famille</b> | Zingibéroïdées                    |
| <b>Genre</b>        | <i>Zingiber</i>                   |
| <b>Espèce</b>       | <i>Zingiber officinale Roscoe</i> |

### 1.2.Description botanique



**Figure 1.** (A) le *zingiber officinale*, (B) le rhizome de gingembre (Gigon, 2012).

Le gingembre est une plante vivace tropicale herbacée, à port de roseau qui mesure jusqu'à 3 m de haut (Faivre *et al.*, 2006). Elle est constituée de deux parties :

### **1.2.1. La partie souterraine**

Le rhizome, est constitué de tubercules globuleux ramifiés. L'apparence du rhizome est beige pâle et sa chair est jaune pâle juteuse. La cassure est fibreuse et granuleuse, l'odeur est aromatique avec une saveur chaude et piquante (Gigon, 2012).

### **1.2.2. La partie aérienne**

Les feuilles sont longues et larges de 2 à 3 cm avec des bases gainantes. Le limbe se rétrécissant progressivement en une pointe ( Syafitri *et al.*, 2018). Le gingembre possède deux sortes de tiges : tiges hautes stériles servant à l'assimilation chlorophyllienne et des tiges plus courtes (20 cm environ) portant des fleurs irrégulières (Faivre *et al.*, 2006) parfumés blanc jaune, avec des trainées rouges sur les lèvres. La floraison a lieu entre les mois d'aout et novembre (Faivre *et al.*, 2006) Les fruits sont arrondis, côtelés, de couleur rouge orangé. Ils s'ouvrent à maturité et dévoilent des graines entourées d'une pulpe blanche (Ho Hio Hen, 2017).

### **1.3.Répartition géographique**

Le gingembre est une plante tropicale herbacée vivace poussant dans les régions ensoleillées et humides (Gigon, 2012), Elle se trouve dans toute l'Asie, les Caraïbes, l'Afrique et le Brésil, mais plus de 50 % de sa production mondiale provient de l'Inde et de la Chine (Gigon, 2012).

### **1.4.Utilisation traditionnelle**

Pendant des siècles, le gingembre a été largement utilisé comme agent médicinal et diététique en Asie du Sud. Dans le Système de médecine ayurvédique, le gingembre est appelé maha aushadhi, signifiant le grand médicament et est utilisé pour traiter plusieurs maladies (Haniadka *et al.*, 2013).

Pour la médecine traditionnelle chinoise, le gingembre est utilisé surtout pour calmer la toux, arrêter les vomissements (Faivre *et al.*, 2006 ; Gigon, 2012).

Le gingembre est largement utilisé autour du monde dans les aliments comme une épice (Banerjee *et al.*, 2011).

### **1.5.Composition chimique**

Le gingembre est l'un des agents diététiques les plus étudiés pour ses constituants chimiques et des études ont montré qu'il contenait une grande variété de composés volatiles et non volatils,

et que leur concentration varie en fonction des conditions de croissance, de la température, de la récolte et traitement (Vasala, 2004) et cité par ( Haniadka *et al.*, 2013).

Le rhizome est très riche en amidon (60 %), renferme des protéines, des graisses de types acides oléique et linoléique (10 %), de l'huile essentielle (à raison de 10 à 25 ml/kg de rhizome), un complexe oléorésineux et une enzyme, la zingibaïne (Gigon, 2012).

La composition de l'huile essentielle varie beaucoup selon l'origine géographique. Environ 54 composants ont été identifiés dans cette phase. Mais les éléments principaux, des carbures sesquiterpéniques représentant 30 à 70 % de l'huile essentielle, semblent être constants : dont le zingibérène (15 %), le  $\beta$ -sesquiphellandrène (5 %), curcumène (8 %), le  $\beta$ -curcumène, l'E- $\alpha$ -farnésine, le  $\beta$ -bisabolène et les germacrènes B et D ; accompagnés d'alcools sesquiterpéniques comme principalement l' $\alpha$ -curcumène (7 à 19 %) et le [6]-gingérol (12 %) ; mais également une fraction de carbures monoterpéniques dont le camphène (8 %), le  $\beta$ -phellandrène (23 %), le géraniol (5 %) et le citronellol (2 %) (Gigon, 2012).

Parmi les autres constituants remarquables, il existe des acides phénoliques dont les acides cinnamique, gallique, syringique, caféique et p-coumarique (Gigon, 2012). Les minéraux présents dans le gingembre sont le fer, le calcium et phosphoreux. Il contient également des vitamines telles que thiamine, riboflavine, niacine et vitamine C (Banerjee *et al.*, 2011).

Les feuilles contiennent : des monoterpènes (acétate de bornéol, cis-/trans-tujanol, diméthoxy-1,8-cinéole, canfène); cuniméaldéhyde,  $\gamma$ -terpinène, terpinol, p-cimène, terpinolène, 4-terpinol, thymol, terpinène-4-ol, 1,8-cinéole; sesquiterpènes (carophyllène, oxyde de caryophyllène, murolène); kavapyrones (dihydrokawaïne); stérols (sitostérol, stigmastérol et campestérol); phénylpropanoïdes; syringines et lignanes; flavonoïdes (rutine kaempférol-3-O-glucuronide) ( Mpalantinos *et al.*, 1998) et cité par (Ho Hio Hen, 2017).

# **Chapitre 02 :**

## **Stress oxydatif**

## Chapitre 2 : Stress oxydatif

### 2.1.Définition

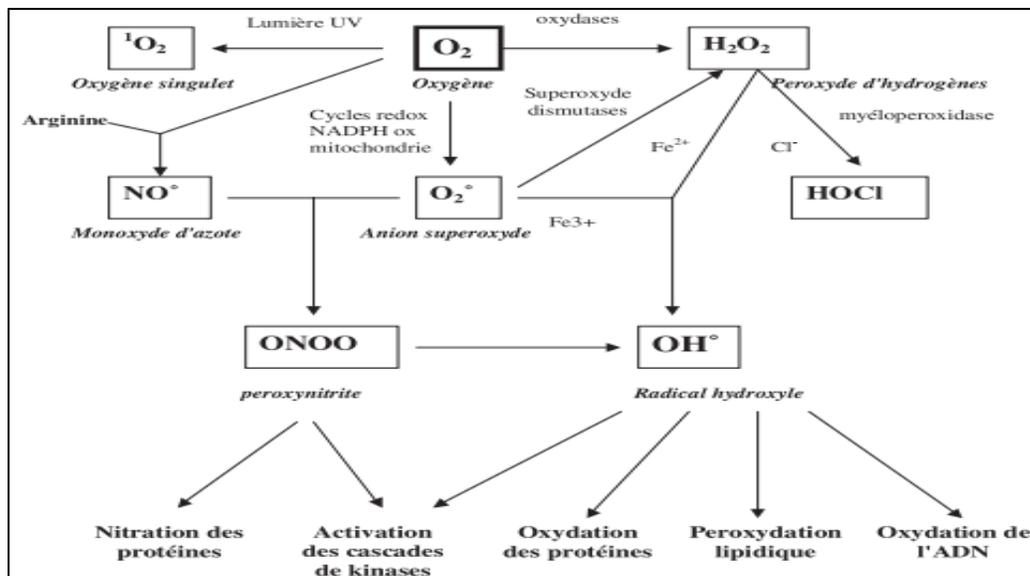
Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des premières. Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des EOA dans notre organisme (Haleng *et al.*, 2007) Ce déséquilibre conduit potentiellement à des dégâts structuraux et fonctionnels (Bensakhria, 2018).

Plusieurs facteurs influencent le stress oxydatif, certains augmentant la production des ERO comme la consommation élevée d'O<sub>2</sub> au cours d'une activité sportive intense consommatrice d'énergie, d'autres réduisent les capacités antioxydantes tels que le déficit enzymatique congénital en G<sub>6</sub>PD (Bensakhria, 2018).

### 2.2.Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique contenant un ou plusieurs électrons célibataire (électron non apparié sur une orbitale) (Goudable et Favier, 1997), est très instable avec une demi-vie très courte (Avello et Suwasky, 2006; Goto *et al.*, 2008). Ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable, il va donc se réduire en oxydant un autre composé (Halliwell, 1996) et cité par (Goudable et Favier, 1997). Parmi les radicaux libres : les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et sont dérivées de l'oxygène (Finaud *et al.*, 2006), les espèces réactives de l'azote (ERA) et les espèces réactives du soufre (ERS) (Finaud *et al.*, 2006).

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont bénéfiques pour l'organisme à des doses raisonnables, mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques externes et l'organisme devra se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants (Favier, 2003). L'origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène ERO est présenté dans la figure 2.



**Figure 2.** Origine des différents radicaux libres oxygénés et ERO (Favier, 2003)

La formation de radicaux libre se produit en continu dans les cellules à la suite de réactions enzymatiques et non enzymatiques. Les réactions enzymatiques comprennent celles impliquées dans la chaîne respiratoire, dans la phagocytose, dans la synthèse des prostaglandines et dans le système de cytochrome P-450 (Liu *et al.*, 1999) et cité par (Lobo *et al.*, 2010).

### 2.3. Antioxydants

Pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de système de défenses antioxydantes (Haleng *et al.*, 2007).

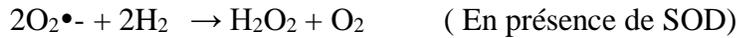
Un antioxydant peut être défini comme une substance qui aide à réduire la gravité du stress oxydatif soit en formant un radical moins actif ou en désactivant la réaction en chaîne de radical libre dommageable sur des substrats tels protéines, lipides, glucides ou ADN (Dekkers *et al.*, 1996) et cité par (Finaud *et al.*, 2006). Une gamme d'antioxydants sont actifs dans le corps, y compris des antioxydants enzymatiques (endogènes) et non enzymatiques (principalement apportés par les aliments) (Powers et Lennon, 1999) et cité par (Finaud *et al.*, 2006). Tous peuvent être des antioxydants intracellulaires ou extracellulaires (Finaud *et al.*, 2006).

## 2.4.Types d'antioxydants

### 2.4.1. Antioxydants enzymatiques

#### 2.4.1.1.Superoxyde dismutase (SOD)

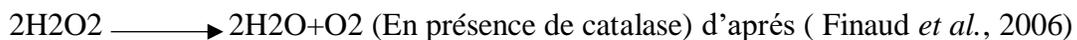
La SOD est la principale défense contre les radicaux superoxydes et constitue la première ligne de défense contre le stress oxydatif. Les SOD représentent un groupe d'enzymes qui catalysent la dismutation de l' $O_2^{\bullet-}$  et la formation de  $H_2O_2$  ( Finaud *et al.*, 2006)



Dans toutes les cellules, au repos, la majeure partie de l' $O_2^{\bullet-}$  produit par les mitochondries est réduite par la SOD mitochondriale et l'autre partie se diffuse dans le cytosol ( Das *et al.*, 1997) et cité par ( Finaud *et al.*, 2006). Dans les cellules musculaires, 65 à 85% de l'activité de la SOD se fait dans le cytosol (Powers *et al.*, 1999) et cité par ( Finaud *et al.*, 2006) ; différentes formes de SOD sont présentes si dessous (tab. 2).

#### 2.4.1.2.Catalase

La catalase est une enzyme commune trouvée dans presque tous les organismes vivants, où il catalyse la réaction de décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène (Chelicani *et al.*, 2004) cité par (Lobo *et al.*, 2010). Le peroxyde d'hydrogène est un sous-produit nocif de nombreux processus métaboliques normaux: pour éviter les dommages, il doit être rapidement converti en d'autres substances moins (Gaetani *et al.*, 1996) et cité par (Lobo *et al.*, 2010).



#### 2.4.1.3.Glutathionne peroxydase (GPx)

Le GPx est une séléno-protéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH) (Haleng *et al.*, 2007). Comme la catalase, il élimine  $H_2O_2$  en présence de glutathion réduit et limite également la peroxydation des lipides (Mariaca *et al.*, 2016). La GPx est effondrée en cas de déficit majeur en sélénium, elle est donc un bon reflet de cette carence (Haleng *et al.*, 2007), Sa synthèse étant rénale et hépatique, d'autres facteurs tels que l'insuffisance rénale ou la cytolysse hépatique peuvent modifier sa concentration (Haleng *et al.*, 2007).

**Tableau 2.** Localisation et action des antioxydants enzymatiques ( Finaud *et al.*, 2006).

| Antioxydants  | Cofacteurs     | Localisation cellulaire                | Cibles                                |
|---|----------------|--|---------------------------------------|
| Mn-SOD  | Manganèse      | Mitochondries                          | Superoxyde d'anion<br>Peroxynitrite   |
| Cu-Zn-SOD   | Cuivre<br>Zinc | Cytosol- mitochondries<br>(membrane)   | Superoxyde d'anion<br>Peroxynitrite   |
| CAT   |                | Peroxisome<br>Cytosole et mitochondrie | Peroxyde d'hydrogène                  |
| GPX   | Sélénium       | Cytosol et mitochondries               | Peroxyde d'hydrogène<br>Peroxynitrite |
| CAT = catalase; GPX = glutathion peroxydase ; SOD = superoxyde dismutase. |                |  |                                       |

### 2.4.2. Antioxydants non enzymatiques

**Tableau 3.** Localisation et action des antioxydants non enzymatiques ( Finaud *et al.*, 2006).

| Antioxydant                   | Localisation   | Actions   | Cibles                                     |
|-------------------------------|--|---|--|
| Vitamine E (tocophérol)       | Lipides<br>Membranes cellulaires / mitochondries         | Inhibition de la peroxydation lipidique<br>Stabilisation de la membrane   | ROOH - 1O <sub>2</sub>                     |
| Vitamine A (rétinol)          | Lipides<br>Membranes cellulaires                         | Réduction de la peroxydation lipidique  | 1O <sub>2</sub> - ROOH                     |
| Vitamine C (acide ascorbique) | Milieu aqueux<br>Le cytosol<br>Liquides extracellulaires | Régénération de la vitamine E<br>Protection LDL   | OH • - O <sub>2</sub> • -                  |
| Glutathion                    | Milieu aqueux  | Substrat pour GPX<br>Régénération des vitamines E et C  | 1O <sub>2</sub> - OH •                     |
| Cystéine                      | Milieu intracellulaire                                   | Précurseur du glutathion  |  |
| Acide lipoïque                | Milieu aqueux  | Inhibition de la peroxydation lipidique<br>Vitamines C et E et cystéine régénération  |  |
| Thiorédoxine                  | Milieu aqueux  | Synthèse Mn-SOD<br>Régénération de la vitamine C  | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> - ROOH       |
| Glutarédoxine                 | Milieu aqueux  |   | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>              |
| Flavonoïdes                   | Lié aux glucides   | Inhibition des enzymes pro-oxydantes<br>Ions pro-oxydants (Fe <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup> , Cu <sup>2+</sup> )<br>Piégeage<br>Protection LDL | O <sub>2</sub> • - - OH • -<br>ROOH - RO • |
| Coenzyme Q10                  | Membrane interne de mitochondries<br>Protection LDL      | régénération de la vitamine C et E  | ROO •                                      |
| Acide urique                  | Milieu aqueux  | Ions pro-oxydants (Fe <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup> , Cu <sup>2+</sup> )<br>Piégeage<br>Érythrocytes, hémoglobine, ADN, protection lipidique   | ROOH - OH • - O <sub>3</sub> - HOCL        |

**Deuxième partie :**  
**Partie expérimentale**

# **Chapitre 03 :**

## **Matériel et méthodes**

## Chapitre 3: Matériel et méthodes

Au vu de la situation épidémiologique sanitaire cette année (covid 19), nous n'avons pas la capacité de réaliser la pratique et nous nous sommes appuyés sur l'analyse et la discussion (avec d'autres articles) de l'article scientifique intitulé : Antioxidant activity and phenolic compounds of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by [HPLC-MS/MS] où nous avons considéré cet article comme notre travail afin de discuter ses avec des résultats d'autres articles.

### Information sur l'article de référence :

- DOI 10.1007/s11694-016-9423-z
- Les auteurs : Hatice Tohma, İlhami Gülçin, Ercan Bursal, Ahmet C. Gören, Saleh H. Alwasel, Ekrem Köksal.
- Publier en ligne le 18 october 2016 par springer. Nombre de page :11 pages.

### 3.1.Matériel

#### 3.1.1. Matériel biologique

Le matériel végétal utilisé dans cette étude correspond à l'espèce de *Zingiber officinale* Rosc reconnue sous le nom de gingembre. Le rhizome de gingembre séché a été obtenu à partir de marché à Erzurum, Turquie (Figure 3). Le matériel était identifié par Dr Mustafa Korkmaz, département de biologie, faculté des sciences et des arts, université d'Erzincan (Herbier de l'Université No: 4327).



**Figure 3.** Présentation géographique de la région d'étude (site web1).

### 3.1.2. Produits chimiques et matériel instrumental

Les produits chimiques utiliser dans cette étude sont :

- L'hydroxyanisole butylé (BHA),
- Hydroxytoluène butylé (BHT),
- 1,1-diphényl 2-picryl-hydrazyl (DPPH),
- Acide linoléique,
- 3- (2-pyridyl) - 5,6-bis (acide 4-phényl-sulfonique) -1,2,4-triazine (ferrozine),
- Acide 6-hydroxy- 2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique (Trolox),
- Acide éthylendiamin tétra acétique (EDTA),
- Monolaurate de polyoxyéthylène sorbitane (Tween-20),
- 2'-bipyridine et l'acide trichloracétique (TCA) ont été obtenus auprès de Sigma (Sigma-Aldrich GmbH, Sternheim, Allemagne),
- Thiocyanate de munitions a été acheté auprès de Merck.

Les composés ont été utilisés comme étalons en HPLC-MS/MS sont représenté dans le (tab. 4) si dessous.

### 3.1.3. Appareillage

Agitateur magnétique; moulin; évaporateur rotatif; incubateur; spectrophotomètre; vortex; lyophilisateur.

**Tableau 4.** Composé utilisé comme étalon en HPLC-MS/MS.

| Composé                  | Formule brute                                  | Fournisseur          |
|--------------------------|--|----------------------|
| Acide caféique           | C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>   | (98%, Sigma-Aldrich) |
| Acide ferulique          | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> | (98% Sigma Aldrich)  |
| Acide syringique         | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>  | (97%, Fluka)         |
| Acide ellagique          | C <sub>14</sub> H <sub>6</sub> O <sub>8</sub>  | 95%, Fluka           |
| Quercétine               | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub> | (98%, Sigma-Aldrich) |
| Catéchol                 | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>   | (99% Sigma Aldrich)  |
| Pyrogallol               | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>   | 98%, Sigma-Aldrich   |
| Acide p-hydroxybenzoïque | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>   | (99%, Merck)         |
| Vanilline                | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>   | (99% Merck)          |
| Acide p-coumarique       | C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>   | (98%, Sigma-Aldrich) |
| Acide gallique           | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>   | (98%, Sigma-Aldrich) |
| Acide ascorbique         | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>   | (99%, Sigma-Aldrich) |

### 3.2.Méthodes

#### 3.2.1. Préparation des extraits

##### 3.2.1.1.Extraction éthanolique

L'extraction éthanolique a été réalisée selon la procédure décrite par Hatice Serbetci Tohma et Ilhami Gulçin (2010).

25g de rhizome de gingembre séché et moulu en poudre a été mélangé avec 100 ml d'éthanol et mis sous agitation magnétique pendant 1 h ( Tohma et Gulçin, 2010), puis filtré. Le mélange est ensuite concentré à l'évaporateur rotatif à 50 ° C pour éliminer l'éthanol et obtenir l'extrait éthanolique de gingembre (EEG).

### 3.2.1.2.Extraction aqueuse

Pour l'extraction aqueuse, elle a été réalisée par la méthode décrite par Ilhami Gülçin *et al.*, (2007) comme suit : 25 g de gingembre en poudre a été mélangé à 100 ml d'eau distillée par agitateur magnétique pendant 60 min puis filtré sur un tissu à fromage et papier Whatman N ° 1, respectivement. Les filtrats ont été ensuite congelés à  $-30^{\circ}\text{C}$  dans un congélateur, et lyophilisé dans un lyophilisateur à des pressions de 5 mm-Hg à  $-50^{\circ}\text{C}$  à fin d'obtenir l'extrait aqueuse de gingembre (EAG).

Les extraits sont ensuite stockés dans une bouteille en plastique hermétiquement fermée à  $-20^{\circ}\text{C}$  jusqu'à utilisation pour des études expérimentales (Gülçin *et al.*, 2007).

### 3.2.2. Etude de l'activité antioxydante

#### 3.2.2.1.Détermination de l'activité antioxydante totale

L'activité antioxydante totale d'EAG, EEG et les antioxydants standards sont déterminés à l'aide de la méthode au Thiocyanate ferrique en émulsion d'acide linoléique, tel que décrit par (Koksal *et al.*, 2011).

#### Principe :

Les peroxydes formés lors de l'oxydation de l'acide linoléique oxydent  $\text{Fe}^{2+}$  en  $\text{Fe}^{3+}$  et ces derniers ions forment un complexe avec Thiocyanate. Le complexe a une absorbance maximale à 500 nm (Gülçin *et al.*, 2010).

#### Mode opératoire :

- 10 mg de EAG ou EEG ont été dissout dans 10ml d'eau distillée pour préparer les solutions mères, puis des délutions ont été préparé,
- Des dilutions aux différentes concentrations (10–20  $\mu\text{g} / \text{ml}$ ) de solution mère de EAG ou EEG ont été préparées dans 2,5 ml de solution tampon de phosphate de potassium (0,04 M, pH 7,0),
- Les différents échantillons ont été ajoutés à 2,5 ml d'émulsion d'acide linoléique dans une solution tampon de phosphate de potassium (0,04 M, pH 7,0),
- Les solutions finales ont été incubées à  $37^{\circ}\text{C}$ ,

- Pendant l'incubation périodique, une aliquote de 0,1 ml du mélange a été diluée avec 3,7 ml d'éthanol, puis 0,1 ml de 30% de Thiocyanate d'ammonium et 0,1 ml de chlorure ferreux 20 mM dans l'acide chlorhydrique (3,5%) ont été ajoutés au mélange.
  - L'absorbance a été mesurée à 500 nm pour la détermination du niveau de peroxyde,
- Le processus est répété toutes les 6 h jusqu'à ce que l'échantillon atteigne sa valeur d'absorbance maximale et les pourcentages d'inhibition sont calculés par l'équation suivante :

$$\text{Inhibition de peroxydation lipidique (\%)} = 100 - (\text{AS}/\text{AC}) * 100.$$

**Ac:** est l'absorbance de la réaction témoin, qui contient uniquement une émulsion d'acide linoléique et du phosphate de sodium amortir ( Gülçin *et al.*, 2010).

**As:** est l'absorbance de l'échantillon en présence de WEG et EEG ou autres composés d'essai (Gülçin *et al.*, 2010).

### 3.2.2.2. Test de pouvoir réducteur de Fe<sup>3+</sup>

La capacité réductrice du EAG et de l'EEG a été déterminée par la méthode d'Oyaizu (Oyaizu, 1986) et test FRAP.

#### Principe de d'Oyaizu :

Cette méthode est basée sur la réaction de réduction du Fe<sup>3+</sup> présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe<sup>2+</sup>, la réaction est révélée par le virage de couleur jaune du fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) en couleur bleu vert du fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>), l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm (Abudunia, 2018).

#### Mode opératoire :

- Des échantillons de 1 ml de EAG et d'EEG à différentes concentrations (10–30 µg / ml) dans de l'eau distillée ont été préparés.
- Les échantillons ont été mélangés avec 2,5 ml de phosphate tampon (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium [K<sub>3</sub>Fe (CN)<sub>6</sub>] (1%).
- Le mélange a été incubé à 50 ° C pendant 20 min.
- Ensuite, 2,5 ml d'acide trichloracétique (10%) et 0,5 ml de FeCl<sub>3</sub> (0,1%) ont été ajoutés au mélange réactionnel.
- L'absorbance a été mesurée à 700 nm.

- Une augmentation de l'absorbance a été considérée comme une plus grande capacité de réduction.

### Principe du test FRAP :

Le test FRAP mesure la capacité réductrice des ions ferriques ( $\text{Fe}^{3+}$ ) - ions ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) de la substance. Il a été rapporté que le test FRAP offre un indice bien connu de potentiel antioxydant ou réducteur d'échantillons ou de composés purs à de faibles valeurs de pH, le test FRAP mesure la capacité des antioxydants pour réduire le complexe ferrique 2,4,6-tripyridyl-s-triazine [ $\text{Fe}^{3+}$  - (TPTZ)  $2$ ]  $3+$  en complexe ferreux de couleur bleu intense [ $\text{Fe}^{2+}$  - (TPTZ)  $2$ ]  $2+$  qui a une absorption maximale à 593 nm avec une couleur bleu intense du milieu réactionnel (Topale *et al.*, 2016).

#### 3.2.2.3. Test de pouvoir réducteur $\text{Cu}^{2+}$

La capacité réductrice de EAG et de EEG a également été mesurée par la méthode CUPRAC développée par Apak ( Apak *et al.*, 2007) comme décrit auparavant (Gülçin, 2008).

### Principe :

La méthode de mesure des antioxydants CUPRAC (CUPric Reducing Antioxidant Capacity), est basé sur la mesure de l'absorbance du chélate de Cu (I) -néocuproïne (Nc) formé à la suite de la réaction d'oxydoréduction des antioxydants de rupture de chaîne avec le réactif CUPRAC, Cu (II)-Nc, où l'absorbance est enregistrée à l'absorption maximale de la lumière longueur d'onde de 450 nm d'après ( Özyürek *et al.*, 2011).

### Mode opératoire :

- Trois solutions de même volume 0.25ml ont été mélangée :
  - Solution de  $\text{CuCl}_2$  (0,01 M),
  - Solution de néocuproïne éthanolique ( $7,5 \times 10^{-3}$  M),
  - Solution tampon  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  (1 M).
- Un extrait de gingembre à différentes concentrations (10 à 30 ug / ml) a été ajouté à ce mélange.
- Les volumes finaux ont été ajustés à 2 ml avec de l'eau distillée.
- Après 30 min, les absorbances ont été mesurées à 450 nm.

- L'augmentation de l'absorbance a été interprétée comme une augmentation de la capacité réductrice

#### 3.2.2.4. Activité chélatante sur les ions ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ )

L'activité chélatante des ions ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) du EAG et de l'EEG a été déterminé selon la méthode de (Re *et al.*, 1999).

##### Principe :

Une mesure de l'activité de chélation des métaux d'un antioxydant est basée sur la mesure de l'absorbance du complexe  $\text{Fe}^{2+}$ -ferrozine après le traitement préalable d'une solution d'ions ferreux avec matériau d'essai (çetinkaya *et al.*, 2012).

##### Mode opératoire :

- Diverses concentrations d'échantillon ont été mélangées :
  - 0,25 ml Solution de  $\text{FeSO}_4$  (2 mM),
  - 1 ml de solution tampon Tris – HCl (pH 7,4),
  - 1 ml de solution de 2,2'-bipyridine (0,2% dans 0,2 M HCl),
  - 2,5 ml d'éthanol.
- Le volume final a été ajusté à 6 ml par addition d'eau distillée et bien mélangé.
- Les absorbances des échantillons ont été enregistrées spectrophotométriquement à 562 nm.
- L'EDTA est utilisé comme chélateur standard des ions ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ).

#### 3.2.2.5. Activité de piégeage des radicaux libres DPPH

La propriété de piégeage des radicaux du EAG et de l'EEG a été évaluée en utilisant le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) comme réactif selon ( Gülçin, 2010).

##### Principe :

La réduction du radical libre  $\text{DPPH}^+$  (2,2'-diphényle-1-picrylhydrazyle) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants (Molyneux, 2004) en présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH de couleur violette se réduit en 2,2-diphényl 1picryl hydrazine de couleur jaune (Maataoui *et al.*, 2005) et cité par (Athamena *et al.*, 2010).

**Mode opératoire :**

- Une solution de DPPH d'éthanol (1 mM) a été préparée immédiatement avant le test.
- 1 ml de solution de DPPH ont été mélangés avec 3 ml d'extrait de gingembre éthanolique à différentes concentrations (10 à 30 µg / ml).
- Le mélange a été incubé pendant 30 min.
- Les mesures d'absorbance ont été spectrophotométriques fait à 517 nm.

- La diminution de l'absorbance de l'échantillon indique la capacité de piégeage des radicaux libres du DPPH.

**3.2.2.6. Activité de piégeage des radicaux libres DMPD**

La capacité de piégeage des radicaux du EAG et de l'EEG a été déterminée en utilisant un test d'activité de piégeage des radicaux DMPD avec de légères modifications (Gülçin, 2011).

**Principe :**

Ce test est basé sur l'inhibition de la formation de cations radicalaires  $DMPD^+$ .

**Mode opératoire :**

- 105 mg de DMPD ont été dissous dans 5 ml d'eau distillée (**S1**).
- 1 ml de cette solution (**S1**) a été ajouté à 100 ml de tampon acétate (0,1 M, pH 5,3) (**S2**).
- 0,3 ml du chlorure ferrique (0,05 M) a été ajouté à la solution (**S2**), pour obtenir du  $DMPD^+$ .
- Différentes concentrations (10 à 30 µg /ml) de EAG et d'EEG ou des antioxydants standard ont été ajoutés aux tubes à essai et le volume total a été ajusté avec de l'eau distillée à 0,5 ml.
- Un millilitre de solution DMPD a été directement ajouté au mélange réactionnel.
- Ces échantillons ont été agités avec un vortex et incubés dans l'obscurité à température ambiante pendant 15 min.
- Absorbance a été mesurée à 505 nm.
- Une solution tampon a été utilisée comme blanc et au lieu de l'échantillon, de l'eau distillée a été utilisée pour le contrôle.

### 3.2.3. Détermination de la teneur phénolique totale

#### Principe :

Les polyphénols extraits de EAG et d'EEG réagissent avec le réactif spécifique de Folin – Ciocalteu et forment un complexe bleu, qui peut être quantifié par spectrophotométrie à 760 nm (Gulcin *et al.*, 2008).

#### Mode opératoire :

- 1 ml d'échantillon EAG et EEG ou de solution standard a été introduit dans un tube à essai et 2,3 ml de volume final ont été réalisés avec de l'eau distillée.
- 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu a été ajouté au tube à essai et après 5 min, 1,5 ml d'une solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2%) a été ajoutée.
- Après les tubes ont été vortexés et maintenus à température ambiante dans l'obscurité pendant 30 min, l'absorbance des échantillons a été mesurée à 760 nm à l'aide d'une spectrophotométrie.
- Diverses concentrations d'acide gallique allant de 0 à 500 µg ont été utilisées comme standard avec les échantillons et la quantité de phénols totaux ont été calculés en utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.
- Les résultats sont exprimés en µg d'acide gallique équivalents par mg d'extrait.

### 3.2.4. Détermination de la teneur totale en flavonoïdes

La teneur totale en flavonoïdes du EAG et de l'EEG a été estimée par un test colorimétrique (Gülçin *et al.*, 2010).

#### Mode opératoire :

- 1 mg d'extrait de gingembre éthanolique a été introduit dans un tube à essai et 0,1 ml CH<sub>3</sub>COOK (1 M), 0,1 ml de 10% Al (NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> dans 4,3 ml d'une solution d'éthanol a été ajoutée à l'échantillon.
- Puis le mélange a été vortexé et maintenu à température ambiante pendant 40 min.
- L'absorbance de l'échantillon a été mesurée en triple à 415 nm en utilisant un spectrophotomètre UV – VIS.
- La courbe standard de quercétine à différentes concentrations allant de 0 à 100 µg a été utilisée pour la détermination de la teneur en flavonoïdes de gingembre dans l'éthanol.

- Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g}$  de quercétine équivalents par mg d'extrait.

### 3.2.5. Méthode HPLC-MS/MS et quantification de certains acides-phénols

- L'analyse HPLC-MS / MS de l'EEG a été réalisée à l'aide de Spectrophotomètre de masse HPLC et Tandem Gold Triple quadripôle (Istanbul, Turquie) équipé d'une colonne de gravité Macherey Nagel Nucleoder C18 ( $125 \times 2$  mm d. Granulométrie  $5 \mu\text{m}$ ) de type Zivak®.
- La séparation HPLC des échantillons était réalisée sur une colonne de gravité Macherey-Nagel Nucleoder C18 ( $125 \times 2$  mm d.i., taille de particule de  $5 \mu\text{m}$ ).
- La phase mobile était composée de méthanol (A, 0,5% d'acide formique) dans l'eau (B, 0,5% d'acide formique), dont le programme de gradient était de 0–1,00 min 50% A et 50% B, 1,01–30,00 min 100% A et enfin 30.01–35.00 50% A et 50% B.
- L'injection le volume de l'échantillon était de  $10 \mu\text{L}$  et le débit de la phase mobile était de  $300 \mu\text{L} / \text{min}$ .
- La colonne chromatographique était conservée à  $30^\circ \text{C}$ .

#### Principe de HPLC :

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié. Les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés appelait chromatogramme (De Rouen, 2010).

#### Principe de spectrométrie de masse en tandem MS/MS:

Une très petite quantité du composé à analyser est transformée en ions par un moyen adapté (bombardement avec des électrons ...). Ces ions sont alors soumis, sous un très bon vide, à l'action d'un champ électrique et / ou magnétique selon les cas. Les forces qui s'exercent sur ces ions permettent de déterminer leur rapport masse / charge, donc éventuellement leur nature.

Les résultats sont présentés au moyen d'un graphe appelé spectre de masse sur lequel figurent les abondances des ions formés classés par ordre croissant de leur rapport masse /charge (site web 2).

### **3.2.6. Analyses statistiques**

L'expérience concernant l'activité antioxydante totale a été effectuée au double, alors que le reste des analyses ont été réalisées en triple. Les valeurs ont été exprimées comme moyenne  $\pm$  SD et analysés par SPSS (version 11.5 pour Windows 98, SPSS Inc.). Une ANOVA unidirectionnelle a été effectuée pour déterminer la signification de la différence. Les différences significatives entre les moyens ont été déterminés par des tests LSD.  $p < 0,05$  a été accepté comme significatif tandis que  $p < 0,01$  a été considéré comme étant substantiellement important.

# **Chapitre 04 :**

## **Résultats et discussion**

## Chapitre 4 : Résultats et discussion

Dans ce qui suit, nous avons discuté les résultats obtenus par : Hatice Tohma, İlhami Gülçin, Ercan Bursal, Ahmet C. Gören, Saleh H. Alwaseel, Ekrem Köksal, publiés sous-titre : Antioxidant activity and phenolic compounds of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC-MS/MS.

### 4.1. Teneur totale en composé phénoliques et en flavonoïdes

Dans cette étude, les gammes d'étalonnage de l'acide gallique et de la quercétine ont été utilisés pour quantifier les composés phénoliques et les flavonoïdes dans les extraits aqueux et éthanolique. L'activité antioxydante d'extraits de plante est généralement liée à leur contenant phénolique (Shirin Adel et Prakash, 2010).

Le tableau 5 représente les teneurs en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes des extraits aqueux (EAG) et éthanolique (EEG) de *Zingiber officinale* Roscoe.

**Tableau 5.** Teneur des composés phénolique totaux et flavonoïdes de différents extraits de rhizome de gingembre.

| Contenus                     | EEG ( $\mu\text{g}$ équivalent d'acide gallique EAG /mg d'extrait) | EAG ( $\mu\text{g}$ équivalent de quercétine EQ/mg d'extrait) |
|------------------------------|--|---|
| Teneur totale en polyphénol  | 137.5  | 52.8  |
| Teneur totale en flavonoïdes | 25.1   | 3.9   |

La teneur en polyphénol dans les extraits EEG et EAG de rhizome de gingembre a été respectivement de 137.5 et 52.8  $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait. Ainsi que la teneur totale en flavonoïdes a été de 25.1 et 3.9  $\mu\text{g}$  EQ/ mg d'extrait EEG et EAG respectivement.

On remarque que la teneur totale en polyphénol dans l'extrait EEG est plus que dans l'extrait EAG (**137 $\mu\text{g}/\text{mg}$  > 52.8 $\mu\text{g}/\text{mg}$** ).

Le même pour les flavonoïdes qui ont été remarquer dans l'extrait EEG par une teneur plus que dans l'extrait EAG (**25.1 $\mu\text{g}/\text{mg}$  > 3.9  $\mu\text{g}/\text{mg}$** ).

Concernant la teneur en polyphénols, nos résultats sont presque identiques à ceux menés par mosovka *et al.* (2015) où ses résultats ont été de  $181.41 \pm 0.07$  mg EAG/ g d'extrait méthanolique de rhizome de gingembre. Et supérieurs à ceux de Maizura *et al.*(2011) qui a trouvé  $101.6 \pm 0.6$

mg EAG 100g d'extrait de gingembre en utilisant un extracteur de jus (Breville Juice Fountain ® plus Juice extractor, Australie) sans aucun ajout d'eau.

Tandis que nos résultats différaient d'une autre étude fait par Shirin Adel et Prakash (2010) qui ont été trouvé que les polyphénols totaux étaient plus élevés dans l'extrait aqueux que l'extrait éthanolique des rhizomes de gingembre, avec une valeur ( $840 \pm 2.1$  mg d'équivalent d'acide tannique (EAT) en 100g d'extrait aqueux de gingembre et de ( $800 \pm 4.3$  mg EAT/100g d'extrait éthanolique de gingembre, respectivement (Shirin Adel et Prakash, 2010).

Jaffery *et al.* (2003) ont été mentionné dans son étude que la composition et la quantité des phénols varient considérablement en fonction de différentes facteurs interne et externe y compris la variété végétale, le sol et les conditions de récolte. Le processus d'extraction a également un grand impact sur la composition et les caractéristiques de l'extrait final (Gallardo *et al.*, 2006) et cité par (Moskova *et al.*, 2015). Oueslati *et al.* (2010) ont été prouvé que l'efficacité de l'extraction dépend du pouvoir d'extraction du solvant utilisé et du temps d'extraction, où ils ont été utilisés deux méthodes d'extraction: la méthode de macération (éthanol comme solvant) qui a obtenus 51.7 mg EAG /g de matière sèche et la méthode de sonication qui a obtenus 23.7 mg EAG/g de matière sèche; et de là ils ont été conclu que l'accès aux extraits obtenus par la macération sont plus riche en polyphénols totaux que ceux obtenus par sonication (Oueslati *et al.*, 2018).

Concernent la teneur en flavonoïdes, Oueslati *et al.* (2018) ont été estimé une valeur égale à 32.1mg d'équivalents catéchine / g de matière sèche dans l'extrait éthanolique de rhizome de gingembre.

Tandis que les résultats de la teneur en flavonoïde dans nos extraits sont moindres que celle de Shirin Adel et Prakash (2010) qui ont été dans l'extrait EAG de rhizome de gingembre d'une valeur de  $1.371 \pm 0.01$  g EQ /100g d'extrait, et dans l'extrait EEG de  $0.352 \pm 0.002$  g EQ /100g d'extrait. Cette différence pourrait être due aux méthodes d'extraction (Shirin Adel et Prakash, 2010).

La partie étudiée de la plante peut également avoir un effet sur la distribution différente de la quantité de polyphénols et des flavonoïdes comme montre l'étude fait par Ghasemzadeh *et al.* (2010) où ils ont été déclarer que la teneur totale en flavonoïdes et polyphénols dans les feuilles était supérieure à celle des racines suivies du contenu dans les tiges.

Les teneurs en flavonoïde et polyphénols totaux ont été estimés dans les extraits de gingembre (éther de pétrole, hexane, chloroforme, butanol) dans une étude faite par Saiah *et al.* (2017) où les chercheurs ont prouvé la richesse de gingembre en flavonoïdes et polyphénols totaux.

D'après l'étude réalisée par Oueslati *et al.* (2018), l'utilisation des solvants avec différentes polarités permet également une meilleure extraction, alors une grande variation des teneurs totales en polyphénols et flavonoïdes sera estimée.

#### 4.2. La quantification de quelques acides-phénoliques

Après détermination des teneurs des polyphénols et des flavonoïdes totaux, les acides phénoliques de EAG et EEG ont été déterminés par méthode HPLC-MS/MS (Tohma *et al.*, 2016)

Le tableau 6 suivant représente les résultats de contenu phénolique de l'EAG et l'EEG de rhizome de gingembre :

**Tableau 6.** Les composés phénoliques dans l'EEG et l'EAG par la technique HPLC-MS/MS.

|    | Contenus                   | Temps de rétention | Ion parent | La fille Ion | Énergie de Collision (V) | EAG (mg/kg)                 | EEG (mg/kg)                 |
|----|----------------------------|--------------------|------------|--------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|    | Curcumine                  | 18.42              | 367        | 216.4        | 10                       | -                           | -                           |
| 1  | Pyrogallol                 | 3.26               | 125        | 78.8         | 20                       | 142.4                       | 264.3                       |
| 2  | Acide p – hydroxybenzoïque | 4.40               | 137        | 92.7         | 10                       | 321.1                       | 29.4                        |
| 3  | Acide ferulique            | 5.85               | 193        | 177.5        | 10                       | 88.8                        | 224.7                       |
| 4  | Vanilline                  | 5.50               | 181        | 135.5        | 10                       | 101.2                       | 89.4                        |
| 5  | Acide p-coumarique         | 5.96               | 163        | 118.7        | 10                       | 291.4                       | 170.2                       |
| 6  | Acide gallique             | 2.01               | 169        | 124.6        | 10                       | 29.8                        | 39.6                        |
| 7  | Acide ascorbique           | 4.95               | 175        | 114.0        | 12                       | <sup>a</sup> - <sup>b</sup> | 31.3                        |
| 8  | Acide caféique             | 4.45               | 179        | 134          | 11                       | 9.8                         | 91.2                        |
| 9  | Acide syringique           | 4.47               | 197        | 181.6        | 10                       | <sup>a</sup> - <sup>b</sup> | <sup>a</sup> - <sup>b</sup> |
| 10 | Acide ellagique            | 8.03               | 301        | 150          | 10                       | <sup>a</sup> - <sup>b</sup> | <sup>a</sup> - <sup>b</sup> |
| 11 | Quercétine                 | 7.98               | 301        | 178.6        | 10                       | <sup>a</sup> - <sup>b</sup> | <sup>a</sup> - <sup>b</sup> |
| 12 | α- tocophérol              |                    | 429        | 162.6        | 20                       | <sup>a</sup> - <sup>b</sup> | <sup>a</sup> - <sup>b</sup> |
| 13 | Catéchol                   | 3.95               | 109        | 64.8         | 35                       | <sup>a</sup> - <sup>b</sup> | <sup>a</sup> - <sup>b</sup> |

a : Il a été utilisé pour l'étalon interne.

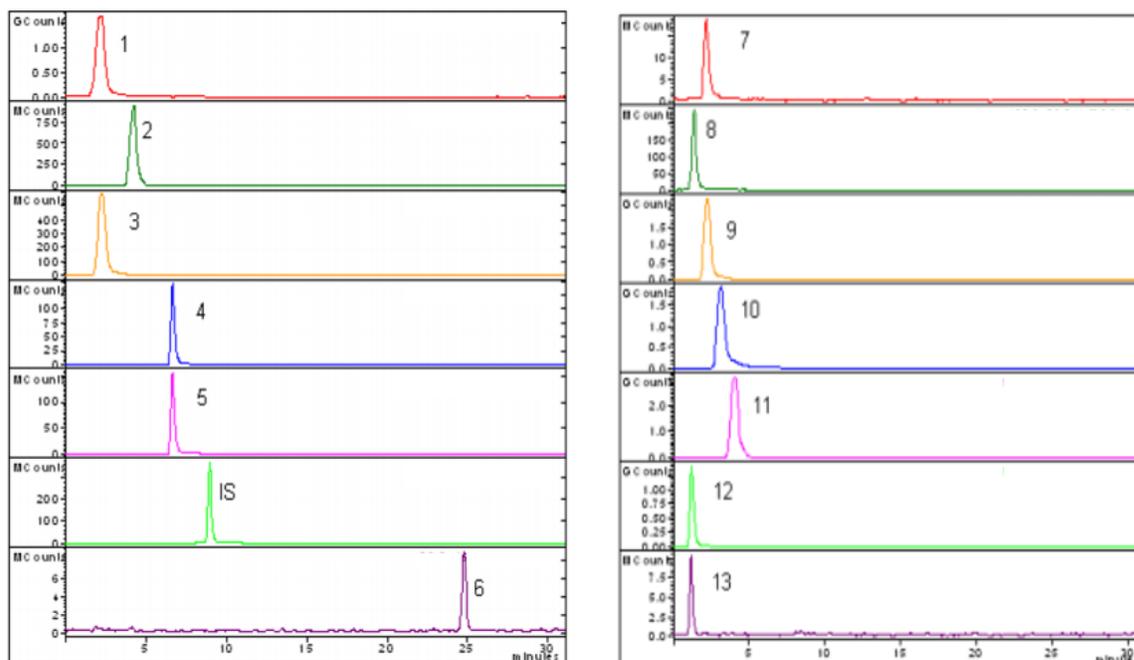
b : Ces valeurs sont inférieures aux limites de la quantification.

D'après ces résultats on note la présence de pyrogallol, acide p -hydroxybenzoïque, acide ferulique, vanilline, acide p-coumarique, acide gallique et l'acide caféique dans l'EAG de rhizome de gingembre par une quantité suffisante : 142.4 (mg/kg), 321.1 (mg/kg), 88.8 (mg/kg), 101.2 (mg/kg), 291.4 (mg/kg), 29.8 (mg/kg) et 9.8 (mg/kg) respectivement.

L'EEG contient pyrogallol, acide p -hydroxybenzoïque, acide ferulique, vanilline, acide p-coumarique, acide gallique, acide ascorbique et acide caféique par une quantité suffisante : 264.3 (mg/kg), 29.4 (mg/kg), 224.7 (mg/kg), 89.4 (mg/kg), 170.2 (mg/kg), 39.6 (mg/kg), 31.3 (mg/kg) et 91.2 (mg/kg) respectivement.

Les acides syringique et ellagique, la quercétine, l' $\alpha$ - tocophérol, le catéchol ont été également trouvé dans nos extraits aqueux et éthanolique mais par des valeurs inférieures aux limites de quantification. D'autre part l'acide ascorbique a été trouvé dans l'EAG par une quantité suffisante 31.3 (mg/kg) mais dans l'EEG été d'une valeur inférieure aux limites de la quantification.

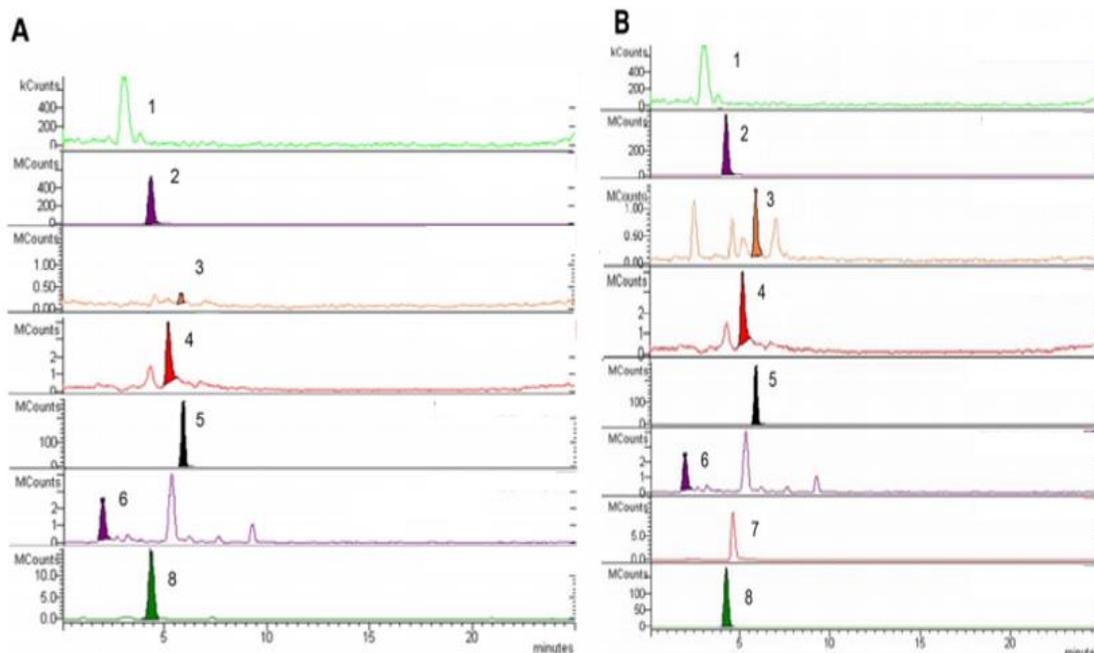
La figure suivante représente les chromatogrammes fait par HPLC-MS/MS :



**Figure 4.** Chromatogramme des standards fait par HPLC-MS/MS.

**1.** Pyrogallol, **2.** Acide p –hydroxybenzoïque, **3.** Acide ferulique, **4.** Vanilline, **5.** Acide p-coumarique, **6.** Acide gallique, **7.** Acide ascorbique, **8.** Acide caféique, **9.** Acide syringique, **10.** Acide ellagique, **11.** Quercétine, **12.**  $\alpha$ - tocophérol, **13.** Catéchol.

Comme montre la figure 5 (A et B), les profils HPLC-MS/MS de EAG et EEG :



**Figure 5.** Profil HPLC d'extrait EAG (A) et EEG(B).

D'après les résultats présentés dans la figure 5: le profil HPLC-MS/MS représente un profil phénolique similaire pour EEG et EAG. Dans ces chromatogrammes :

- Le pic 1 dans les extraits EAG et EEG est similaire au pic de pyrogallol (TR = 3.26 min)
- Le pic 2 dans les extraits EAG et EEG est similaire au pic d'acide p-hydroxybenzoïque (TR= 4.40 min)
- Le pic 3 dans les extraits EAG et EEG est similaire au pic d'acide ferulique (TR = 5.85 min)
- Le pic 4 dans les extraits EAG et EEG est similaire au pic de vanilline (TR = 5.50 min)
- Le pic 5 dans les extraits EAG et EEG est similaire au pic d'acide p-coumarique (TR = 5.96 min)
- Le pic 6 dans les extraits EAG et EEG est similaire au pic d'acide gallique (TR = 2.01 min)
- Le pic 7 dans les extraits EAG et EEG est similaire au pic d'acide ascorbique (TR = 4.95 min)
- Le pic 8 dans les extraits EAG et EEG est similaire au pic d'acide caféique (TR = 4.45 min).

Dans une étude faite par Yang *et al.* (2020), les chercheurs ont quantifié les composés phénoliques de trois herbes et épices australiennes [l'ail (*allium sativum*), le gingembre (*zingiber officinale*), et l'oignon (*allium cepa*)] en utilisant la méthode (LC-ESI-QTOF/MS) où ils ont

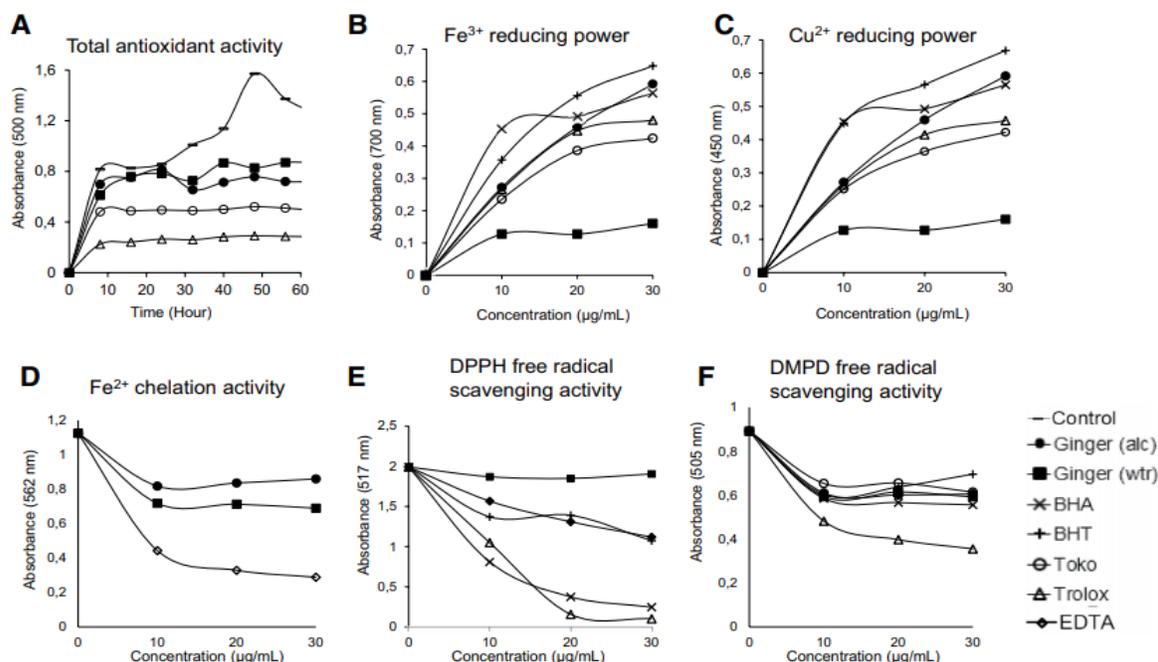
détecter 19 acides phénoliques dans l'extrait EEG de gingembre (l'acide syringique, acide 4-o-méthyl gallique, acide sinapique, acide 3-caféoylquinique, acide p-coumaroyl tartrique, acide ferulique, ester éthylique de l'acide p-coumarique, acide 3-caféolyquinique, acide cinnamique, acide coumarique, acide 3-sinapoylquinique, acide p-coumarique-4-o glucoside, acide ferulique-4-oglycoside, acide chlorogénique, acide p-coumaroyl glycolique, acide caféique, Acide 5-(3,4-dihydroxyphényl)-valérique, 5-(3,5-dihydroxyphényl)- $\gamma$ -valérolactone 3-o-glucuronide, acide dihydrosinapique).

Cette méthode a été utilisée par Tanweer *et al.* (2020), pour la quantification de gingerol dans l'extrait EEG des différentes parties de gingembre (rhizomes, feuilles, fleurs) où ils ont trouvé respectivement 1.03, 4.19, 2.87 mg/g de matière sèche.

L'analyse RP-HPLC-DAD a révélé la présence de huit principaux acides phénoliques bioactifs accumulés à différents stades de régénération de *Zingiber zerumbet* (acide gallique, catéchol, acide hydroxybenzoïque, acide syringique, vanilline, acide ferulique, acide salicylique, coumarine) (Chavan *et al.*, 2018).

#### **4.3. Evaluation de l'activité antioxydante**

L'activité antioxydante totale de EAG et de l'EEG a été déterminée en utilisant différentes méthodes. Les résultats sont représentés dans la figure suivante :



**Figure 6.** Activités antioxydantes d'extraits aqueux et éthanolique de gingembre : (A) activité antioxydante totale (B) activité réductrice de  $\text{Fe}^{3+}$  (C) activité réductrice de  $\text{Cu}^{2+}$  (D) activité chélatante de  $\text{Fe}^{2+}$  (E) activité de piégeage DPPH et (F) activité de piégeage du DMPD+ à différentes concentrations des échantillons de gingembre

#### 4.3.1. Activité antioxydante totale

La figure 6 (A), montre la prévention d'oxydation de l'acide linoléique en présence de EAG, EEG. On remarque que l'absorbance de l'EEG est moins que l'EAG; et les deux extraits ont une absorbance moins que l'absorbance du control négatif et plus que l'absorbance du Toko et Trolox ; ce dernier a montré l'absorbance la plus basse.

EAG et EEG ont supprimé la formation de peroxydation de l'acide linoléique mais leurs effets sont inférieurs aux standards ( $\alpha$ -tocophérol et Trolox). EAG et EEG ont montré un effet d'inhibition de 38,9% et 57,4%, tandis que l' $\alpha$ -tocophérol et Trolox ont indiqué 69,3% et 81,4%, respectivement.

Alors on peut considérer que nos extraits ont une capacité antioxydante suffisante et l'EEG a une capacité plus que l'EAG. Cette propriété pourrait être due à la richesse de gingembre en composés phénoliques et en flavonoïdes qui sont connus par leur forte capacité antioxydante par exemple l'acide p-coumarique et l'acide ascorbique...etc.

Comme nous avons trouvé que l'effet inhibiteur de nos extraits est inférieur aux standards, Singh *et al.*(2008) ont prouvé que l'huile de gingembre et les oléorésines s'avèrent être des meilleurs antioxydants; Cependant, leur activité est moindre que le BHA et le PG. Tandis que Baliga *et al.*(2011) ont montré que l'huile essentielle extraite du gingembre présentait une meilleure activité antioxydante que les composés standards comme le BHT et le BHA. En effet la partie non volatile conserve sa forte activité alors que la partie volatile n'a que de faible effet ; Ce schéma peut indiquer que les composants antioxydants sont principalement présent dans l'huile non volatile de l'extrait (Kikuzaki et Nakatani, 1993).

Nos résultats sont presque identiques à celle menée par Shirin Adel et Prakash (2010) selon l'extrait ayant forte capacité antioxydante, malgré les différentes valeurs liées aux conditions d'étude, où les chercheurs ont été conclu que l'activité antioxydante totale la plus forte était de l'extrait méthanolique (98822  $\mu\text{mol/g}$ ) suivit de l'EEG avec (91176  $\mu\text{mol/g}$ ) puis l'EAG avec (79400  $\mu\text{mol/g}$ ).

### **4.3.2. Les pouvoirs Réducteurs**

Les tests FRAP et CUPRAC ont été utilisés pour déterminer le pouvoir réducteur de EAG et EEG ainsi que le BHT, l' $\alpha$ -tocophérol et le Trolox ont été utilisés comme standards.

#### **4.3.2.1. Test FRAP**

La figure 6 (B) représente le pouvoir réducteur de  $\text{Fe}^{3+}$ . Elle a montré que l'EEG de rhizome de gingembre a une absorbance presque similaire au Trolox et Trolox, En concentration de 10  $\mu\text{g/ml}$  l'absorbance a été moins que le BHT et moins que le BHA mais après la concentration de 20 $\mu\text{g/ml}$  l'EEG a été présentée une absorbance plus que celle de BHA, Trolox et Trolox mais moins que celle de BHT. L'EAG a été montré l'absorbance la plus basse.

Une augmentation de l'absorbance a été considérée comme une plus grande capacité de réduction (Tohma, *et al.*, 2016). Alors, l'EEG a montré le grand pouvoir réducteur de  $\text{Fe}^{3+}$  qui a été comparable aux contrôles positifs. Tandis que l'EAG a montré le pouvoir réducteur de  $\text{Fe}^{3+}$  le plus faible.

Dans une autre étude, les valeurs de FRAP des extraits méthanolique des feuilles, des rhizomes et des tiges de gingembre sont révélées significativement inférieures à celle de l'acide ascorbique (vitamine c) et de l' $\alpha$ -tocophérol, mais supérieures à celles de BHT (Ghasemzadeh *et*

*al.* (2010). Ainsi Tanweer *et al.* (2020) a observé une capacité maximale dans l'extrait éthanolique de gingembre ( $102.62 \pm 4.28$  mole TE/g) par rapport à l'extrait méthanolique ( $98.14 \pm 3.3$  mole TE/g) et l'extrait aqueux ( $94.86 \pm 3.32$  mole TE/g).

En effet, des études ont démontré que le type de solvant et de la fraction étudiée de gingembre ont un effet critique, leur interaction influence l'effet sur le test FRAP ( Tanweer *et al.*, 2020). L'étude menée par Oueslati *et al.* (2018) a montré que le plus faible pourcentage d'activité réductrice du fer a été déterminé à une concentration de 50% dans les extraits obtenus par macération, ce qui était meilleur que les autres méthodes d'extraction.

Du côté de la plante, il a été constaté que les feuilles de gingembre ont présenté un potentiel FRAP maximale ( $101.12 \pm 4.04$  mole TE/g) suivi de la floraison ( $98.68 \pm 3.95$   $\mu$ mole TE/g) et de l'extrait de rhizome ( $95.82 \pm 3.83$   $\mu$ mole TE/g) ( Tanweer *et al.*, 2020).

Oktay *et al.* (2003), El-ghorab *et al.*, (2010) ont fait leurs travaux de recherche sur le potentiel antioxydant du gingembre et ont conclu qu'il y a une forte corrélation positive entre les teneurs en phénols totaux et l'activité antioxydante, ce qui semble être la tendance chez nombreuses espèces végétales.

#### **4.3.2.2. Dosage CUPRAC**

Les résultats sont représentés dans la figure 6 (C); on note que l'absorbance de l'EEG est plus que celle de l'EAG qui a été la plus faible ( $\lambda$  450 :0.18).

L'absorbance de l'EEG a été similaire aux standard Toko et Trolox, mais après 10  $\mu$ g/ml elle a augmenté jusqu'à ( $\lambda$ 450 :0.54) comme une valeur maximale à concentration de 30  $\mu$ g/ml puis devenu proche de celle de BHA ( $\lambda$ 450 :0.56). Ainsi que Toko et Trolox ont montré une absorbance de ( $\lambda$ 450 :0.42) et ( $\lambda$ 450 :0.45) respectivement comme une valeur maximale à la concentration de 30  $\mu$ g/ml.

Une augmentation de l'absorbance indique un pouvoir antioxydant (Tohma *et al.*, 2016). Alors on peut dire que l'EEG a une forte pouvoir antioxydant par rapport à l'EAG.

Une étude dans laquelle le test CUPRAC a été utilisé pour des échantillons de gingembre a montré une diminution (des composées à activité antioxydant) par séchage thermique, au contraire, une augmentation (des composées à activité antioxydant) des échantillons CUPRAC lyophilisés a été déterminée. Kerkhofs *et al.* (2005); Toor et Savage (2006) ont signalé que l'activité

antioxydante diminuait proportionnellement à la perte de contenu phénolique. Cependant, on peut affirmer que la raison de l'augmentation des valeurs CUPRAC pour les échantillons lyophilisés cela peut être due à une efficacité d'extraction accrue et à une perte réduite de composants ayant une activité antioxydante (Gumu Say *et al.*, 2014).

### 4.3.3. Test de chélation des métaux

Dans cette étude, l'effet de chélation des métaux de gingembre a été mesuré pour la première fois dans des extraits aqueux et éthanolique de rhizome de gingembre.

Les résultats de l'activité de chélation des métaux sont représentés dans la figure 6 (D) où on observe que les deux extraits EEG et EAG ont une absorbance minimale plus que le standard EDTA à une concentration de 10µg/ml qui sont respectivement ( $\lambda_{562}$  :0.8) ; ( $\lambda_{562}$  :0.7) ; ( $\lambda_{562}$  :0.42).

Cependant, EAG et EEG ont été chélates 27.3% et 36.2% d'ion ferreux ( $Fe^{2+}$ ) respectivement à une concentration de 10µg/ml, ainsi que l'EDTA a été chélate 90.7% de  $Fe^{2+}$  en tant que source naturelle de chélation des métaux. Alors, nos extraits ont une activité de chélation de métaux, mais inférieure que celle de standard EDTA.

Oboh *et al.* (2010) ont étudié la capacité de chélation de  $Fe^{2+}$  des extraits de gingembre rouge et de gingembre blanc où ils ont été estimés que les deux variétés de gingembre chélatant le  $Fe^{2+}$  et la meilleure activité était du gingembre rouge (*Zingiber officinale* var. *Rubra*).

Yesiloglu *et al.* (2013) a été trouvé que les pourcentages de capacité de piégeage des métaux à la concentration de 250 µg/ml d'extraits méthanolique et éthanolique de graines de *Zingiber officinale* L., BHA, BHT, Acide ascorbique,  $\alpha$ -tocophérol et EDTA ont été 22,3%, 30,2%, 49,1%, 42,8%, 34%, 39,4% et 54,9 %, respectivement. L'effet de piégeage des métaux des deux extraits ont été classés dans l'ordre : EDTA > BHA > BHT >  $\alpha$ -tocophérol > acide ascorbique > extrait éthanolique de graine de *Zingiber officinale* L. > méthanolique extrait de graine de *Zingiber officinale* L.

Dans le test fait par Tanweer *et al.* (2020) à partir des extraits méthanolique, éthanolique, et aqueux des trois parties (rhizome, feuilles, fleurs) de gingembre, le potentiel de chélation le plus fort a été estimé dans l'extrait éthanolique de fleurs puis ceux des rhizomes où la capacité de chélation était de ( $17.98 \pm 0.76\%$ ), ( $15.02 \pm 0.53\%$ ), ( $13.86 \pm 0.54\%$ ) dans les extraits : méthanolique, éthanolique et aqueux respectivement.

Hinneburg *et al.* (2006) ont été trouvés que les extraits de gingembre préparés avec différentes concentrations ont eu un potentiel de chélation des ions ferrique différent qui variait de  $16,0 \pm 0,17\%$  à  $21,6 \pm 0,51\%$ . Ils ont en outre signalé que le potentiel de chélation des métaux de gingembre dépend de la concentration de gingembre pris pour produire de l'extrait (Tanweer *et al.*, 2020).

#### 4.3.4. Activités de piégeage des radicaux

Dans cette étude les méthodes de DPPH et DMPD ont été utilisées pour évaluer l'activité de piégeage des radicaux d'extraits de gingembre en comparant aux standards : BHA, BTH,  $\alpha$ -tocophérol et Trolox ( Tohma *et al.*, 2016).

##### 4.3.4.1. Test de piégeage DPPH

Les résultats de test de DPPH sont représentés dans la figure 6 (E) nos extraits ont montré les plus fortes absorbances par rapport les trois standards BHA, BHT, Trolox.

À la concentration de 30  $\mu\text{g/ml}$ , l'EAG a montré une absorbance maximale ( $\lambda_{517} : 2$ ) suivi de l'EEG avec une absorbance similaire aux BHT ( $\lambda_{517} : 1.25$ ). Les deux standards BHA et Trolox ont été montrés les absorbances les plus basses dont ( $\lambda_{517} : 0.1$ ) et ( $\lambda_{517} : 0.4$ ), respectivement.

Cependant, à la même concentration l'EAG, BHT, EEG, BHA, Trolox,  $\alpha$ -tocophérol ont piégé les radicaux libres DPPH à 16.2%, 37%, 43.8%, 74.3%, 77.1%, 78.8%, respectivement.

La diminution de l'absorbance de l'échantillon indique la capacité de piégeage des radicaux libres du DPPH donc nos extraits EAG et EEG ont présenté une faible activité pour le radical DPPH par rapport aux standards qui ont montré une grande capacité de piégeage des radicaux DPPH libre. On ajoute que l'extrait EEG avait une capacité plus que l'EAG qui est augmenté par l'augmentation de concentration.

En revanche, une autre étude faite par Murphy *et al.* (2020) dans laquelle des ultrasons ont été utilisés pour l'extraction, l'activité de piégeage des radicaux DPPH de l'EEG de gingembre a été plus que nos résultats ( $54.5\% > 43.8\%$ ) ce qui peut être due à l'effet de méthode de séchage de gingembre ; les extraits de gingembre qui contiennent de l'alcool agissent comme des donneurs d'hydrogène (Murphy *et al.*, 2020).

D'autre part, l'étude réalisée par Shirin Adel et Prakash (2010) a atteint les mêmes résultats que nous avons obtenus en termes d'extrait le plus piègeur, où les chercheurs ont déclaré que

l'activité de piégeage DPPH la plus forte a été estimée dans l'extrait de méthanol à 80% suivi de l'extrait éthanolique à 80% puis l'extrait aqueux.

Nous avons également constaté dans notre étude que les deux extraits ont montrés des activités plus faibles que les contrôles standard BHA, BHT, Trolox,  $\alpha$ -tocophérol, où Alp Avcil *et al.* (2020) a été attribué la raison de cette différence aux solvants d'extraction ; on peut considérer que l'effet des antioxydants sur le DPPH et due à leur capacité à donner l'hydrogène (Baumann *et al.*, 1979) (Mohd Zin *et al.*, 2002) et cité par (Ghasemzadeh *et al.* 2010). Cette étude a également montré que la capacité de piégeage radicalaire du DPPH des extraits de plante étaient inférieure à celles du BHT (83.7%) et de  $\alpha$ -tocophérol (92.3%). Cela signifie que les parties et la nature de la plante ont un rôle dans la différence de l'activité de piégeage. L'étude précédente a prouvé que l'extrait de feuille et de racines ont une activité plus élevée que celle trouvée dans les tiges (An *et al.*, 2019).

#### **4.3.4.2. Test de balayage DMPD +**

Les deux extraits EAG et EEG ont montré une activité piégeage des radicaux DMPD similaire comme représenté dans la figure 6 (F). Ils ont montré une activité de balayage plus élevée que BHT et inférieure à Trolox.

Les résultats ont montré que EAG et EEG ont récupéré le radical DMPD.

Malgré la différence dans le piégeage radical du gingembre en raison de différentes causes, le gingembre a une bonne capacité à éliminer les radicaux libres, selon les résultats de la recherche (Alp Avcil *et al.*, 2020) le gingembre a un effet antioxydant presque comme l'acide ascorbique, qui est considéré comme un élément antioxydant importants et sont estimés respectivement à (28.6 $\mu$ g/ml) et (32.2 $\mu$ g/ml).

# **Conclusion**

## Conclusion

Le *Zingiber Officinale Roscoe* est recommandé depuis l'antiquité car il contient un pourcentage élevé d'antioxydants. Dans cette étude, deux extraits (aqueux et éthanolique) de rhizome de *zingiber officinale Roscoe* ont été utilisés pour évaluer l'activité antioxydante du gingembre, leurs teneurs en polyphénols et flavonoïdes ont été quantifiés et quelques acides phénoliques ont été déterminés par la méthode HPLC-MS/MS.

Après avoir effectué différents tests afin d'évaluer les capacités antioxydantes de nos échantillons, Le résultat a montré que l'EEG possède une activité de réduction des métaux similaire à celle qui a été montrée dans les tests FRAP et CUPRAC. L'activité de chélation des métaux des échantillons, en particulier l'EEG, était meilleure que celle de l'EDTA qui est connu comme un chélatant standard. L'activité de piégeage des radicaux, telle qu'indiquée dans les tests de piégeage des radicaux DPPH, DMPD, a montré que les extraits de rhizome de gingembre avaient généralement des résultats similaires à ceux des antioxydants synthétiques standards.

Les teneurs des polyphénols totaux et des flavonoïdes étaient de 137 µg EAG/mg et 25.1µg EQ/mg dans l'extrait EEG et de 52.8 µg EAG/mg et 3.9 µg EQ/mg dans l'extrait EAG, respectivement.

Huit acides phénoliques : pyrogallol, acide p-hydroxybenzoïque, acide ferulique, vanilline, acide p-coumarique, acide gallique, acide ascorbique, acide caféique) ont été détectés par la technique HPLC-MS/MS dans les deux extraits de rhizome de gingembre.

Cette étude suggère à travers ses résultats qu'il est possible de traiter des maladies qui sont due à un déséquilibre entre les radicaux libres et les antioxydants avec le gingembre et cela grâce à sa richesse en polyphénols, qui ont un rôle dans le traitement de nombreuses maladies,

Malgré l'importance de ce travail, il y a toujours un besoin de plus d'études sur le gingembre afin d'isoler ses composés actifs et vérifier la façon dont ils fonctionnent pour atteindre des meilleurs résultats.

# **Référence bibliographique**

## Référence bibliographique

1. Akinyemi A. J., Adedara I. A., Roberto G. T., Morsch V. M., Rovani M. T., Mujica L. K. S., Duarte T., Duarte M., Oboh O., Schetinger M. R. C. 2015. Effect of dietary supplementation of ginger and turmeric improves reproductive function in hypertensive male rats. *toxicology reports* 17: 1357-1366.
2. Apak R., Güçlü K., Demirata B., Özyürek M., Çelik S. E., Bektaşoğlu B., Berker K. I., Özyurt D. 2007. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules* 12: 1496-1547.
3. Das K. C., Lewis-Molock Y., White C. W. 1997. Elevation of manganese superoxide dismutase gene expression by thioredoxin. *American journal of Respiratory cell and molecular biology* 17: 713-723.
4. Finaud J., Lac G., Filaire E. 2006. Oxidative stress relationship with exercise and training. *sports medecin* 36 (4): 327-358.
5. Gulcin I., Tel A. Z., Kirecci E. 2008. Antioxidant, Antimicrobial, Antifungal, and Antiradical activities of cyclotrichium niveum (BOISS.) Manden and Scheng. *International Journal of Food Properties* 11: 450-471.
6. Gülçin İ. 2010. Antioxidant properties of resveratrol: A structure-activity insight. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 11: 210-218.
7. Gülçin İ., Elias R., Gepdiremen A., Chea A., Topal F. (2010). Antioxidant activity of bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Stephania rotunda*: cepharanthine and fangchinoline. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 25 (1): 44-53.
8. Gülçin İ., Kireççi E., Akkemik E., Topal F., Hisar O. 2010. Antioxidant, antibacterial, and anticandidal activities of an aquatic plant: duckweed (*Lemna minor* L. Lemnaceae). *Turk J Biol*: 175-188.
9. Haniadka R., Saldanha E., Sunita V., Palatty P. L., Fayad R., Baliga M. S. 2013. A review of the gastroprotective effects of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*). *Food & Function*: 845-855.
10. Ho S. C., Chang K. S., Lin C. C. 2013. Anti-neuroinflammatory capacity of fresh ginger is attributed mainly to 10-gingerol. *Food Chemistry*: 3183-3191.
11. Mao Q.Q., Xu X.Y., Cao S.Y., Gan R.Y., Corke H., Beta T., Li H. B. 2019. Bioactive Compounds and Bioactivities of Ginger (*Zingiber officinale Roscoe*). *Food*: 1-21.
12. Mariaca C. J., Zapata M., Uribe P. 2016. Oxidation and antioxidants: facts and controversies. *Rev Asoc Colomb Dermatol*: 162-173.

13. Mpalantinos M. A., Soares de Moura R., Parente J. P., Kuster R. M. 1998. Biologically Active Flavonoids and Kava Pyrones from the Aqueous Extract of *Alpinia zerumbet*. *Phytotherapy Research*: 442-444.
14. Nagendra Chari K. L., Manasa D., Srinivas P., Sowbhagya H. B. 2013. Enzyme-assisted extraction of bioactive compounds from ginger (*Zingiber officinale roscoe*). *Food Chemistry*: 509-514.
15. Özyürek M., Güçlü K., Apak R. 2011. The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement. *Trends in Analytical Chemistry*: 652-664.
16. Suk S., Kwon G. T., Lee E., Jang W. J., Yang H., Kim J. H., Thimmegowda N. R., Chung M. Y., Kwon J. Y., Yang S., Kim J. K., Yoon Park J. H., Lee K. W. 2017. Gingerenone A, a polyphenol present in ginger, suppresses obesity and adipose tissue inflammation in high-fat diet-fed mice. *Molecular Nutrition & Food Research*: 1-37.
17. Syafitri D. M., Levita J., Mutakin M., Diantini A. 2018. A Review: Is Ginger (*Zingiber officinale var. Roscoe*) Potential for Future Phytomedicine? *Indnesian Journal of Applied Sciences*: 1-6.
18. Tanweer S., Mehmood T., Zainab S., Ahmad Z., Shehzad A. 2020. Comparison and HPLC quantification of antioxidant profiling of ginger rhizome,leaves and flower extracts. *Clinical Phytoscience*: 1-12.
19. Tohma H. S., Gulçin I. 2010. Antioxidant and Radical Scavenging Activity of Aerial Parts and Roots of Turkish Liquorice (*Glycyrrhiza Glabra L.*). *Internrtional Journal of Food Properties*: 657-671.
20. Tohma H., Gülçin İ., Bursal E., Gören A. C., Alwassel S. H., Köksal E. 2016. Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (*Zingiber officinale Rosc.*) determined by HPLC-MS/MS. *Springer*: 1-11.
21. Townsend E. A., Sivisk M. E., Zhang Y., Xu C., Hoonjan B., Emala C. W. 2013. Effects of Ginger and Its Constituents on Airway Smooth Muscle Relaxation and Calcium Regulation. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*: 157-163.
22. Walstab J., Kruger D., Stark T., Hofmann T., Demir I. E., Ceyhan G. O., Feistel B., Stark T., Hofmann T., Demir I. E., Ceyhan G. O., Feistel B., Sghemann M., Niesler B. 2013. Ginger and its pungent constituents non-competitively inhibit activation of human recombinant and native 5-HT<sub>3</sub> receptors of enteric neurons. *Neurogastroenterology and Motility*: 439-302.
23. Alp Avcil G., Avil E., Ozluk Cilak G., Coskum Cevher S. 2020. Antimicrobial and antioxydant activities of *Zingiber officinale* (ginger) and *Alpinia officinarum* (galangal). *Hittite Journal Science and Engineering*: 45-49.

24. An k., Tang D., Wu J., Fu M., Wen J., Xiao G., Xu Y. 2019. Comparison of pulsed vacuum and ultrasound osmotic dehydration on drying of chinese ginger (*Zingiber officinale roscoe*). Food Science and Nutrition: 2537-2545.
25. Anh N. H., Kim S. J., Phuoc Long N., Eun Min J., Cheol Yoon Y., Lee E. G., Kim N., Kim T. J., Young Yang Y., Young Son E., Jun Youn S., Diem N. C., Kim H. M., Kwo S.W. 2020. Ginger on Human Health: A Comprehensive Systematic Review of 109 Randomized Controlled Trials. Nutrients: 1-29.
26. Athamena S., Chalghem I., Kassaah-Laouar A., Laroui S., Khebri S. 2010. Anti-oxiative activity and antimicrobial from extracts of *cuminum cyminium L*. Lebanese Science Journal: 69-81.
27. Avello M., Suwasky M. 2006. Free radicals, Natural antioxydants and protection mechanisms. Ateneo: 161-172.
28. Baliga M. S., Haniadka R., Pereira M. M., D'Souza J. J. 2011. Update on the Chemopreventive Effects of Ginger and its Phytochemicals. Critical Reviews in Food Science and Nutrition: 499-523.
29. Banerjee S., Mullick H. I., Banerjee J. 2011. Zingiber officinale: a natural gold. International Journal of Pharma and Bio Sciences: 283-294.
30. Baumann J., Wurn G., Bruchlausen F. 1979. Prostaglandin synthetase inhibiting O-2 radical scavenging properties of some flavonoids and related phenolic compounds. Deutsche Pharmakologische Gesellschaft Abstracts of the 20th spring meeting, Naunyn-Schmiedebergs. Arch. Pharmacol: 27-32.
31. Bellik Y., Benabdesselam F., Ayad A., Dahmani Z., Boukraa L., Nemmar A. 2014. Antioxidant activity of the essential oil and oleoresin of Zingiber officinale Roscoe as affected by chemical environment. International Jouranl Food Property: 1304-1313.
32. Bensakhria A. 2018. General toxicology-oxidative stress. PP. 70-86
33. Çetinkaya Y., Gocer H., Menzek A., Ilhami G. 2012. Synthesis and antioxdant properties of (3,4-dihydroxyphenyl)-(2,3,4-trihydroxyphenyl ) methanone and its derivatives. archiv der pharmazie chemistry life science (345): 323-345.
34. Chavan J. J., Kshirsagar P. R., Pai S. R., Pawar N. V., 2018. Micropropagation, metabolite profiling, antioxidant activities and chromatographic determination of bioactive molecules across in vitro conditions and subsequent field cultivation stages of 'Shampoo Ginger' (*Zingiber zerumbet L. Roscoe ex Sm*). Biocatalysis and Agricultural Biotechnology: 79-89.
35. Chelicani P., Fita I., Loewen P. 2004. Diversity of structures and properties among catalases . Cell Mol Life Sci : 192-208.
36. De Rouen A. 2010. HPLC principe et appareillage. Disponible sur : <http://biotech.spip.ac-rouen.fr/spip.php>, 1-11.

37. Dekkers J., Van Doornen L., Kemper H. 1996. The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. *sports medecine*: 213-238.
38. Dr. Abudunia A. M. 2018. Etude phytochimique, screening biologique et pharmacologique des fleurs de calendula arvensis. Thèse de doctorat. Mohamed.V University Rabat Faculty Of Medicine And Pharmacy: Centre D'études Doctorales Des Sciences De La Vie Et De La Santé.179 p.
39. El-ghorab A., Nauman M., Anjum F., Hussain F. 2010. A comparative study on chemical composition and antioxydant activity of ginger (*zingiber officinale*) and cumin (*cuminum cyminum*). *J Agric Food Chem*: 8231-8237.
40. Faivre C., Lejeune R., Staub H.,Goetz P. 2006. *zingiber officinale Roscoe*. *Phytothérapie* : 99-102.
41. Favier A. 2003. oxidative stress :Conceptual and experimental interest in understanding disease mechanisms and therapeutic potential. *Chemical News*: 108-115.
42. Gaetani P., Ferrari A., Rolfo M., Mangerini R., Arena S., Kirkman H. 1996. Predominant role of catalase in disposal of hydroge peroxide within human erythrocytes. *Blood*: 1595-1599.
43. Gallardo C., Jimenez L., Garcia-conesa M. 2006. Hydroxycinnamic acid composition and in vitro antioxydant activity of selected grain fractions. *Food Chemistry*: 455-463.
44. Ghasemzadeh A., Jaafar H., Rahmat A. 2010. Antioxidant Activities, Total Phenolics and Flavonoids Content in Two Varieties of Malaysia Young Ginger (*Zingiber officinale Roscoe*). *Molecule*: 4324-4333.
45. Ghilissi Z., Atheymen R., Ali Boujbiha M., Sahnoun Z., Ayedi F., Zeghal K., El-Feki A., Hakim A. 2013. Antioxidant and androgenic effects of dietary ginger on reproductive function of male diabetic rats. *International Journal of Food Sciences*: 974-978.
46. Gigon F. 2012. Ginger, A spice against nausea. *Phytothérapie*: 87-91.
47. Goto M., Ueda K., Hashimoto T., Fujiwara S., Matsuyama K., Kometani T., Kanazaw K. 2008. A formation mechanisme for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediate by peroxoxidized 2'-déoxythymidine. *Free radical biology and medicine*: 1318-1325.
48. Goudable J., Favier A. 1997. Oxidatif free radicals and antioxydants. *Nutr Clin Metabol*: 115-120.
49. Gülçin I. 2011. Antioxidant Activity of Eugenol: A Structure-Activity Relationship Study. *journal of medicinal food*: 575-585.
50. Gülçin I. 2008. Measurement Of Antioxidant Ability Of Melatonin And Serotonin By The DMPD and CUPRAC methods as trolox equivalent. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*: 871-876.

51. Gülçin I., Elmastat M., Aboul-Enein H. 2007. Determination of Antioxidant and Radical Scavenging Activity of Basil (*Ocimum basilicum* L. Family Lamiaceae) Assayed by Different Methodologies. *Phytothérapie Recherche*: 354-361.
52. Gülçin I., Huyut Z., Elmastas M., Aboul-Enein H. 2010. Radical Scavenging And Antioxidant Activity Of Tannic Acid. *Arabian Journal of Chemistry*: 43-53.
53. Gumu Say O., Borazan A., Ecral N., Demirkol O. 2014. Drying Effects On The Antioxydant Properties Of Tomatoes And Ginger. *Food Chemistry*: 1-22.
54. Haleng J., Pincemail J., Defraigne J., Charlier C., Chapelle J. 2007. Oxidative Stress. *Revue Médicale de Liège* : 628-638.
55. Halliwell B. 1996. Mecanisms Involved In The Generation Of Free Radicals . *Pathologie biologie*: 6-13.
56. Hinneburg I., Damien H., Hiltunen R. 2006. Antioxidant Activities Of Extracts From Selected Culinary Herbs And Spices. *Food Chemistry*: 122-129.
57. Ho Hio Hen N. 2017. Shell Ginger *Alpinia Zerumbet*. *Phytothérapie*: 235-239.
58. Jaffery E., Brown A., Kurilich A., Keck A., Matusheski N., Klein B., Juvik J. 2003. Variation In Content Of Bioactive Components In Broccoli. *Journal of Food Composition and Analysis*: 323-330.
59. Kerkhofs N., Lister C., Savage G. 2005. Change In Colour And Antioxydant Content Of 398 Tomato Cultivars Following Forced -Air Drying. *Foods For Human Nutrition*: 117-121.
60. Kikuzaki H., Nakatani N. 1993. Antioxydant Effect Of Some Ginger Constituents. *journal of food science*: 1407-1410.
61. Koksal E., Bursal E., Dikic E., Tozoglu F., Gulcin I. 2011. Antioxidant activity of Melissa officinalis leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*: 217-222.
62. Li H., Liu Y., Luo D., MA Y., Zhang J., Lia M., Yao L., Shi X., Liu X., Yang K. 2019. Ginger for health care: An overview of systematic reviews. *Complementary Therapies in Medicine*: 114-123.
63. Liu T., Stern A., Roberts L. 1999. The isoprostanes: Novel prostaglandin-like products of the free radicals catalysed peroxidation of arachidonic acid. *J Biomed Sci*: 226-235.
64. Lobo V., Patil A., Phathak A., Chandra N. 2010. Free radicals, antioxydants and functional foods: impact on human health. *Pharmacognosy Reviwes*: 118-126.
65. Lozada S., Garcia L. 2009. Oxidative stress and antioxydant how to keep the balance . *Rev Aso Colomb Dermatol*: 172-179.
66. Maataoui B. S., Hmyene A., Hilali S. 2005. Anti -Radical activities fig tree fruit juice extracts de barbari (*opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*: 3-8.

67. Mahmoud M., Diaai A., Ahmed F. 2011. Evaluation of the Efficacy of Ginger, Arabic Gum, and Boswellia in Acute and Chronic Renal Failure. *Renal Failure*: 73-82.
68. Maizura M., aminah A., Wan Aida W. 2011. Total phenolic content and antioxydant activity of kesum (*polygonum minus*), ginger (*zingiber officinale*) and tumeric (*curcuma longa*) extract. *International Food Research Journal*: 526-531.
69. Mohamed O., El-Nahas A., El-Sayed Y., Ashry K. 2015. Ginger extract modulates Pb-induced hepatic oxidative stress and expression of antioxidant gene transcripts in rat liver. *Pharmaceutical Biology*: 1-9.
70. Mohd Zin Z., Abdul-Hamid A., Osman A. 2002. Antioxidative activity of extracts from mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) root, fruit and leaf. *Food Chemistry*: 227-231.
71. Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxydant activity. *Songklanakarin J.Sci.Technol*: 211-219.
72. Moskova S., novakova D., kalinak M. 2015. antioxydant activity of ginger extract and identification of its components. *Acta chimica slovacica*: 115-119.
73. Mosquera O., Correa Y., Buitrago D., Nino J. 2007. Antioxydant activity of twenty five plants from colombian biodiversity. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janero*: 631-634.
74. Murphy A., Norton E., Montgomery F., K. Jaiswal A., Jaiswal S. 2020. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from ginger (*zingiber officinale*) and evaluation of its antioxydant and antimicrobial properties. *Journal of Food Chemistry and Nanotechnology*: 1-9.
75. Nandkrangre H., Ouedraogo M., Sawadogo M., 2015. Characterization of the production system of ginger (*Zingiber officinale Rosc.*). In Burkina Faso: Potentialities, constraints and perspectives. *International Journal of Biologie and Chemical Sciences*: 861-873.
76. Oboh G., J. Akinyemi A., O. Ademiluyi A. 2010. Antioxidant and inhibitory effect of red ginger (*Zingiber officinale var. Rubra*) and white ginger (*Zingiber officinale Rosc.*) on Fe<sup>2+</sup> induced lipid peroxidation in rat brain in vitro. *Experimental and Toxicologic Pathology*: 31-36.
77. Oktay M., Gulcin I., Kufrevioglu O. 2003. Determination of in vitro antioxydante activity of fennel (*foeniculum vulgare*) seed extracts. *lebansm. Wiss Techol*: 263-271.
78. Oueslati S., Gharsalli W., Abdelkarim M., Ben Aissa-Fennira F., Ksouri R. 2018. Biochemical evaluation and exploration of the antioxydant, antimicrobial and anticancer potential of *Zingiber officinale*. *Journal of New Sciences*: 3561-3568.
79. Oyaizu M. 1986. Studies on Products of Browning Reactions: Antioxidative Activities of Product of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. *Japan Journal of Nutrition*: 307-315.

80. Powers S., Lennon S. 1999. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proceedings of the Nutrition Society*: 1025-1033.
81. Rahath Kubra et Jagan Mohan Rao. 2012. An Impression on Current Developments in the Technology, Chemistry, and Biological Activities of Ginger (*Zingiber officinale Roscoe*). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*: 651-688.
82. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*: 1231-1237.
83. Saiah W., Halzoune H., Djaziri R., Tabani K., Koceir E. 2017. Antioxidant and gastroprotective actions of butanol fraction of zingiber officinale against diclofenac sodium -induced gastric. *Journal of Food Biochemistry*: 1-12.
84. Shirin Adel P., Prakash J. 2010. Chemical composition and antioxidant properties of ginger root (*Zingiber officinale*). *Journal of Medicinal Plants Research*: 2674-2679.
85. Singh G., Kapoor I., Singh P., S. de Heluani C., P. de Lampasona M., A.N. Catalan C. 2008. Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and terpenoids of *zingiber officinale*. *Food and Chemical Toxicology*: 3295-3302.
86. Toor R. et Savage G. 2006. Effect of semi-drying on the antioxidant components of tomatoes. *Food Chemistry*: 90-97.
87. Topale M., Gocer H., Topale F., Kalin P., Kose L. P., Gülçin I. 2016. Antioxidant, antiradical, and anticholinergic properties of cynarin purified from the Illyrian thistle (*Onopordum illyricum L.*). *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*: 266-275.
88. Vasala P. 2004. Ginger, in *Handbook of Herbs and Spices Vol. 1*, ed. K. V. Peter.
89. Wang Y., Wu Y., Wang Y., Xu H., Mei X., Yu D., Wang Y. 2017. Antioxidant properties of probiotic bacteria. *Nutrients Journal*: 1-15.
90. Wei C. K., Tsai Y. H., Korinek M., Hung P. H., El-Shazly M., Cheng Y. B., Wu Y. C., Hsieh T. J., Chan F. R. 2017. 6-Paradol and 6-Shogaol, the Pungent Compounds of Ginger, Promote Glucose Utilization in Adipocytes and Myotubes, and 6-Paradol Reduces Blood Glucose in High-Fat Diet-Fed Mice. *International Journal of Molecular Science*: 1-18.
91. Yang D., Dunshea F., Suleria H. 2020. LC-ESI-QTOF/MS characterization of Australian herb and spices (garlic, ginger, and onion) and potential antioxidant activity. *Journal of Food Processing and Preservation*: 1-21.
92. Yesiloglu Y., Aydin H., Kilic I. 2013. In vitro antioxidant activity of various extracts of Ginger (*Zingiber officinale L.*) Seed. *Asian Journal of Chemistry*: 3573-3578.

93. Zbadi R., Mohti H., Moussaoui F. 2018. Oxydatif stress: Evaluation of antioxydant power of some medicinal plants. Translationnel Medecin: 134-141.

Site web:

1. <https://whereismap.net/wp-content/uploads/2020/01/Where-is-Erzurum-Located-What-Country-is-Erzurum-in-Erzurum-Map-800x445.jpg>
2. [https://www-analyticaltoxicology.com.cdn.ampproject.org/v/s/www.analyticaltoxicology.com/spectrometrie-de-masse-tandem-ms-ms/amp/?amp\\_js\\_v=a6&amp\\_gsa=1&usqp=mq331AQHKAFQArABIA%3D%3D#aoh=16203866698046&referrer=https%3A%2F%2Fwww.google.com&amp\\_tf=%D9%85%D9%86%20%251%24s&ampshare=https%3A%2F%2Fwww.analyticaltoxicology.com%2Fspectrometrie-de-masse-tandem-ms-ms%2Famp%2F%23aoh%3D16203866698046%26referrer%3Dhttps%253A%252F%252Fwww.google.com%26amp\\_tf%3D%25D9%2585%25D9%2586%2520%25251%2524s%26ampshare%3Dhttps%253A%252F%252Fwww.analyticaltoxicology.com%252Fspectrometrie-de-masse-tandem-ms-ms%252F](https://www-analyticaltoxicology.com.cdn.ampproject.org/v/s/www.analyticaltoxicology.com/spectrometrie-de-masse-tandem-ms-ms/amp/?amp_js_v=a6&amp_gsa=1&usqp=mq331AQHKAFQArABIA%3D%3D#aoh=16203866698046&referrer=https%3A%2F%2Fwww.google.com&amp_tf=%D9%85%D9%86%20%251%24s&ampshare=https%3A%2F%2Fwww.analyticaltoxicology.com%2Fspectrometrie-de-masse-tandem-ms-ms%2Famp%2F%23aoh%3D16203866698046%26referrer%3Dhttps%253A%252F%252Fwww.google.com%26amp_tf%3D%25D9%2585%25D9%2586%2520%25251%2524s%26ampshare%3Dhttps%253A%252F%252Fwww.analyticaltoxicology.com%252Fspectrometrie-de-masse-tandem-ms-ms%252F)

# Résumé

## ملخص

تستخدم جذور الزنجبيل (*Zingiber officinale*) على نطاق واسع في الصناعات الدوائية بسبب خصائصها الطبية التي تساعد في الوقاية من العديد من الأمراض المرتبطة بالإجهاد التأكسدي المسؤول عن ظهور العديد من الأمراض. ترجع هذه الخصائص إلى غنى هذا النبات بالمركبات الفينولية المعروفة بخصائصها القوية المضادة للأكسدة. حيث يهدف عملنا إلى تقييم القدرة المضادة للأكسدة للمستخلصات المائية والإيثانولية للزنجبيل من خلال مقارنتها بمضادات الأكسدة الاصطناعية المعروفة Trolox,  $\alpha$ -Tocophérols, BHT, BHA، إذا من المهم تحديد المحتوى الكلي للبوليفينول الفلافونويد. وبالتالي تحديد بعض الأحماض الفينولية في كل من المستخلص المائي والإيثانولي باستخدام طريقة HPLC-MS/MS. أما بالنسبة للقدرة المضادة للأكسدة أجرينا اختبار FRAP ومقاييس CUPRAC واختبار  $Fe^{2+}$  ونشاط إزالة الجذور الحرة (DMPD, DPPH) بالإضافة إلى ذلك تم تحديد إجمالي محتويات البوليفينول الفلافونويد في المستخلصين بطريقة Folin-Ciocalteu. أظهرت نتائجنا أن مستخلص الإيثانول EEG لديه أفضل قدرة مضادة للأكسدة في جميع المقاييس مقارنة بالمستخلص المائي WEG بالإضافة إلى أنه تم تحديد ثمانية أنواع من الأحماض الفينولية (Pyrogallol, Acide p-hydroxybenzoïque, Acide ferulique, Vanilline, Acide p-coumarique, acide gallique, acide ascorbique, acide caféique) اذن أظهرت هذه الدراسة أن *Zingiber officinale* هو مصدر طبيعي لمضادات الأكسدة للوقاية من الأمراض الناجمة عن الإجهاد التأكسدي.

**الكلمات المفتاحية:** *Zingiber officinale*, الاجهاد التأكسدي, مضادات الأكسدة, الأحماض الفينولية, HPLC-MS/MS.

## Résumé

Les rhizomes de gingembre (*Zingiber officinale*) sont largement utilisés dans les industries pharmaceutiques à cause de leurs propriétés médicinales qui aide à la prévention de plusieurs maladies tels celles liées au stress oxydatif. Ces propriétés reviennent à la richesse de cette plante en composés phénoliques qui sont connus par leurs fortes propriétés antioxydantes. Dans ce contexte s'inclue notre travail qui a pour but d'évaluer la capacité antioxydante des extraits aqueux et éthanolique de gingembre par le test FRAP, dosage CUPRAC, test de chélation de  $Fe^{2+}$ , activité de piégeage des radicaux libres (DPPH, DMPD) en les comparants avec des antioxydants synthétiques (BHA, BHT,  $\alpha$ -tocophérol, Trolox), de quantifier la teneur totale en polyphénols et flavonoïdes et d'identifier quelques acides phénoliques dans les deux extraits par la méthode HPLC-MS/MS. Nos résultats ont montré que l'EEG avait la meilleur capacité antioxydante dans tous les dosages par rapport l'EAG, ainsi que huit acides phénoliques (Pyrogallol, Acide p-hydroxybenzoïque, Acide ferulique, Vanilline, Acide p-coumarique, Acide gallique, Acide ascorbique, Acide caféique) ont été détectés par l'analyse HPLC-MS/MS dans le gingembre. Alors, cette étude a montré que le *zingiber officinale* est une source des antioxydants naturelles pour la prévention des maladies induit par le stress oxydatif.

**Mots clés :** *Zingiber officinale*, stress oxydatif, antioxydants, acides phénoliques, HPLC-MS/MS.

## Abstract

The rhizomes of ginger (*Zingiber officinale*) are widely used in the pharmaceutical industries because of their medicinal properties which helps in the prevention of several diseases such as those related to oxidative stress. These properties are due to the richness of this plant in phenolic compounds which are known for its strong antioxidant properties. While our work aims to assess the antioxidant capacity of aqueous and ethanolic extracts of ginger by the FRAP test, CUPRAC assay,  $Fe^{2+}$  chelation test, free radical scavenging activity (DPPH, DMPD) by comparing them with well-known synthetic antioxidants (BHA, BHT,  $\alpha$ -tocopherol, Trolox), to quantify the total content of polyphenols and flavonoids and to identify some phenolic acids in both aqueous and ethanolic extract by the HPLC-MS/Ms method. Our results showed that EEG had the best antioxidant capacity in all assays by supplying WEG, as well as eight phenolic acids (Pyrogallol, p-Hydroxybenzoic acid, Ferulic acid, Vanillin, p-coumaric acid, Gallic acid, ascorbic acid, Caffeic acid) have been shown by HPLC-MS/MS analysis in ginger. So, this study has shown that *Zingiber officinale* is a source of natural antioxidants for the prevention of diseases induced by oxidative stress.

**Key word:** *Zingiber officinale*, oxidative stress, antioxidants, phenolic acids, HPLC-MS/MS.