



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 de science biologique

Référence /2022

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté et soutenu par :
Ahlam Khelil et Faiza Khaizar
Le: Jeudi 30-06-2022

Activité antioxydant de *curcuma longa* L.-analyse d'articles-

Jury:

CHOUIA	Amel	MAA	Université de Biskra	Président
MEDDOUR	Asma	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
GUEMAZ	Fateh	MAA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire: 2021/2022

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance pour avoir permis à la mienne de suivre la bonne voie, celle de la foi et du savoir et pour nous avoir guidés et soutenus nous a permis d'exploiter les moyens disponible à fin d'accomplir ce modeste travail.

Nous adresse tout d'abord mes Remerciements à l'ensemble du corps professoral de l'Université Mohamed khider à Biskra, notamment du Département des Sciences de la Nature et de la Vie.

Nous tenant à remercier vivement notre promotrice Mme Meddour Asma , pour avoir accepté de nous encadrer et aussi pour l'effort fournis, pour ses encouragements constants, ses précieux conseils, son soutien et surtout pour sa qualité humaine, sa modestie, sa disponibilité, tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous remercions également les membres du jury d'avoir relu, évalué et enrichi notre travail ainsi que leurs remarques et suggestions.

Un grand merci à tous ceux qui nous ont aidés de loin ou de près dans l'accomplissement de ce travail.

DÉDICASE

Je dédie Ce modeste travail

Avant tout à la lumière de ma vie, la source de mon bonheur et la guide de mon chemin à mes très chers parents Atia et Fadhila. Que ne pourrais-je jamais remercier assez pour leurs sacrifices et leur présence Durant mes études et tout ma vie.

A mes chers sœurs Nour et Ikram pour ses soutiens morales et ses conseils précieux tout au long de mes études.

A mes chers frères Walid, Ramzi, Okba et Amir pour votre amour, votre joie de vivre, votre soutien et votre confiance, je vous remercie de tout coeur.

A tout ma famille sans exception.

A la fiancée de ma cher frère Walid Loughraibe Nessiba.

A ma cher binome Khaizar Faiza qui me aide à réaliser ce travail.

A mes chers ami (e) s: Dounia, Said, Souhila, Nada, Nermine, Nadia, Zakaria, Amani, Selma. Pour votre fidèle amitié et les bons moments passé ensemble tout au long de mes études et dehors.

AHLAM KHELIL.

DÉDICASE

Je dédie le fruit de mon succès et mes efforts aux honorables parents qui dieu les préserve et les perpétue comme une lumière pour mon chemin, mon père Makhlouf et ma mère Mabkhouta je vous dédie la fatigue de mes années et que dieu vous récompense pour votre aide et votre soutien pour moi.

Je n'oublie pas de remercier chaleureusement le professeur encadrant Asma meddour et mon professeur de lycée Mahdi saida, et mon ami et collègue Khelil Ahlam.

A mes chers frères Antar, Mahmoud, Mourad, Oussama, Mohamed et Rachid et mes chers soeurs Hayat, Samia, Nawal et Hadil.

A la fin je n'oublierai pas les compagnons de Mon parcours d'étude Dounia, Rahima, Afaf, Samira, Yasmine, Kalthoum, Malika, Ikram, Nour et Hadjer .Qui ont partagé ses moments avec moi qui dieu les bénisse et facilite leurs affaires.

KHAIZAR FAIZA.

Table de matières

Remerciements	
Dédicace	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction générale	1

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Généralité sur curcuma longa L.

1. Généralité sur curcuma longa	
1.1. Les nom de Curcuma longa L.....	2
1.2.Historique.....	2
1.3.Classification.....	3
1.4. Description botanique	3
1.5. Composition biochimique.....	4
1.5.1. Fraction volatile	4
1.5.2. Fraction non volatile.....	5
1.5.2.1. Polyphénols	5
1.5.2.2. Autres composants.....	5
1.6. Utilisation traditionnelle	5
1.6.1. Utilisation alimentaire	5
1.6.2. Utilisation médicinale	6
1.6.3. Utilisation cosmétique.....	6
1.7. Activité biologique.....	6

Chapitre 2 : activité antioxydant

2.1. Stress oxydant.....	7
2.2. Radicaux libre	7
2.3. Antioxydant	8

Partie expérimentale

Chapitre 3 : matériels et méthodes.

3.1. Matériel.....	11
3.1.1. Matériel végétale	11
3.2. Méthodes.....	11
3.2.1. Extraction	11
3.2.2. Détermination des polyphénols totaux.....	13
3.3. Évaluation de l'activité antioxydant.....	15
3.3.1. Méthode de DPPH (1,1 diphényl-2-picrylhydrazyl).....	15
3.3.2. Méthode de FRAP (Ferric Reducing antioxydant power).....	16
3.3.3. Méthode d'ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)).....	18
3.3.4. Méthode de piégeage des radicaux d'oxyde nitrique.....	18
3.3.5. Méthode de fic (Ferrous ion-chelating assay).....	19
3.3.6. Méthode de piégeage de radical hydroxyle.....	20

Chapitre 4 : résultats et discussion

4.1. Rendement d'extraction	21
4.2. Dosage de polyphénols totaux.....	21
4.3. Évaluation de l'activité antioxydant.....	23
4.3.1. Test de DPPH.....	23
4.3.2. Test de FRAP.....	25
4.3.3. Test d'ABTS	27
4.3.4. Test de piégeage des radicaux d'oxyde nitrique.....	27
4.3.5. Test de FIC.....	28

4.3.6. Test de piégeage de radical hydroxyle.....	28
Conclusion	31
Références bibliographique.....	32
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau 1.1. Différentes nominations de <i>Curcuma longa</i>	2
Tableau 1.2. Classification taxonomique de <i>Curcuma longa</i>	3
Tableau.2.1. Les différents antioxydants endogènes.....	9
Tableau 3.1. Mode de détermination des polyphénols de curcuma longa L.....	14
Tableau 3.2. Les protocoles expérimentaux utilisés pour le test de FRAP.....	17
Tableau 4.1. les valeurs d'IC50 ($\mu\text{g/ml}$) de différentes fractions de <i>Curcuma longa</i> L.....	24
Tableau 4.2. Les valeurs de test de FRAP des différents solvants.....	26
Tableau 4.3. Les valeurs du test de FRAP de variété de <i>Curcuma</i> à Bangladesh.....	26

Liste des figures

Figure 1.1. La plante entière de <i>Curcuma longa</i> L.....	2
Figure 1.2. Différent partie de <i>Curcuma longa</i> L.....	4
Figure 1.3. La structure chimique des principaux curcuminoides.....	5
Figure 2.1. Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.....	8

Liste d'abréviations.

ABTS : 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid).

BHT : butyl hydroxy toluène.

C° : degré Celsius.

CHCL₃ : chloroforme.

DPPH : 1.1'-diphényl-2- picrylhydrazyl.

ER : espèces réactives.

EOA : espèces oxygénées actives.

EtOAc : Acétate d'éthyle.

FCR: réactif folin-ciocalteu.

FIC: Ferrous ion-chelating assay.

FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power.

FeSO₄ : sulfate de fer.

FeCl₃ : chlorure de fer.

H₂O : molécule d'eau.

HRS : activité de piégeage du radical hydroxyle.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%.

MeOH : méthanol.

MeOH/CH₃Cl₂ : méthanol/chlorure de méthylène.

n-BuOH : n-butylalcoole.

NO : oxyde nitrique.

Na₂CO₃ : carbonate de sodium.

RNS : les espèces réactives d'azote.

RCS : les espèces réactives de chlore.

RSO : les espèces réactives d'oxygène.

RSA : activité de piégeage de radicaux.

TPTZ : Tripyridyltriazine.

TPC : concentration totale de polyphénol.

UV –Vis : Ultraviolet – Visible

Introduction générale

Introduction

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (Etame, 2018), Elles contiennent une grande quantité de composés antimicrobiens et antioxydants tels que les saponines, les tanins, triterpénoïdes, polyphénols et autres composés (Kodjio *et al.*, 2016).

Récemment, l'attention s'est portée sur les herbes et les épices comme source d'antioxydants, qui peuvent être employés pour se protéger contre les effets du stress oxydant (Mata *et al.*, 2007).

Le stress oxydatif se produit dans les cellules et les tissus des organismes partout où abondent les processus d'oxydation et de réduction, cela a été attribué à la production d'espèces réactives d'oxygène au-delà de la capacité du système à les neutraliser (Halliwell, 1996).

Curcuma longa L. est une plante herbacée vivace appartenant à la famille des Zingibéracées, à tige courte, grandes feuilles oblongues et porte des rhizomes ovales, piriformes ou oblongs, souvent ramifiées et de couleur jaune brunâtre (Rathaur *et al.*, 2012). Il est utilisé comme additif alimentaire, conservateur et colorant. Il est largement utilisé pour le traitement de plusieurs maladies telles que : paludisme, fièvre et entorses (Kodjio *et al.*, 2016).

L'objectif principal de notre étude est consacré à l'évaluation de l'activité antioxydante de *Curcuma longa* L.

À cause de la pandémie de CORONA VIRUS, la partie expérimentale de cette étude est représentée par une synthèse d'analyse des articles scientifiques qui ont même objectif et pour cela, le présent travail est formé par deux parties :

- Première partie : c'est la partie bibliographique, qui comprend un chapitre sur *Curcuma longa* L., et un chapitre sur le stress oxydatif.
- Deuxième partie : c'est la partie expérimentale, qui comprend un chapitre sur le matériel et la méthode utilisée au sein de ce travail, et un autre chapitre représente les résultats obtenus et leurs discussions.

Partie Bibliographique

Chapitre 1
Généralité sur *Curcuma*
***longa* L.**

1. Généralité sur *Curcuma longa* L.

1.1. Les noms de *Curcuma longa* L.

Curcuma longa L. est connue sous le nom de curcuma c'est une plante herbacées rhizomateuses sont robustes et touffues (Cheikh Ali, 2012).



Figure 1.1. la plante entière de *Curcuma longa* L. (Hombourger, 2010).

Le nom du genre «*Curcuma*» provient de la latinisation de l'arabe «al-kurkum» signifiant «jaune» et se référant à l'origine au safran (Cheikh Ali, 2012).

Tableau 1.1. Différentes nominations de *Curcuma longa*.

Langue	Nom	Référence
Anglais	Indien safran	(Roshan et Gaur., 2016)
Indien	Haldi	
Français	<i>Curcuma</i>	
Chinois	Jianghuang	(Hombourger, 2010)

1.2. Historique

Le *Curcuma* est une épice qui fait l'objet d'échanger commerciaux depuis longtemps ce qui fait la détermination avec certitude de son origine difficile (Hombourger, 2010).

Le curcuma (*curcuma longa*) est probablement originaire de l'Asie du sud tropicales, mais est maintenant largement cultivés dans les régions tropicales et subtropicales principalement l'Inde, chine, Malaisie, Taiwan et Indonésie (Li *et al.*, 2011).

Cette plante est décrite à près de 4000 ans, à culture védique en inde, est été utilisée pendant des siècles dans la ayurvédique, l'unanine et la siddha médecine (Rathaur *et al.*, 2012)

Le *Curcuma* a été introduit pour le premier foie en Europe au 13^{ème} siècle par des commerçants arabes (Rathaur *et al.*, 2012). Il est connu aussi à la chine avant le 7^{ème} siècle, en Afrique de l'Est depuis le 8^{ème} siècle et l'Afrique de l'Ouest depuis le 13^{ème} siècle (Jansen ,2005).

1 .3. Classification

Curcuma longa été décrit par linneaus et sa position taxonomique est motionnée dans le tableau ci-dessous (**Tableau 1.2**).

Tableau 1.2.Classification taxonomique de *Curcuma longa* (Chttopadhyay *et al.*, 2004).

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantae
Classe	Liliopsida
Sous classe	Commelinds
Ordre	Zingibérales
Famille	Zingiberaceae
<i>Genre</i>	<i>Curcuma</i>
<i>Espèce</i>	<i>Curcuma longa</i>

On dénombre près de 110 *espèces* de *genre Curcuma*. Seuls environ 20 espèces ont été étudiées du point de vue phytochimique, parmi ces espèces (*curcuma longa* L) est l'espèce la plus étudiée chimiquement jusqu'à présent (Li *et al.*, 2011) mais en retrouvé également *Curcuma xanthorriza roxburgh* dit tanoé lawak et la Zédoaire décrite sous le nom de *curcuma Zédoaire roxae* ou *Curcuma zurumbert roxburgh* (Hombourger, 2010).

1.4.Description botanique

Curcuma longa L. est une plante herbacée vivace avec une tige courte qui peut atteindre jusqu'à 1m de haut (Araijo et leon, 2001).

- **Les rhizomes** : principaux de forme ovoïde et secondaires rondes Epais, écailleux, se rident par dessiccation, ces rhizomes sont de couleur jaune orangé en section, gris brunâtre en surface. Une odeur aromatique se dégage après section de rhizome (Hombourger, 2010).
- **Les feuille** : sont larges et naissant à partir du rhizome, elles sont est alternes et distiques, présente un pétiole engainé portant un limbe nervé, de 50cm de longueur, glabre sur les deux faces (Cheikh Ali, 2012).

- **Les fruites** : sont des capsules globuleuses, mais ils ne sont pas produits chez l'espèce *Curcuma longa* ; plante stérile disséminée par division de son rhizome (Cheikh Ali, 2012)
- **Les fleurs** : possèdent un calice tubulaire, court, présentant 3 dents inégales et une corolle tubulaire à sa base, puis divisée en 3 lobes jaunes inégaux , des étamines dont une seule fertile, bifide, l'anthere présentant un large éperon courbé à la base et un ovaire infère, trilobulaire, surmonté d'un style terminé par un stigmate simple et en crochet (Hombourger, 2010), et de couleurs : verdâtre ou blanches à sommet rose et de longueur de 5 à 6 cm (Cheikh Ali,2012).

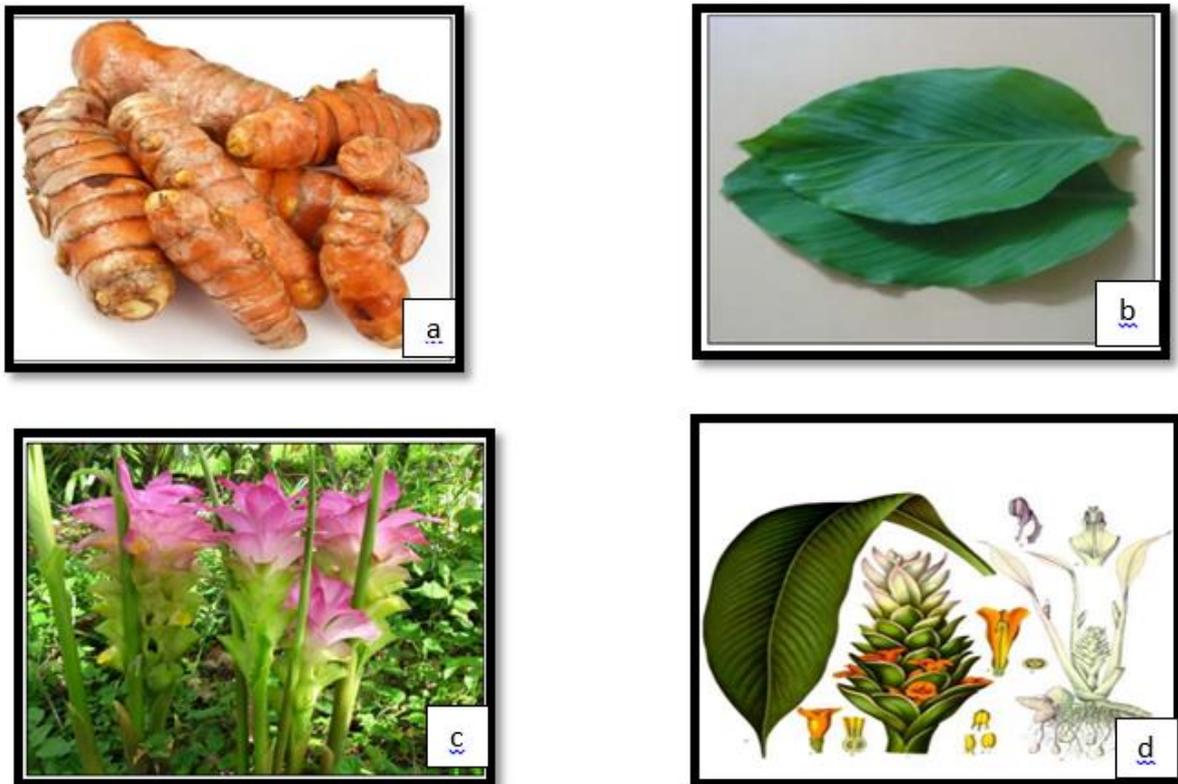


Figure.1.2. Différent partie de *Curcuma longa* L.

(a) les fruit du *Curcuma longa* L. (b) les feuille de *Curcuma longa* L. (c) les fleur de *Curcuma longa* L. (Roshan et Gaur, 2017). (d) *Curcuma longa* L. (Hombourger, 2010).

1.5. Composition biochimique

Les espèces de *Curcuma* sont bien connues en phytothérapie par sa richesse en métabolites secondaires bioactifs tels que les phénols totaux, flavonoïdes, alcaloïdes et le tanin (Kananbala et Mangvung, 2010).

1.5.1. Fraction volatile

Les composants organiques volatiles des plantes constituent un groupe relativement important des substances végétales (Yanhang *et al.*, 2020).

Sont des liquides visqueux de couleur jaune à brun, insoluble dans l'eau, les huiles essentielles des feuilles sont généralement dominées par les monoterpènes tandis que l'huile des rhizomes contient des sesquiterpènes (Li *et al.*, 2011).

1.5.2. Fraction non volatile

1.5.2.1. Polyphénols

Parmi les polyphénols identifiés : curcuminoïdes appartenant au groupe des diarylheptanoïdes (ou diphenylheptanoïdes), ce sont des pigments jaunes qui sont généralement utilisés comme colorants alimentaires et sont les principaux composés actifs de *Curcuma* (Li *et al.*, 2011). Ils sont insolubles dans l'eau, cependant solubles dans l'acétone, méthanol et l'éthanol (Goel *et al.*, 2008 ; Jurenka, 2009), la curcumine de la formule chimique C₂₁H₂₀O₆ et de structure 1,7-bis-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-hepta-1,6-diène-3,5-dione (curcumine I) (Deogada et Ghata, 2015). la déméthoxycurcumine (curcumine II) et la bisdéméthoxycurcumine (curcumine III) (Li *et al.*, 2011),

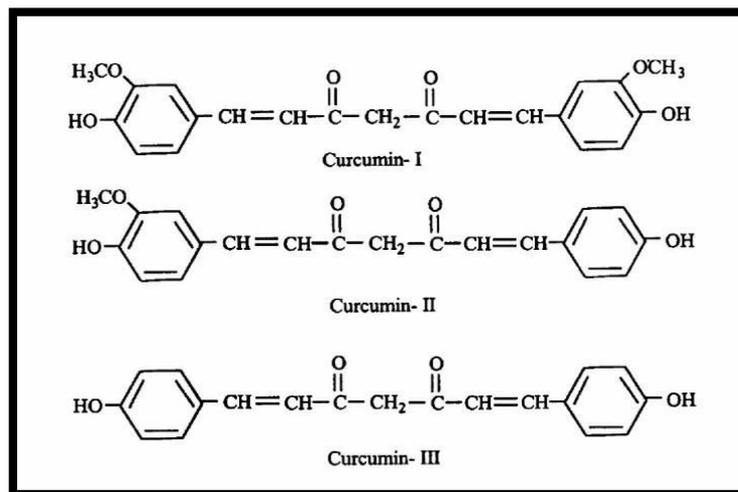


Figure 1.3. la structure chimique des principaux curcuminoïdes (Chattopadhyay *et al.*, 2004).

1.5.2.2. Autres composants

Le *Curcuma* contient des protéines (6,3%), des lipides (5,1%), des glucides (69,4%), des humidités (23,1%) (Rathaur *et al.*, 2012).

1.6. Utilisation traditionnelle

1.6.1. Utilisation alimentaire

Les rhizomes de *Curcuma longa* L. sont couramment utilisés comme arôme, colorant et conservateur. Ils sont commercialisés comme épice et source d'amidon industriel (Cousins *et al.*, 2007).

1.6.2. Utilisation médicinale

En médecine traditionnelle indienne la poudre de *C.longa* L. est utilisée contre les troubles biliaires, anorexie, coryza, plaies diabétiques et le rhumatisme (Ammon *et al.*, 1992).

En médecine chinoise *Curcuma longa* L. est utilisé pour traiter les maladies associées à des troubles abdominaux et les douleurs. Dans l'ancienne médecine hindoue *C.longa* est utilisé pour traiter les entorses et les enflures causées par des blessures (Ammon et Wahl, 1991).

1.6.3. Utilisation cosmétique

Le *Curcuma* est largement utilisé dans la production de crème et de savon en ayurvéda, l'ancien système médicinale indienne, qui sont utilisés comme méthode de traitement facile pour les infections oculaires, les morsures, les brûlures et l'acné (Hatcher *et al.*, 2008 ; Akpolat *et al.*, 2010)

1.7. Activités biologiques

Le *Curcuma* contient un composé principal s'appelle curcumine est connue avoir des effets antioxydants (capacité à inhiber la génération de l'espèce réactive de l'oxygène comme les anions superoxydes (Rathaur *et al.*, 2012). Anti-inflammatoire (la capacité d'inhiber la biosynthèse des prostaglandines inflammatoires (Akram *et al.*, 2010) et anticancéreux (induire l'apoptose, inhiber la progression du cycle cellulaire et empêche la croissance des cellules cancéreuses (Rathaur *et al.*, 2012), joue un rôle important dans la prévention et le traitement du diabète et des diverses maladies auto-immunes, neurologiques, et cardiovasculaire (Kocadame et Sanlier, 2017). La curcumine inhibe l'anaphylaxie systémique, et possède la capacité d'inhiber les réactions allergiques dépendantes des mastocytes non spécifique et spécifique (Rajagopalan et Savarna, 2015).

Les constituants de *Curcuma longa* exercent plusieurs effets protecteurs sur le tractus gastro-intestinal. Le curcuminate de sodium inhibe les spasmes intestinaux, la p-tolyméthylcarbinol augmente la sécrétion de la gastrine et la sécrétine et l'enzyme pancréatique et également inhibe la formation d'ulcères causées par le stress (Akram *et al.*, 2010).

Les effets protecteurs de cette plante sur le système cardiovasculaire comprenant l'abaissement des taux de cholestérol et triglycérides, la diminution de la sensibilité des lipoprotéines de basse densité (LDL) à la peroxydation lipidique et inhibition de l'agrégation plaquettaire (Akram *et al.*, 2010).

L'extrait et l'huile essentielle de *Curcuma longa* inhibent la croissance d'une variété des bactéries, parasites et les champignons pathogènes (Rathaur *et al.*, 2012)

Chapitre 2

Stress antioxydatif

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant »

2.1. Stress oxydant

La découverte d'espèces chimiques radicalaires présentes normalement dans l'organisme a bouleversé notre compréhension des mécanismes biologiques. Ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable ; mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants. (Favier, 2003).

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre les radicaux libres et le système antioxydant, qui provoque des maladies chroniques telles que : cancer, maladie Alzheimer et maladie de Parkinson (Asouri *et al.*, 2013).

Le stress oxydatif devient anormale lié soit à une production accrue d'EOA, soit à une diminution de la capacité de défense antioxydant (Defrangne et Pincemail, 2008).

2.2. Radicaux liber

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA) (Haleng *et al.*, 2007).

Les radicaux libres sont des composés caractérisés par une structure électronique déséquilibrée qui leur confère une grande réactivité sur les constituants organiques et sur les structures cellulaires. Ils favorisent habituellement le bon fonctionnement de l'organisme et la santé des mammifères, mais leur excès peut être néfaste. En dehors de toute situation pathologique, leur production est stimulée par toute situation de stress, en particulier par la manipulation maladroite ou brutale des animaux, par l'exercice physique, par le froid, par des niveaux d'alimentation excessifs ou par des déséquilibres alimentaires (Aurousseau, 2002).

Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire, à la différenciation cellulaire et la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule et la régulation des gènes (Favier, 2003).

Les espèces réactives (ER) sont des atomes ou molécules générées par voie enzymatique ou par interactions chimiques. Il existe trois familles d'espèces réactives : les espèces réactives de l'azote ou RNS, les espèces réactives de chlore ou RCS, et l'espèce réactive la plus intéressante est les espèces réactives d'oxygène ou ROS (Hamma *et al.*, 2015).

Les principales espèces réactives d'oxygène sont :

- l'anion superoxyde O_2^-
- le radical hydroxyle OH^\bullet
- monoxyde d'azote NO
- l'oxygène singulet 1O_2
- le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)
- le nitroperoxyde ($ONOOH$) (Favier, 2003).

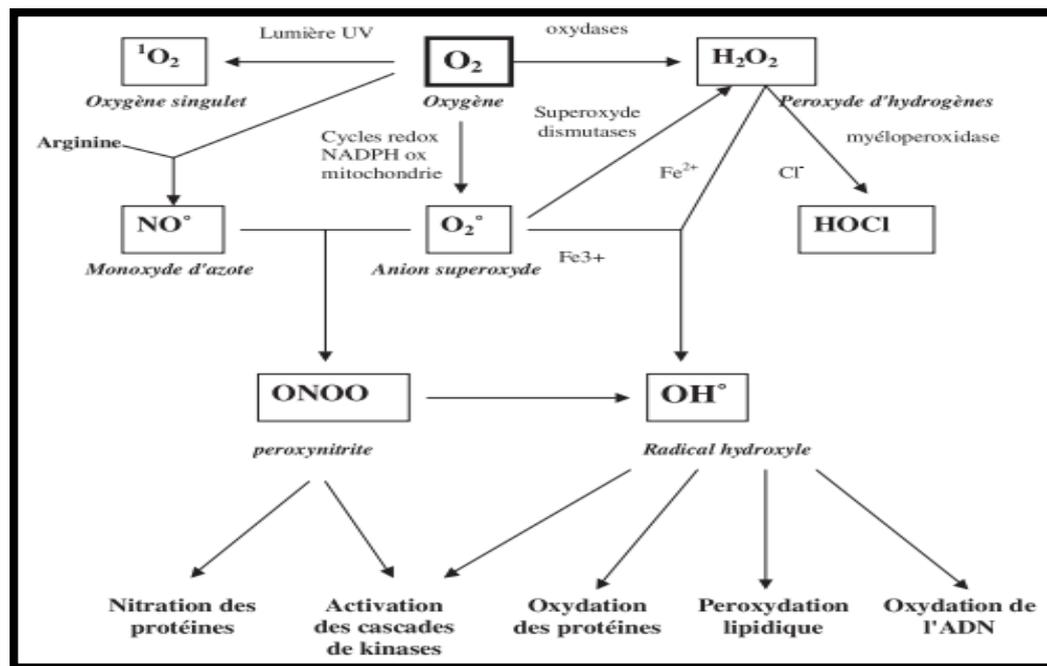


Figure.2.1. Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003)

Les sources des radicaux libre sont classés en deux catégories :

- Les sources exogènes : quinones, métaux toxiques (chrome, cuivre, vanadium), médicaments, particules inhalées (amiante, silice) et les rayonnements ultraviolets.
- Les sources endogènes : l'acide lévulinique et les catécholamines (Favier, 2003)

2.3. Antioxydant

Dès le début du 20^{ème} siècle, l'industrie s'est intéressée de près aux antioxydants (ou antioxygène), molécules capables par exemple de réduire les effets de l'oxygène sur la corrosion des métaux. En biologie, les premières recherches sur les antioxydants ont montré leur capacité à réduire l'oxydation des acides gras insaturés et leur rancissement (Defraigne et Pincemail, 2008).

Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou inhiber la génération d'une oxydant toxique, d'arrêter ceux qui sont déjà produits et de les inactiver, pliqué de ce fait la réaction en chaîne de propagation produit par ces oxydant (Tang et Halliwell, 2010).

Pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydants. On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est endogène (**Tableau 2.1**), et l'autre est exogène apporté par l'alimentation sous forme des fruits et légumes riche en vitamines C et E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acides lipoïque.

Tableau 2.1. Les différents antioxydants endogènes (Haleng *et al.*, 2007).

Système enzymatique	Système non enzymatique	Oligo-élément
Superoxyde dismutase	Ferritine	Sélénium
Glutathion peroxydase	Transferrine	Cuivre
Catalase	Céruleoplasmine	Zinc
Endonucléases	Albumine	

Les antioxydants pourront être utiles pour éviter les récurrences. Il permettra aussi de stabiliser la tolérance à l'insuline, d'améliorer l'immunité. Pourront être utilisés pour diminuer la toxicité des médicaments, souvent générateurs de radicaux oxygénés dans leur métabolisme (Favier, 2003).

Partie expérimentale

Chapitre 3

Matériel et Méthodes

3. Matériel et Méthodes

Ce travail est une étude analytique de plusieurs articles scientifiques qui se concentrent sur l'étude de l'activité antioxydant de *Curcuma longa* L. selon différentes méthodes. Ces articles sont les suivants :

❖ **Article 1** : Choi H-Y.2009. Antioxidant activity of *Curcuma longa* L., Novel foodstuff. *Molecular & Cellular Toxicology* 5(3) :237-242.

❖ **Article 2** : Kodjio N., Atsafack S S., Fodouop S P.C., Kuate J-R., Gatsing D.2016. In vitro Antisalmonellal and Antioxidant Activities of Extracts and Fractions of *Curcuma longa* L. Rhizomes (*Zingiberaceae*).*international journal of Biochemistry Research & Review*.11(3) :1-14.

❖ **Article 3**: Hayat S, Sabri A N,.2016.Screening for antibiofilm and antioxidant potential of turmeric (*Curcuma longa*) extracts. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 29(4) :1163-1170.

❖ **Article 4** : Maizura, M., Aminah, A. Wan Aida, W. M. 2011. Total phenolic content and antioxidant activity of kesum (*Polygonum minus*), ginger (*Zingiber officinal*) and turmeric (*Curcuma longa*) extract. *International Food Research Journal*, 18 :526-531.

❖ **Article 5** : Tanvir, E.M, Sakib Hossen Md, Fuad Hossain Md, Afroz Rizwana, Gan Siew Hua, Ibrahim Khalil Md, Karim N.2017. Antioxidant Properties of Popular Turmeric (*Curcuma longa*) Varieties from Bangladesh. *Journal of Food Quality*. Vol 2017 :1-8 p.

3.1. Matériel

1.1. Matériel végétale

La partie de la plante utilisée comme matériel végétale se diffère selon les études

➤ **Article 1** : la poudre de la plante *Curcuma longa* L. entière, a été obtenue des pharmacies locales à Séoul, Corée (Choi, 2009).

➤ **Article 2** : les rhizomes de *Curcuma longa* L. ont été collectés dans la division de Santchou, région ouest de Cameroun et ont été identifié par Mr.NGANSOP Eric botaniste à l'herbier nationale de Cameroun (Kodjio *et al.*, 2016).

➤ **Article 3** : les rhizomes de *Curcuma longa* L. ont été achetés de marché local de légumes à Lahore, Pakistan (Hayat et Sabri, 2016).

➤ **Article 4** : la matière végétale fraîche a été achetée de marché local à Selangor (Maizyra *et al.*, 2011).

➤ **Article 5** : deux variétés différant de *Curcuma* (*mura et chora*) ont été collectes dans le district de Khulna de la division Khulna et de district de khagrachari de la division Chittagong de Bangladesh en juillet 2013, après la collecte les échantillons de *Curcuma* ont été emballés dans des sachets en plastique stériles avant transport au laboratoire (Tanvir *et al.*, 2017).

3.2. Méthodes

3.2.1. Extraction

Selon l'**article 1** l'extraction préparé par le protocole expérimentale suivant :

- 500 g de poudre séchée a été extraite avec le MeOH pendant 3 heures.
- L'extraite brut de MeOH a été recueille par filtration et évaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif à 45 C°.
- Puis l'extraite brut a été fractionné avec n-hexan, CHCl₃, EtOAc, n-BuOH et H₂O à l'aide d'une ampoule à décanter.
- Chaque fraction a été évaporée à 50 C° pour donner 12.5 g de l'extrait de n-hexane, 22.65g de l'extrait de CHCl₃, 3.95 g de l'extrait d'EtOAc, 6.75 g de l'extrait de n-BuOH et 7 g de l'extrait de H₂O.

Mais dans l'**article 2** deux méthodes d'extraction ont été utilisées :

- L'extraction aqueuse (infusion, macération, décoction) a été préparée selon les méthodes décrites par Duke :

- La macération (l'extrait macéré) a été préparée en dissolvant 100 g de poudre de plante dans 1000 ml d'eau, l'extraction a été laissée à traiter pendant 48 heures avec agitation constante (3 fois par jour).

-La décoction (extrait décocté) a été préparé par dissoudre 100 g de poudre de plante dans 1000 ml de l'eau puis bouillir à 100°C pendant 15 min.

-L'infusion (extrait infusé) a été préparé en faisant bouillir arroser puis mettre la poudre de plante dans cet eau bouillie pendant 15 min.

Ces extraits ont été ensuite mélangés puis filtrés sur papier Whatman N°1 et les filtrats ont été concentrés en évaporant le solvant à 40°C dans une étuve pendant 48 heures.

- L'extraction méthanol/chlorure de méthylène (MeOH/CH₂Cl₂) se fait selon le protocole suivant :

- Macérer 1kg de poudre des rhizomes séchés de *Curcuma longa* à Température ambiante dans 6 L de MeOH/CH₂Cl₂ pendant 48 heures, pendant cette période l'agitation a été effectuée deux fois par jour.

- Le mélange a été ensuite filtrée en utilisant du papier filtre Whatman N°1.

- Puis l'extrait a été concentré sous pression réduite à 45°C à l'aide d'un évaporateur rotatif

- Enfin l'extrait a été conservé dans des flacons stérilisés à 4°C jusqu'à leur utilisation.

La séparation de l'extrait MeOH/CH₂Cl₂ a été réalisé selon la méthode décrite par He *et al.* Avec une légère modification :

- 30 g de l'extrait ont été dissous dans 350 ml de méthanol et ajouté 350 ml d'hexane.

- le mélange a été secoué puis séparé dans l'entonnoir

- la même procédure a été répétée avec l'acétate d'éthyle, et la fraction résiduelle contient un mélange des composants solubles dans méthanol/eau (eau utiliser pour séparer la phase d'acétate d'éthyle de la phase résiduelle).

- les différents extraits et fractions ont été concentrés en les laissant reposer dans une étuve (Mémert) réglée à 40°C.

Parallèlement dans **l'article 3** l'extraction se fait selon la méthode suivante :

- Les rhizomes de *Curcuma* ont été séchés et broyés dans un broyeur électrique pour obtenir une poudre

- 10 g de cette poudre ont été extraite séquentiellement avec n-hexane, chloroforme, éthyle d'acétate, éthanol, méthanol et eau.

- Filtration des extraits à l'aide d'un papier filtre Whatman N°1.

- Les solvants ont été évaporé par évaporateur rotatif, sous pression réduite à 40°C pour obtenir une concentration finale de 50 mg de chaque extrait.

Par contre le protocole utilisé dans **l'article 4** est le suivant :

- *Curcuma longa* a été lavé à l'eau puis séchés à l'aide d'un four à 37°C pendant 30 min
- L'extrait a été obtenu à l'aide d'un extracteur de jus sans l'ajoute d'eau.
- L'extrait végétal pur a été filtré à l'aide de papier filtre Whatman N°1.
- Centrifugation à 4750 g (à 4°C) pendant 15 min.
- L'extrait collecté et stocké dans un flacon en verre recouvert hermétiquement par papier d'aluminium à -4°C.

Finalemnt **l'article 5** applique la méthode d'extraction suivant :

- Les échantillons de *Curcuma* ont été nettoyés et séchés à l'air libre, à l'ombre pendant deux jours avant d'être broyés en poudre.
- Préparation de deux type d'extraites :
 - L'extrait éthanolique à 20% en ajoutant 20 g de poudre de *Curcuma* dans une solution d'éthanol à 70% pour obtenir une solution de 100 ml.
 - L'extrait aqueux à 20% en ajoutant 20 g de poudre de *Curcuma* dans l'eau pour obtenir une solution de 100 ml.
- Les extraits d'éthanol et aqueux ont été placés dans l'obscurité pour éviter les réactions susceptibles de se produire en présence de lumière.
- Agitation pendant 72 heures à température ambiante.
- Les extraits ont été ensuite filtré par papier filtre Whatman N°1 et concentrés dans un évaporateur rotatif sous pression (100 psi) à 40°C pour l'éthanol et 55°C pour l'eau.
- Les extraites ont été collectés et conservés à -20°C pour analyses ultérieurs.

3.2.2. Détermination de polyphénols totaux

La teneur en polyphénol totaux des extraits a été déterminée par la méthode de Folin–Ciocalteu.

Le principe de la méthode est fondé sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif « Folin-Ciocalteu » (FCR), qui est un mélange de complexes d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique de couleur jaune. Cette oxydation entraîne la formation d'un

nouveau complexe molybdène–tungstène de couleur bleu qui absorbe à 750 nm (Haddouchi *et al.*, 2016).

Les protocoles utilisés dans les cinq articles étudiés pour la détermination de la teneur des polyphénols totaux est motionnée dans le tableau ci-dessous (**Tableau 3.1**).

Tableau 3.1. Mode de détermination des polyphénols de curcuma longa L.

	Article 1	Article 2	Article 3	Article 4	Article 5
L'extrait	150 µl	20µl	1ml	Echantillons inséré dans différents tubes à essai	0.4 ml
Réactif et solutions	150 µl de FCR (0.25N) + 2.400 µl eau nanopure réagir pendant 3 min + 300 µl de Na ₂ CO ₃ (1N)	200 µl de FCR (2N) + 1380 µl eau distillé + 400 µl de Na ₂ CO ₃ (20%)	0.5 ml de FCR + 1 ml Na ₂ CO ₃ (10g/100 ml) + 7.5 ml d'eau distillé	5 ml FCR (dilué 10 fois) après 5 min + 0.4 ml de Na ₂ CO ₃ (7.5 %)	1.6 ml de Na ₂ CO ₃ (7.5%) + 2ml de FCR (dilue 10 fois par l'eau distillé)
Incubation	Température ambiante (23°C) pendant 2 heures dans l'obscurité	Température 40°C pendant 20 min	Température ambiante pendant 45 min	Température ambiante pendant 2 heures	1 heure dans l'obscurité
Absorbance	725 nm à l'aide de spectrophotomètre UV/VIS	760 nm	765 nm en spectrophotomètre visible	765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre à lecteur de microplaques	765nm d'un PD-Spectrophotomètre 303S

Les résultats ont été exprimés en mg équivalents d'acide gallique (mg GAE) par une g de l'extrait dans **les articles (1, 2,3)**. La courbe est tracée dans **l'article 1** en utilisant les doses (0-0.3 mg/ml) d'acide gallique, dans **l'article 2** les doses (0-0.2 µg/ml) d'acide gallique et **l'article 3** les doses de 0 à 500 µg/ml. **L'article 4** a exprimé le résultat en mg équivalent d'acide gallique par 100 g d'extrait et la courbe standard a été tracée avec les doses d'acide gallique (10, 20, 40, 60,80 et 100 ppm). Finalement **l'article 5** a exprimé les résultats en g d'acide

gallique par 100 g de *Curcuma* et utilisé les concentrations (6.25, 12.5, 25, 50, 100 et 200 µg/ml) pour tracer la courbe standard.

3.3. Evaluation de l'activité antioxydant

3.3.1. Méthode de DPPH (1.1 diphényl-2-picrylhydrazyl)

Principe : Cette méthode est utilisée dans quatre **articles (1, 2, 4,5)**, l'activité antiradicalaire a été évaluée à l'aide du radical libre DPPH, ce dernier de couleur violette réagit avec un composé antioxydant qui entraîne un changement de sa couleur vers le jaune, l'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre à 517 nm, est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire (Kodjio *et al.*, 2016).

Mode opératoire :

L'**article 1** utilise la méthode qui décrite par Crue et Wang avec quelque modification :

- 4 ml d'échantillon (de chaque concentration : 12.5, 25, 50 et 100 µg/ml respectivement) dissout dans MeOH a été mélangé avec 1 ml de solution de DPPH (1.5×10^{-4} M).
- Incubation à température ambiante pendant 30 min.
- La réduction de DPPH a été mesurée par la lecture de l'absorbance à 517 nm.

$$\text{Le taux de piégeage de DPPH} = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100$$

Où :

A₀ : Absorbance de contrôle (sans extrait).

A₁ : Absorbance en présence de l'extrait.

A₂ : Absorbance sans DPPH.

Le protocole expérimental utilisé par l'**article 2** est résumé dans les étapes suivantes :

- L'extrait ou la fraction (2000 µg/ml) a été dilué deux fois en série dans le méthanol.
- 100 µl de l'extrait /fraction dilué ont été mélangé avec 900 µl de solution de DPPH de 0.3 mM pour donner une concentration finale d'extrait/fraction de 12.5-200 µg/ml.
- Incubation dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 min.
- Les densités optiques ont été mesurées à 517 nm.
- L'acide ascorbique (vitamine c) a été utilisé comme témoin.
- L'activité de piégeage des radicaux a été calculée comme suit :

$$\text{RSA}(\%) = [(Abs \text{ de DPPH} - Abs \text{ d'échantillon}) / Abs \text{ de DPPH}] \times 100$$

D'autre part, le protocole de **l'article 4** est basé sur la méthode proposée par Akowuah *et al.* :

- 2 ml de solution méthanolique de DPPH (0.1 mM) a été ajoutée aux 200 µl d'extrait et 0.8 ml de méthanol.
- Le mélange a été maintenu dans l'obscurité pendant 1 heure.
- Le témoin a été préparé en mélangeant 2 ml de DPPH avec 1 ml de méthanol.
- L'absorbance a été mesurée à 517 nm à l'aide de spectrophotomètre.
- Le pourcentage d'activité de piégeage de DPPH a été calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(\text{Abs c} - \text{Abs e})}{\text{Abs c}} \times 100$$

Où :

Abs c : Absorbance de contrôle.

Abs e : Absorbance de l'échantillon.

Finalement **l'article 5**, les étapes suivies sont :

- 1ml de l'extrait a été mélangé avec 1.2 ml de DPPH à 0.003% dans le méthanol à des concentrations variable (2.5-80 µg/ml).
- Le pourcentage d'inhibition de DPPH a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(\text{Abs DPPH} - \text{Abs s})}{\text{Abs DPPH}} \times 100$$

Où :

Abs DPPH : l'absorbance de DPPH en absence de l'échantillon.

Abs s : l'absorbance de DPPH en présence de l'échantillon.

3.3.2. Méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)

❖ **Principe** : Cette méthode a été utilisée par les cinq articles étudiés. La méthode FRAP est fondée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{+++}) en ion ferreux (Fe^{++}). Cette méthode évalue le pouvoir réducteur des composés à un faible pH. L'intensité de la couleur bleu du complexe de tripyridyltriazine ferreux (TPTZ) a été mesuré par spectrophotomètre à 593 nm (Soltani *et al.*, 2017).

❖ **Mode opératoire :**

Parmi les articles étudiés, 1, 3, 4 et 5 ont utilisé la méthode de Benzie et Strain pour réaliser le test de FRAP avec légères modifications. Les protocoles expérimentaux sont mentionnés dans le tableau ci-dessous (**Tableau 3.2**).

Tableau 3.2. Les protocoles expérimentaux utilisés pour le test de FRAP.

	Article 1	Article 3	Article 4	Article 5
solution de travail	25 ml de tampon d'acétate + 2.5 ml TPTZ + 2.5 FeCl ₃ ·6H ₂ O (chauffé à 37°C) + 150 µl d'extrait	85 µl d'extrait	50 µl d'extrait	200 µl d'extrait à différentes concentrations (62.5-10000µg/ml)
Réactif de FRAP	2850 µl	2750 µl	1.5 ml	1.5 ml
Incubation	A l'obscurité pendant 30 min	A 37°C pendant 4 min		A 37 °C pendant 4 min
L'absorbance	593 nm	593 nm	593 nm	593 nm
La courbe de standard	Des concentrations de 25 à 800 µM de Trolox	FeSO ₄ ·7H ₂ O à des concentrations de 0.5 – 5 mM/L	Sulfate de fer à des concentrations de 200 -1000 ppm	FeSO ₄ ·7 H ₂ O à des concentrations de 100 -1000 µM
Les résultats exprimés	µM de Trolox /g de poids sec	mM de FeSO ₄ /L d'extraite	µM Fe(II)/100g d'échantillon	µM Fe (II)/100g d'échantillon

Par contre **l'article 2** a utilisé un autre protocole expérimental pour le test de FRAP selon les étapes suivantes :

- Différents volumes (400, 200, 100, 50,25 µl) d'extrait /fraction méthanolique préparés à la concentration 2090µg/ml, ont été mélangés avec 500 µl de tampon phosphate (PH 6.6) et 500 µl de ferricyanure de potassium (1%).
- Incubation à 50°C pendant 20 min.
- 500 µl d'acide trichloracétique (10%) ont été ajoutés au mélange.

- Centrifugation à 3000 rpm/min pendant 10 min.
- Le surnageant (500 µl) a été dilué avec 500 µl d'eau et mélangé avec 100 µl de chlorure ferrique à 0.1% fraîchement préparé.
- L'absorbance a été mesurée à 700 nm.

3.3.3. Méthode ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))

❖ **Principe** : Cette méthode est utilisée par l'article 1, c'est la méthode la plus utilisée pour la détermination de la concentration des radicaux libres. Il est basé sur la neutralisation d'un radical-cation résultant de la mono électronique oxydation de chromophore synthétique 2,2'- azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique acide), cette réaction est suivie par spectrophotométrie par la variation de spectre d'absorption (Sochor *et al.*, 2010).

❖ **Mode opératoire** : est la méthode de Re *et al.*, avec une légère modification

- Le cation radical ABTS a été généré en ajoutant 7 mM d'ABTS à une solution de persulfate de potassium 2.45 mM.
 - Le mélange a été laissé au repos pendant une nuit dans l'obscurité à température ambiante.
- La solution de cation radicalaire ABTS a été dilué avec de MeOH pour obtenir une absorbance de 0.7 ± 0.02 à 734 nm.
- 990 µl de solution de cation radical ABTS et 10 µl de chaque échantillonne ont été mélangés et mesurée après 6 min à 734 nm.
- L'activité de piégeage des ABTS a été calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Taux} = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%$$

Où :

A_1 : Absorbance en présence de l'extrait.

A_2 : Absorbance sans ABTS.

A_0 : Absorbance de contrôle sans extrait.

3.3.4. Méthode de piégeage des radicaux d'oxyde nitrique

Principe : cette méthode est utilisée par l'article 2, basée sur la génération de l'oxyde de nitrite à partir de nitroprusside de sodium en solution aqueuse à pH physiologique qui interagit avec l'oxygène pour produire des ions nitrites qui peut être mesurés à 550 nm par spectrophotomètre en présence de réactif de Griess (Singh *et al.*, 2012).

Mode opératoire : est la méthode de Chanda et Dave avec légère modification :

- 0.75 ml de Nitroprusside de sodium 10 mM dans tampon phosphate ont été ajouté à 0.5 ml d'extrait ou de composé de référence (vitamine C ou BTH) à différentes concentrations (62.5 à 100 µg/ml).
- Les solutions ont été incubées dans 25°C pendant 60 min.
- Une procédure similaire a été répétée avec de méthanol comme blanc et qui a servi de témoin négatif.
- 1.25 ml d'échantillon incubé a été ajouté au 1.25 ml de réactif de Griess (1% de sulfanilamide dans 5% d'acide phosphorique et 0.1% de N-1-naphtyléthyléthyldiamine dihydro-chlorure dans l'eau)
- Des concentrations de 12.5, 25, 50, 100 et 200 µg/ml sont obtenus
- Incubation dans l'obscurité à température ambiante pendant 5 min.
- Mesure de l'absorbance de chromophore formé à 540 nm.
- Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation suivant :

$$\% \text{ inhibition} = [1 - (A_1/A_0)] \times 100$$

Où :

A_1 : Absorbance de l'extraite ou standard.

A_0 : Absorbance de contrôle négatif.

3.3.5. Méthode de FIC (Ferrous ion-chelating assay)

❖ **Principe :** cette méthode est utilisée par l'article 2. L'activité de chélation des ions ferreux (FIC) a été utilisée pour doser l'activité antioxydant des différents extraits et fractions. Elle a été appréciée par l'augmentation de l'absorbance à 562 nm du complexe fer et ferrozine qui est le composé stabilisant le plus utilisé, il forme avec le fer libre présent dans un milieu réactionnelle un complexe ferrozine-Fe⁺⁺ de couleur violette intense, (Khadhri *et al.*, 2012).

❖ **Mode opératoire :**

- 1000 µg/ml d'extrait/fraction a été dilué deux fois en série avec méthanol.
- 200 µl d'extraite /fraction dilué ont été mélangé avec 740 µl de méthanol et 20 µl de FeCl₂ (2 mM).
- La réaction a été initiée par l'ajoute de 40 µl de ferrozine (5 mM).
- Des concentrations finaux d'extrait /fraction de 12.5 à 200 µg/ml sont obtenus.

- Le mélange a été incubé à température ambiante pendant 10 min et l'absorbance a été mesuré à 562 nm.
- Le méthanol sans échantillon a été utilisé comme témoin, le méthanol sans solution de ferrozine comme échantillon a blanc et la vitamine C et BHT comme standard pour dosage.

3.3.6. Méthode de piégeage de radical hydroxyle

❖ **Principe :** cette méthode est utilisée par l'article 2, le radical hydroxylase est un radical libre extrêmement réactif formé dans les system biologique à partir d'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène en présence des ions métalliques comme le fer et le cuivre (Castro et Freeman, 2001).

❖ **Mode opératoire :**

- 60 µl de FeCl₂ (1 mM) ,90 µl de 1,10-phenanthroline (1mM) avec 2.4 ml de tampon phosphate (0.2M) pH 7.8, 150 µl de H₂O₂ (0.17 M) et 1.5 ml de solution d'essai avec différent concentration allant de 12.5 à 200 mg/ml ont été ajoutés et mélangés ensemble.
- Incuber le mélange à température ambiante pendant 5 min.
- Après l'incubation, l'absorbance a été mesurée à 560 nm à l'aide de spectrophotomètre.
- L'activité de piégeage des radicaux hydroxyles (HRS) comme suit :

$$\text{HRS (\%)} = [(\text{Abs d'e} / \text{Abs c})] \times 100$$

Où :

Abs d'e : absorbance d'échantillon de test.

Abs c : absorbance de contrôle.

Chapitre 04

Résultats et discussion

4. Résultats et discussions

4.1. Rendement d'extraction

Le rendement de l'extrait de *Curcuma longa* L. dans l'**article 4** est de 66.2%. Par contre dans l'**article 5** où deux variétés de *Curcuma* différents (*mura* et *chora*) sont étudiées, le rendement le plus élevé est obtenu à partir l'extrait éthanolique (*mura* 12.39% et *chora* 13.65%) tandis que l'extrait aqueux de *chora* a donné le rendement le plus faible de 7.43%.

Cette différence peut s'expliquer par certains facteurs tel que le temps d'extraction et le type de solvant, l'interaction entre les deux facteurs précèdent a un effet sur la teneur de polyphénol ce qui permet de dire que la prolongation de temps d'extraction accroît d'une manière significatif le pouvoir d'extraction de chaque solvant étudié (Telli *et al.*,2010).

4.2. Dosage de polyphénols totaux

Le contenu phénolique total des extraits et des fractions de *Curcuma longa* L. a été déterminé par la méthode de réactif de Folin-ciaccateu (Kodjio *et al.*, 2016).

D'après l'**article 1** les résultats de dosage de polyphénol totaux obtenus sont exprimés en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait de *Curcuma*. La teneur en composés phénolique totale de la fraction EtOAc ($228.7 \pm 2.3 \mu\text{g GAE /mg}$) était supérieur à celles des autres fractions ($\text{CHCl}_3 = 140.7 \pm 10.6$, MeOH = 38.7 ± 6.7 , nBuOH = 30.7 ± 3.0 , n-hexane = 26.9 ± 7.4 et $\text{H}_2\text{O} = 6 \pm 1.3 \mu\text{g GAE/mg}$).

Les auteurs de l'**article 2** ont remarqué que la concentration de composés phénoliques dans l'extraits brut de méthanol / chlorure de méthylène égale à $20.30 \pm 0.75 \mu\text{g GAE/mg}$ d'extrait était plus élevé que dans tous les autres extraits. La concentration de l'infusion était de $17.08 \pm 1.14 \mu\text{g GAE/mg}$ et étaient relativement la même dans la décoction et la macération (9.60 ± 0.54 et $9.32 \pm 1.01 \mu\text{g GAE/mg}$) respectivement, et la plus faible concentration en composés phénoliques a été observée dans la fraction hexanique ($2 \pm 0.36 \mu\text{g GAE/mg}$).

D'après les résultats de l'**article 3**, on a remarqué que la plus grande quantité des composés phénoliques a été observée dans l'extrait éthanolique avec un valeur de $61.669 \pm 0.08 \text{ mg GAE/g}$ d'extrait suivi de méthanolique avec une valeur de $60.635 \pm 0.03 \text{ mg GAE/g}$ d'extrait et les teneurs de phénols dans les autres extraits étaient dans éthyle d'acétate = 58.441 ± 0.435 , chloroforme = 55.341 ± 0.01 , eau = 59.143 ± 0.434 et hexane = $57.265 \pm 0.016 \text{ mg GAE/g}$ d'extrait).

Par contre **l'article 4** a montré que le *Curcuma longa* possède un contenu en polyphénol égale 67.9 ± 1 mg GAE/100g d'extrait.

Finalement les concentrations des composés phénoliques trouvés dans **l'article 5** étaient dans les extraits éthanolique plus élevé que dans les extraits aqueux où le TPC variait de 6.15 à 16.07 g GAE/100 g d'extrait, et de 4.52 à 7.68 g GAE/100 g d'extrait. Parmi le quatre extraits éthanolique de variétés *Curcuma* (*mura* et *chora*) de division Khulna et Chittagong le TPC la plus élevé a été mesuré dans la *mura* de Chittagong (16.07 ± 0.301 g GAE/100 g d'extrait) et la plus faible dans *mura* de Khulna (6.15 ± 0.255 g GAE/100 g d'extrait), de même l'extrait aqueux de *mura* de Khulna avait le TPC le plus bas (4.52 ± 0.250 g GAE/100 g d'extrait) tandis que la concentration la plus élevé (7.68 ± 0.071 g GAE/100 g d'extrait) a été trouvé dans *chora* de Chittagong.

Gayatri et Rajani (2011) ont obtenu des teneurs en polyphénols supérieurs que celles des résultats de **l'article 3**, dans les trois extraits étudiés : éthanolique, méthanolique et aqueux avec des valeurs comprises entre 215,158 et 68 mg GAE/g d'extrait.

La différence de la teneur en polyphénols peut être s'expliquée par un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques tel que les conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage (sécheresse et salinité) (Podsdek, 2007).

Aussi cette différence est due aux plusieurs paramètres influençant l'extraction de ces composés tels que : la nature chimique des composés, la méthode d'extraction utilisée, la dimension des particules d'échantillon et temps d'extraction (Naczki et Shahidi, 2006).

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits, a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Si le dosage de Folin-Ciocalteu est simple à mettre en œuvre et très sensible, il n'est cependant pas spécifique des polyphénols car il réagit avec les acides aminés (tyrosine et tryptophane) des protéines. De telles interférences peuvent être négligées car ces acides aminés aromatiques sont en proportions trop faibles par rapport aux composés phénoliques non protéiques dans les extraits (Boizot et Charpentier, 2006).

4.3. Résultats de l'Activité antioxydant

4.3.1. Test de DPPH

Le radical stable 1,1-diphényl -2-picrylhydrazyle (DPPH) a été utilisé pour la détermination de l'activité de piégeage des radicaux libres des extraits (Nabavi *et al.*, 2008).

Le radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 515 nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaire (Bougandoura et Bendimerad, 2013).

Dans le test DPPH l'activité antiradicalaire était exprimée en IC₅₀ (µg/ml) la dose antiradicalaire nécessaire pour provoquer une inhibition de 50% des radicaux libres, une valeur IC₅₀ faible correspondant à une activité antioxydant plus élevée de l'extrait (Ching *et al.*, 2014).

Les résultats de l'activité scavenging du radical DPPH des extraits de *Curcuma* après l'analyse de l'article 1, 2 et 5 sont enregistrés dans le tableau ci-dessous (**Tableau 4.1**) sous forme des valeurs d'IC 50 des différent fractions.

Tableau 4.1. les valeurs d'IC50 ($\mu\text{g/ml}$) de différentes fractions de *Curcuma longa* L.

Les articles	Fractions	IC50 $\mu\text{g/ml}$
Article 1	EtOAc	9.86
	CHCl ₃	16.70
	MeOH	58.17
	BuOH	81.09
	n-hexane	280.42
	H ₂ O	759.28
Article 2	EtOAc	14.844 \pm 0.888
	MeOH	15.119 \pm 3.709
	n-hexane	16.960 \pm 5.090
	H ₂ O	Décoction = 21.079 \pm 1.388 Infusion=21.417 \pm 3.167 Macération=234.369 \pm 38.816
	Fraction résiduelle	11.621 \pm 1.598
Article 5	Ethanolique ¹	Khulna =1.08 Chittagong=1.97
	Aqueux ¹	Khulna=5.31 Chittagong=13.42
	Ethanolique ²	Khulna =3.03 Chittagong=1.19
	Aqueux ²	Khulna=12.51 Chittagong=16.55

Où : ¹ : l'extrait de variété *mura* et ² : l'extrait de variété *chora*

D'après cette analyse on trouve que les fractions EtOAc possèdent les valeurs d'IC50 les plus faibles par rapport aux autres fractions (**article 1et 2**) et l'IC50 de **l'article 1** est inférieur à IC50 de **l'article 2** ce qui confirme que l'activité de piégeage dans **l'article 1** est plus élevée par rapport l'activité dans **l'article 2**. D'autre part les extraites aqueux des deux **articles** avaient des IC50 élevées c'est-à-dire une faible activité antioxydant.

Ainsi après l'analyse les résultats de **l'article 5** on observe que l'extrait éthanolique possède une activité de piégeage plus élevée que les autres extraits. La variété *mura* à une activité plus puissante que la variété *chora* de la division Khulna, tandis que l'extrait éthanolique de la variété *chora* de Chittagong avait des valeurs IC50 légèrement inférieur (1.19 µg/ml) à celle de la variété *mura* (1.97 µg/ml) de la même division qui confirme la présence d'une activité antioxydant plus élevée que l'extrait éthanolique de la variété *mura*.

Dans cette analyse le Trolox et la vitamine C ont été utilisés comme contrôle positif dans **l'article 1** où ils montrent des valeurs d'IC50 de 17.19 et 2.44 µg/ml respectivement. La valeur d'IC50 de vitamine C dans **l'article 2** est plus faible par rapport aux autres fractions : 10.614 µg/ml c'est-à-dire possède une forte activité antioxydante.

Les résultats de **l'article 4** sont sous forme de pourcentage d'inhibition, on remarque que l'extrait de *Curcuma Longa* possède une activité de piégeage des radicaux DPPH égal à 64.6%.

4.3.2. Test de FRAP

L'activité réductrice d'un extrait est évaluée par la réaction oxydoréduction entre l'extrait et les ions métalliques de transition notamment le fer (Huang *et al.*, 2005), la détermination du pouvoir réducteur antioxydant ferrique par la transformation Fe^{+++} à Fe^{++} en présence des extraits ou des fractions (Kodjio *et al.*, 2016).

Dans **l'article 1** l'activité antioxydante des diverses fractions d'extraits méthanolique de *Curcuma longa* L. a été déterminée par test de FRAP et exprimée par µM de Trolox libérée à partir de 1g d'échantillon. Les résultats obtenus par le test de piégeage des radicaux pour EtOAc et $CHCl_3$ ont montré une très forte activité de réduction des ions ferrique pour une même concentration (1000 µg/ml) où l'activité antioxydante atteindre plus de 1200µM/g pour la fraction EtOAc et environ 800 µM/g pour la fraction $CHCl_3$, mais pour les autres fractions l'activité était inférieur à 200µM/g, la force de l'activité réductrice des ions ferrique des 5 fractions par ordre décroissant étaient EtOAc > $CHCl_3$ > BuOH > MeOH > H_2O .

Ainsi dans **l'article 2** les résultats obtenus ont montré que le pouvoir réducteur d'étalon (Vitamine C) était plus élevé aux concentrations 100 et 200 µg/ml avec des valeurs de 2.183 ± 0.089 et 3.339 ± 0.098 µM/g respectivement. À la concentration 12.5 µg/ml le pouvoir réducteur de la macération 0.057 ± 0.008 µM/g était supérieur à celui de la vitamine C (0.028 ± 0.009 µM/g) et la fraction hexanique présentait la densité optique la plus faible à chaque concentration.

Les résultats de test de FRAP de **l'article 3**, mesuré par mM de $FeSO_2$ par litre d'extrait sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 4.2. Les valeurs de test de FRAP des différents extraits.

Solvant	Valeurs de test (mM de FeSO ₂ /l d'extrait)
Méthanol	15.55 ±0.25
Ethanol	13.7 ±0.2
Acétate d'éthyle	8.65 ±0.25
Aqueux	11.6 ±1.2
Chloroforme	6.2 ±0.3
Hexane	5.55 ±0.35

Après analyse de ces résultats, on remarque que l'extrait méthanolique avait l'activité de FRAP la plus élevée suivi de l'extrait éthanolique puis l'extrait d'acétate d'éthyle, aqueux et chloroforme avec une activité moyenne, et une activité minimale observait pour l'extrait de l'hexane. Une corrélation positive a été enregistré entre l'activité antioxydant et contenu phénolique totale.

Les résultats de test de FRAP d'article 4 de curcuma ont montré une valeur égale à 23.3 ±0.9 µM de Fe²⁺/g d'extrait.

Les résultats de l'article 5 qui sont résumés dans le tableau suivant :

Enfinement **Tableau 4.3.** Les valeurs du test de FRAP de variété de *Curcuma* à Bangladesh.

Variété	Division	Valeur de FRAP d'extrait éthanolique (µM/100g)	Valeur de FRAP d'extrait aqueux (µM/100g)
<i>Mura</i>	Khulna	3475.36 ± 173.10	646.67 ± 2.48
	Chittagong	3231.89 ± 337.10	681.18 ± 24.20
<i>Chora</i>	Khulna	4204.46 ± 74.48	1015.52 ± 3.11
	Chittagong	1972.66 ± 104.78	976.61 ± 2.48

D'après les résultats on remarque que les valeurs de FRAP d'extrait aqueux et éthanolique de *Curcuma* variaient de 646.67 à 1015.52 µM Fe (II) /100g d'échantillon et de 1972.66 à 4204.646 µM Fe²⁺/100g respectivement, et cette analyse indique que la variété *chora* de Khulna avait la valeur de FRAP la plus élevée dans les deux extraits par rapport la variété *mura* de la même division. D'autre part pour l'extrait aqueux, la valeur de FRAP de la variété

chora de la division de Chittagong est plus élevée que la valeur de *mura*, et dans la même division la valeur de FRAP d'extrait éthanolique de variété *mura* est plus élevée que la variété *chora*.

4.3.3. Test d'ABTS

L'évaluation de ce test est basé sur la réaction entre l'ABTS et le persulfate de potassium qui donne un radical ABTS bleu/vert, avec l'ajout des antioxydants la décoloration est atteinte et mesurée par spectrophotomètre à 734 nm (Choi, 2009).

Cette étude visait à développer un outil facile, fiable, sensible et méthode de mesure directe automatisé et peu coûteuse avec des réactifs à long durée de vie, pour une capacité antioxydant total (Erel, 2003).

Après l'analyse des résultats **d'article 1**, on observe que les fractions EtOAc et CHCl₃ montraient une activité de piégeage des radicaux ABTS plus élevée par rapport aux autres fractions avec des valeurs comprises entre 90% et 100% d'activité pour une concentration de 3000 µg/ml. L'activité de piégeage des radicaux ABTS des 5 fractions par ordre décroissant étaient EtOAc > CHCl₃ > BuOH > MeOH > H₂O.

Cette activité des fractions testées était du même ordre décroissant que l'activité de piégeage des radicaux DPPH et se fait pourrait être associée à la relation entre l'activité antioxydant et le radical libre.

4.3.4. Test de piégeage des radicaux d'oxyde nitrique

L'oxyde nitrique est une espèce très instable qui réagit avec la molécule d'oxygène pour produire de nitrate et de nitrite stables qui peuvent être estimés à l'aide de réactif de Griess (Kodjio *et al.*, 2016).

Les résultats de la capacité de piégeage contre l'oxyde nitrique ont été enregistrés en termes de pourcentage d'inhibition.

Après l'analyse **d'article 2** on a observé que les pourcentages d'inhibition des extraits infusée et macéré de *Curcuma* sont plus élevés avec des valeurs de 92.21% et 94.771% respectivement avec une concentration de 200 µg/ml, par contre l'extrait organique brut a montré une activité de récupération faible à chaque concentration. De plus la fraction résiduelle et celle d'acétate d'éthyle avaient des activités modérées à chaque concentration.

4.3.5. Test de FIC (Ferrous ion-chelating assay)

Le pouvoir chélateur de fer est évalué par l'utilisation de complexe le plus stable, la ferrozine qui forme avec le fer libre présent dans le milieu réactionnel un complexe ferrozine-Fe⁺⁺ et également évaluée par l'absorbance qui renseigne sur la qualité de fer non chélate ainsi que sur la capacité des extraits à piéger cet élément (Khadhri *et al.*, 2012).

D'après les résultats de l'article 2, les antioxydant standard (Vitamine C et BHT) ont montré l'activité la plus élevée de 1.298 nm et 1.358 nm respectivement pour la concentration 200 µg/ml suivi par la fraction d'acétate d'éthyle (1.144 nm) et l'extrait organique brut (0.918 nm) pour la même concentration, l'activité chélatrice la plus faible a été trouvée dans le fraction hexanique (0.207 nm) et les autres extraits (macération, décoction, infusion) ont montré relativement la même activité chélatrice.

4.3.6. Test de piégeage de radical hydroxyle

In vitro, la capacité à piéger le radical hydroxyle par les extraits des plantes est basée sur la réaction de Fenton en mesurant la formation du radical OH• et son effet sur l'oxydation et la dégradation de molécules biologiques telles que le désoxyribose de l'ADN (Halliwell *et al.*, 1987).

D'après les résultats de l'article 2, tous les extraits aqueux avaient de faible activité de piégeage du radical hydroxyle inférieur à 20% dans toutes les concentrations. L'extrait organique brut, la fraction hexanique et la fraction d'acétate d'éthyle présentaient de fortes activités avec des pourcentages d'absorbance inférieur à 80%. L'antioxydant standard (BHT) a présenté l'activité la plus forte ; environ 100% avec la concentration 200µg/ml.

Discussion :

On remarque que dans tous les tests les extraits de *Curcuma longa* L. montrent une activité antioxydant puissante, cette activité est confirmée par les auteurs qui ont utilisé la méthode de DPPH :

Denre (2014) a trouvé que l'IC₅₀ de l'extrait des rhizomes de *Curcuma longa* L. égale à 5.99 mg /ml, cette valeur est très proche avec les résultats d'article 5.

Gonzalez et ses collaborateurs (2019) ont également obtenu un pourcentage d'inhibition environ 40% pour l'extrait de *Curcuma* de Cuba, cette valeur est inférieure au résultat d'article 4 (64.6%), mais la valeur d'IC 50 égale 150 µg/ml est supérieur aux résultats de l'article 5.

Tanzeela et ses collaborateurs (2015) ont également trouvé des activités de piégeage des radicaux libres, sous forme de pourcentage d'inhibition, des extraits par l'éthanol 60% et éthanol 80% étaient égale à 46.16% et 52.19% respectivement, et méthanol 60% et méthanol 80% étaient de 35.41% et 49.83% respectivement, et l'extrait aqueux était 31.33% ces résultats sont inférieurs au résultat de l'article 4.

Ainsi des autres études utiliser la méthode de FRAP qui sont réalisés par Thakur et ses collaborateurs (2013) ont montré une valeur de FRAP de l'extrait éthanolique de *Curcuma longa* L. égal à 0.38 mM/100g qui est inférieure par rapport les résultats de l'article 5. Et par Borra et ses collaborateurs (2013) qui ont obtenu une activité importante pour l'extrait de *Curcuma* avec une valeur de 1240 $\mu\text{M Fe(II)/g}$ très élevé que l'activité trouvée par l'article 4 (23.3 $\mu\text{M Fe(II) /g}$).

Aussi Kim et ses collaborateurs (2019) utilisant la méthode d'ABTS pour confirmer l'activité antioxydante, ont remarqué que les résultats des activités des piégeages des radicaux ABTS étaient plus élevée dans l'extrait aqueux 91.08% par rapport l'extrait aqueux dans l'article 1, par contre le résultat d'activité d'extrait éthanolique d'article 1 était plus élevée que leurs résultats 87.52% pour l'extrait éthanolique à 10%, 80.87% pour l'extrait éthanolique à 30% et 64.64% d'extrait éthanolique à 50%.

Les différences entre les résultats peuvent être provenue de la différence des taux d'extraction et des concentrations des solvants (Kim *et al.*, 2019) et peuvent être dû à la sensibilité des réactifs utilisés dans chaque méthode, quelle que soit la méthode d'extraction et la méthode d'évaluation de l'activité antioxydant des extraits utilisées (Ouedraogo *et al.*, 2015).

Plusieurs études ont montré que les facteurs du sol, y compris les nutriments et le niveau d'acidité ainsi que la diversité des genres, peuvent affecter la teneur en curcumine des plantes (Gayatri et Rajani, 2011). En plus d'autres facteurs peuvent intervenir dans cette différence tels que : le type de sol, le climat et la méthode de culture (Gonzalez *et al.*, 2019).

D'autre part les résultats peuvent s'expliquer par les conditions expérimentales non identiques telles que l'utilisation du méthanol ou éthanol comme solvant d'extraction, et par la récolte sur des plantes hôtes différentes, l'organe utilisé, le stade phénologique et les conditions abiotiques telles que saison, climat et température (Etame *et al.*, 2018).

Le *Curcuma* contient de nombreux composés phénoliques dont le plus important est la curcumine. Il a été démontré que la curcumine est un puissant piègeur de radicaux libres d'oxygène. Son activité antioxydant est comparable aux vitamines C et E. Il peut protéger les lipides ou l'hémoglobine de l'oxydation. En plus, il peut inhiber de manière significative la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) telle que H₂O₂ et les anions superoxyde (Nasri *et al.*, 2014).

L'analyse des résultats de tous les articles (1 à 5) permet de mettre en évidence une corrélation positive entre la teneur d'extraits en poly phénols totaux et activités antioxydants. Ces polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radicale DPPH, en raison de leur structure chimique idéale (Turkman *et al.*, 2007).

Selon Hsu et ses collaborateurs (2007), les composés phénoliques sont largement distribués dans les tissus des plantes parmi lesquelles se retrouvent de nombreuses molécules antiradicalaire et antioxydants, ces composés peuvent agir comme réducteurs en donnant les électrons et en réagissant avec les radicaux libres pour transformer en produits plus stables et mettre fin à la chaîne de réaction radicalaire (Razzagui *et al.*, 2020).

Les études de Graversen et ses collaborateurs (2008) et Roberts et Gordon (2003) ont démontré que les polyphénols végétaux ont un effet synergique avec d'autres antioxydants dans les matériel végétales, d'autre part les études réalisés pour analyser l'effet synergique des antioxydants par Liu et ses collaborateurs (2008), Atukaya et ses collaborateurs (2009) et Romano et ses collaborateurs (2009) ont montré un effet synergique dans le mélange d'extraits des plantes.

Les autres composés phénoliques mineurs (acide phénolique, flavones, quinones...) ne devaient pas être négligés par ce que la synergie entre les différents produits chimiques devrait être prise en considération dans l'activité biologique (Bourgou *et al.*, 2008).

Conclusion

Conclusion et perspectives

L'objectif du présent travail à portée sur l'évaluation de l'activité antioxydant des différents extraits de la plante *Curcuma longa* L. A partir de divers articles scientifiques, on a analysé le rendement d'extraction des différentes extraites et la quantité des polyphénols, ainsi que l'estimation de l'activité antioxydant de cet épice.

Le rendement d'extraction était plus élevé dans l'extrait éthanolique par rapport aux autres extraits. L'évaluation de contenu en polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu, a révélé une différence de la teneur de polyphénols entre les résultats obtenus dans les articles étudiés peut s'expliquer par certains facteurs comme climat, la température, la variété d'origine d'espèce, la nature des solvants utiliser...etc.

D'après les articles analysés, l'évaluation de l'activité antioxydant par les deux tests DPPH et FRAP montre que le Curcuma à une activité antioxydant importante.

Ainsi l'évaluation par d'autres tests : test ABTS, test de piégeage des radicaux d'oxyde nitrique, test FIC et test de piégeage de radical hydroxyle confirme l'activité antioxydant de *Curcuma longa* L.

Donc on peut dire que cet épice a une activité antioxydant importante puisque le *Curcuma* représenté un agent antioxydant naturel prometteur et non toxique. Et comme perspectives on propose de :

- ❖ Réaliser les tests précédents au niveau de notre laboratoire
- ❖ Synthétisé des médicaments à base de cette épice car elle représente un excellent antioxydant naturel.

**Références
bibliographiques**

- A -

Akpolat M., Tarladaçalısır Y., Uz Y., Metin, M. and Kızılai, G.2010.Kanser tedavisinde curcuminin yeri.Yeni Tip Dergisi 27 :142-147

Akram M, Shahab-Uddin Asif.A., Khan U., Abdul H., Mohi-Uddin E., Asif M.2010. *Curcuma longa* and Curcumin- A review article. Romanian Journal of Biology- Plant Biology.55: 65-70.

Ammon H.P.T., Wahl MA.1991. Pharmacology of *Curcuma longa*. Planta Med 57: 1–7.

Ammon, H.P.T., Anazodo, M.I., safayhi, H., Dhawan, B.N., Srimal, R.C.1992.Curcuminin: a potent inibitor of leukotriene B4formation in rat peritoneal polymorphonuclear neutrophils (PMNL).planta Med 58, 26.

Araujo C., Leon L. 2001. Biological activities of *Curcuma longa* L Mern Inst Oswaldo Cruz. Pp 723-728.

Asouri M., Ataee R ., Ahadi A.A., Amini A .,Moshaei M.R.2013.Antioxydant and Free Radical Scavening Activites of curcumin .Asian Journal of Chemistry. vol 25 (13) :7593-7595.

Altunkaya, A., Becker, E.M., Gokmen, V. and Skibsted, L.H. 2009. Antioxidant activity of lettuce extract (*Lactuca sativa*) and synergism with added phenolic antioxidants.Food Chemistry 115: 163-168.

Aurousseau B.2002.Les radicaux libres dans l’organisme des animaux d’élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRA, Unité de recherches sur les Herbivores, 15 (1) : 67-82.

- B -

Boizot N., Charpentier J.P. 2006. Méthode rapide d’évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d’un arbre forestier. Le cahier des techniques de l’INRA - N° spécial : 79-82.

Bourgou S, Ksouri R, Bellila A, Skandrani I, Falleh H, Marzouk B.2008.Phenolic composition and Biological activités of Tunisien *Nigella Sativa* L.Shoots and Roots.Science Direct-Biological 331 :48-55.

Bougandoura N., Bendimerad N. 2013. Evaluation de l’activité antioxydant des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp.*Nepeta* (L.)Briq.Revue«Nature & Technology»Briq-Sciences Agronomique et Biologique, N°9 : 14-19 p.

Borra S K., Gurumurthy P., Mahendra J, Jayamathi., K. M.2, Cherian, C. N, Chand R.2013. Antioxidant and free radical scavenging activity of curcumin determined by using different in vitro and ex vivo models. Journal of Medicinal Plants Research. 7(36):2680-2690.

- C-

Castro L., Freeman B.A.2001. Reactive Oxygen Species in Human Health and Disease. Nutrition 17:161–165

Cheikh Ali Z. 2012. Études chimiques et biologiques d'Aframomum sceptrum (*Zingiberaceae*) et de la curcumine. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Paris-Sud, 46p.

Chttopadhyay I., Biswas K., Bandyopadhyay U., Banerjee R. K. (2004). Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. CURRENT SCIENCE 87(1): 44-53.

Choi H.-Y. (2009). Antioxidant activity-of *Curcuma longa* L., novel foodstuff. Molecular & Cellular Toxicology 5(3): 237-242.

Ching W-Y., Bin-Yusoff Y., Wan-Nurdiyana B., Wan, A.2014. EXTRACTION OF ESSENTIAL OIL FROM CURCUMA LONGA. Journal of Food Chemistry and Nutrition 2(1):1-10.

Cousins M., Adelberg J., Chen F., Rieck J.2007. Antioxidant capacity of fresh and dried rhizomes from four colons of Termeric (*Curcuma longa* L.) grown in vitro. Industrial Crops and Products 25 :129-135.

-D-

Defraigne J.O., Pincemail J.2008.Stresses Oxydant et antioxydants : mythes et réalités-Revie Medical De liégré, 63 : 10-19.

Denre M .2014. The determination of vitamin C, total phenol and antioxidant activity of some commonly cooking spices crops used in West Bengal. International Journal of Plant Physiology and Biochemistry. 6 (6): 66–70.

Deogada, S., Ghata, S. (2015).Curcumin: Therapeutic applications in systemic and oral health.Int.J.Biol.Pharm.Res.6 (4):281-290.

Duke J. A.2003.Le grand livre du mois. Citées par Atsafack SS, Kodjio N, Fodouop S.P.Ch, Nbemafack A, Kuate J.R, Gatsing D.2016. In vitro Antisalmonellal and Antioxidant Activities of Extracts and Fractions of *Curcuma longa* L. Rhizomes (*Zingiberaceae*) From The Stem Bark of albizzia gummifère(J.F.Gnel) C.A.Sm.Britsh Journal of Pharmaceutical Research, 10(6).1-11.

- E-

Erel O.2003.A Novel automated directe measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation.clinical Biochemistry (37):277-285.

Etame L. G, Ngaba G. P, Kamdom M, Mpondo M. E, Dibong S. D. 2018. Evaluation des activités anti-inflammatoire et antiradicalaire de l'extrait au vin de palme des feuilles de Phragmanthera capitata (Sprengel) S. Balle (Loranthaceae) récoltées sur Psidium guajava au Cameroun. International Journal. Biological and Chemical Sciences.12(1): 233-243.

-F-

Favier A. 2003. Le stress oxydant "Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique". L'actualité chimique. pp108-115.

-G-

Gayatri N., Rajani K. S. (2011). Evaluation in comparative antioxidant activity of *Curcuma longa* & *Curcuma aromatica*. Natural Products en Indian Journal 7(2) : 57- 60.

Goel A., Kunnumakkara A.B., Aggarwal B.B. (2008). Curcumin as "curecumin": From kitchen to clinic. Biochem Pharmacol. 75:787-809.

Gonzalez Valdez T., Infante.Burzac J F., Arteché-Gericia J., Ollá-Hernández-B., Farinas-Medina M., Fernández-Salazar T., Rodero-Guerra., Hernández -R., Riera-Rono M., Ido T. 2019. Preclinical evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, cytotoxic and lipid-lowering Properties of a nutraceutical from *Curcuma Longa* cultivated in Cuba. Pharmacy Pharmacology International Journal, 7(6):319-328.

Graversen H.B., Becker E.M., Skibsted L.H., Andersen M.L. 2008. Antioxidant synergism between fruit juice and alpha-tocopherol. A comparison between high phenolic black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) and high ascorbic blackcurrant (*Ribes nigrum*). European Food Research and Technology 226 (4): 737-743.

-H-

Haddouchi F., Zerhouni K., SIDI-Yekhelef A., Chaouche T. M. (2016). Evaluation of antimicrobial activity of different extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *Rupestre*. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège 85 : 152 - 159.

Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charbier C., Chapelle J.P. 2007. Le stress oxydant. Revue-Médical de Liège, 62(10):628-638. 8.

Halliwell B., Gutteridge J. M. C. & Arnoma O. L. (1987). The deoxyribose method: A simple test tube assay for the determination of rate constant for reaction of hydroxyl radical. Anal Biochem, 165: 215-219.

Halliwell B., 1996. Antioxidant in human health and disease, Annual review of nutrition 16(1), 33-50.

Hamma S.A., Nouri N., Fergani I., Lekhal A., Cheriet S., Abadi N., Lezzar, A., Benlatrache, C. 2015. Biologie Des Espèces Réactives et Stress Oxydant. Journal Algérien Médecine Vol XXIII, N°2, PP 48-53.

Hatcher H., Planalp R., Cho J., Torti, F.M., Torti, S.V. (2008). Curcumin : From ancient medicine to current clinical trials. *Cell Mol Life Sci.* 65 :1631-1652.

Hayat S., Sabri A .N. 2016. Screening for antibiofilm and antioxidant potential of turmeric (*Curcuma longa*) extracts. Pakistan journal of pharmaceutical sciences. 29(4) : 1163-1170.

Hombourger, C. 2010. Le *Curcuma longa*, de l'épice au médicament. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Henri Poincaré-Nancy1, 222p.

Hsu C.Y., Chan Y.P., Chang J., 2007. Antioxidant activity of extract from *Polygonum cuspidatum*. Biol Res, 40: 13-21.

Huang D, Ou B, Prior RL. 2005. The Chemistry behind antioxidant capacity assays. J. Agric. Food. Chem. ; 53:1841-5

- J -

Janson P. C. (2005). Ressources végétales de l'Afrique tropicale 3 Colorants et tanins. Wageningen: Foundation PROTA / Backhuys Publishers / CTA, 238 P.

Jurenka J. S.2009. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: A review of preclinical and clinical research. Altern Med Rev. 14(2):141–153.

- K -

Kananbala S., Mangvung J.H.2010.Secondry Métabolites of *Curcuma* species.International Journal of applied Agricultural Research. PP : 355-359.

Khadhri, A., EL Mokni, R., Smite, S.2012.Composes phénoliques et activité antioxydants de deux extraits de chardon à glu : *Atractylis gummifère*. Revue sac science. National de tamise T : 39, pp44-52.

Kim S., Ko S-Ch., Kim Y-S., Ha S-K., Park H-Y., Park Y., Lee S-H.2019. Determination of *Curcuma longa* L. (Turmeric) Leaf Extraction Conditions Using Response Surface Methodology to Optimise Extraction Yield and Antioxidant Content. Journal of Food Quality, 8Pages.

Kim H-J, Lee J-W, Kim W-D. 2011. Antimicrobial activity and antioxidant effect of *Curcuma longa*, *Curcuma aromatica*, *Curcuma zedoria*. Korea J Food Preserv.18 (2):219-22

Kodjio N., Atsafack S S., Fodouop P.C., Kuate J-R., Gatsing D.2016. In vitro Antisalmonellal and Antioxidant Activities of Extracts and Fractions of *Curcuma longa* L. Rhizomes (Zingiberaceae).international journal of Biochemistry Research & Review.11(3) :1-14.

Kocadam B., Sanlier. 2017. Curcumin, an active component of turmeric (*Curcuma longa*), and its effects on health. Critical Review. In Food science and nutrit. Vol 57(13):2289-2295.

- L -

Li S. Yuan W., Deng G., Wang P., Yang P., Aggarwal B.2011. Chemical composition and product quality control of turmeric (*Curcuma longa* L.) Pharmaceutical Crops, 2:28-54.

Liu D., Shi J., Ibarra A.C., Kakuda. Xue S.J. 2008. The scavenging capacity and synergistic effects of lycopene, vitamin E, vitamin C, and β -carotene mixtures on the DPPH free radical. *Lebensmittel issenschaft and Technologie* 41: 1344-1349.

-M-

Maizura M., Aminah A., Wan Aida W. M.2011. Total content and antioxydant activity of kesum (*Polygonom minus*), ginger (*zingiber officinale*) and turmeric (*Curcuma longa*) extract. *Internation Food Research Journal*. 18: 526-531.

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

- N-

Nabavi S.M., Ebrahimzadeh M.A., Nabavi S.F., Hamidinia A., Bekhradnia, A.R.2008.Determination activity, phénol and flavonoïde content of parrotia persica Mey.*Pharmacologyonline* 2:560-567.

Nasri H., Sahinfard N., Rafieian M., Rafieian S., Shirzad M., Rafieian-kopaei M. (2014). Turmeric: A spice with multifunctional medicinal properties. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 5-8.

Naczki, M., Shahidi, F., 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41, 1523–1542.

- O-

Ouedraogo, R.A., Koala, M., Dabire, C., Hema, A., Bazie, V.B.E.J.T., Ouattara, L.P., Gnoula, Ch., E., Nebie, R.H.C.2015.Teneur en phénols totaux et activité antioxydante des extraits des trois principales vanités d'oignons (*Allium cepa* L.) cultivées dans la région du Centre-Nord du Burkina Faso.*Int.J.Biol.Chem.Sci*.9 (1) :281-291.

-P-

Podsedek, A.2007- Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT*. 40:1- 11.

-R-

Rajagopalan, B., Suvarna, Y.2015.Turmeric: The spice of health.*World Journal of Pharmaceutical Research*, Vol 4:579-585.

Rathaur, P., Raja, W., Ramteke, P.W., Suchit, A.J.2012. TURMERIC: THE GOLDEN SPICE OF LIFE. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*, 3(7):1987-1994.

Razzagui, A., Senator, A., Benbrinis, S., Bourriche, H. 2020. Free radical scavenging Activity, Reducing Poivre and Anti-Hemolytic capacity of Algerian Dirimai maritime Baker Fowler Extract. *Journal of Drug Delivery and Therapeutic*, 10(4) :70-78.

Roshan, P., Gaur, T. 2016. Versatility of Turmeric: A golden review the golden spice of life. *Journal of Pharmacology and Phytochemistry*. 6 (1):41-46.

Roberts, W.G. and Gordon, M.H. 2003. Determination of the total antioxidant activity of fruits and vegetables by a liposome assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 1486-1493.

Romano, C., Abadi, K., Repetto, V., Vojnov, A.A. and Moreno, S. 2009. Synergistic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives. *Food Chemistry* 115: 456-461.

- S -

Singh, D., Mishra, M., Crupta, M., Singh, P., Crupta, A., Nema, A. 2012. Nitric oxide radical scavenging assay of bioactive compounds present in methanol extract of *Centella asiatica*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science Research*, 2(3):42-44.

Soltani, Y., Ali-Bouzidi, M., Toumi, F., Benyamina, A. 2017. Activité antioxydant des extraits de trois organes de *Juniperus Phoenicea*. De l'ouest algérien. *Phytothérapie* (2018). 16:142-148.

Sochor, J., Ryvolova, M., Krystofova, O., Salas, P., Hubalek, J., Adam, V., Trnkova, L., Havel, L., Beklova, M., Zehnalek, J., Provaznik, I., Kizek, and R. 2010. Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages. *Journal/molecules*, 8618-8640.

- T -

Tang, S. Y. et Halliwell, B. 2010. Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 394: 1-5.

Tanvir E. M, Sakib Hossen Md, Fuad Hossain Md, Afroz Rizwana, Gann Siew Hua, Ibrahim Khalil Md, Karim N. 2017. Antioxidant Properties of Popular Turmeric (*Curcuma longa*) Varieties from Bangladesh. *Journal of Food Quality*. vol 2017:1-8.

Tanzeela, N., Iqbal, M., Raza, A., Safdar, M., Ifikhar, F., Waheed, M. 2015. Estimation of Total Phenolics and Free Radical Scavenging of Turmeric (*Curcuma longa*), *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 15 (7) : 1272-1277.

Telli, A., Mahboub, N., Boudjeneh, S., Siboukeur, O.E.K. & Moulti-mati, F. 2010. Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera* L) variété ghars, *Annales des Sciences et Technologie*, 2(2) : 107-112.

Thakur, R., Yadav, K., Khadka, K.B.2013. Study of antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activity of cinnamon (*Cinamomum tamala*), ginger (*Zingiber officinale*) and turmeric (*Curcuma longa*) American Journal of Life Sciences 1(6) : 273-277.

Turkman, N., Sedatveelioglu, Y., Ferda, S., Gokce, P.2007.Effect of extraction condition on measure total polyphénol contents and antioxydant and antibacterial activities of Black Tea. Molecules, 12, 484-496.

-Y-

Yanhang C., Shukurova M.K.H., Asikin Y., Kusano M., Watanle K.N. 2020.Characterization of volatile organic compounds in Mango Ginger (*Curcuma amade Roxb*) from Myanmar, Métabolites p2-10.

Résumés

ملخص: الكركم هو نبات من عائلة زنجبيل يستخدم على نطاق واسع في الطب. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة بطرق مختلفة. محصول الاستخلاص الأعلى محضر بواسطة نبات طازج 66,2% للمحلول الايثانولي. في هذا العمل الحاضر ندرس كمية البوليفينول الموجودة في هذه النبتة وتقييم النشاط المضاد للأكسدة. بعد دراسة هذه المقالات مستخلص الايثانول غني جدا البوليفينول (228,7 ملغ). تحليل النتائج يبين ان هذه النبتة تحتوي على نشاط مضاد للأكسدة قوي جدا. تقييم النشاط المضاد لأكسدة بواسطة اختبارات DPPH، FRAP، ABTS، FIC، Oxide nitrique et radical hydroxyle يبين ان هذه النبتة تملك نشاط مضاد لأكسدة أكثر فعالية للمستخلص الايثانولي.

الكلمات المفتاحية: كركم لونغا، بولي فينول، النشاط المضاد للأكسدة، المستخلص الايثانولي.

Résumé : Curcuma (*Curcuma longa* L.) est une plante de la famille *Zingiberaceae* largement utilisé en médecine traditionnel. L'objectif de ce travail est l'évaluation de l'activité antioxydant de cette plante par des différentes méthodes. Le rendement d'extraction le plus élevée préparé à partir de la plante entière : 66.2% pour l'extrait éthanologique. Le présent travail porte sur une étude de la quantité des polyphénols présents dans cette plante et à évaluer son activités antioxydants. D'après les articles étudiés l'extrait d'EtOAc est le plus riche en polyphénols (228.7mg). L'analyse des résultats montre que cette plante possède une activité biologique très forte. L'évaluation de l'activité antioxydants par les tests DPPH, FRAP, ABTS, FIC, oxide nitrique et radical hydroxyle montre que cette plante possède une activité antioxydant plus efficace pour l'extraite éthanologique (EtOAc).

Mots clé : *Curcuma longa*, polyphénol, activité antioxydant, l'extraite éthanologique.

Abstract: Turmeric (*Curcuma longa* L.) Is a plant of the *Zingiberaceae* family widely used in traditional medicine. The objective of this work is the evaluation of the antioxidant activity of this plant by different methods. the highest extraction yield prepared from the whole plant to 66.2% for the ethanolic extract. the present work relates to a study of the quantity of polyphenols present in this plant and to correlate these results with its biological activities. according to the articles studied the very rich EtOAc extract has a polyphenol content (228.7 mg) these results show that the ethanolic extract has a very strong biological activity. Evaluation of the antioxidant activity by the DPPH, FRAP, ABTS, FIC, nitric oxide and hydroxyl radical show that this plant has a more effective antioxidant activity for the ethanolic extract.

Key words: turmeric, polyphenol, antioxidant activity, ethanolic extract.