

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

**Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme
de
Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

**Contribution à l'étude de l'activité antioxydant
d'*Alpinia galanga* L. et d'un colorant azoïque
tinctorial**

Présenté par :

ALLAMA Nesrine

Devant le jury composé de :

- Président : M^{lle} BOUGUERIA Hassiba (MCB)
- Examineur : M^{me} AMARI Salima (MAA)
- Promoteur : M^{me} BOUKERIA Sabah (MCB)

Année Universitaire : 2019/2020

Remerciements

Je remercie tout d'abord notre *allah* le tout puissant, pour mon me donne la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Je tends surtout à adresser mes plus vifs remerciements à mon promotrice, **M^{me} BOUKERIA Sabah**, pour avoir encadré et dirigé ce travail et pour sa disponibilité, ses conseils et le temps qu'elle a bien voulu consacrer.

Mon remerciement va à Les membres du jury : **M^{me} Amari salima** et **M^{lle} BOUGUERIA Hassiba** D'avoir accepté de juger mon travail.

Mon vif remerciement à tous mes enseignants, et les administrateurs du département des Sciences de la Nature et de la Vie

Enfin, je remercie toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à finaliser ce modeste travail

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mes très chers parents.

Mes frères et mes soeurs.

Toute ma famille.

Tous mes Professeurs.

Tous mes collègues.

Tous ceux qui me sont chers.

Résumé

Le but de ce travail est l'étude des métabolites secondaires et l'évaluation des propriétés antioxydants des extraits préparés des rhizomes séchés d'*Alpinia galanga* et les comparer avec les propriétés antioxydants des extraits d'un colorant synthétique.

Le Screening phytochimique réalisé sur les extraits de rhizomes d'*Alpinia galanga* montré une présence importante des tanins, des flavonoïdes, une dominance des substances poly phénoliques et sucres réducteurs dans cette plante étudiée.

Les résultats de la quantification des phénols totaux ont montré que la teneur en polyphénols d'*Alpinia galanga* est 1.26 mg Eq AG / g, cela montre que la plante est moins riche en polyphénols.

L'étude de l'activité antioxydant in vitro de l'extrait méthanolique d'*Alpinia galanga* et l'extrait méthanolique d'un colorant synthétique par la méthode de DPPH montre que l'extrait d'*A. galanga* présente très bons pouvoir antioxydants ($IC_{50}=0,22\text{mg /ml}$) qui pourraient nous permettre de les recommander dans la biotechnologie pharmacologique, contrairement à l'extrait de colorant synthétique qu'il a une activité antioxydant relativement moins importante ($IC_{50}=1.45\text{mg /ml}$)

Mots clés: *Alpinia galanga*, colorant synthétique, screening phytochimique, polyphénols, activité antioxydant

Abstract

The objective of our work is a study secondary metabolisms and the evaluation of antioxidant properties of prepared extracts of dried rhizome of *Alpinia galanga* and compares them with antioxidant properties of prepared extracts from a synthetic dye.

Phytochemical screening performed on green and black tea extracts showed a significant presence of tannins and flavonoids, and a dominance of polyphenolic substances, and reducing sugars in the plant studied.

Quantification results of total phenols showed that the polyphenol content of *Alpinia galangal* is 1.26 mg Eq AG/g, this shows that the plant is rich in polyphénols

The study of the in vitro antioxidant activity of the methanolic extract by the method of DPPH shows that the extract has very good antioxidant powers ($IC_{50}=0.22$) which could allow us to recommend them in biotechnology, in contrary the synthetic dye extract that it has a relatively low antioxidant activity($IC_{50}=1.45$)

Key words: *Alpinia galangal*, synthetic dye, phytochemical screening, polyphénols, antioxidant activity.

الهدف من هذا العمل هو دراسة مواد الأيض الثانوي وتقييم خصائص مضادات الأكسدة لمستخلصات جذور الخولنجان المجففة ومقارنتها بخصائص مضادات الأكسدة الموجودة في ملون اصطناعي ، حيث أظهر الفحص الكيميائي النباتي على مستخلصات الخولنجان وجود كمية كبيرة من التانينات والفلافونويدات ، وهيمنة المواد عديد الفينول والسكريات المرجعة في هذا النبات.

وأظهرت نتائج القياس الكمي من إجمالي الفينول أن محتوى عديد الفينول في مستخلص الميثانول (mgEAG / g 1.26) وهذا ما يدل على أن الخولنجان غنية بعديد الفينول

وقد أظهرت دراسة نشاط مضادات الأكسدة في المختبر لمستخلصات الخولنجان ومستخلصات الملون الاصطناعي، من خلال طريقة DPPH أن مستخلص الجولنجان له نشاط مضاد للأكسدة ممتاز ($IC_{50}=0.22$) والذي يمكننا من أن نوصي به في مجال ، التكنولوجيا الحيوية الصيدلانية، على عكس مستخلص الملون الذي يحتوي على نشاط مضادات أكسدة ضعيف نسبيا ($IC_{50}=1.45$)

الكلمات المفتاحية : الخولنجان الطبي , ملون اصطناعي, فحص كيميائي نباتي, عديد الفينول , نشاط مضادات الأكسدة.

Liste des abréviations

Liste des abréviations

- ✓ % : Pourcentage
- ✓ **(AH) n** : un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH
- ✓ **µl** : Microlitre
- ✓ **AAO** : Activité antioxydant
- ✓ **Abs** : Absorbance
- ✓ **ADN** : Acide désoxyribo nucleotide.
- ✓ **A. Galanga** : Alpinia galanga
- ✓ **ASC** : Acide ascorbique
- ✓ **C**: Carbone
- ✓ **C°**: Degré Celsius
- ✓ **C₅H₈** : Structure de base à cinq carbones
- ✓ **CH₃ - (CH) n – COOH**: Formule des acides gras saturés
- ✓ **CH₃ - (CH₂)₁₄ – COOH**: Acide palmitique
- ✓ **CHCl₃**: Chloroforme
- ✓ **Cl⁻** : Chlor
- ✓ **CLR** : colorant
- ✓ **Cm** : Centimètre
- ✓ **CuSO₄**: Sulfate de cuivre
- ✓ **DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle)
- ✓ **EAG/g.MS** : Equivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche
- ✓ **ERO** : Les espèces réactives de l'oxygène
- ✓ **EXM** : extrait méthanolique
- ✓ **Fe²⁺** : Ion ferreux
- ✓ **Fe³⁺** : Ion ferrique
- ✓ **FCR** : Folin Ciocalteu
- ✓ **FeCl₃** : Chlorure ferrique
- ✓ **FRAP** : Ferric reducing antioxidant power
- ✓ **g** : gramme
- ✓ **g/l**: Rapport gramme par litre

Liste des abréviations

- ✓ **g/mol** : Rapport gramme par mol
- ✓ **GPX** : Glutathion peroxydase
- ✓ **H**: Hydrogen
- ✓ **h** : heure
- ✓ **H₂O₂** : Peroxydes d'hydrogène
- ✓ **H₂O** : Forme moluculaire de l'eau
- ✓ **H₂SO₄**: Acide sulfurique
- ✓ **H₃PMo₁₂O₄₀** : Acide phosphomolybdique
- ✓ **H₃PW₁₂O₄₀** : Acide phosphotungstique
- ✓ **HCL** : Acide chlorhydrique
- ✓ **IC₅₀** : Concentration inhibitrice à 50%
- ✓ **KOH** : Hydroxyde de potassium
- ✓ **Me** : Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant
- ✓ **mg** : Milligramme
- ✓ **min** : Minute
- ✓ **ml** : Millilitre
- ✓ **Mt OH** : Méthanol
- ✓ **Mv**: Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction
- ✓ **Na₂CO₃**: Carbonate de sodium
- ✓ **NADPH** : Nicotinamide adénine di nucléotide phosphate
- ✓ **Na OH** : Hydroxyde de sodium
- ✓ **NH₄OH**: Ammoniaque
- ✓ **nm** : Nanomètre
- ✓ **O**: Oxygen
- ✓ **pH** : Potentiel d'hydrogène
- ✓ **RL** : Les radicaux libres
- ✓ **S**: Second
- ✓ **t** : Temps
- ✓ **UV** : Ultra-violet
- ✓ **V/V** : Rapport volume par volume

Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
01	Squelette de base des flavonoïdes	6
02	Squelette de base des coumarines	7
03	Structure d'alcaloïdes	7
04	Structure de la molécule d'isoprène	8
05	Fleurs, feuilles et rhizome frais du galanga	10
06	Alpinia galanga	12
07	Structure moléculaire d'un colorant anthraquinonique	18
08	Structure moléculaire d'un colorant nitré	18
09	Production des radicaux libres	22
10	Sources de production des radicaux libres	23
11	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe^{3+} et un antioxydant (AH)	25
12	Equation du radical DPPH transformé en DPPH	25
13	Broyage et tamisage d'Alpinia galanga	28
14	protocole de préparation de l'extrait éthanolique	29
15	protocole de préparation de l'extrait méthanolique	30
16	testes des glycosides	33
17	testes des alcaloïdes	34
18	Matériel de dosage des polyphénols totaux	35
19	Protocole de dosage des polyphénols totaux.	35
20	préparation de la solution DPPH	36
21	préparation de l'extrait	37
22	préparation de la solution colorante	37
23	Protocole d'évaluation de l'activité antioxydante in vitro	38
24	Rendement des extraits bruts	44
25	Droite d'étalonnage de l'acide gallique	45
26	Teneur en polyphénols totaux pour <i>A. Galanga</i> .	45

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre	Page
01	classification systématique d' <i>Alpinia galanga</i>	11
02	les régions d'acclimatation d' <i>Alpinia galanga</i>	12
03	Résultats de screening phytochimique	41
04	Effet extrait et temps sur IC50	46
05	Effet extrait sur IC50	47
06	Effet temps sur IC50	48
07	Effet interaction extrait /temps sur IC50	48

Table de matière

<i>Remerciements</i>
<i>Dédicace</i>
<i>Résumé</i>
<i>Abstract</i>
<i>ملخص</i>
<i>Liste des abréviations</i>
<i>Liste des figures</i>
<i>Liste des tableaux</i>
<i>Introduction</i>

Partie 01 : Synthèse Bibliographique

Chapitre 01: métabolisme des plantes médicinales

1. Définition des métabolites secondaires	5
2. Classification des métabolites secondaires	5
2.1. Les composés phénoliques	6
2.1.1. acides phénolique	6
2.1.2. Les flavonoïdes	
2.1.3. Les tanins	6
2.1.4. Les coumarines	6
2.2. Terpénoïdes	7
2.3. Alcaloïdes	7

Chapitre02 : Présentation d'*Alpinia galanga* L.

1. Introduction	10
2. Description botanique	10
3. Noms scientifiques	11
4. Noms vernaculaires	11
5. Classification systématique	11
6. Culture	11
7. Les caractéristiques botaniques	12
8. Répartition géographique	12
9. Utilisation d' <i>Alpinia galanga</i>	13

Table des matières

Chapitre 03 : présentation des colorants	
1. Définition	15
2. Nature des colorants	15
2.1. Colorants naturels	15
2.2. Colorants synthétiques	16
3. Classification des colorants	16
3.1. Classification chimique	16
3.1.1. Colorants azoïques	16
3.1.2. Colorants nitrés et nitrosés	17
3.2. Classification tinctoriale	17
3.2.1. Les colorants acides ou anioniques	17
3.2.2. Les colorants basiques ou cationiques	17
3.2.3. Les colorants de cuve	18
3.2.4. Les colorants à complexe métallique	18
3.2.5. Les colorants réactifs	18
4. Utilisation des colorants	18
5. Toxicité des colorants	19
Chapitre 04 : activité antioxydant	
1. Définition de stress oxydant	19
2. Les radicaux libres	19
2.2. Définition des radicaux libres	19
2.3. Production des radicaux libres	19
2.2.1. <i>Production endogène</i>	19
2.2.2. <i>Production exogène</i>	22
3. Les antioxydants	22

Table des matières

3.1. Définition des antioxydants	22
3.2. Classification des antioxydants	23
3.2.1. Système antioxydant enzymatique	23
3.2.2. Système antioxydant non enzymatique	23
4. Méthodes d'études de l'activité antioxydante	23
4.1. Pouvoir réducteur : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)	23
4.2. La méthode au DPPH (diphenylpicrylhydrazyl	24

Partie 02 : Etude expérimentale

Chapitre 01: Matériel et méthodes

1. Matériel et Méthodes	28
1.1. Matériel végétal	28
1.2. Méthodes	28
1.2.1. Analyse qualitative	30
1.2.1.1. Caractérisation des métabolites secondaires (Screening phytochimique)	30
1.2.2. Analyse quantitative	33
1.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie (méthode de Folin Ciocalteu)	34
1.2.3. Etude de l'activité antioxydant	35
1.2.4. Analyse statistique	39

Table des matières

chapitre 02: Résultats et discussion	
1. Analyse qualitative	41
1.1. Résultats	43
1.2. Discussion	44
2. Rendement en extraits bruts	44
3. Analyse quantitative	45
3.1. Dosage des polyphénols totaux	45
3.2. Discussion	46
4. Activités antioxydant	46
4.1. Résultats de l'activité antioxydant	46
4.2. Discussion	49
Conclusion et perspectives	53
Références bibliographiques	



introduction générale

Introduction

Au travers des âges, Les plantes médicinales restent une source de médicaments pour des milliers d'années dans l'histoire humaine, et même aujourd'hui, elles constituent une base de la pratique médecine traditionnelle systématique dans plusieurs pays(**Gurib, 2006**).

Ces plantes produisent un assortiment vaste et diversifié de composés organiques, appelées métabolites secondaires (**Rodney et al.,2000**), Parmi ces composés on retrouve, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les coumarines, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes... (**Bahorun et al., 1996**).

Les polyphénols, en particulier, sont doués de multiples vertus thérapeutiques, ils jouent un rôle très important, principalement dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique grâce à leur capacité antioxydant, expliquant ainsi leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments. (**Bruneton, 2009**).

Alpinia galanga est une plante de la famille des Zingibéracées, répondant au nom français de grand galanga. Son rhizome est depuis longtemps utilisé en Asie du Sud-Est dans l'alimentation et la médecine traditionnelle (**Chen et al., 2008**).

De tout temps, l'homme a utilisé les colorants pour ses vêtements, pour sa nourriture et pour la décoration de son habitation. Ainsi, dès l'antiquité, il a su extraire les matières colorantes à partir de végétaux comme l'indigo et d'animaux comme le carmin extrait de la cochenille. Ceci a permis le développement du commerce entre les différentes peuplades de l'époque. L'utilisation de ces colorants naturels s'est prolongée jusqu'à la première moitié du XIXème siècle. Ils furent ensuite progressivement remplacés par des colorants synthétiques, lesquels sont mieux adaptés à de nombreux usages particuliers (en1988, la production française a été de 46500 tonnes). Le procédé de fabrication de ces composés repose sur les amines benzéniques (anilines, naphtylamine) qui aboutissent à des réactions de diazotation et de copulation(**Ghezzar, 2007**).

Le développement de nouveaux antioxydants d'une capacité antioxydant de meilleure qualité et de moindre toxicité s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes d'oxydation. Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à caractère antioxydant, si l'on considère que ces plantes peuvent contenir des centaines, voire des milliers de métabolites

Introduction générale

secondaires. Ces derniers représentés actuellement par 100.000 substances identifiées, pourraient être utilisés dans la prévention de certaines maladies ou pour une meilleure conservation des aliments (**Cowan, 1999**).

L'objectif de notre travail est l'étude phytochimique des extraits des rhizomes d'*Alpinia galanga* et l'évaluation d'activité antioxydant de cette plante. Puis l'étude comparative entre l'activité antioxydant d'un colorant synthétique ((E)-3-((5-tert-butyl)-2-hydroxy) phenylazo)-4-quinolinol et d'*Alpinia galanga*).

Ce travail s'articule en deux parties :

- **Partie 01 : concerne la synthèse bibliographique, renferme quatre chapitres**
 - Le premier chapitre consiste à un profil sur les métabolites secondaires.
 - Le deuxième chapitre donne des généralités sur la plante «*Alpinia galanga*».
 - Le troisième chapitre résume des généralités sur les colorants.
 - Le quatrième chapitre concerne l'activité antioxydant.
- **partie 02 : concerne l'étude expérimentale, contient deux chapitres :**
 - le premier: présente l'ensemble de matériel utilisé dans cette étude ainsi que les différentes méthodes suivies lors de l'expérimentation (tests phytochimique, extraction et dosage des phénols totaux et enfin l'évaluation de l'activité antioxydant).
 - le deuxième chapitre résume les différents résultats obtenus ainsi que leur discussion.
 - Enfin on terminera ce travail par une conclusion générale et perspective.

Partie 1

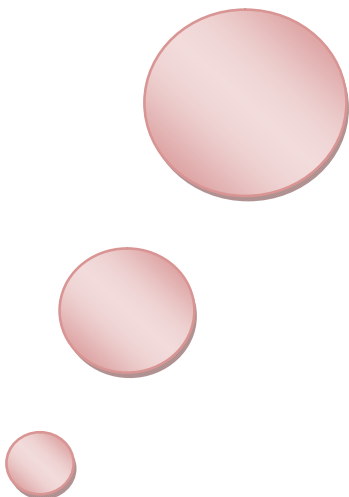
Synthèse

Bibliographique



Chapitre 01

Métabolisme des plantes médicinales



Les plantes médicinales définies par la pharmacopée par une plante dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Egalement appelée « drogue végétale» (**Gazengel et Orecchioni, 2013**), Ces plantes produisent un assortiment vaste et diversifié de composés organiques, appelées métabolites secondaires (**Rodney et al., 2000**).

1. Définition des métabolites secondaires

Le terme «métabolite secondaire», est utilisé pour décrire les composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables de la fonction périphérique indirectement essentielle à la vie des plantes, telles que la communication intercellulaire et la défense (**Guillaume, 2008**).

Les polyphénols constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**). Sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits (**Yusuf, 2006**).

Les polyphénols sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines ou la maturation des fruits (**Boizot et al., 2006**).

Ils offrent également, pour la santé humaine, une protection contre certaines maladies impliquant un stress oxydatif, comme les cancers et les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (**Sun et al., 2011**).

2. Classification des métabolites secondaires

Selon leur origine biosynthétique, les métabolites secondaires des plantes peuvent être divisés en trois grands groupes qui sont :

- ✓ Les terpénoïdes ;
- ✓ Les alcaloïdes ;
- ✓ Les composés phénoliques (**Mahmoud et Croteau, 2002**).

2.1. Les composés phénoliques

2.1.1. Acide phénolique

Les acides phénoliques sont présents en abondance dans les aliments et divisés en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. Les acides hydroxycinnamiques sont plus fréquents que les acides hydroxybenzoïques et comprennent essentiellement l'acide p-coumarique, caféique, férulique et sinapique (**Pandey et Rizvi, 2009**).

2.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels du règne végétal (**Ghedira, 2005**). Les flavonoïdes sont des dérivés benzo- γ -pyran. Leur structure de base est celle d'un diphenylpropane à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆), constitué de deux noyaux aromatiques (ou anneaux) que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C, (**Figure 01**) (**Zoughlache, 2008**).

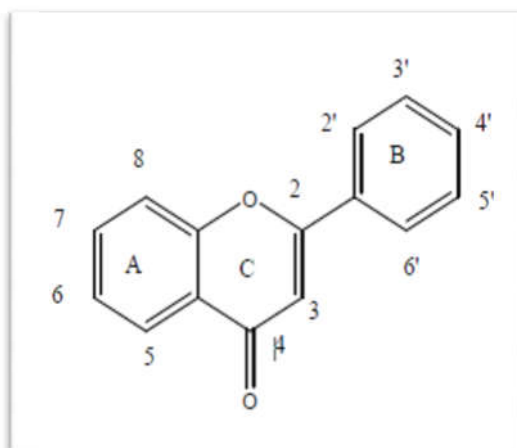


Figure01 : Squelette de base des flavonoïdes (**Zoughlache, 2008**).

2.1.3. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (**Kamra et al., 2006**).

Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides (**Cavin, 1999**).

2.1.4. Coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorata* Wild., Fabaceae) dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine, d'où fut isolée en 1982 (**Bruneton, 1993**).

Les coumarines sont connues par leurs activités cytotoxiques, antivirales, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du coeur), hypotensives ; elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées (**Gonzalez A & Estevez-Braun A, 1997**).

Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (**figure 02**)(**Ford et al., 2001**).

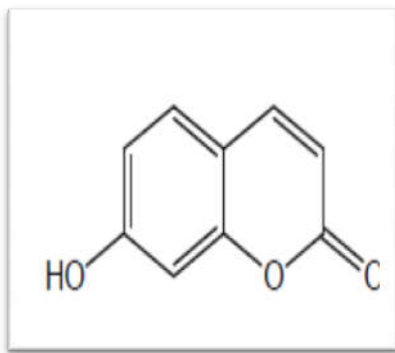


Figure 02: Squelette de base des coumarines (**Djemoui, 2012**).

2.2. Alcaloïdes

Le terme «alcaloïde » a été introduit par W. Meisner au début du XIXème. La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910. Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe (**figure 03**)(**Badiaga, 2011**).

Les alcaloïdes employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques (comme la morphine, la codéine), dans le cadre de protocoles de sédation (anesthésie, atropine) souvent accompagnés des hypnotiques, ou comme agents antipaludéens (quinine, chloroquinine) ou agents anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine) (**Muanda, 2010**).

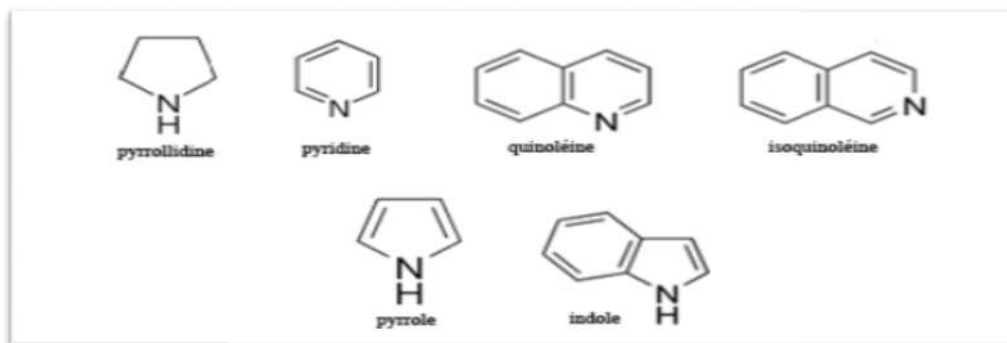


Figure 03 : Structure d'alcaloïdes (Maldonado, 2012)

2.3. Térpénoïdes

Ils sont des hydrocarbonés naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte (Malecky, 2005). Sa classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène à 5 carbones (C_5H_8) (figure04) (Malecky, 2005 ; Mebarki, 2010). Dans la composition de la plupart des huiles essentielles les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes forment la majeure partie (Calsamiglia S et al., 2007; Benchaar C et al., 2008).

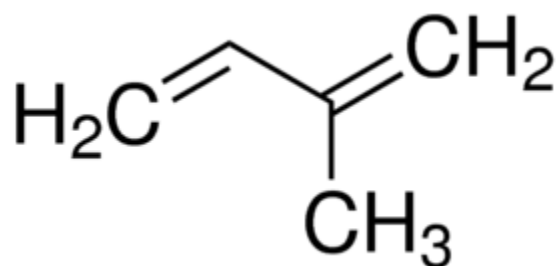
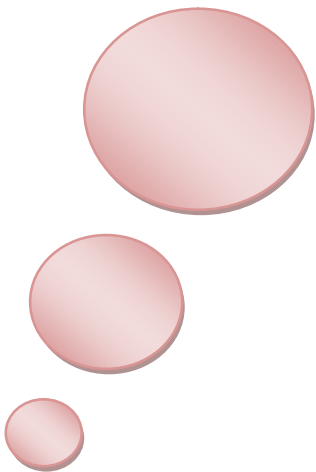


Figure 04 : Structure de la molécule d'isoprène (Calsamiglia S et al., 2007)

Chapitre 02

Présentation d'alpinia galanga



1. Introduction

Alpinia galanga (Linn.) Willd est originaire de Java et Sumatra se trouve principalement dans l'Himalaya oriental et Région du sud-ouest et connue sous le nom de «Khulanjan» en Arabe et également connu sous le nom de Greater galanga en anglais et Kulanjan en hindi (**Basu kirtikar, 2001**).

Une plante tropicale, membre de la famille du gingembre, elle est au sud de la Chine, en Asie du Sud-Est et en Afrique de l'Ouest.

Galanga est une plante vivace atteignant sept pieds de haut, les feuilles sont lancéolées tandis que les fleurs sont de petites blanc et le fruit est rouge orangé. Galanga a le caractéristique parfum ainsi que piquant. Le rhizome est chaud, doux, porte-greffe aromatique épicé comme le gingembre avec légèrement aigre et notes poivrées. Il est couramment utilisé dans les sautés, les currys et soupes dans la cuisine des Caraïbes orientales et de l'Asie du Sud-Est. (**Janssen et Scheffer, 1985**)

2. Description botanique d'*Alpinia galanga*

Alpinia galanga appartient à la famille «Zingiberaceae». L'herbe pousse à une hauteur d'environ 5 pieds (**Chudiwalet al., 2010**).

Ses racines sont tubéreuse et légèrement aromatique, les feuilles sont oblong lancéolées, aigu, glabre, vert dessus, plus pâle en dessous, avec des marges blanches légèrement calleuses, des gaines sont longues et glabres, la ligule est courte et arrondi. (**Figure05**) Fleurs blanc verdâtre, en dense panicules fleuries, 30 cm; bractées ovates lancéolées. Calice tubulaire, irrégulièrement 3-denté. Corolle lobes oblongs, griffe verte, limbe blanc, strié de rouge, plutôt plus de 1 cm de long, largement elliptique, court-lobé à l'apex, avec une paire de subulate glandes à la base de l'apex, avec une paire des glandes subulées à la base de la griffe. Fruit la taille de la petite cerise, orange rouge (**Ramesh et al., 2011**).



Figure 05: Fleurs, feuilles et rhizomes frais du galanga (**Ramesh et al., 2011**).

3. Noms scientifiques

- ✓ *Alpinia galanga* (Linnaeus) Willdenow var. *galanga*
- ✓ *Alpinia galanga* (Linnaeus) Willdenow var. *pyramidata* (Blume) (Zhengi et RA Ven, 1995)

4. noms vernaculaires

- Khulanjan (خولنجان) en Arabe (Anonymous, 1985).
- Greater galanga en anglais (Basu kirtikar, 2001).
- Khulanjan en Hind (Basu kirtikar, 2001).

5. Classification systématique

Alpinia galanga est une plante tropicale, communément appelé grand galanga, est une herbe rhizomateuse, membre à la famille «Zingiberaceae»

Selon la classification APG III (Angiosperms Phylogeny Group) ; la systématique d'*Alpinia galanga* est représentée dans le tableau 01.

Tableau 01 : classification systématique d'*Alpinia galanga* (JUDD et al., 2002).

Embranchement	Spermaphytes
Sous- embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Ordre	Zingibérales
Famille	Zingibéracées
Genre	<i>Alpinia</i>
Espèce	<i>Galanga</i>

6. Culture

Alpinia galanga est cultivé sur les sols riches et humides, par division du rhizome, on déterre son rhizome lorsque la plante a atteint 10 mois, on le lave et on le fait tremper, il est parfois bouilli et épluché (Iserin et al., 2001) Il est souvent cultivé à Konkan et au Nord Kanara (Ramesh et al., 2011) .

7. Les caractéristiques botaniques (Chen et al., 2008).

- rhizome tubéreux
- feuilles ligulées, pétiolées, à limbe oblong et acuminé de 25-35 cm de long et 6-10 cm de large (figure 06)

- bractées et bractéales persistantes; bractéales ouvertes à la base
- panicules de 20-30 cm: nombreux pédoncules de 2-4 cm recouverts de 3-6 fleurs
- calice tubuleux et persistant
- fleurs odorantes à corolle blanc-verdâtre, tubulaire puis trilobée
- labelle de 2 cm, blanc veiné de rouge, fendu au sommet – staminodes
- capsule brun-rouge d'environ 1-1,5 cm de long et 7 mm de large renfermant 3 à 6 grammes.
- La plante peut atteindre 2 mètres de hauteur. La floraison a lieu de mai à août et le fruit apparaît de septembre à novembre.

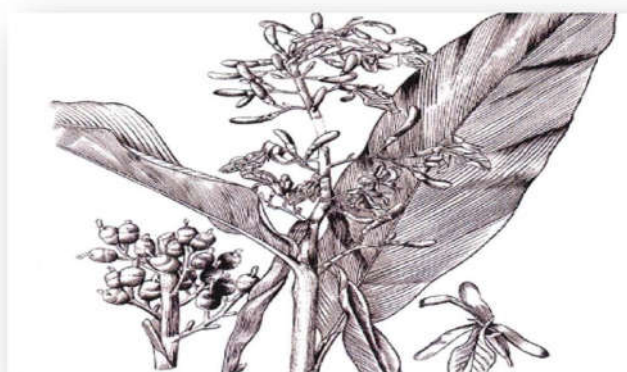


Figure 06: *Alpinia galanga* (Chen et al., 2008).

8. Répartition géographique

A galanga est originaire d'Indonésie (Java et Sumatra) mais s'est acclimaté dans des nombreuses régions selon le tableau 02.

Tableau 02 : les régions d'acclimatation d'*Alpinia galanga*

Asie du Sud-Est	Malaisie, Birmanie, Thaïlande et Vietnam
Chine	provinces du sud du pays : Guangdong, Guangxi, Yunnan, Hainan, Taiwan et Fujian
Inde	Etats de la république d'Inde, proche de l'Himalaya: Assam, Bengale occidental et Bihâr

Le genre *Alpinia* est présent aussi en Asie tropicale et sub-tropicale, en Australie et dans les Iles du Pacifique (Zhengi et al., 1995).

A. Galanga est largement cultivé dans le sud-est asiatique (Thaïlande, Indonésie, Philippines, Malaisie) mais également en Inde et en Chine (**Matsuda et al., 2003**) pousse dans les forêts, les prairies et les broussailles, de 100 à 1300 m d'altitude (**Zheng et al., 1995**).

9. Utilisation d'*Alpinia galanga*

Dans la plupart des pays d'Asie du Sud-Est pays galanga séché est utilisé uniquement dans l'absence de galanga frais alors qu'en Indonésie tranches ou poudre de fruits frais ou le rhizome séché est fréquemment utilisé. Le rhizome est utilisé contre les rhumatismes, catarrhe bronchique, mauvaise haleine et ulcères coqueluche chez les enfants, gorge infections, pour contrôler l'incontinence, la fièvre et dyspepsie.

La racine a été utilisée en Europe comme épice depuis plus de mille ans, ayant probablement été introduit par Arabian ou Médecins grecs, mais il a maintenant largement hors d'usage sauf en Russie et en Inde. Les rhizomes ont été utilisés comme arômes dans plats et ingrédients indigènes dans de nombreuses médecines traditionnelles pour traiter divers maux, tels que troubles de l'estomac et de la peau maladies.

En Inde, les rhizomes ont de nombreuses applications dans les médecines traditionnelles telles que pour les maladies de la peau, l'indigestion, les coliques, dysenterie, hypertrophie de la rate, respiratoire maladies, cancer de la bouche et de l'estomac. Les rhizomes présentent des propriétés antibactériennes, antifongiques, activités anti-protozoaires et expectorantes. Il est utilisé comme désodorisant corporel et halitoseremède. (**Chudiwal et al., 2010**).

En Algérie, il est utilisé comme épice et il entre aussi dans la composition du «h'ror» ou curry Algérien. Dans le Sud Algérien le galanga est très utilisé, il est inclus dans certains aliments, par exemple mélangé au «gharss» ou dattes en pâte, ou préparé sous forme de thé, associé à d'autres substances de nature voisine: cannelle, clous de girofle, gingembre, considéré comme antiasthénique (**Baba-Aïssa ,2000**)



Chapitre 03
présentation
des colorants

1. Définition

Un colorant par définition est une substance chimique fortement colorée qui interagit avec le milieu dans lequel elle est introduite, et le colore en s'y dissolvant et en s'y dispersant. Un colorant possède généralement une très grande aptitude à se fixer par teinture ou impression sur la plupart des textiles, C'est le plus souvent un composé organique (insaturé et aromatique) (Elbouhali ,2006).

Les premières matières colorantes étaient d'origines végétales (garance, indigo, gaude..) ou même animales (carmin tiré de la cochenille). A l'heure actuelle, presque la totalité des matières colorantes employées sont des dérivées des hydrocarbures contenus dans le goudron de houille (Khelifa, 2007).

1. Nature du colorant

Il existe deux types de colorants : les colorants naturels et les colorants synthétiques

1.1.Colorants Naturels

Il existe seulement une dizaine de colorants naturels, alors que l'on compte des milliers de colorants synthétiques. Les colorants naturels sont extraits des plantes, des arbres, des lichens ou des insectes et des mollusques. Les colorants jaunes sont les plus nombreux. On rencontre deux catégories de colorants naturels : les colorants à mordant et les colorants de cuve. Seuls les premiers sont peu solubles dans l'eau. L'indigo et la pourpre sont des colorants de cuve (Freundlich ,1906).

❖ D'origine végétale

L'alizarine et la purpurine sont des substances colorantes rouges extraites des racines de *Rubia tinctorum* plus connue sous le nom de garance qui est une plante herbacée des régions chaudes et tempérées. D'autres colorants rouges sont tirés de plantes comme la betterave, certains arbres ou lichens.

❖ D'origine animale

La pourpre de Tyr, qui ornait les vêtements des hauts dignitaires du monde oriental et romain, provient d'un mollusque de la Méditerranée, le murex.une cochenille du Mexique, *Coccus cacti* (car on la trouve sur les cactus), fournit un rouge écarlate, le carmin, utilisé pour la teinture de la laine et de la soie et maintenant utilisé dans l'industrie agroalimentaire (E120) et dans la fabrication des cosmétiques, enfin, *Kermès ilicis* (appelée kermès ou «cochenille des teinturiers») a servi à teindre des textiles en écarlate

1.2. Colorants Synthétiques

Les colorants synthétiques ont progressivement supplantés les colorants naturels. La Mauvéine, le premier colorant de synthèse a été découvert, par hasard, par le chimiste Britannique W.H.Perkin en 1856 (**Capon et al., 1996**).

Les matières premières des colorants synthétiques sont des composés tels que le benzène, issu de la distillation de la houille. C'est pour cette raison que les colorants de synthèse sont communément appelés colorants de goudron de houille. À partir de ces matières premières, les intermédiaires sont fabriqués par une série de procédés chimiques qui, en général, correspondent au remplacement d'un ou de plusieurs atomes d'hydrogène du produit de départ par des éléments ou des radicaux particuliers (**Freundlich ,1906**).

2. Classification des colorants

Les colorants peuvent être classés selon

- ✓ la structure chimique du colorant c'est La classification chimique, plus précisément de la nature de son groupe chromophore.
- ✓ Le mode d'utilisation et d'application de la couleur qui dépend à son tour du groupe auxochrome c'est La classification tinctoriale.

2.1. Classification chimique des colorants

2.1.1. Colorants azoïques

Les colorants azoïques sont caractérisés par la présence au sein de la molécule d'un groupement azoïque (-N=N-) reliant deux noyaux aromatiques. Cette catégorie de colorants est actuellement la plus répandue sur le plan de l'application, puisqu'elle représente plus de 50% de la production mondiale de matières colorantes. (**Depa, 2000 ; Bauer et al., 2001**).

Les colorants azotés sont résistants à la lumière, aux acides, aux bases et à l'oxygène qui font que leur utilisation dans l'industrie textile soit très répandue. (**Talidi, 2006**)

Ces composés organiques cancérigènes sont réfractaires aux procédés de traitements habituellement mis en œuvre et sont très résistants à la biodégradation (**Pagga et al., 1986**).

2.1.2. Colorants triphénylméthanés

Les colorants triphénylméthanés dérivent du triphénylméthane, qui est un hydrocarbure possédant trois cycles phényles liés à un carbone central. On retrouve cette structure de

base dans un grand nombre de composés organiques colorés. Les colorants triphénylméthanes et leurs dérivés hétérocycliques constituent la plus ancienne classe de colorants synthétiques. Actuellement bien moins importants que les colorants azoïques et anthraquinoniques, ils ont conservé une certaine valeur commerciale, car ils permettent de couvrir la totalité de la gamme de nuances. Les triphénylméthanes sont utilisés intensivement dans les industries papetières et textiles pour teindre le nylon, la laine, la soie et le coton. Leur utilisation ne se limite pas à l'industrie. On les retrouve également dans le domaine médical comme marqueurs biologiques et comme agents antifongiques chez les poissons et la volaille (**Pagga et al.,1986**).

2.1.3. Colorants indigoïdes

Les colorants indigoïdes tirent leur appellation de l'indigo dont ils dérivent. Ainsi, les homologues séléniés, soufrés et oxygénés du bleu indigo provoquent d'importants effets hypochromes avec des coloris pouvant aller de l'orange au turquoise. Les colorants indigoïdes sont utilisés comme colorant en textile, comme additifs en produits pharmaceutiques, la confiserie, ainsi que dans des diagnostics médicales(**Moncada et al., 1979 ; Nestmann et al.,1979**).

2.1.4. Colorants xanthènes

Ce sont des composés qui constituent les dérivés de la fluorescéine halogénée. Ils sont dotés d'une intense fluorescence. Peu utilisés en tant que teinture, leur faculté de marqueurs lors d'accidents maritimes ou de traceurs d'écoulement pour des rivières souterraines est malgré tout bien établie. Ils sont aussi utilisés comme colorants alimentaires, cosmétiques, textiles et impression (**Kornbrust et al, 1985 ; Nestmann et al.,1979**)

2.1.5. Colorants anthraquinoniques

Du point de vue commercial, ils sont plus importants après les colorants azoïques. Leur formule générale dérivée de l'anthracène montre que le chromophore est un noyau quinonique sur lequel peuvent s'attacher des groupes hydroxyles ou amino (**figure 07**) (**Klemm et al., 2002**).

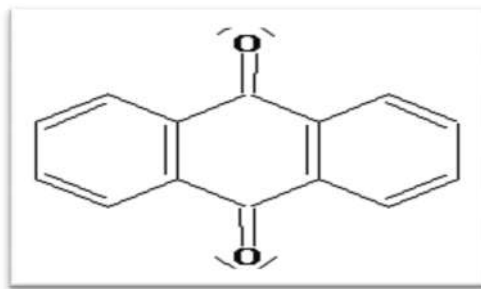


Figure07: Structure moléculaire d'un colorant anthraquinonique(Klemm et al.,2002).

2.1.6. Phtalocyanines

Les phtalocyanines ont une structure complexe possédant un atome métallique central.

Les colorants de ce groupe sont obtenus par réaction du dicyanobenzène en présence d'un halogénure métallique (Cu, Ni, Co, Pt, etc.).(Klemm et al.,2002).

2.1.7. Colorants nitrés et nitrosés

Ces colorants forment une classe très limitée en nombre et relativement ancienne. Ils sont actuellement encore utilisés, du fait de leur prix très modéré lié à la simplicité de leur structure moléculaire caractérisée par la présence d'un groupe nitro (-NO₂) en position ortho d'un groupement électrodonneur (hydroxyle ou groupes aminés) (figure08)(Hammami, 2008).

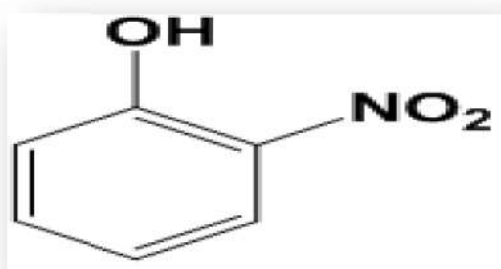


Figure 08 : Structure moléculaire d'un colorant nitré(Hammami, 2008).

2.2.Classification tinctoriale

2.2.1. Colorants acide ou anioniques

Solubles dans l'eau grâce à leurs groupes sulfonâtes ou carboxylates, ils sont ainsi dénommés parce qu'ils permettent de teindre les fibres animales (laine et soie) et quelques fibres acryliques modifiées (nylon, polyamide) en bain légèrement acide. L'affinité

colorant-fibre est le résultat de liaisons ioniques entre la partie acide sulfonique du colorant et les groupes aminé des fibres textile (**Termoul, 2006 ; Reungoat, 2007**).

Ils appartiennent aux deux plus grandes classes de colorants: azoïques et anthraquinoniques (**Inrs, 2004**).

2.2.2. Colorants basiques ou cationiques

Les colorants basiques ou cationiques sont des sels d'amines organiques, ce qui leur confère une bonne solubilité dans l'eau. Les liaisons se font entre les sites cationiques des colorants et les sites anioniques des fibres. En passe de disparaître dans la teinture de la laine et de la soie, ces colorants ont bénéficié d'un regain d'intérêt avec l'apparition des fibres acryliques, sur lesquelles ils permettent des nuances très vives et résistantes (**Inrs, 2004**).

2.2.3. Colorants de cuve

Sont insolubles et doivent être transformés en leucodérivés par réduction alcaline. La teinture se termine par la réoxydation in situ du colorant sous sa forme insoluble initiale. Réputés pour leur bonne résistance aux agents de dégradation, les colorants de cuve sont encore utilisés, à l'image de l'indigo pour la teinture des articles jean ou denim. (**Reungoat, 2007**).

2.2.4. Colorants à complexe métallique

Les colorants à complexe métallique appartenant à la classe des azoïques et des anthraquinoniques. Ils sont des composés organiques qui présentent des groupes suffisamment voisins pour former des complexes par chélation avec des sels de chrome, de cobalt, de calcium, d'étain ou d'aluminium (**Reungoat, 2007**).

2.2.5. Colorants réactifs

Ces composés contiennent des groupes chromophores issus essentiellement des familles azoïques, anthraquinoniques et phtalocyanine. Leur appellation est liée à la présence d'une fonction chimique réactive, de type triazinique ou vinylsulfonique assurant la formation d'une liaison covalente forte avec les fibres. Solubles dans l'eau, ils entrent de plus en plus fréquemment dans la teinture du coton et éventuellement dans celle de la laine et des polyamides (**Inrs, 2001**).

3. Utilisation des colorants

Il suffit d'examiner l'ensemble des produits manufacturés soumis à une opération de coloration pour se convaincre de l'importance des matières colorantes. Les grands domaines d'application des colorants sont les suivants :

Textiles : 60%

Papiers : 10%

Matières plastiques et élastomères : 10%

Cuirs et fourrures : 3%

Les autres applications concernent les produits alimentaires, le bois et la photographie(**Belkebir, 2015**).

4. Toxicité des colorants

Des travaux expérimentaux réalisés sur des animaux ont révélé, que certains colorants sont toxiques, raison pour laquelle les pouvoirs publics interdisent l'utilisation de certains colorants alimentaires et industriels, la toxicité des colorants est due à la présence de groupements Phtalogènes, de cyanures, des sels de baryum et de plomb, dans leurs molécules (**Duclos, 1989**).

Les groupements cancérogènes, sous forme électrophiles ou radicalaires, attaquent les bases puriques et pyrimidiques de l'ADN, et causent par conséquent une altération du code génétique avec mutation et risques de cancer (**Benabdessalem ,1989**)

Des études faites sur divers colorants commerciaux ont démontré que les colorants basiques sont les plus toxiques pour les algues(**Little et al.,1974 ; Greene, et al., 1996**).

Ce résultat a été prouvé par le test de mortalité des poissons effectués sur 3000 colorants commerciaux où il s'est avéré que les colorants basiques, et plus particulièrement ceux de la famille de triphénylméthane sont les plus toxiques. Par ailleurs, les poissons semblent être relativement sensibles aux colorants acides (**Fridous et al.,2016**).

D'autre part, la mortalité examinée avec des rats a montré que seulement 1% sur 4461 colorants commerciaux présentent des valeurs de DL50 au-dessous du poids corporel de 250 mg kg-1. Par conséquent, la chance de la mortalité humaine due à la toxicité aiguë de colorant est probablement très basse. Cependant, il faut sensibiliser l'être humain quant à l'utilisation de certains colorants. En effet, il a été prouvé que quelques colorants dispersés peuvent causer des réactions allergiques, dermatologiques, etc(**Specht et al., 1995**).



chapitre 04

Activité antioxydante

1. Définition du stress oxydant

Des molécules pro oxydantes appelées radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produites quotidiennement dans l'organisme. Ces dernières sont cependant contrôlées par les antioxydants (**Christophe, 2011**).

Les EOR deviennent néfastes et toxiques pour l'organisme à des doses excessives. Cette surproduction des EOR au-delà des capacités antioxydants des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies allant de l'artériosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, les ischémies et le processus du vieillissement (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

Le stress oxydant est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydants d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (**Barouki, 2006**).

2. Les radicaux libres

2.1. Définition des radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules contenant un ou plusieurs électrons non appariés (**Çavdar et al., 1997**). Ils apparaissent soit au cours de la rupture d'une liaison covalente pendant laquelle chaque atome conserve son électron (**figure 09**), soit au cours d'une réaction redox avec perte ou gain d'électron à partir d'un composé non radical (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

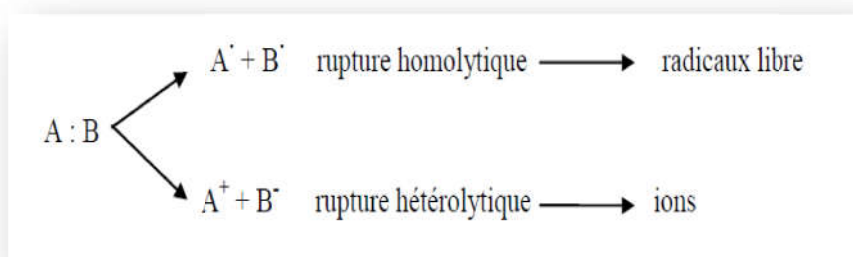


Figure 09: Production des radicaux libres **Koechlin-Ramonatxo, 2006**.

3.2. Production des radicaux libres

On distingue deux types de production des radicaux libres :

3.2.1. Production endogène

La production des espèces oxydantes est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin d'O₂ pour produire de l'énergie au cours des

réactions dites de respiration oxydative. Cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau au niveau de la mitochondrie, elle peut alors être à l'origine de la production de radicaux libres oxygénés (RLO) (Chu et al., 2010).

3.2.2. Production exogène

Les autres sources de production de radicaux libres sont classées en deux catégories ; les sources endogènes ou les RL sont des produits des réactions de l'organisme, et les sources exogènes tel que le tabagisme, les radiations UV, les médicaments, les réactif chimiques, les solvants industriels et la pollution (figure 10) (Pastre, 2005).



Figure 10: Sources de production des radicaux libres (Hocine et Gorine, 2017)

4. Les antioxydants

4.1. Définition des antioxydants

Les antioxydants sont des composés qui protègent les cellules du corps contre les dommages causés par les radicaux libres (Mokrani et al., 2009).

Un antioxydant est toute substance capable de retarder ou d'inhiber l'oxydation des substrats biologiques (Al-Mamary et al., 2002 ; Boyd et al., 2003 ; Karou et al., 2005).

4.2. Classification des antioxydants

Selon le mode d'action de systèmes de défense antioxydants, on distingue deux classes d'antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Scheibmeir, 2005).

4.2.1. Système antioxydant enzymatique

Il s'agit principalement de trois enzymes: le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). Ces enzymes ont une action complémentaire sur

la cascade radicalaire au niveau de O₂ et du H₂O₂, conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (**Lehucher et al.,2001**).

4.2.2. Système antioxydant non enzymatique

Ce groupe d'antioxydants est constitué de plusieurs composés capables de réagir directement ou indirectement avec les ERO. Le mécanisme indirect implique la chélation des métaux de transition ce qui empêche la production du radical hydroxyle, hautement toxique, les meilleurs antioxydants exogènes sont la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes et les polyphénols (**N'Guessan et al., 2009**).

5. Méthodes d'études de l'activité antioxydante

Des nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des échantillons biologiques et des aliments. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes : Une approche est basée sur un transfert d'électrons et implique la réduction d'un oxydant coloré. L'autre approche implique un transfert d'atome d'hydrogène, dans lequel les antioxydants et le substrat sont en compétition pour les radicaux peroxydes générés thermiquement (**Floegel et al., 2011**).

5.1. Pouvoir réducteur FRAP(Ferric Reducing Antioxidant Power) :

❖ Principe

La méthode de FRAP développée par (**Benzie et Strain ,1996**),Pour mesurer la capacité de réduire le plasma. Le dosage de FRAP est différent des autres car il n'y a pas de radicaux libres impliqués mais la réduction du fer ferrique (Fe^{3 +}) présente dans le complexe ferrocyanure de potassium en fer ferreux (Fe^{2 +}) est surveillé ; la réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique en couleur bleu vert du fer ferreux, l'intensité de cette coloration est mesuré par spectrophotométrie à 700 nm (**Floegel et al., 2011 ; Atto, 2011**)(figure 11).

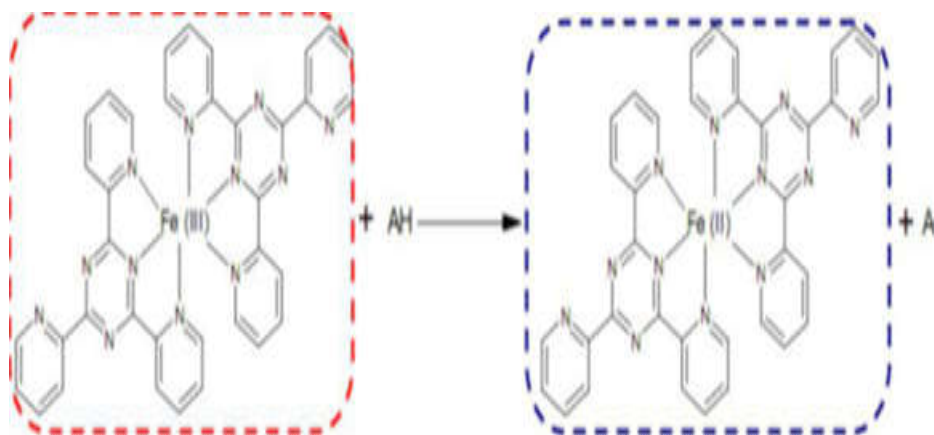


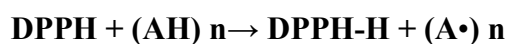
Figure 11 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe^{3+} et un antioxydant (AH) (Benzie et Strain, 1996).

5.2. La méthode au DPPH (diphénylpicrylhydrazyl)

Le DPPH a un électron impair qui forme la couleur violette, conduisant à une longueur d'onde d'absorbance à 517 nm (Bui Thanh *et al.*, 2016).

Lorsque le DPPH réagit avec un antioxydant, perd sa couleur violette et devient de couleur jaune (Lakshmi *et al.*, 2014).

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



Où (AH)_n représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en Diphényle picrylhydrazine (jaune) (Figure 12). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm.

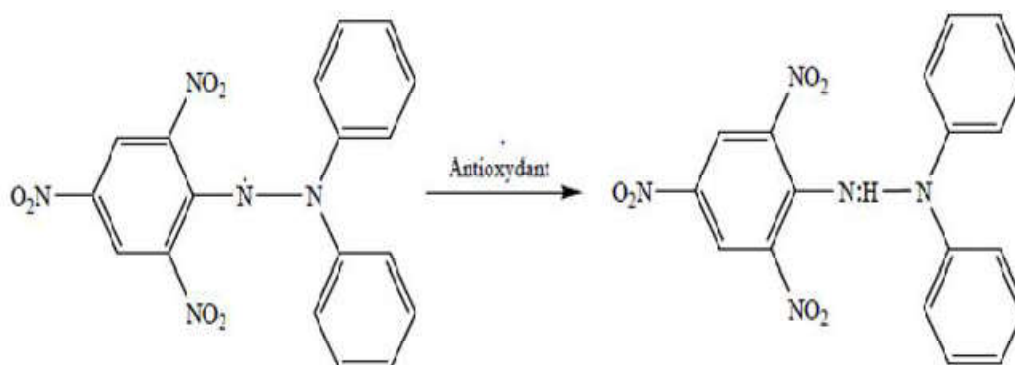


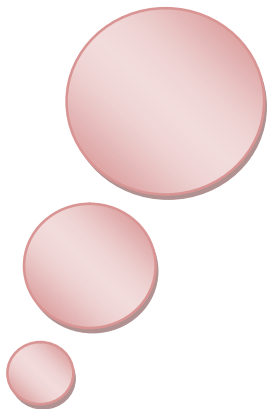
Figure 12 : Equation du radical DPPH transformé en DPPH (Talbi *et al.*, 2015).

*Etude
expérimentale*



Chapitre 01

Matériel et méthodes



1. Matériel et Méthodes

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude porte sur les rhizomes d'*Alpinia galanga*, achetées d'un herboriste de Ferdjioua wilaya de Mila.

Le matériel de laboratoire utilisé dans notre étude est illustré dans l'Annexe I.

1.2. Méthodes

✚ Préparation de la poudre végétale

Les rhizomes séchés sont broyés à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine, puis tamiser par un tamis pour l'utilisation (**figure 13**).



Figure 13 : Broyage et tamisage d'*Alpinia galanga* (Photo personnelle, 2020).

✚ Préparation des extraits végétaux

L'extraction a été réalisée au niveau des laboratoires pédagogique de l'université Abdalhafide BOUSSOUF-Mila-. Les molécules chimiques ont été extraites à partir des rhizomes secs d'*Alpin galanga*.

La macération commence avec le choix d'un solvant d'extraction adéquat. Après une étape de diffusion du solvant à l'intérieur des cellules végétales, le processus continue avec la solubilisation de composés bioactifs qui vont migrer de la matière végétale vers le solvant environnant jusqu'à ce que l'équilibre de partage de concentration soit atteint (**Llaneza et al., 2009**).

✚ Préparation de l'extrait éthanolique

50gde la poudre a été macérée dans 250ml d'éthanol (80%) pendant 2 jours, sous agitation mécanique à une température ambiante. Après 2 jours ; le macérât est filtré à l'aide d'un papier filtre de type Whatman, est ensuite conservé dans un flacon en verre fermé hermétiquement et stocké à l'exclue de la lumière jusqu'à utilisation(**figure 14**)

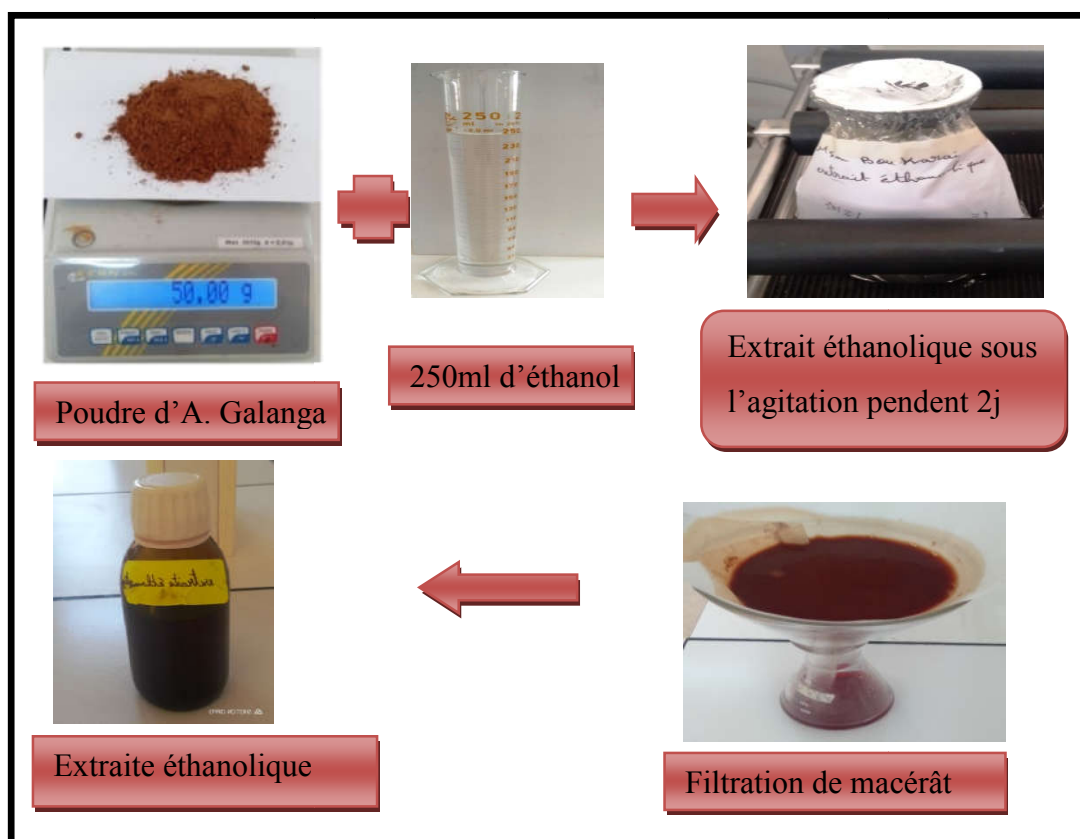


Figure 14 : protocole de préparation de l'extraite éthanologique.

✚ Préparation de l'extrait chloroformique :

Macéré 1 g de matériel végétale avec 10 ml de chloroforme. Chauffer au bain-marie pendant 3 min puis fais une filtration à chaud, ensuite ajusté le volume à 10 ml par l'eau distillée.

✚ Préparation de l'extrait méthanolique

10 de la poudre sont ajoutés à 100 ml d'une solution de méthanol aqueux 70% (70ml méthanol +30ml eau) puis incubées sous agitation mécanique pendant 2 jours, à une température ambiante, le mélange a été ensuite filtré à l'aide d'un papier filtre de type Whatman. Le filtrat est conservé dans un flacon opaque jusqu'à utilisation.

✚ Préparation de l'extrait aqueux

Une quantité de 10g de la poudre d'*Alpinia galanga* est ajouté à 100ml d'eau distillé, par agitation mécanique pendant une nuit à une température ambiante. Le macérât obtenu est filtré à l'aide d'un papier filtre de type Whatman.

1.2.1. Analyse qualitative :

L'analyse qualitative de notre plante est réalisée au sein du laboratoire du Centre Universitaire Abd elhafid Boussouf Mila.

1.2.1.1. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est utilisé pour connaître la composition chimique (phénolique) des extraits comme les flavonoïdes, les coumarines, les anthocyanes, les tannins, les tannins hydrolysables, les terpénoïdes, les alcaloïdes, les saponosides, les quinones libres, et les anthraquinones par des réactions de précipitation ou de coloration et des réactifs spécifiques.

On utilise généralement des extraits qui sont déjà préparés par macération pour réalisés les tests phytochimiques, 4typesd'extraits sont utilisé :

- Extrait éthanolique (macération dans l'éthanol).
- Extrait méthanolique (macération dans méthanol).
- Extrait chloroformique(macération dans chloroforme).
- Extrait aqueux (macération dans l'eau distillée).

🚧 Tests phytochimiques à partir de l'extrait chloroformique

❖ Recherche des Anthraquinones libres

Mettre dans un tube à essai 1 ml d'extrait chloroformique et 1 ml de NH_4OH dilué, la coloration plus ou moins rouge après agitation de la solution indique la présence d'anthraquinones libres (**Diallo, 2000**).

❖ Recherche des quinones

Macéré 2g de la poudre dans 2 ml de HCl + 20 ml de chloroforme pendant 3 Heures, Le filtrat est agité avec 5 ml d'ammoniaque, une coloration rouge indique la présence des quinones (**Afaq et Malik, 2005**).

🚧 Tests phytochimiques à partir de l'extrait aqueux

❖ Recherche des sponosides

2g de la poudre végétal a été macéré dans 80 ml d'eau distillé pendant quelques minutes, suivi d'une filtration et agitation, l'apparition d'une mousse persistante dans le milieu prouve la présence des saponosides (**Kalla, 2012**).

❖ Recherche des anthocyanes

On ajoute 5 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) à 5 ml d'extrait aqueux puis 5 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH), une coloration rouge en milieu acide et bleue violacée en milieu basique témoigne de la présence d'anthocyanes (**Mibindzou Mouellet, 2004**).

❖ Recherche des flavonoïdes

1g de la poudre a été mise à la macération dans 10ml d'eau, on prendre 2ml de filtrat puis quelque goûts de HCl (2%) et de $FeCl_3$ (1%) sont ajouté, l'apparition d'une coloration verdâtre prouve la présence des flavonoïdes (**Trease et Evans, 1987**).

✚ Tests phytochimiques à partir de l'extrait éthanolique :

❖ Recherche des stérols

On ajoute au 5ml de l'extrait à analyser ; 5ml d'anhydride acétique puis 5ml de chloroforme dans un bécher, puis ajouté goutte a goutte au fond de bécher 1ml de l'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré bécher sans agiter. Laisser reposer 20 min, la formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence de stérols (**Trease et Evans, 1987**).

❖ Recherche des coumarines

20g de la poudre prolongé dans 40ml d'éthanol pendant 2 à 3 heures. Après filtration, on ajoute au 5ml de filtrat ,5ml de KOH (10%), et 5ml d'HCl (10%), la précipitation rouge brune révèle la présence des coumarines (**Trease et Evans, 1987**).

❖ Recherche des glycosides

Un mélange préparé par 1ml de l'extrait conservé d'éthanol et 2 mld'eau distillée et 20 gouttes de liqueur de Fehling à été chauffé à $70^\circ C$ dans un bain marie(**figure 16**),un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (**Trease etEvans, 1987**).

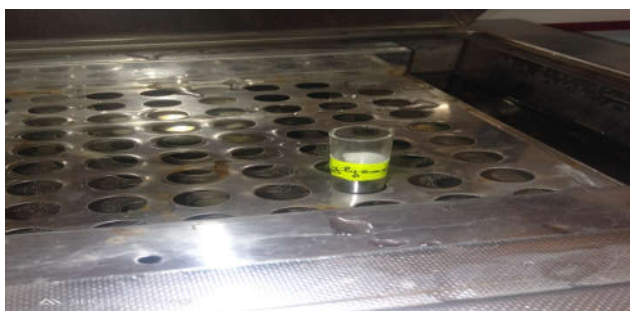


Figure 16: test des glycosides (Photo personnelle, 2020).

❖ Recherche des tanins

1 ml de l'extrait d'éthanol a été ajouté à 2 ml d'eau distillée et 2-3 gouttes de la solution de chlorure ferrique FeCl_3 1 % permet de détecter la présence ou non de tanins, l'apparition d'une couleur verte ou bleu-vert indique la présence de tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (Trease *et al.*, 1987 ; Douhou *et al.*, 2003).

❖ Recherche des alcaloïdes

Le test est réalisé par des réactions de précipitation avec le réactif de Wagner. 20 ml de l'extrait a été ajouté à 5 ml d'acide chlorhydrique HCl (10%), puis chauffer dans un bain marie, où un volume de solution d'hydroxyde d'ammonium (10%) a été ajouté jusqu'à obtention d'un milieu de pH = 9, une extraction avec de l'éther di éthylique est ensuite réalisée suivi d'une concentration avec un dispositif « évaporateur rotatif » (figure17).

Le résidu est repris dans 5 ml de HCl (2%), est trait par quelques gouttes de réactif de Wagner afin d'obtenir un précipité brun indiquant la présence des alcaloïdes (Memelink *et al.*, 2001).



Figure 17 : test des alcaloïdes (Photo personnelle, 2020).

❖ Recherche des terpénoïdes

Dans un tube à essai, ajouté 2,5ml de l'extrait méthanolique, 0,4ml de chloroforme et 0,6ml de l'acide sulfurique concentré La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase, indique la présence des terpénoïdes (Trease et Evans, 1987).

1.2.2. Analyse quantitative :

➤ Préparation des extraits :

✚ Préparation de l'extrait aqueux

Une quantité de 10g de la poudre d'*Alpinagalanga* est ajoutée à 100ml d'eau distillé, par agitation mécanique pendant une nuit à une température ambiante. Le macérât obtenu est filtré à l'aide d'un papier filtre de type Whatman. Ensuite dans une étuve à une température de 40 °C le filtrat est évaporé pour éliminer de l'eau.

✚ Préparation de l'extrait méthanolique

10 g de la poudre sont ajoutés à 100 ml d'une solution de méthanol aqueux (70 ml méthanol +30ml d'eau) puis incubées sous agitation mécanique pendant 2 jours, à une température ambiante, le mélange a été ensuite filtré à l'aide d'un papier filtre de type Whatman

Le filtrat est soumis à une évaporation par rota vapeur. Les extraits ont été pesés et conservés dans une boîte de Pétri en verre fermée hermétiquement à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation et le rendement d'extraction de chaque extrait doit être calculé. Enfin, le produit final est stocké (**figure 15**)

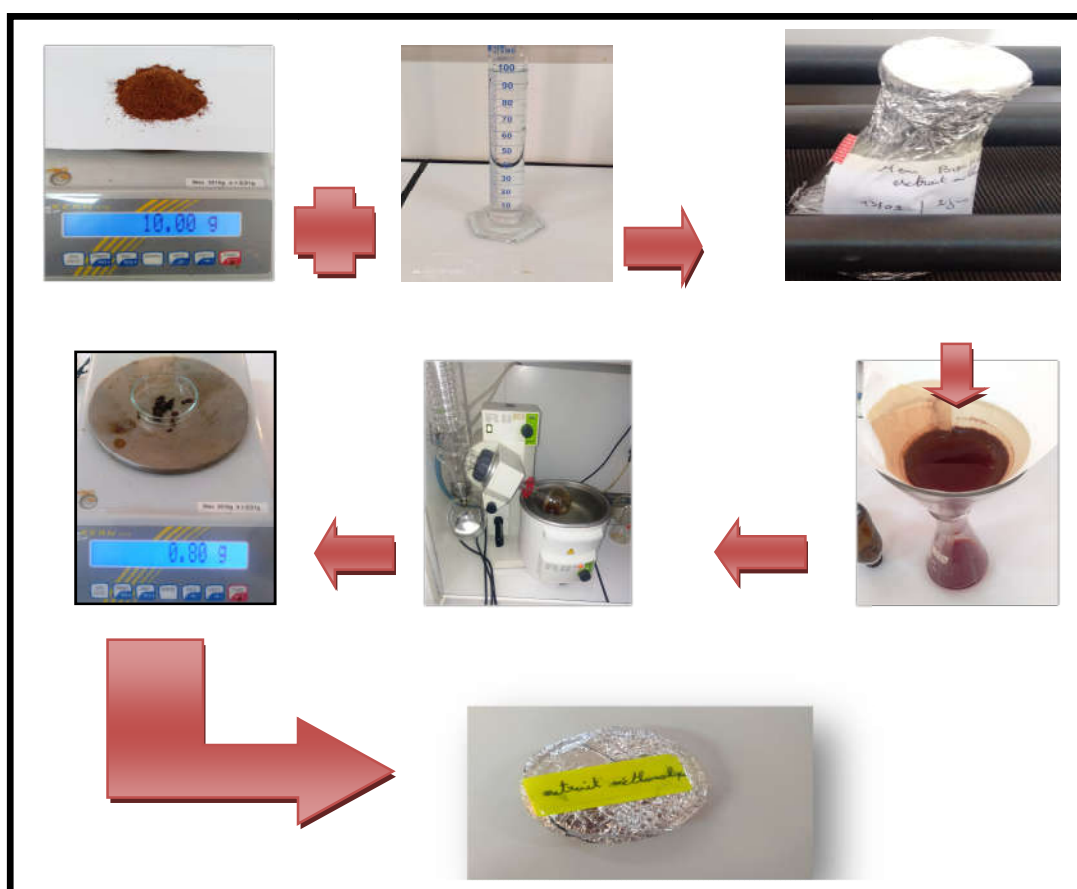
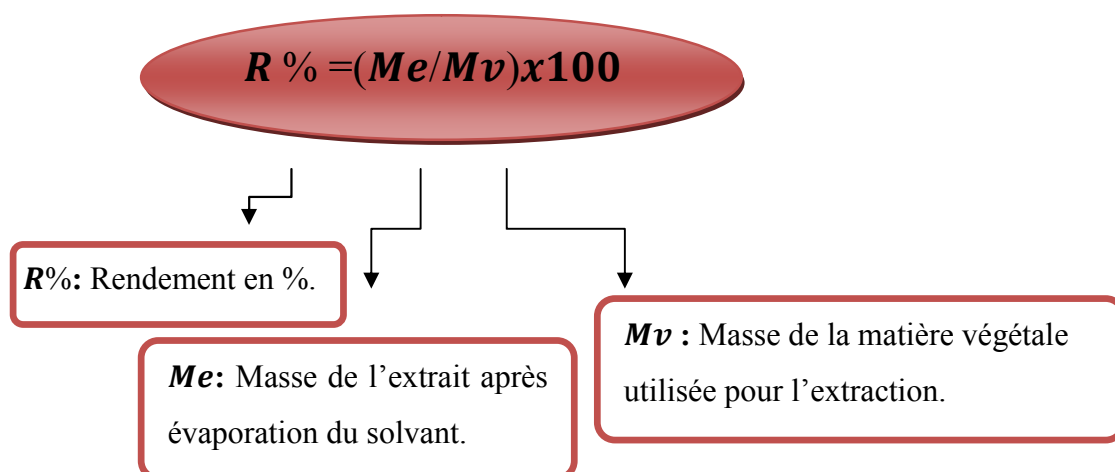


Figure15: protocole de préparation de l'extrait méthanolique.

1.2.2. Analyses quantitatives

1.2.2.1. Rendement en extrait brut

Le rendement de l'extrait brut est le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal séché utilisé. On peut calculer selon l'équation suivante



1.2.2.2. Dosage des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu.

Le dosage spectrophotométrie des polyphénols totaux dans l'extrait des rhizomes d'A. galanga étudiée est effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (Skerget et al., 2005).

❖ Principe

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols qui entraînent la formation d'un nouveau complexe d'oxyde métalliques tungstène (W_8O_{40}) et molybdène (Mo_8O_{23}) de couleur bleu. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Skerget et al., 2005 ; Ribéreau, 1968).

❖ Mode opératoire

Un volume de 500 μ l de l'extrait à différentes concentrations (extrait diluée $\frac{1}{2}$ et l'extrait brut) est ajouté à 2,5ml de réactif de Folin-Ciocalteu (1/10) (1ml de réactif de Folin-Ciocalteu et 9ml d'eau distillé).

On ajoute 2ml de Na_2CO_3 (7,5%) ; Après 15min, puis on agite le mélange. Après une incubation pendant 2 heures à une température ambiante (**figure18**), l'absorbance est mesurée à 760nm contre un blanc qui constitué de réactif Folin-Ciocalteu et NaCO_3 (7,5%) (Skergetet *al.*, 2005) (**figure 19**).



Figure 18: Matériel de dosage des polyphénols totaux (Photo personnelle, 2020)

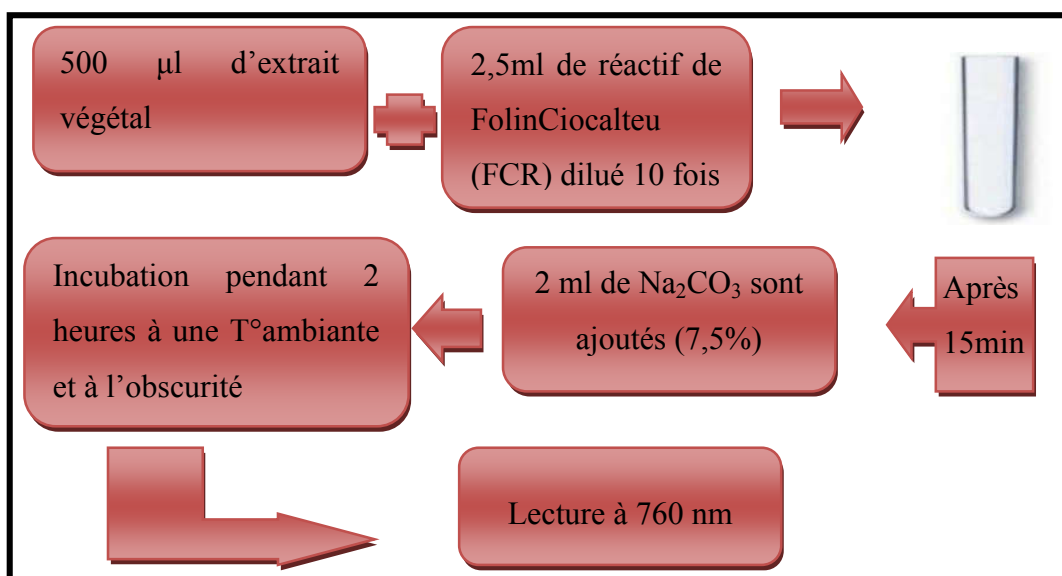


Figure19 : Protocole de dosage des polyphénols totaux.

L'acide gallique (0.75g/1) est le standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage ($Y = ax$) à partir de laquelle la concentration des composés phénoliques des extraits est calculée. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par /g d'extrait sec (mg Eq AG/g d'extrait).

1.2.3. Activités antioxydants

1.2.3.1. Test de piégeage du radical DPPH

❖ Principe

Le test DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydant. En effet, le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des

radicaux libres stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule.

La présence de ces radicaux DPPH• donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux DPPH• par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution (Molyneux, 2004). Le changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 517nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée (Popovici et al., 2010 ; Molyneux, 2004).

➤ Préparation de solutions de DPPH

On pèse 0.008g de radicale libre du 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl « DPPH » (une poudre très fine à couleur violette) à l'aide d'une balance de précision, cette quantité est dissoute dans un volume de 150 ml de solution méthanol-eau (105/45) (Figure 20). Enfin le mélange a été incubé à l'obscurité pendant 24h sous agitation mécanique (Kim et al., 2002).

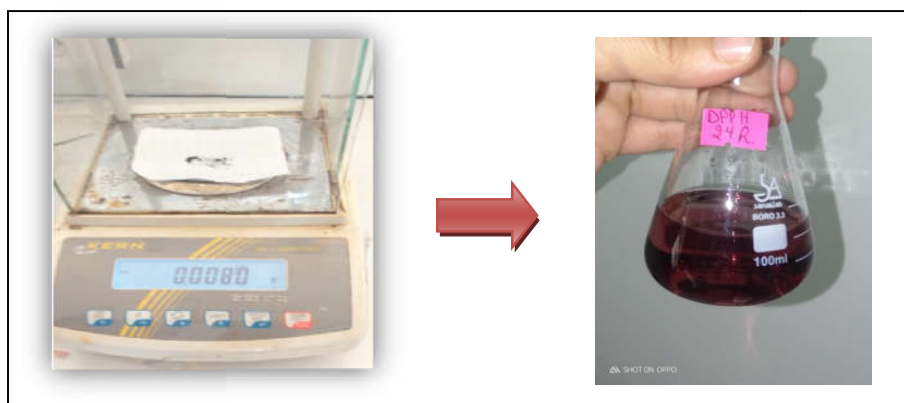


Figure 20: préparation de la solution DPPH (Photo personnelle, 2020).

➤ Préparation de l'extrait brut

0.5g de l'extrait méthanolique brut (résidu sec) a été dissous dans 5ml de la solution méthanolique (3.7 ml méthanol + 1.3ml eau distillé) (figure 21)

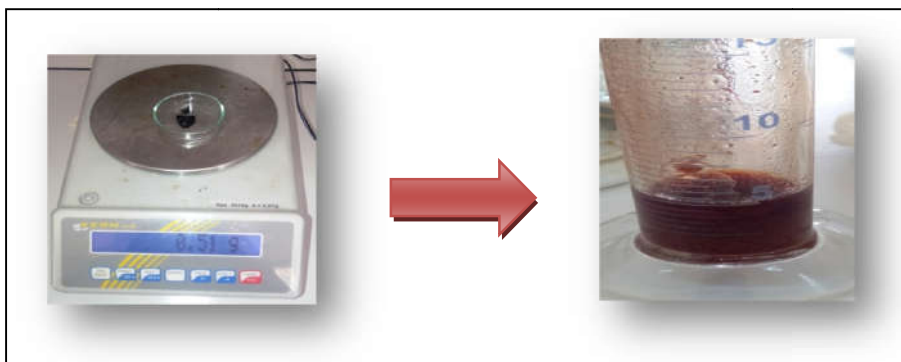


Figure 21: préparation de l'extrait (Photo personnelle, 2020).

➤ **préparation de la solution colorant**

0.0015g (1.5mg) de **(E) -3-((5-tert-butyl)-2- hydroxy) phenylazo)-4- quinolinol** ont été dissous dans 50 ml de méthanol (**figure 22**), Puis prendre 50 μ l de cette solution mère et compléter le volume jusqu'à 5ml par le méthanol.

L'absorbance de colorant est ensuite lue à 510 nm par un spectrophotomètre UV/visible.

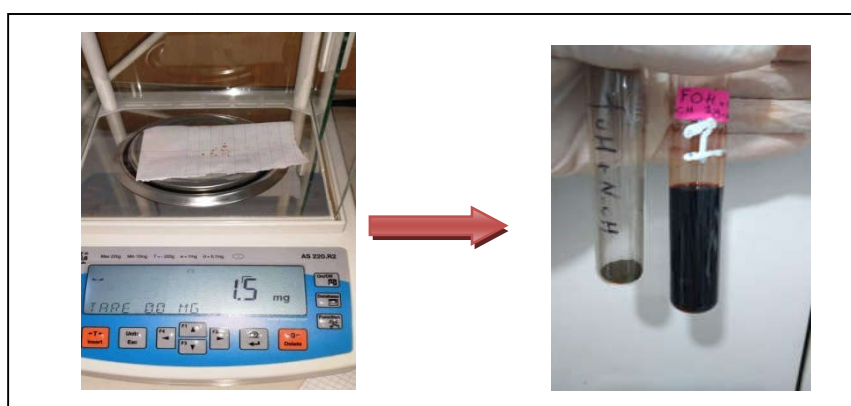


Figure 22: préparation de la solution colorant (Photo personnelle, 2020).

1.2.3.2. Mode opératoire

La capacité antioxydant de l'extrait d'*A galanga* et de l'extrait du colorant synthétique est déterminée selon la méthode de radical libre « DPPH » avec certaines concentrations selon le protocole de (**Kim et al., 2002**) avec quelques modifications.

Dans la première dilution on ajoute 0.1 ml d'extrait de plante /de colorant à volume de 2,9 ml de méthanol (solvant) (70/30) et 1 ml de la solution DPPH prés préparée (0,008g /150 Méthanol-eau 105/45). la lecture de l'absorbance ce faite à l'aide d'une spectrophotométrie à longueur d'onde $\lambda = 517$ nm après incubation dans deux temps déférents : 30et 45 min dans l'obscurité et à température ambiante (**figure 23**). la même méthode s'applique sur les deux autres concentrations, 0.2 ml d'extrait/colorant + 2.8 ml de méthanol et 1 ml de solution DPPH, il est de même pour le volume 0.3 ml d'extrait/colorant +2.7ml de

méthanol et 1ml de DPPH la lecture se fait 3 fois et dans les mêmes conditions (Kim et al., 2002).

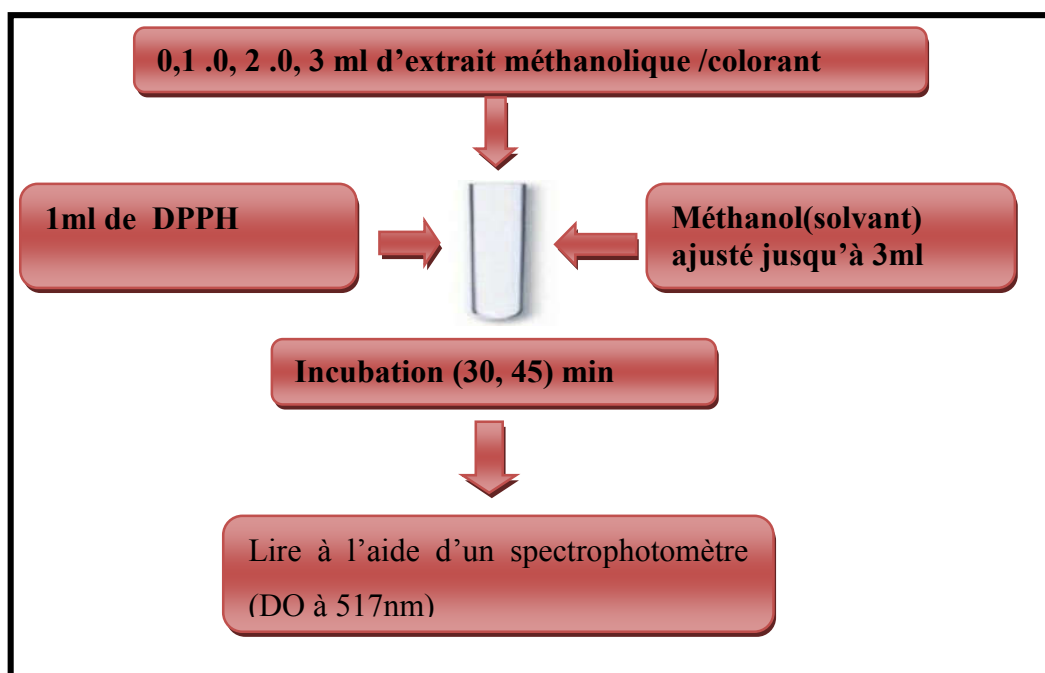


Figure23 : Protocole d'évaluation de l'activité antioxydant in vitro

➤ **Expression des résultats**

La capacité de piégeage du radical libre est ensuite calculée à travers le pourcentage d'inhibition

$$\text{Le pourcentage d'inhibition} = \left\{ \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}}{\text{Abs contrôle}} \right\} \times 100$$

➤ **Abs contrôle** : Absorbance de la solution DPPH.

➤ **Abs test** : Absorbance de l'extrait.

➤ **Calcul des EC₅₀ (IC₅₀)**

La valeur IC₅₀ qui est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Les IC₅₀ sont calculées à partir de l'équation des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'extrait testé et du standard utilisé dans l'étude (Bouras et Houchi, 2013).

1.2.4. Analyse statistique

On a réalisé des analyses statistiques descriptives, multidimensionnelles et décisionnelles avec le logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) version 21.

Pour chacun des paramètres étudiés, j'ai procédé à une analyse descriptive (moyenne, Ecart-type...).

Pour tester l'effet de ces paramètres sur l'activité antioxydant des deux extraits étudiés, on a procédé à une analyse de variance à deux facteurs ; le seuil de signification retenu est $P \leq 0.05$, la comparaison des moyennes a été effectuée par le test LSD.



Résultats et discussion

1. Analyse qualitative

1.1. Résultats





➤ Screening phytochimique








Le Screening phytochimique qualitatif visant à la recherche des principaux groupes chimiques, (polyphénols, flavonoïdes, tanins, tanins hydrolysables, saponosides, alcaloïdes, coumarines, quinones libres, anthraquinones, terpénoïdes, protéines, sucres réducteurs) contenus dans les rhizomes d'*Alpinia galanga*.


La détection de ces groupes chimiques est basée sur des réactions de précipitation et de turbidité ou encore un changement de couleur spécifique.

Les résultats des tests phytochimiques sont représentés dans le **tableau 03**.

Tableau 03 : Résultats de screening phytochimique

Test	Résultat	
Flavonoïdes	++	<p><i>la couleur verdâtre indique la présence des flavonoïdes</i></p> 
Tanins	++ +	<p><i>La présence des tanins indiquée par l'apparition d'une coloration brun verdâtre</i></p> 
Saponosides	+/-	<p><i>L'apparition d'une mousse persistante confirme la présence des saponines</i></p> 
Alcaloïdes	++	<p><i>Il y a une formation d'un précipité brun, ce qui confirme la présence des alcaloïdes</i></p> 

Coumarines	++	<i>ce test est témoigné parla présence d'une précipitation brune</i>	
Quinones	--	<i>l'absence de La coloration rouge confirme l'absence des quinones</i>	
Anthraquino nes libres	--	<i>L'absence de la coloration rouge foncée, indique l'abcence des anthraquinones libre</i>	
Anthocyanes	- /+	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  Milieux basique </div> <div style="text-align: center;">  Milieux Acide </div> </div> <p><i>Ce test est révélé positif dans le milieu acide et négatif dans le milieu basique, cela nous a permis de déduire qu'il existe une faible quantité d'anthocyane.</i></p>	
Glucoside	+ +	<i>- La Formation d'un précipité rouge brique, indique la présence des glycosides</i>	
Stérols	+ +	<i>- La présence de l'anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides indique la présence des stérols</i>	

Terpénoïdes	++	<p>La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase, indique la présence des terpénoïdes</p>	
-------------	----	--------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------

+++ Importante quantité ; + = petite quantité ; ± = Trace; - = absence

1.2.Discussion

Les tests phytochimiques effectués sur l'extrait d'*Alpinia galanga* révèlent la présence des flavonoïdes, des alcaloïdes, des stérols et terpénoïdes, des tanins, des glucosides et des coumarines; tandis que les tests de saponines, anthocyanes et anthraquinones libre et les quinones sont négatifs, alors qu'on trouve que quelques traces de saponosides et d'anthocyane.

les rhizomes d'*Alpinia galanga* contient les flavonoïdes ,les alcaloïdes et les saponosides, nos résultats s'accord avec ceux obtenus par (Nair et al.,1982), (Subash et al., 2001), et par (Srividya et al.,2010) mais ne s'accordent pas avec ceux de (Parwaiz et al., 2010).

Les résultats des tests réalisés par (Misra et al., 1983) et (Srividya et al.,2010) ont montré que les rhizomes de la plante *A. Galanga* contient des glucosides ce qui confirme nos résultats ,alors que , (Subash et al., 2012) a expiré le contraire .

Les stérols et les térapénoïdes sont présents dans notre plante, ce qui est fondu par (Parwaiz et al.,2010)et par (Subash et al., 2012) ,c'est ce qui soutient nos résultats.

Pour les tests effectués à partir d'un extrait éthanolique, les résultats des quinones et des anthraquinones montrent que : l'*Alpinia* est dépourvu de ces composés phénoliques et contient des coumarines et des anthocyanes. Il est difficile de comparer nos résultats avec d'autres études car ces tests n'ont pas été faits avant.

2. Rendement en extraits bruts

Dans ce travail, les extraits ont été préparés par la macération à température ambiante du broyat des rhizomes d'*Alpinia galanga*, on a utilisé différents solvants présentant des

polarités distinctes, à savoir l'eau, (l'extrait aqueux, Ex.Aq), et le méthanol-eau, (l'extrait méthanolique, Ex. Méth).

Le rendement d'extraction de nos extraits obtenus après évaporation ont été déterminés par rapport au matériel végétal sec par l'équation suivant :

$$R \% = (Me/Mv) \times 100$$

R % : Rendement en.%

Me: Masse de l'extrait après évaporation du solvant.

Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction.

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 24 :

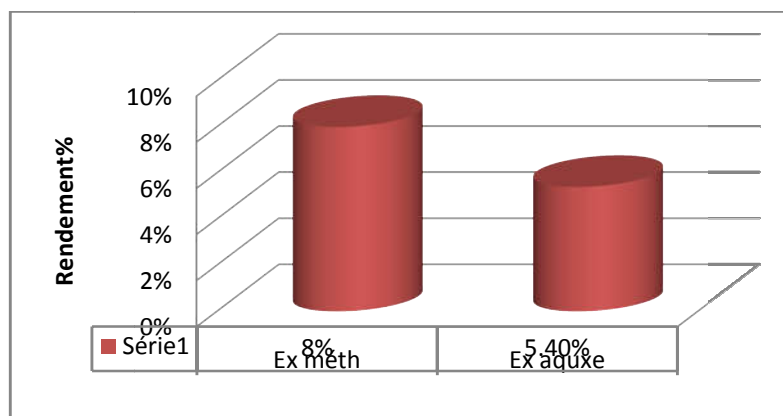


Figure 24 : Rendement en extraits bruts

Le meilleur rendement en substances naturelles est enregistré par la macération avec le méthanol aqueux (70 méth +30eau) soit de pourcentage de (8%) versus (5,40%) pour la macération avec l'eau.

3. Analyse quantitative

3.1. Dosage des polyphénols totaux

La détermination de la teneur en phénols totaux dans les deux extraits d'*Alpinia galanga* est estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu. (Une couleur bleue est obtenue dont l'intensité varie en fonction de la concentration phénolique d'extrait de la plante).

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait sec (mg GAE/g) (**figure 26**), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique.

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est représentée dans la (figure 25).

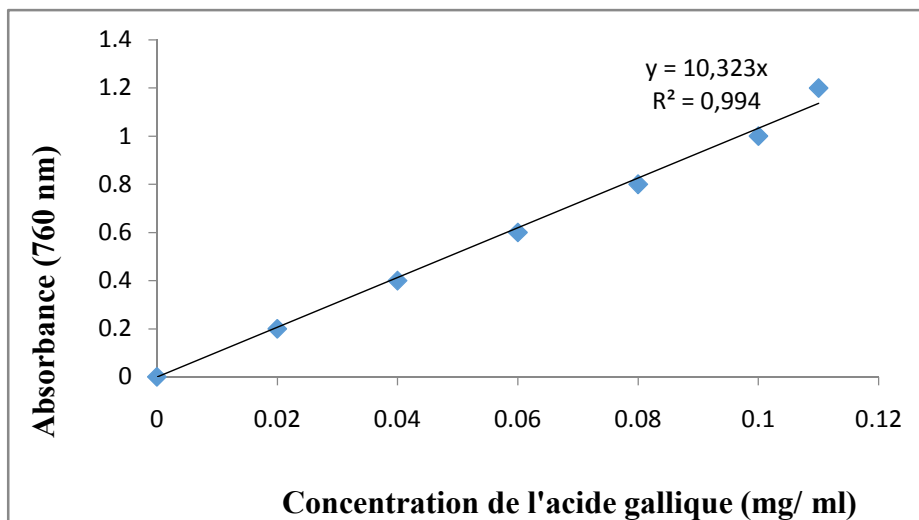


Figure 25 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique.

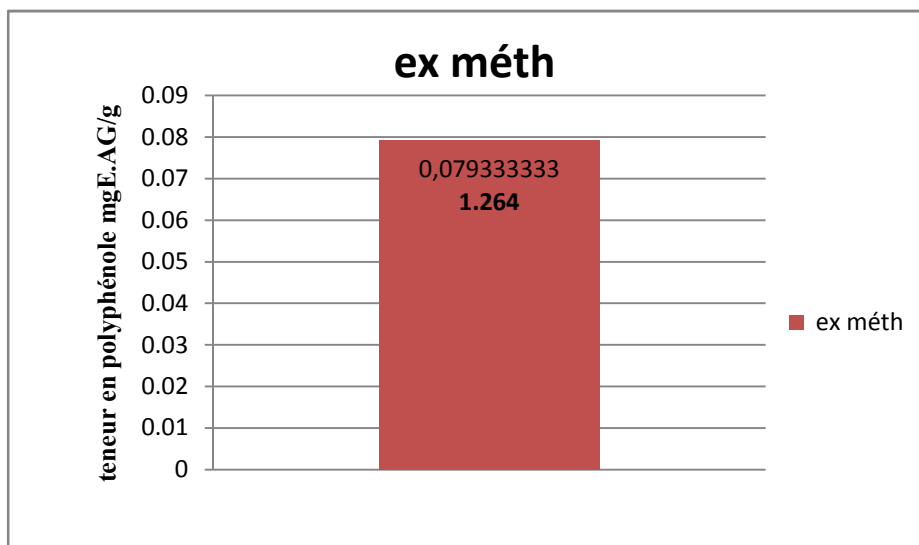


Figure 26 : Teneur en polyphénols totaux pour *A. Galang*.

3.2.Discussion

La valeur de la teneur enregistrée dans la dilution 1/16 est de **0,079 mgEAG/g**; ce qui traduit une teneur en polyphénols totaux de **(1,264 ± 0,005 mgEAG/g)**.

nos résultats de la teneur en polyphénols sont proches (**1.264mgEAG/g**) au ceux trouvés par (**Parwaiz et al.,2010**)(**1.35 mgEAG/g**) dans leur étude sur l'extrait éthanolique.

Ces variations de la teneur en composés phénoliques trouvés entre les études déjà cités sont tout à fait justifiées. Cela peut être attribué à plusieurs facteurs dont nous citons les facteurs externes comme les facteurs climatiques, édaphiques et environnementaux et les conditions géographiques (température, sécheresse, la nature du sol...) qui peuvent entraîner des différences importantes dans les concentrations de ces composés bioactifs (polyphénols totaux) dans les plantes et leur bio activité pour la santé humaine ainsi les facteurs intrinsèques comme le patrimoine génétique, car l'expression du métabolisme phénolique dans la plante est la traduction du patrimoine génétique propre à chaque espèce (**Fleuriet et Machiex, 2003 ; Falleh et al., 2008 ; Ksouri et al., 2008 ; Xia et al. 2014**).

4. Résultats de l'activité antioxydant :

La capacité antioxydant de l'extrait méthanolique d'*Alpinia galanga* et du colorant (**E**) **-3-((5-tert-butyl)-2- hydroxy) phenylazo)-4- quinolinol** testé vis-à-vis du radical DPPH• a été déterminée à partir de l'IC₅₀.

IC₅₀ c'est la concentration de l'antioxydant de référence responsable de 50% d'inhibition des radicaux DPPH• présents dans le milieu réactionnel, a été déterminée à partir des équations des graphique représentant le pourcentage d'inhibition(I%) du DPPH• en fonction des concentrations de antioxydant de référence, la formule des équations des régressions linéaires sont de la forme :

$$y = ax + b$$

y: 50% (pourcentage de réduction de DPPH).

x : IC₅₀ (la concentration en extrait et de l'acide ascorbique).

Selon (**Popovici et al ., 2010**): Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydant d'un composé est grande.

4.1. Analyse des effets des paramètres étudiés sur l'IC₅₀ :

Afin d'évaluer l'effet d'extrait et du temps sur la variable mesurée(IC₅₀), les résultats des analyses sont exposés à une analyse de variance à deux facteurs étudiés. Les carrés moyens des écarts des paramètres mesurés sont représentés dans le tableau 04 :

Tableau 04 : Carrés moyens des écarts des moyens des paramètres mesurés sur IC₅₀.

Source	Somme des carrés de type III	Ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Extrait	7,337	2	3,668	25,901	0,000**
Temps	0,952	1	0,952	6,723	0,024*
Extrait * Temps	1,362	2	0,681	4,807	0,029*
Erreur	1,700	12	0,142		
Total	16,986	18			
Total corrigé	11,350	17			

- La corrélation est hautement significative à $p \leq 0,01$
- La corrélation est significative à $p < 0,05$
- La corrélation est non significative à $p \geq 0,05$

D'après le tableau précédent on note la présence d'un effet extrait très hautement significatif à $p \leq 0,01$ sur la concentration nécessaire en extrait pour réduire 50% du radical DPPH et un effet significatif à $p < 0,05$ pour les deux autres paramètres (Temps, Extrait /Temps).

4.1.1. Effet extrait sur IC₅₀

D'après les résultats de l'analyse de la variance, les valeurs d'IC₅₀ se différencient d'un extrait à l'autre. La comparaison des moyennes basée sur le test LSD indique que l'extrait méthanolique de notre plante et l'ASC forment un groupe appart, qui se caractérise par la plus importante activité antioxydant avec une valeur moyenne d'IC₅₀ de 0,22mg/ml et 0,002mg/ml respectivement, Cependant le colorant présente une valeur moyenne d'IC₅₀ importante de 1,45mg/ml (**tableau05**), ce qui traduit une faible activité antioxydant en comparaison avec les deux premiers extraits.

L'effet extrait sur les résultats relatifs à l'AAO est représenté dans le tableau 05 :

Tableau05: Effet extrait sur IC₅₀

		IC ₅₀			
		Moyenne	Ecart-type	Maximum	Minimum
Extrait	EXM	0,22 ^a	0,08	0,32	0,13
	CLR	1,45 ^b	0,89	2,80	0,49
	ASC	0,002 ^a	0,00	0,00	0,00

4.1.2. Effet temps sur IC₅₀

Pour l'effet du temps sur l'IC₅₀, les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau 06

Tableau 06 : Effet temps sur IC₅₀

		IC ₅₀			
		Moyenne	Ecart-type	Maximum	Minimum
Temps	30min	0,79	1,05	2,80	0,00
	45min	0,33	0,44	1,28	0,00

D'après les résultats d'IC₅₀ illustrés dans le tableau 06, on note des différences significatives entre les deux temps étudiés. L'AAO la plus élevée est celle enregistrée dans le temps 45min avec une valeur moyenne de **0,33**. Dans le temps 30min, l'AAO enregistre une valeur faible de **0.79**.

4.1.3. Effet interaction extrait /temps sur IC₅₀

L'effet interaction extrait/temps est représenté dans le tableau 07

Tableau 07 : Effet interaction extrait /temps sur IC₅₀

			IC ₅₀			
			Moyenne	Ecart-type	Maximum	Minimum
EXM	Temps	30min	0,30	0,02	0,32	0,28
		45min	0,15	0,02	0,17	0,13
CLR	Temps	30min	2,07	0,83	2,80	1,17
		45min	0,84	0,40	1,28	0,49
ASC	Temps	30min	0,002	0,002	0,002	0,002
		45min	0,002	0,002	0,002	0,002

Pour l'effet interaction extrait /temps. L'analyse de la variance montre que le standard (ASC) et l'extrait d'*A galanga* et l'extrait de colorant ont donné une forte AAO dans le temps 45min.

L'ASC présente une valeur moyenne de **0,002** mg/ml, Tandis que les deux extraits d'*A galanga* et le colorant synthétique présentent des valeurs moyennes de **0,15** et de **0,84** respectivement (**tableau07**).

4.2. Discussion

L'évaluation de l'activité anti radicalaire des rhizomes d'*Alpinia galanga* a été réalisée par la technique du piégeage du radical libre DPPH.

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait méthanolique d'*Alpinia galanga* présente une activité anti radicalaire plus importante que celle du colorant synthétique avec une IC₅₀ de **0,22mg/l**. Mais cette activité reste moins importante par rapport à celle de l'acide ascorbique qui enregistre une IC₅₀ d'ordre de **0,002 mg/l**.

Notre résultat d'IC₅₀ de l'extrait méthanolique de l'*A. Galanga* est supérieur au ceux obtenus par (Ali Esmail, 2014) et (Srividya et al., 2010) qui ont enregistré une IC₅₀ de **0,069mg/ml** (69 µg/ml).

Wohlmuth, (2008), a été enregistré une IC₅₀ inférieure à que nous avons obtenus dans notre étude avec un ordre de **0,09 mg/ml** (90 µg/ml).

Une étude réalisée par (Abdelnaser et al., 2007) montre que l'extrait méthanolique brut d'*A. Galanga* possède une IC₅₀ de **0,07 à 0,1 mg /ml**, ces résultats ne s'accordent pas à nos résultats.

Nos résultats ont montré également que (E) -3-((5-tert-butyl)-2- hydroxy) phenylazo)-4- quinolinol présente une activité anti radicalaire avec une IC₅₀ de **1,45 mg/l**, mais cette activité reste faible par rapport à celle de l'acide ascorbique IC₅₀ d'ordre de **0,002 mg/ml** et de l'extrait méthanolique d'*A galanga*.

L'objectif de cette étude est de faire comparer entre l'extrait méthanolique d'*A galanga* (considéré comme colorant naturel) et un colorant synthétique concernant leur capacité de piégeage du radical libre DPPH, le choix de ce colorant synthétique a été fondé sur leur aspect et leur couleur en solution méthanolique.

Selon ces résultats, nous constatons que nos extraits (naturel et synthétique) sont moins actifs par rapport au standard. Parmi ces deux extraits on peut dire que l'activité la plus importante a été obtenue avec l'extrait méthanolique d'*A galanga*. De ce fait on peut qualifier ce dernier comme un bon piègeur de DPPH dans cette étude, malgré qu'il reste moins important par rapport à l'ASC.

Pour le colorant synthétique, (E) -3-((5-tert-butyl)-2- hydroxy) phenylazo)-4-quinolinol, étudié dans ce travail nos résultats de l'activité antioxydant sont considérés

comme premières de son genre, par ce que cette étude n'a jamais fait l'objet d'une publication précédente.



Conclusion et perspectives

Ces dernières années, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir l'industrie, la médecine, la pharmacie et l'agriculture.

Le grand intérêt donné à ces plantes revient en fait à leur richesse en des principes actifs d'une part et le besoin de chercher un moyen thérapeutique plus doux qui constituera un alternatif aux molécules de synthèse d'une autre part.

Dans le cadre de notre étude, on a intéressé aux composés phénoliques et à l'activité antioxydant de l'espèce d'*Alpinia galanga* et d'un colorant synthétique azoïque **(E)-3-((5-tert-butyl)-2-hydroxy) phenylazo)-4-quinolinol**.

Après une analyse qualitative des extraits, réalisée par screening phytochimique, il s'est avéré que les rhizomes d'*Alpinia galanga* contiennent plusieurs familles de composés secondaires comme les flavonoïdes, les stérols et les tris terpènes, les polyphénols et les tanins. Ces substances sont généralement responsables de certaines activités biologiques des extraits des plantes médicinales.

Le rendement en extraits bruts en utilisant la technique d'extraction révèle que ces valeurs varient considérablement selon la méthode d'extraction appliquée. En effet, les meilleurs rendements sont enregistrés par l'extrait méthanolique d'*Alpinia galanga* (8%) par rapporte à l'extrait aqueux (5,4%).

L'analyse quantitative des composés phénoliques de l'extrait méthanolique chez l'espèce *Alpinia galanga* a bien montré que leur rhizome contient une teneur importante de polyphénols totaux ($1,126 \pm 0,005$ mg EAG/g).

Pour les activités biologiques, l'étude de l'activité antioxydant des extraits issus des rhizomes d'*Alpinia galanga* selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH, montre que l'extrait donne un meilleur résultat de piégeage du radical libre avec un pourcentage d'inhibition très élevé, donc un très bons pouvoir antioxydant.

Les valeurs EC_{50} du test DPPH ont montré que l'extrait méthanolique possède une activité réductrice du radical élevée ($EC_{50} = 0,22$) tandis que le colorant a un $EC_{50} = 1,45$

La comparaison entre les résultats de l'AAO de l'espèce étudiée (*A galanga*) et le standard (ASC), montre que ce dernier donne une AAO très élevée à celle de galanga, et même l'AAO de colorant est moins que le standard .

En fin, on peut dire que ces résultats restent préliminaires, donc on est encouragé à d'autres études complémentaires et approfondies, en utilisant d'autres méthodes

Conclusion et perspectives

d'extraction et d'analyse plus performantes, telles que l'analyse chromatographique pour isoler et identifier les molécules actives de cette plante, l'activités antioxydant doivent être évaluées dans d'autres systèmes in vitro (cellulaires et enzymatiques), et étudier d'autres activités comme l'activité antiseptique, antirhumatismale, anti-inflammatoire...ect.



Références bibliographique

A

- **Abdelnaser A. Elzaawely, Tran D. Xuan, Shinkichi Tawata .(2007).**Essential oils, kava pyrones and phenolic compounds from leaves and rhizomes of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt. & R.M. Sm. and their antioxidant activity *Food Chemistry* 103 486–494
- **Afaq F. et Malik A. (2005).** Pomegranate Fruit Extract Modulates UV-B–mediated Phosphorylation of Mitogen-activated Protein Kinases and Activation of Nuclear Factor Kappa B in Normal Human Epidermal keratinocytes. *Photochemistry and photobiology*, 81(1): 38-45.
- **Ali Esmail Al-Snafi.(2014).** The Pharmacological Activities of *Alpinia galangal* *International Journal for Pharmaceutical Research Scholars (IJPRS)*, V-3, I-1, 607-614.
- **Al-Mamary M., Al-Meerri A., et Al-Haboui M. (2002) .** Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*. 22: 1041-1047.
- **Anonymous (1985).** Wealth of India, Vol-I PID CSIR, Hillside Road, New Delhi, 195.
- **Attou A. (2012).** Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis (Fidjel)* de la région d'Ain Témouchent. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. p: 47.

B

- **Baba-Aïssa F. (2000),** Encyclopédie des Plantes Utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. EDAS Algérie
- **Bahorun. (1997).** Tannins in feeds for ruminants. II Effects on rumen metabolism in vitro. *Übersichten zur Tierernährung*. Vol. (19):45–70.
- **Barouki R. (2006).** Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/sciences*. 22: 266-272.
- **Basu kirtikar. (2001).** Indian Medicinal Plant, second edition, volume 10, p no.3378
- **Bauer C., Jacques P., Kalt A et PhotochemJ.(2001).** *Photobiol. A: chem.* 140, 87-92.
- **Belkebir Dj. (2015).** « Elimination d'un colorant cationique par une biomasse activée » . Mémoire de Master, Faculté des Sciences Exactes et de l'Informatique de Mostaganem,
- **Benabdesslem A, (1989).** Cours d'écologie. USTHB, OPU.

Références bibliographique

- **Benchaar C., Calsamiglia S., Chaves A.V., Fraser G.R., Colombatto D et Mcallister T.A. (2008).** Plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*, 145: 209–228.
- **Benzie I.F.F. et Strain J.J. (1996).** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP. *Anal biochem* 239:70-76.
- **Boizot N et Charpentier J. P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA, In: Numéro spécial*, 79-82.
- **Bouras F., Houchi A.(2013).** Etude de L'activité Antioxydante de La Plantes Rumex Vesicarius L. Mémoire Master Académique, P28.
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 3ème Ed. Lavoisier. Paris, 199-388.
- **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales. 4ème édition. Edition Lavoisier Tec & Doc. Médicales Internationales, Paris. p 261, 308,571.
- **Bui Thanh T., Vu Duc L., Nguyen Thanh H. et Nguyen Tien V.(2016).** In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of isolated compounds of ethanol extract from *Sanchezia speciosa* Leonard's leaves. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*.

C

- **Çavdar C, Sifil A et Çamsarı T. (1997)** Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplanta²syon Dergisi*; 3-4: 92-95.
- **Cavin A.(1999).** Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires: *Tinos poracispa* (Menispermacées), *Merremia emarginata* (Convolvulacées) et *Oropea enneanda* (Annonacées). Thèse de doctorat Lausanne, p 241.
- **Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L., et Ferret A. (2007).** Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*. 90: 2580–2595.
- **Capon M., Courilleau V et Valte C., (1996),** «Chimie des couleurs et des odeurs», Edition FOF, Berlin Spinger, ISBN 2-9502444-2-4, pp : 14-16.
- **Chen SH., Lin JK., Liang YC., Pan MH., Liu SH et Lin-Shiau SY. (2008).** Involvement of activating transcription factors JNK, NF-kappaB, and AP-1 in apoptosis

Références bibliographique

induced by pyrrolidine dithiocarbamate/Cu complex. Eur J Pharmacol., 594 (1-3) P:9-17. 10.1016/j.ejphar.2008.07.024.

- **Christophe P et Christophe S. (2011).** Physiologie. pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. *Edition Springer*. p 84.
- **Chu W. L., Lim Y.W., Radhakrishnan A. K. et Lim P. E. (2010).** Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC Complementar and alternative Medicine*, **10**(59):2-8.
- **Chudiwal AK., Jain DP., et Somani RS.(2010)** *Alpinia galangal* wild-an overview on phyto-pharmacological properties. *Indian J of Natural Product and Resources*:1(2); 143-149.
- **Cowan N.M. (1999).** Plant product as antimicrobial agent. *Clinical Microbiology Reviews*.12 (4):564-582.

D

- **DEPA(Danish Environmental Protection Agency. (2000)**, Survey of azo-colorants in Denmark, Toxicity and fate of azo dyes.
- **Djemoui D. (2012).** Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées. Mémoire Master Academique, Spécialité : Chimie Appliquée. 53p.
- **Diallo D. (2000).**Ethno pharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (Azoceae), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada africana* (Minosaceae), *Trichilia emetic* (Meliaceae)Thèse de doctorat de recherche, Faculté des sciences de l'université de Lausanne Suisse.
- **Duclos.(1989).** La peur et le savoir : La société face à la science, la technique et leurs dangers, découverte, Paris.

E

- **Elbouhali Hamid. (2006).** « Caractérisation d'un colorant naturel ». Mémoire de Master. Faculté desSciences Semlalia Marrackech, Université Cadi Ayyad.

F

- **Floegel A., Kim D-O., Chung S-J, SKoo S I et Chun O K. (2011).** Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24. 1043–1048.
 - **Ford R.A., Hawkins D.R., Mayo B.C et Api A.M; (2001).** The in vitro dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances. *Food and Chemical Toxicology*, p39, 153-162.
 - **Freundlich H. (1906),** An adsorption in solutions, *Phys.Chem.*, 8, 89-146.
- Fridous A, Hameed U. (2016).** The Synthesis and Characterization of Nano Composites of CdO and Its Applications for the Treatment of Simulated Dye Wastewater, 13, 2249-020.

J

- **Janssen AM, Scheffer JJ. (1985)** acetoxychavicol acetate an antifungal component of *Alpinia galangal*. *Planata Medica* 6, 507-511

H

- **Hammami Samiha. (2008).** « Étude de dégradation des colorants de textile par les procédés d'oxydation avancée. Application à la dépollution des rejets industriels » le 12 Décembre 2008 Université Tunis El Manar.
- **Hocine Farah Meriem., et Gorine Mohammed Amine. (2017).** Évaluation de l'exposition au plomb et cadmium et impact sur quelques paramètres du statut oxydant/antioxydant chez les ouvriers exposés aux fumées de soudage. Mémoire de Master. Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen. Faculté des Sciences de la Nature, Vie, Terre et Univers.

I

Références bibliographique

- **INRS. (2001).**"Colorants réactifs dans le secteur de l'ennoblissement textile : pathologie allergique liées à leur utilisation", Document pour le médecin de travail, N°85, 1er trimestre.
- **INRS. (2004),**"Dermatoses professionnelles aux colorants", Document pour le médecin de travail, N°100, 4^{ème} trimestre.
- **Iserin P, Moulard F, Rachel R, Biaujeaud M, Ringuet J, Bloch J, Ybert E, Vican P, Masson M, Moulard F, Restellini J-P et Botrel A. (2001).** La rousse : encyclopédie des plantes médicinales ; identification, préparation, soins. 2 éd, Paris, pp.155-291.

G

- **Gazengel J-M et Orecchioni A-M.(2013)** Le préparateur en pharmacie. 2ème édition. Ed.Lavoisier, Paris.
- **Ghedira K. (2005).** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie.Vol 3(4) ; pp 162-169.
- **Gonzalez A.G et Estevez-Braun A. (1997).**Coumarins, *Nat. Prod. Reprod*, 14 : 465-475.
- **Greene J.C et Baughman.G.L. (1996).** Effects of 46 dyes on population growth of freshwater green alga *Selenastrum capricornutum*, *Text. Chem. Color.* 28,23-30.
- **Ghezzar M.R, 2007** « traitement d'un rejet industriel par plasma», thèse de doctorat, Université de MOSTAGANEM.
- **Gurib-Fakim A. (2006)****Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs oftomorrow.** *Molecular Aspectsof Medicine* 27, 1-93.
- **Guillaume J. (2008).**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Biochimie et moléculaire ; Thème, Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale : *Euphorbiacharacias L.*

K

- **Kamra. (2006).** Alkylperoxyl radical scavenging activity of various flavonoids and other phenolic compounds, implication for the antitumor promoter effect of vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* Vol. (47): 397-402.

Références bibliographique

- **Karou D., Dicko M. H., Simpore J., Yameogo S., Sanon S., et Traore A.S. (2005).** Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: a submolecular approach. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 106: 119-133.
- **Kim D.O., Lee K.W., Lee H.J. et Lee C.Y. (2002).** Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Phenol Photochemical J. *Agric. Food Chem.* 50, 371.
- **Khelifa K. (2007).** « étude de certaines propriétés fondamentales du glidarc, élimination des polluants par le système combine plasma/catalyse et par adsorption », thèse de doctorat, université de Mostaganem.
- **Klemm D., Schmauder H-P et Heinze T. (2002)** Cellulose. In: De Baets S, Vandamme EJ, Steinbüchel A (eds) *Biopolymers. Polysaccharides II*, vol 6. Wiley, Weinheim, pp275.
- **Koehler-Ramonatxo C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20: 165–177.
- **Kornbrust Det Barfknecht T. (1985),** *Environ. Mutagen.* 7 101-120.

L

- **Llaneza Coalla. H., Blanco Fernández .J M., Morís Morán .M et López Bobo .M R. (2009).** Biogas generation apple pulp. *Bioresource technology* 100. 17. 3843-3847.
- **Lehucher-Michel. M.P., Lesgards. J.F., Delubac .O., Stocker.P., Durand.P et Prost. M. (2001).** Stress oxydant et pathologies humaines. *La Presse médicale.* 30: 1076-1081.
- **Lakshmi G., Smith N., Ammu S.V., Priya, C.L. ., Bhaskara Rao, K.V. Lee J., Koo N. et Min D.B. (2006).** Reactive oxygen species, aging and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 3 (1): 21-33.
- **Little L.W et Chillingworth M.A. (1974).** In Reports on selected dyes and their effect, Editor, American Dye Manufacturers Institute.

M

Références bibliographique

- **Matsuda H., Pongpiriyadacha Y., Morikawa T., Ochi. M et Yoshika W .A M. (2003)** Gastroprotective effects of phenylpropanoids from the rhizomes of *Alpinia galanga* in rats: structural requirements and mode of action. *Eur. J.Pharmacol.*, 471: 59-67.
- **Mahmoud S.S et Croteau R.B. (2002).** Strategies for transgenic manipulation of monoterpenebiosynthesis in plants. *Trends in Plant Science*, 7: 366-373.
- **Maldonado M., (2012).** *Peumus boldus M. De la botanique à la thérapeutique.* Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état. Université Joseph Fourier, faculté de pharmacie de Grenoble. P 16-19.
- **Martin S et Andriantsitohaina R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, 51: 304-315.
- **Malecky M. (2005).** Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p 9, 13-19, 20, 27.
- **Mebarki, N. (2010).** extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne, magister en génie des procédés chimique et pharmaceutiques, université M'Hamed Bougara Bouverdes. 11p.
- **Memelink J., Verpoort R., et Kigine J. W., (2001).** Organisation of jasmonate responsive gene expression in alkaloid metabolism.
- **Mibindzou Mouellet A., (2004).** Screening photochimique de deux espèces de plantes : *Crotalaria retusa L* (papilionaceae) et *Hallea ciliata* Aubrev & Pellegrer. (rubiaceae) récoltées au Gabon, thèse de doctorat, Mali, 58 p.
- **Misra S.H et Dixit V.K. (1983)** Pharmaceutical studies on starches of some Zingiberaceous Rhizomes. *Indian J. Pharm. Sei.*, 45, 216-220.
- **Mokrani, A., Mindjou, S., Bachir-Bey, M., et Louaileche, H., (2009).** Evaluation du pouvoir antioxydant de quelques variétés d'ail. Université Abderrahmane MIRA de Béjaïa, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Sciences Alimentaires et Département de biologie physico-chimique. Route de Targa-Ouzemour, 06000, Béjaïa.
- **Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarim J .Sci .Technol*, 26, 211 – 219.

Références bibliographique

- **Moncada.S., R.M. Palmer et E.A. Higgs. (1979)**, Pharmacol. Rev. 43 (1991) 109–142.
- **Muanda. FN. (2010)**. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité. Lavoisier 4ème édition, Paris.

N

- **Nair A.G.R., Gunasegaran R et Joshi B.S. (1982)** Chemical investigation of certain South Indian plants. Organic chemistry including medicinal chemistry, **21B**, 979-980.
- **Nestmann .E.R., Douglas.G.R., Matula.T.I., Grant.C.E et Kowbel.D.J. (1979)**, Cancer Res. 39 4412-4417.
- **N'Guessan, J.D., Boni, A.R., Zirihi, G.N et Djaman, A.J. (2009)**. Relation entre les activités antioxydantes et les teneurs en polyphénols de six plantes de la pharmacopée ivoirienne. Laboratoire de pharmacodynamie biochimique, UFR biosciences, Université de Cocody-Abidjan, Abidjan, Côte d'Ivoire.

P

- **Pandey KB et Rizvi SI**. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res.*, 28, pp 65-180.
- **Parwaiz Akhtar, Mohd Ali, M.P Sharma, Humaira Farooqi, Showkat R. Mir, Mohammad Yusuf et Hamid Nawaz Khan. (2010)**«Development of quality standards of *Alpinia galanga*(Linn.) Willd. Rhizome». *Curr. Bot.* 1(1):04-09.
- **Pastre, J.O.C. (2005)**. Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de docteur vétérinaire. *Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse*. 120p.
- **Popovici C., Saykova I. et Tylkowskib.(2010)**. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel.* (4), 1– 8.

R

Références bibliographique

- **Ramesh K. Verma., Garima Mishra., Pradeep Singh., KJha1 k etR. L. Khosa, (2011)**, *Alpinia galanga – An Important Medicinal Plant: A review*, *DerPharmacia Sinica*, 2 (1): 142-154.
- **Reungoat.J. (2007)**, *Etude d'un procédé hybride couplant adsorption sur zéolithes et oxydation par l'ozone: Application au traitement d'effluents aqueux industriels*. Thèse de doctorat. Institut national des sciences appliquées de Toulouse, Université de Toulouse.
- **Ribéreau Gayon J., Peynaud E., Sudraud P. et Ribéreau Gayon P.(1968)**. *Sciences et techniques du vin*. Tome 1. Edition. Dunod, Pari. p 671.
- **Rodney C., Toni M K et Norman G L. (2000)**. *Natural Products (Secondary Metabolites)*In: *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*; B. Buchanan, W. Gruissem, R. Jones, Eds. *American Society of Plant Physiologists*. 1250-1318 pages.
- **Rodney C., Toni M K et Norman G L. (2000)**. *Natural Products (Secondary Metabolites)*In: *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*; B. Buchanan, W. Gruissem, R. Jones, Eds. *American Society of Plant Physiologists*. 1250-1318 pages.

S

- **Scheibmeir. (2005)**. *Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident*. Ed. EDAS, Alger. Algérie.368 p.
- **Specht K, PlatzekT. (1995)**. *Textile dyes and finishes - Remarks to toxicological and analytical aspects*, *Deut. Lebensm.-Rundsch.* 91, 352-359.
- **Skerget M., Kotonik P., Hadolin M Rizner-Hars A., Simonic M. et Knez Z.(2005)**. *Phenols, proanthocyanidins flavones and flavonols in some plant material and their antioxidant activities*. *Food Chemistry* 89:191-198.
- **Srividya A.R, Dhanabal S.P, Satish kumar M.N, Parth kumar H. Bavadia, (2010)**. «*Antioxidant and Antidiabetic Activity of Alpinia Galanga*» *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*; 3(1):6-12.
- **Subash K.R, Muthulakshmi Bhaarathi G, Jagan Rao N, Binoy Vargheese Cheriyan (2012)**. *Phytochemical screening and acute toxicity study of ethanolic Extract of alpinia galanga in rodents*. *Int J Med res Health Sci*;2(1):93-100.

Références bibliographique

- **Sun L., Zhang J., Lu X., Zhang L and Zhang Y. (2011).** Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki L.*) leaves. *Food Chem Toxicol.* **49**: 2689-2696.

T

- **Talbi.H., Boumaza. A., El-mostafa.K., Talbi. J. et Hilali. A.(2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa L.* (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa L.*). *Journal of Materials and Environmental Science*, 6 (4): 1111-1117.
- **TalidiA. (2006).** Etude de l'élimination du Chrome et du bleu de méthylène en milieux aqueux par adsorption sur la pyrophyllite traitée et non traitée. Thèse de doctorat. Université Mohammed V – AGDAL, Rabat – Maroc.
- **Termoul M. (2006).** mémoire de magister, préparation d'un charbon actif a partir de noyaux d'olive pour l'adsorption du bleu de méthylène, phénol et 4-chlorophénol. Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem, Algérie.
- **Trease E.et Evans W.C., (1987).** Pharmacognosie, Billiaire Tindall. London 13thed.

W

- **Wohlmuth, H (2008),** 'Phytochemistry and pharmacology of plants from the ginger family, Zingiberaceae', PhD thesis, Southern Cross.University, Lismore, NSW.

Y

- **Yusuf, Y. (2006).** Trends Food Sci. Tech. p17, 64-71.

Z

- **Zhengi W., Ra Ven P.H. (1995)** .Flora of China, Science press & MissouriBotanical garden.
- **Zoughlache. (2008).** Evaluation de l'activite antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'Aubepine monogyne. *Lebanese Science Journal.* Vol. (12): 59-69.



Annexes

Annexe 01 :

Verreries et matériel	
- Pipettes Micro pipette (1000 µl, 200 µl)	- Tube en plastiques citrates
- Tubes à essai	- Eprouvette graduées
- Flacons (250 ml)	- Papier filtre (0.45µm).
- Erlenmeyer	- Burette graduée
- Bêchers	- Cuve en verre
- Spatule	- Embouts
- Para film	- Fioles
Papier d'aluminium	- Tubes secs à bouchons
- Entonnoir en verre	- Flacons en verre ambré
- Compte-gouttes	- Papier film
	- Porte tube à essai
	- écoviont

Annexe02 :

Les réactifs	
- Méthanol CH ₃ CH ₂ OH	- Acide sulfurique (H ₂ SO ₄)
- L'eau distillée	- Folin-Ciocalteu
- Acide chlorhydrique(HCl)	- Acide gallique
- Hydroxyde de sodium (NaOH)	- Aide ascorbique
- chloroforme	- Carbonate de sodium (Na ₂ CO ₃)
- Chlorure de fer (FeCl ₃)	- Acide sulfurique
- Hydroxyde l'ammonium (NH ₄ OH)	- Le chlorure d'aluminium
	-Limailles de Magnésium
	- Réactif de fehling

ANNEXES

Annexe 03 : préparation des solutions et réactifs pour l'analyse biochimique.

➤ Folin-Ciocalteu

Folin Ciocalteu.....	1ml
Eau distillée.....	9ml

➤ Carbonate de Sodium

Carbonate de Sodium.....	7.5g
Eau distillée.....	100ml

➤ DPPH

DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl).....	0.025g
Méthanol.....	1000ml

➤ L'acide ascorbique

Acide ascorbique.....	0.5mg
Méthanol.....	1ml

➤ L'acide gallique

Acide gallique.....	1mg
Méthanol.....	10ml

Annexe04 :Appareillages de laboratoire



Spectrophotomètre



Rota vapeur



Etuve



Bain marie



Balance



Agitateur



Plaque
chauffante



Moulin à café



pH-mètre

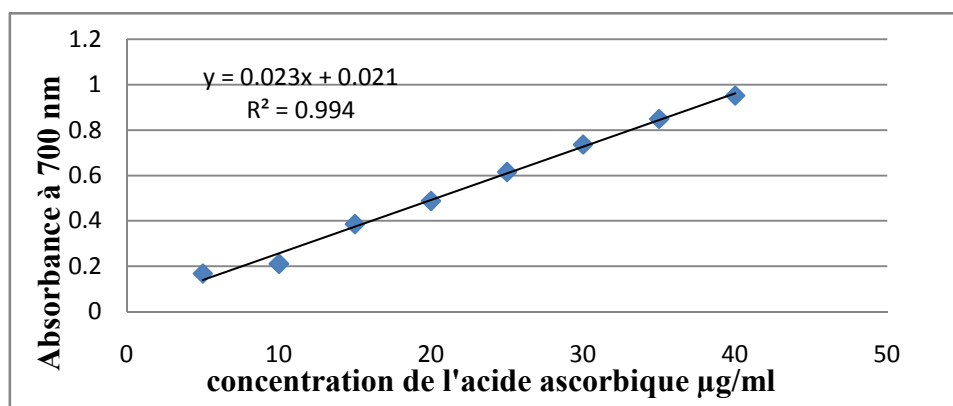


vortex



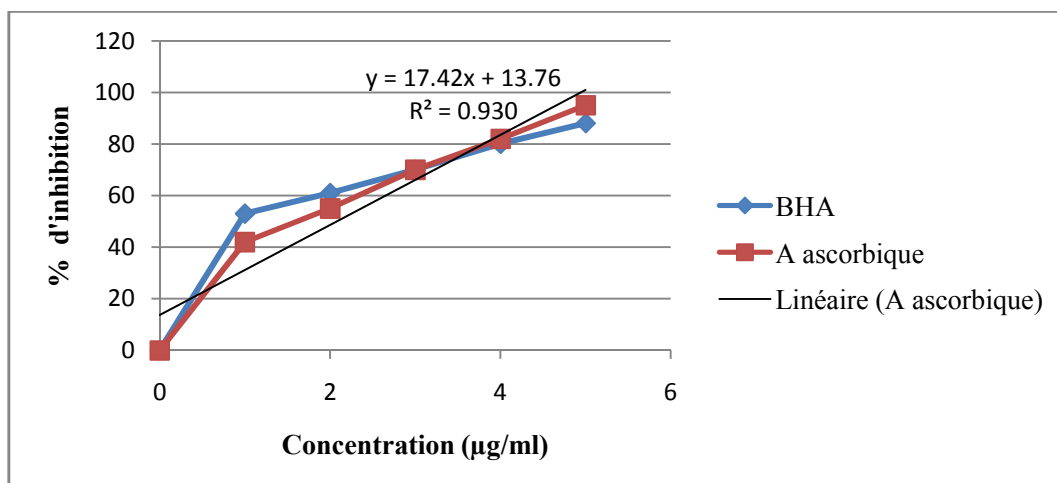
micropipette

Annexe 5



Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour l'évaluation du pouvoir réducteur.

Annexe6



Effet scavenging des standards (BHA et Acide ascorbique) contre le radical DPPH à différentes concentrations.

Annexe 07**Comparaisons multiples**

Variable dépendante: IC50

LSD

(I) Extrait	(J) Extrait	Différence des moyennes (I- J)	Erreur standard	Sig.	Intervalle de confiance à 95%	
					Borne inférieure	Limite supérieure
EXM	CLR	-1,2300*	0,21728	0,000	-1,7034	-0,7566
	ASC	0,2213	0,21728	0,328	-,2521	0,6947
CLR	EXM	1,2300*	0,21728	0,000	0,7566	1,7034
	ASC	1,4513*	0,21728	0,000	0,9779	1,9247
ASC	EXM	-0,2213	0,21728	0,328	-0,6947	0,2521
	CLR	-1,4513*	0,21728	0,000	-1,9247	-0,9779

En fonction des moyennes observées.

- Le terme d'erreur est Carré moyen(Erreur) = ,142.
- La différence des moyennes est significative au niveau 0,05.