

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الجيلالي بونعامة خميس مليانة
Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences de la Matière



Mémoire de fin d'étude
En vue de l'obtention d'un diplôme de
Master : En chimie

Spécialité : chimie pharmaceutique et substances naturelles

Thème :

***Contribution à la caractérisation physico-chimique et
microbiologique de l'extrait de gingembre.
Préparation d'une teinture à base de gingembre et l'étude
de son activité antiseptique et cicatrisante.***

Devant le jury composés de :

- ✓ Mme REZALA.HPrésidente
- ✓ Mr HAMMOUDI.MEncadreur
- ✓ M^{elle} BOUDERGUA.SExaminatrice

Présenté par :

M^{elle} BOUMAZOUNA Meriem

M^{elle} GUENNAD Hiba

Année universitaire :2016 / 2017

Je dédie ce mémoire

Aux êtres les plus chers : Mes parents,

A mon père,

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils.

A ma mère,

Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie.

A mes chères sœurs,

Leila et ses enfants "Wael et Nihal", Hadjer et sa fille "Maram", Hiba, Nadia et Mi-zolla, A mon frère Mohamed pour lui exprimer toute mon affection et ma tendresse.

Spéciale dédicace à mon fiancé "Boooooob" pour sa bonté, sa générosité de cœur et son aide si précieuse qui a rendu possible la soutenance de ce mémoire.

A l'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie

A mes très chers parents

*En témoignage de ma reconnaissance pour leur patience,
Leurs sacrifices et leur soutien tout au long de mes études.*

Qu'Allah leurs prête santé.

A mes sœurs,

Racha, Malak, Chaima

A mon frère,

Abd-el-malek

*En témoignage de mon affection et ma reconnaissance pour leurs
encouragements*

*A tous mes amis et collègues en témoignage de mes sentiments les
meilleurs*

Spéciale dédicace à mon Mari " Samir "

A tout le groupe de ma promotion

A tous ceux que j'aime, sans lesquels tout ceci n'aurait aucun sens.

Tout d'abord, Nous remercions DIEU créateur de l'univers et maître des destinées, pour avoir permis à la mienne de suivre la bonne voie, celle de la foi et du savoir, et pour nous avoir guidés et soutenus lors de l'élaboration de cet humble travail.

Mes plus vifs remerciements s'adressent à notre promoteur Mr, HAMMOUDI.M., Pour son aide, Sa patience, Sa disponibilité, et Sa compréhensibilité.

Nous exprimons nos sincères remerciements à Madame REZALA H., Maître de conférences, d'avoir accepté de présider le jury.

Remerciement tout particuliers également à Mademoiselle BOUDERGUA S., Enseignante à l'Université de Khemis Miliana, pour l'intérêt qu'elle a bien voulu nous porter en acceptant de participer au jury.

Mes plus vifs remerciements vont à tout le groupe de SAIDAL -Médéa Les ingénieures des laboratoires physico-chimique, microbiologique et toxicologique.

A tous

*Les ingénieurs de laboratoire génie des procédés et laboratoire
d'analyse de l'université de Khemis Miliana*

*Et Les enseignants de la faculté des sciences et de la technologie et
surtout les enseignants du département des sciences de matière.*

En fin,

*Nous remercions, de tout cœur, tous ceux qui ont contribué de près ou de
loin à la réalisation de ce travail.*

ملخص:

تهدف هذه الدراسة إلى إبراز الكمون الوقائي لنبته الزنجبيل كمطهر للجروح السطحية، حيث قمنا بدراسة الخصائص الفيزيوكيميائية والمكروبيولوجية للنبته، متبوعه بتحضير مستحضر صيدلاني " صبغة طبية " من خلال نقع بودرة الزنجبيل في الكحول. بعد ذلك قمنا بدراسة تطبيقية على مجموعة من الأرانب، وأخيرا تحققنا بأن للزنجبيل قدرة على شفاء الندبات.

الكلمات المفتاحية: الزنجبيل، مطهر، الصبغة الطبية، الندبات.

Résumé

Cette étude, a pour but de révéler le potentiel préventif de gingembre comme un antiseptique pour les plaies superficielle, d'où on a étudié les caractéristiques physico-chimiques et microbiologique de la plante, suivie par une préparation pharmaceutique d'une teinture à base de la poudre du gingembre qui macérait dans l'éthanol. En parallèle on a soumis une étude pratiquée sur les lapins, afin de confirme l'activité cicatrisante de zingiber officinale.

Mots clés : gingembre, teinture, antiseptique, cicatrisante.

Abstract

The main goal of this study is to reveal the potential preventive ginger officinal as an antiseptic for the superficial wounds hence we studied the physicochemical and microbiological characteristic of the plant, followed by dyeing pharmaceutical preparation based on ginger powder, which secreted in ethanol. In parallel, we submitted a practical study on rabbits for confirming the healing activity of ginger officinal.

Key words: ginger, dyeing, antiseptic, healing.

Tableau (1.1) : Différentes appellations de gingembre en plusieurs langues	04
Tableau (1.2) : Classification botanique du gingembre	06
Tableau (1.3) : Valeurs nutritionnelles du gingembre	07
Tableau (1.4) : Les principaux pays producteurs du gingembre	10
Tableau (3.1) : Les différents rendements obtenus.....	34
Tableau (3.2) : Densité relative de l'huile de gingembre à T = 23°C.....	35
Tableau (3.3) : Résultat du taux d'humidité	36
Tableau (3.4) : Les cendres.....	37
Tableau (3.5) : Résultat de l'indice de réfraction.....	40
Tableau (3.6) : Résultats des Indices	43
Tableau (3.7) : Résultat de vitamine (C).....	44
Tableau (3.8) : Résultats de l'FTIR	48
Tableau (3.9) : Les résultats de l'Ultra- violet.....	50
Tableau (3.10) : Résultats du HPLC	53
Tableau (3.11) : Résultats de la CCM.....	53
Tableau (3.12) : Les différentes souches bactériennes utilisées.....	58
Tableau (3.13) : Diamètres d'inhibitions des souches par les différentes concentrations de notre extrait de gingembre.....	59
Tableau (3.14) : Les valeurs de D.O de S. aureus et Bacillus par différentes concentrations de notre extrait séché dans l'éthanol de gingembre.....	62
Tableau (4.1) : Composition de teinture (gingembre officinale)	63
Tableau (4.2) : Document de références d'extrait de gingembre	65
Tableau (4.3) : Résultat d'analyse d'extrait de gingembre (poudre dans l'éthanol).....	66
Tableau (4.4) : Résultat d'analyse d'alcool éthylique	67
Tableau (4.5) : Résultat d'analyse d'eau purifiée.....	68
Tableau (4.6) : Résultat de la CCM.....	69
Tableau (4.7) : Résultat de HPLC.....	70
Tableau (4.8) : Diamètres d'inhibitions des souches par les différents composants.....	71

Liste des Tableaux

Tableau (4.9) : Résultat d'analyse de teinture officinale.....	72
Tableau (4.10) : Récapitulatif des pourcentages de rétrécissement des plaies.....	77

Figure (1.1) : Feuilles, fleurs et rhizome frais du gingembre	05
Figure (1.2) : Quelques structures de l'huile essentielle du gingembre.....	08
Figure (1.3) : Principaux constituants actifs du gingembre.....	09
Figure (1.4) : Quelques diarylheptanoides du gingembre et leurs effets pharmacologiques.....	09
Figure (2.1) : Procédés de transformation des plantes médicinales.....	19
Figure (2.2) : Classification des plaies cutanées selon la profondeur.....	25
Figure (2.3) : Guérison d'une plaie par première et seconde intention.....	27
Figure (3.1) : Montage d'hydrodistillation.....	30
Figure (3.2) : Extraction par soxhlet.....	31
Figure (3.3) : Macération par différents solvants.....	32
Figure (3.4) : Appareille de Rotavapor.....	32
Figure (3.5) : Les différents Oléorésines obtenue par macération	33
Figure (3.6) : Polarimètre.....	38
Figure (3.7) : Indice de Réfraction.....	38
Figure (3.8) : Dispositif du Réfractomètre d'ABBE.....	39
Figure (3.9) : Spectre FTIR de l'extrait de gingembre poudre obtenu par macération dans l'éthanol.....	47
Figure (3.10) : Spectre FTIR de l'extrait de gingembre poudre obtenu par macération dans l'acétone.....	48
Figure (3.11) : Spectre FTIR de l'extrait de référence.....	48
Figure (3.12) : Spectre HPLC de l'extrait de gingembre poudre obtenu par macération dans l'acétone.....	51
Figure (3.13) : Spectre HPLC de l'extrait de gingembre poudre obtenu par macération dans l'éthanol.....	51
Figure (3.14) : Spectre HPLC de l'extrait de référence.....	52
Figure (3.15) : Spectre HPLC de l'extrait de référence 6-gingérol.....	52
Figure (3.16) : Chromatographie sur couche mince (CCM) de la phase 1.....	55

Liste des Figures

Figure (3.17) :Chromatographie sur couche mince(CCM)de phase 2.....	56
Figure (3.18) :Diamètres d'inhibitions des souches par les différentes concentrations de notre extrait de gingembre.....	59
Figure (3.19) : Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide.....	61
Figure (4.1) :CCM de teinture officinale.....	69
Figure (4.2) :Spectre HPLC de teinture officinale de gingembre poudre obtenu par macération dans l'éthanol.....	70
Figure (4.3) :Les lapins utilisés au cours de l'expérience.....	73
Figure (4.5) :Photo des plaies traitées avec la teinture.....	74
Figure (4.6) :Photo des plaies traitées avec extrait de gingembre sec dans l'éthanol.....	75
Figure (4.7) :Photo des plaies traitées avec la teinture industrielle.....	76
Figure (4.8) :Photo des plaies traitées avec (Ethanol+eau purifiée).....	76
Figure (4.9) :Photo des plaies non traitées.....	77
Figure (4.10) :Langueurs des fissures en fonction de temps (jrs).....	78

Analgésique : en médecine, qui rend insensible à la douleur.

Antalgique : en pharmacologie, calmant la douleur.

Antiarthritique : en médecine, pour combattre l'arthrite.

Antibactérien : en biologie, prévenant ou combattant les bactéries, l'infection bactérienne.

Anticancéreux : en pharmacologie, qualifie une thérapeutique destinée à lutter contre la prolifération cancéreuse.

Antiémétique : en pharmacologie, propre à combattre les vomissements.

Antifongique : qui détruit les champignons ; en pharmacologie, luttant contre les infections par les champignons.

Anti-inflammatoire : en pharmacologie, propre à combattre l'inflammation.

Antimicrobien : en biologie, prévenant ou combattant l'infection microbienne.

Antioxydant : composé qui protège les cellules du corps des dommages causés par les radicaux libres. (Ces derniers sont des molécules très réactives qui seraient impliquées dans le développement des maladies cardiovasculaires, de certains cancers et d'autres maladies liées au vieillissement.)

Antiparasitaire : en pharmacologie, qualifie une substance capable de lutter contre des parasites externes ou internes.

Antipyrétique : (fébrifuge) en pharmacologie, réduisant la fièvre.

Antirhumatismaux : en pharmacologie, prévenant ou combattant les rhumatismes.

Antiseptique : Ce qui détruit les microbes et évite l'infection.

Anti-tumoral : en pharmacologie, qui permet de lutter contre les tumeurs.

Antiviral : en biologie, combattant les virus.

Cholagogue : en médecine, qualifie une substance à effet cholérétique, évacuant la bile.

In vitro : Biologie qui se fait hors de l'organisme vivant, dans un milieu artificiel.

In vivo : Biologie qui se fait dans le milieu de l'organisme vivant.

Les leucotriènes : sont des lipides, appartenant à la famille des eicosanoïdes. Ils sont le produit de l'action de lipoxygénases sur l'acide arachidonique.

Métabolites secondaires : Les métabolites secondaires sont un groupe de molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux, la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits.

pH: potentiel d'hydrogène mesure l'activité chimique des ions Hydrogènes (H^+) (appelés aussi couramment protons) en solution.

Liste des abréviations

- A.M.M** : Autorisation de la mise en marche.
- Abs** : Absorbance.
- AFNOR** : l'Association Française de Normalisation.
- ATCC**: American Type Culture Collection.
- B.S** : Bouillon de soja.
- BHT** : Butylhydroxytoluène.
- CCM** : Chromatographie sur couche mince.
- CMI** : Concentration minimale d'inhibition.
- D.O** : densité optique.
- DCI** :Dénomination commune internationale.
- DL50** : Dose létale pour 50% des animaux de l'expérience.
- FAO** : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.
- FTIR** : Spectrométrie Infrarouge à transformée de Fourier.
- G.S** : Gélose de soja triptyque
- GB** : Globule blanc.
- GR** : Globule rouge.
- H (%)** : Taux d'humidité.
- HE** : huile essentielle.
- HPLC** : Chromatographie liquide a haute performance.
- HTA** : Hypertension artérielle
- M** : Molarité.
- max** : maximal
- N** : Normalité.
- nm** : nanomètre.
- P** : Pression.
- PE** : pharmacopée européenne.
- pH** : potentiel d'hydrogène.
- ppm** : Partie par million.
- QSP** : Quantité suffisante pour.
- Rf**: Rapport frontal.
- ROS**:Reactiveoxygenspecies.
- T** : Température.
- T_R**: Temps de rétention.

Liste des abréviations

UV : Ultra-Violet.

VIH : Le virus de l'immunodéficience humaine.

Vit : Vitamine.

λ : Longueur d'onde.

Table de matière

Dédicace	
Remercîments	
Résumé	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Glossaire	
Abréviations	
Introduction.....	01

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur le gingembre

1.1.	Botanique de gingembre	04
1.1.1	Historique.....	04
1.1.2.	Etymologie	04
1.1.3.	Description	05
1.1.4.	Classification de gingembre	06
1.1.5.	Principaux constituants.....	06
1.1.6.	Culture et production du gingembre	10
1.1.7.	Pharmacologie de la plante	10
1.1.7.1.	Propriétés pharmacologiques	11
1.1.7.2.	Propriétés biologiques.....	12
a)	Propriété anti oxydante	12
b)	Propriété anti bactérienne	12
c)	Propriété anti inflammatoire	13
1.1.8.	Formes pharmaceutiques de gingembre	13
1.1.9.	Toxicité de gingembre	13
1.2.	Les huiles essentielles.....	14

Table de matière

1.1.2.	Définition	14
1.2.2.	Caractéristique physico-chimique des huiles essentielles	14
1.2.3.	Les procédés d'extractions des huiles essentielles.....	15
1.2.3.1.	Extraction par hydro distillation	15
1.2.3.2.	Extraction par des solvants organiques.....	15
1.2.3.3.	Extraction au CO ₂ supercritique.....	16
1.2.4.	Activités antimicrobiennes des huiles essentielles	16

Chapitre 2 :Teinture officinale et la physiopathologie des plaies

2.1.	Généralité sur la teinture	18
2.1.1.	Définition.....	18
2.1.2.	Production.....	19
2.1.2.1.	Production par percolation.....	20
2.1.2.2.	Production par macération.....	20
2.1.3.	Les teintures mères.....	20
2.1.4.	Préparation et usage.....	20
2.1.5.	Stabilité de la teinture.....	21
2.1.5.1.	Qu'est ce que la stabilité et date limite d'utilisation d'un médicament.....	21
2.5.1.2.	Principales causes d'altération d'un médicament.....	22
2.2.	Physiopathologie des plaies	23
2.2.1.	La Peau.....	23
2.2.1.1.	Epiderme	23
2.2.1.2.	Derme.....	23
2.2.1.3.	Hypoderme.....	24
2.2.2.	Définition	24
2.2.3.	Cause des plaies.....	24
2.2.4.	Classification des plaies.....	24
2.2.5.	Profondeur de la plaie.....	24
2.2.5.1.	Premier degré.....	24
2.2.5.2.	Deuxième degré.....	25

Table de matière

2.2.5.3.	Troisième degré.....	25
2.2.6.	Nature de la plaie.....	25
2.2.7.	Processus de guérison des plaies.....	26
2.2.7.1.	Phase inflammatoire.....	26
2.2.7.2.	Phase proliférant.....	26
2.2.7.3.	Phase de remodelage.....	26
2.2.8.	Méthode d'étude expérimentale de l'activité cicatrisante (<i>in vivo</i>).....	27

Partie expérimentale

Chapitre 3 : Identification physico-chimique et microbiologique

3.1.	Méthodes d'extractions.....	29
3.1.1.	Extraction par hydro distillation.....	29
3.1.2.	Extraction par soxhlet.....	30
3.1.3.	Extraction par macérationna froid.....	31
	- Calcul de rendement	33
3.2.	Caractérisations générales de l'huile de gingembre.....	35
3.2.1.	Caractéristiques organoleptiques de l'huile	35
3.2.2.	Caractéristiques physiques de l'huile (Oléorésine).....	35
3.2.2.1.	La densité relative de l'huile de gingembre	35
3.2.2.2.	Taux d'humidité (méthode de perte à la dessiccation).....	36
3.2.2.3.	Calcination (les cendres).....	36
3.2.3.	Caractéristiques physico-chimiques de l'huile (Oléorésine).....	37
3.2.3.1.	PH de l'huile (Oléorésine) et l'extrait brut.....	37
3.2.3.2.	Pouvoir Rotatoire α_D^t	37
3.2.3.3.	Indice de Réfraction	38
3.2.4.	Caractéristiques Chimiques de l'oléorésine.....	40
3.2.4.1.	Indices Chimiques.....	40

Table de matière

a)	Indice de Saponification.....	40
b)	Indice d'Acide.....	41
c)	Indice d'Ester.....	42
3.2.4.2.	Analyse de la vitamine «C»	43
3.2.4.3.	Les tests limites (Essais des impuretés inorganiques)	44
a)	Arsenic	44
b)	Les métaux lourds.....	46
3.2.5.	Tests spectrophotométriques.....	47
3.2.5.1.	Spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	47
3.2.5.2.	Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet visible.....	49
3.2.5.3.	La chromatographie liquide a haute performances (HPLC).....	50
3.2.5.4.	Chromatographie sur couche mince (CCM)	54
	- Conclusion	
3.2.6.	Test microbiologique	58
3.2.6.1.	Détermination des zones d'inhibition en milieu solide	59
	- Résultats	
3.2.6.2.	Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide.....	60
	- Résultats	

Chapitre 4 : Teinture de gingembre officinale

4.1.	Présentation de la teinture.....	63
4.1.1.	Forme.....	63
4.1.2.	Composition	63
4.1.3.	Indication thérapeutique.....	63
4.1.4.	Précautions d'emploi.....	64
4.1.5.	Conservation.....	64
4.1.6.	Posologie.....	64
4.1.7.	Mode et voie d'administration.....	64
4.1.8.	Durée du traitement.....	64
4.1.9.	Description des effets indésirables.....	64
4.2.	Identification de la composition de teinture.....	64
	- Document de références (Extrait de gingembre)	65

Table de matière

- Certificat d'analyse (Extrait de gingembre).....	66
- Certificat d'analyse (Alcool éthylique).....	67
- Certificat d'analyse (Eau purifiée).....	68
4.3. Préparation de la teinture.....	68
4.4. Caractérisation de Teinture.....	69
4.4.1. Chromatographie sur couche mince.....	69
4.4.2. Chromatographie liquide a haute performance(HPLC).....	70
4.4.3. Tests microbiologie.....	71
- Certificat d'analyse de teinture.....	72
4.5. Activités biologiques.....	72
4.5.1. Activité antiseptique et anti-cicatrisante(<i>in vivo</i>).....	73
4.5.1.1. Plaies traitées avec la teinture	73
4.5.1.2. Plaies traitées avec extrait de gingembre sec dans l'éthanol	73
4.5.1.3. Plaies traitées avec teinture industrielle.....	74
4.5.1.4. Plaies traitées avec le mélange 70ml d'éthanol+30ml eau purifiée.....	75
4.5.1.5. Plaie non traitée.....	75
4.5.2. Récapitulatif des longueurs de rétrécissement des plaies.....	76
Conclusion	79

Références bibliographiques

Annexes

Louange à ALLAH, à lui nous nous repentons et sur lui nous comptons et suivant sa voie.

Depuis la nuit des temps, il y'a toujours eu la maladie et le remède notre prophète Mohamed QSSSL a dit «ALLAH n'a "envoyé " de maladie que n'a envoyé son remède » citation de ELBOUKHARI.

L'homme n'avait autre choix que d'essayer et de chercher dans ce qu'ALLAH lui a affecté parmi les animaux et les végétaux afin de découvrir le remède des maladies et survient alors la guérison avec la grâce d 'ALLAH.

Les herbes étaient principalement employées pour la thérapie durant les derniers millénaires. Avec la succession des civilisations et des générations, la science s'est développée considérablement, ainsi la médecine a franchi des étapes décisives pour contrer les défis et enrayer plusieurs pathologies endémiques, telles la peste, la rage et la tuberculose entre autres.

Une plaie est définie comme une interruption dans la continuité d'un tissu du corps, une rupture de la barrière cutanée. La guérison d'une plaie cutanée est un processus dynamique coordonné qui implique la multiplication cellulaire, la migration cellulaire active et la production de matrice extracellulaire [1,2].

Cependant, cette avancée scientifique a fait découvrir et développée des matières chimiques dont les effets secondaires pourraient présenter des dangers qui vont de pair avec ses vertus thérapeutiques.

Pour cela il était du devoir des chercheurs de trouver d'autres issues, afin de réduire et d'annihiler les effets secondaires ; ces chercheurs sont retournés à la médecine originelle pour en extraire des médicaments en toute quiétude.

La médecine traditionnelle reste une option à grande potentialité thérapeutique des plaies de façon générale. De nombreux travaux ont démontré que les plantes utilisées comme cicatrisant et antiseptique possèdent des propriétés d'activation du système immunitaire ; cette activation serait le mécanisme de guérison des plaies.

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à la plante de gingembre (el zanjabile), son extraction, caractérisation et utilisation.

Ce choix a été dicté par le fait que :

- Le gingembre est cité dans le coran et aussi dans le hadith du prophète.

- L'huile essentielle de gingembre connaît diverses utilisations dans différents domaines industriels : pharmaceutique, cosmétique et alimentaire.

La plante de gingembre fraîche ou sèche connaît actuellement une très grande utilisation par une large partie de la population partout dans le monde.

Le fait qu'il soit cité dans le coran indique qu'il est doté de vertus aux pouvoirs curatifs non encore mises à jour.

Problématique

❖ Es est que le gingembre ayant un pouvoir antiseptique et cicatrisant ?

Notre travail est composé de cinq parties :

- Une partie théorique comprenant deux chapitres, (Généralités sur le gingembre) et (teinture officinale et physiopathologie des plaies).
- Une partie expérimentale est consacrée à :
 1. L'obtention de l'huile de gingembre « poudre, frais et sèche » par différentes méthodes d'extraction (Hydro-distillation, macération par différents solvants et soxhlet).
 2. Les caractérisations physico-chimiques de ces huiles.
 3. L'étude qualitative des principaux constituants de ces huiles par la méthode chromatographique liquide à haute performance (HPLC), chromatographie sur couche mince (CCM), Spectrométrie Infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) et ultra-violet (UV).
- Une partie de la microbiologie pour chercher les diamètres de la zone d'inhibition et la CMI de l'huile sur différentes souches bactériennes.
- Une partie de l'utilisation de l'huile de gingembre pour préparer une teinture pharmaceutique.
- Application cutanée pour à voir l'impact de teinture on réalisant des tests biologiques (*in vivo*) sur les lapins.

Chapitre 1 : Généralités sur le gingembre

L'utilisation des plantes médicinales à des fins thérapeutiques est une pratique aussi vieille que l'histoire de l'humanité. D'après les données archéologiques et anthropologiques, cette pratique remontait à l'âge paléolithique moyen il y a quelque soixante mille ans. L'homme, poussé par sa curiosité, fut tenté de goûter à tout ce qui lui tombait sous la main, s'exposant ainsi à de cuisantes confrontations aux immenses pouvoirs de créatures végétales apparemment inoffensives. Au fil des siècles, apprenant à distinguer le comestible du mortel, à se servir des substances toxiques aux dépens de leurs ennemis, à reconnaître les vertus curatives cachées dans leur environnement naturel, nos ancêtres nous ont légué une longue chaîne de savoirs traditionnels dont l'ensemble constitue la médecine traditionnelle actuelle. L'expression «médecine traditionnelle» se rapporte aux pratiques, méthodes, savoirs et croyances en matière de santé qui impliquent l'usage à des fins médicales de plantes, de parties d'animaux et de minéraux, de thérapies spirituelles, de techniques et d'exercices manuels, séparément ou en association, pour soigner, diagnostiquer et prévenir les maladies ou préserver la santé. Selon les estimations de l'organisation mondiale de la santé, plus de 80 % de la population mondiale, surtout dans les pays sous-développés, ont recours aux traitements traditionnels pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaires [3-6].

Malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne, les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement d'une multitude d'affections et de maladies dans les différentes sociétés et cultures, y compris dans les pays développés. Dans ces pays, les adaptations de la médecine traditionnelle sont appelées médecine parallèle, complémentaire, alternative ou non conventionnelle [3,7].

Le gingembre (*Zingiber officinale*) a été utilisé comme épice pour plus de 2000 ans. Le rhizome de gingembre est connu pour sa contribution à la nourriture et dispose d'un potentiel antioxydant. Aujourd'hui, les pharmacopées de différents pays utilisent l'extrait du gingembre pour de nombreuses applications thérapeutiques [8,9].

1.1. Botanique de gingembre

1.1.1. Historique

Le gingembre entrain déjà dans la composition des techniques de momification pratiquées dans l'Égypte antique. Cette plante condimentaire et médicinale depuis plus de 3000 ans est originaire de l'Inde. De là, le gingembre s'est ensuite rapidement répandu grâce à son commerce à partir de toute l'Asie du Sud-Est, jusqu'en Afrique de l'Ouest et aux Caraïbes. Cette épice orientale a probablement traversé la première fois la mer Méditerranée grâce aux Phéniciens pour gagner l'Europe durant l'Empire romain dès le 1er siècle. Le gingembre est une des plus anciennes plantes connues par le peuple, et il est aussi l'une des premières épices orientales. Plusieurs revues ont été publiées dans la littérature à propos de cette plante, ce qui peut refléter la popularité de son utilisation comme une épice et une plante médicinale[10-12].

1.1.2. Etymologie

Tableau (1.1) : Différentes appellations de gingembre en plusieurs langues [13].

LANGUE	APPELLATION
Arabe	زنجبيل, zanjabile
Française	Gingembre
Anglaise	Ginger
Espagnol	Jengibre
Allemand	Ingwer
Provenç	gingebre, gingibre, gingiebre
Japonais	Shōga
Kannada	Sunthi

1.1.3. Description

Plante vivace tropicale herbacée mesurant jusqu'à 3m de haut. La partie souterraine utilisée est le rhizome, celui-ci se divise dans un seul plan et il est constitué de tubercules globuleux ramifiés [10].

Son rhizome est noueux et parfumé, peau beige pâle, chair jaune pâle juteuse et parfumée, il devient de plus en plus fibreux avec l'âge, couvert de feuilles écailleuses et pourvu à sa partie inférieure de racines cylindriques. Ses feuilles sont persistantes bisériées, longues, étroites, lancéolées, pointues et longues de 20cm. Il y a deux sortes de tiges, tiges hautes stériles servant à l'assimilation chlorophyllienne et des tiges plus courtes (20cm environ) portant des fleurs irrégulières en épi. L'inflorescence est en cours épis axillaires très serrés, à tige couverte d'écailles. Elle a des fleurs parfumées blanches jaunes, avec des traînées rouges sur les lèvres Figure (1.1). La floraison a lieu entre les mois d'août et novembre. Ses fruits sont des capsules trivalves contenant des graines noires [14].

Sur le marché, le gingembre se présente sous deux formes, le blanc (pelé) et le noir (non pelé). Son nom populaire au Maghreb est «Skendjbir» une déformation de «Zandjabil» qui est la forme arabisée de «Singabera» son nom «Pâli» (langue ancienne de l'Inde). Le médecin grec Dioscoride croyait que le gingembre était importé d'Arabie [15].

Le gingembre est l'une des épices les plus connues et des plus populaires. C'est une plante qui épuise beaucoup le sol. Il est cultivé surtout en Inde, principal pays producteur (plus de 50%), mais aussi au Sri Lanka, en Chine, au Japon, en Jamaïque, au Nigéria, en Amérique du Sud, en Australie, ... Le produit commercial est préparé à partir de ces rhizomes déterrés quand les parties supérieures de la plante se fanent. Dans les pays producteurs, les rhizomes sont consommés à l'état frais [16].



Figure (1.1) : Feuilles, fleurs et rhizome frais du gingembre [16].

1.1.4. Classification de gingembre

Tableau (1.2) : Classification botanique du gingembre [10 ,14].

Nom français	Gingembre commun
Autres noms utilisés	épice blanche, ginger, genjanb
Nom latin	Zingiber officinale (Roscoe)
Règne	Plantae
Sous règne	Trachéobionta
Division	Angiospermes(ou Magnoliophyta)
Classe	Liliopsida (ou Monocotylédones)
Sous classe	Zingibéridéés
Ordre	Zingiberales(ou Scitaminales)
Famille	Zingibéracées
Sous famille	Zingibéroïdes
Genre	Zingiber

1.1.5. Principaux Constituants

Des études photochimiques innombrables ont montré que le rhizome du gingembre renferme une grande variété de composés biologiques actifs et que leur rapport et la concentration varient selon la saison, le lieu, la période de la récolte et si les rhizomes sont frais ou secs . Comme cela est le cas avec beaucoup d'autres préparations à base de plantes, les extraits du gingembre sont des mélanges complexes de constituants biologiquement actifs. Plus de 400 composés chimiques ont été isolés et identifiés dans les extraits de rhizome de gingembre et de nouveau le neuf sont toujours en train d'être détectés [12, 17-18].

Partie Bibliographique

Les valeurs nutritionnelles du gingembre sont listées dans le tableau (1.3) ci-dessous :

Tableau (1.3): Valeurs nutritionnelles du gingembre [10].

Racine de gingembre, brut (Valeur nutritive pour 100g)	
Hydrate de carbone	1.77 g
Energie	20 Kcal
Sucre	1.7 g
Fibres alimentaires	2 g
Graisses	0.75 g
Protéines	1.82 g
Vitamine C	5 mg
Acide folique (Vit, B9)	11 µg
Pyridoxine (Vit, B6)	0.16 mg
Niacine (Vit, B3)	0.075 mg
Acide pantothénique (Vit, B5)	0.203 mg
Thiamine (Vit, B1)	0.025 mg
Riboflavine (Vit, B2)	0.034 mg
Calcium	16 mg
Magnésium	43 mg
Potassium	415 mg
Zinc	0.34 mg
Phosphore	34 mg
Fer	0.6 mg

Le rhizome, très riche en amidon (60 %), renferme des protéines, des graisses de types acides oléique et linoléiques (10 %), de l'huile essentielle (à raison de 10 à 25 ml/kg de rhizome), un complexe oléorésineux (qui contient des composés non volatils et une enzyme, la zingibaine).[8]

L'odeur du gingembre dépend principalement de son huile volatile, dont le rendement varie de 1 % à 3 %. Plus de 50 composants de l'huile ont été caractérisés et ceux-ci sont principalement des composés monoterpéniques [β -phellandrène, (+)camphène, cinéole, géraniol, curcumène, citral, terpinéol, bornéol] et sesquiterpéniques [α -zingibérène (30-70

Partie Bibliographique

%), β -sesquiphellandrène (15-20 %), β -bisabolène (10-15 %), (E-E)- α -farnésène, ar-curcumène, zingibérol]. Certains des composés de l'huile sont convertis en composés moins âcre après dessiccation. L'âcreté du gingembre frais est due principalement aux gingérols, qui sont une série homologue de phénols dont le plus abondant est le [6]-gingérol. L'âcreté du gingembre sec résulte principalement de shogaols (Par exemple, le [6]-shogaol), qui sont des formes déshydratées des gingérols, les shogaols sont formées à partir du gingérol correspondant au cours du traitement thermique, ou de stockage [19-22].

Les gingérols sont une série d'homologues chimiques différenciés par la longueur de leur chaîne alkyle non ramifiée, (3-6)-, (8)-, (10)-, et (12)-gingérol, ayant une chaîne latérale avec 7-10, 12, 14, ou 16 atomes de carbone, respectivement [17].

Certains appartiennent à la famille des vanilloïdes, ils sont accompagnés de gingédiols, de zingérones, de déhydro-zingérones, de paradols, de cétones et d'esters correspondants.

Les constituants phytochimiques âcres et non-volatils du gingembre comprennent les composants biologiquement actifs, prédominés par le gingérol, le shogaol, le paradol et le zingérone [10].

Les constituants du gingembre sont nombreux et varient selon l'origine de la plante et état fraîche ou séchée et les méthodes d'extraction. Seulement il est réputé de renfermer une grande quantité d'amidon qui est au environ de 45%, et parfois plus [23].

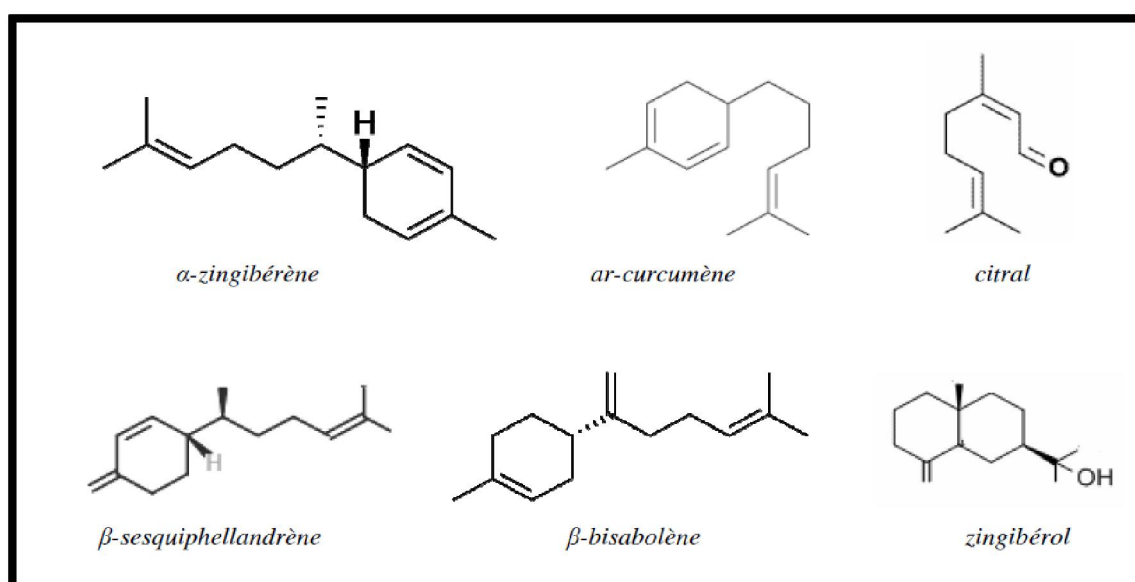


Figure (1.2) : Quelques structures de l'huile essentielle du gingembre [23].

Partie Bibliographique

Le goût piquant du gingembre frais est dû principalement aux gingérols Figure (1.3) qui sont des séries d'homologues des phénols. Le plus abondant est le (6)-gingérol, mais il y a aussi de petites quantités d'autres gingérols avec différentes longueurs de chaîne. Alors que le goût piquant du gingembre sec est dû aux shogaols Figure (1.3), qui sont les composés déshydratés des gingérols. Les shogaols sont formés durant le traitement thermique de la plante. La formation de ces composés dépend du pH (avec une grande stabilité à pH=4), cependant à 100°C et à pH=1 la dégradation réversible est relativement rapide [12, 24,25].

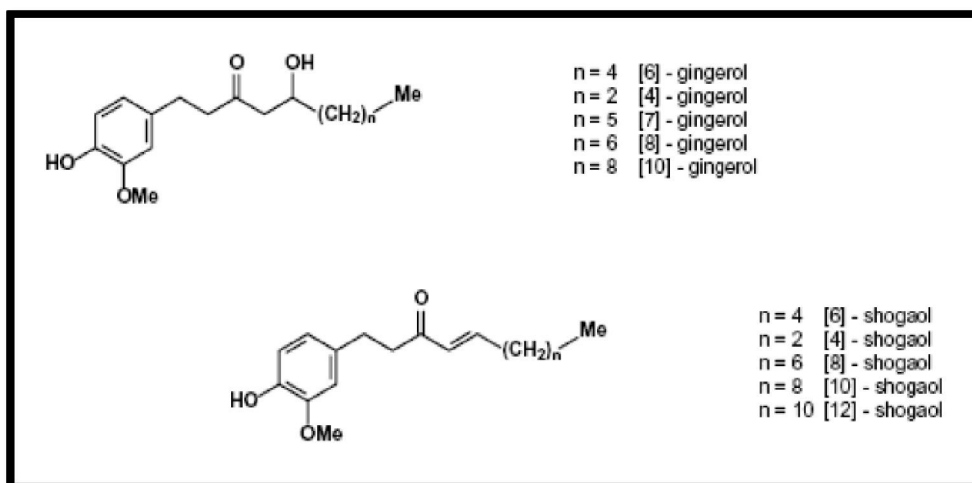


Figure (1.3):Principaux constituants actifs du gingembre[10].

D'autres molécules caractéristiques de la famille des *Zingiberaceae*, les diarylheptanoïdes Figure (1.4) ont été isolés des extrais du gingembre, certains d'entre eux ont fait l'objet d'études pharmacologiques [12,26-29].

Hexahydrocurcumine, antiagrégant plaquettaire, (3*S*,5*S*)-3,5-diacetoxy-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)heptaneactivité cytotoxique[28,12].

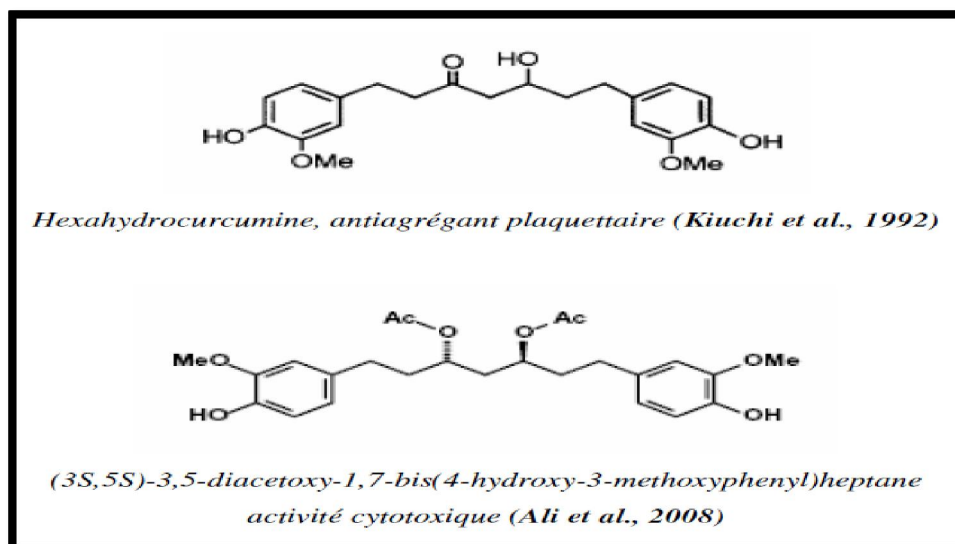


Figure (1.4) : Quelques diarylheptanoides du gingembre et leurs effets pharmacologiques [28].

Le gingembre contient également quelques flavonoïdes et acides phénoliques mais à faibles proportions comme la quercétine, la rutine, fisetine, morine, acide gallique, acide ferulique, acide vanillique [30].

1.1.6. Culture et production du gingembre

Le gingembre est principalement cultivé en Inde et dans tout le Sud-est asiatique, notamment en Chine, en Indonésie et aux Philippines, mais aussi en Afrique tropicale (Nigeria). Sa répartition géographique concerne toute l'Asie, les Caraïbes, l'Afrique et le Brésil, mais plus de 50 % de sa production mondiale provient de l'Inde et de la Chine [10]. Le gingembre jamaïcain et indien est considéré comme le gingembre ayant une qualité supérieure [31].

Tableau (1.4) : Les principaux payés producteurs du gingembre [14].

Production en tonnes 2003-2004 Données de FAOSTAT (FAO)				
Payés	Production en 2003	% Production Mondiale	Production en 2004	% Production Mondiale
Inde	275000	27%	275000	27%
Chine	259719	25%	260000	25%
Indonésie	151000	15%	151000	15%
Nigeria	110000	11%	110000	11%
Népal	90000	9%	90000	9%
Bangladesh	43000	4%	48000	5%
Thaïlande	33000	3%	33000	3%
Philippines	30000	3%	30000	3%
Autres pays	39259	3%	39270	3%
Total	1030978	100%	1036270	100%

1.1.7. Pharmacologie de la plante

Au 18^{ème} siècle, on l'ajoutait aux remèdes pour réduire leurs effets irritants sur l'estomac. Il joue encore ce rôle en Chine, où il a la réputation de réduire la toxicité de certaines autres plantes. En occident, la racine sèche combat le mal des transports et les nausées de la grossesse. La racine fraîche s'emploie comme sudorifique et comme expectorant lors des rhumes et les refroidissements. Il est recommandé en friction, sous forme de préparation huileuse, à parts égales d'huile d'olive et de gingembre pilé, contre les douleurs musculaires et en distillation auriculaires contre certaines otites douloureuses. En chine le gingembre frais est utilisé pour le traitement de la fièvre, la toux, et les nausées. Séché, il est utilisé contre les douleurs de l'estomac et la diarrhée. Son goût piquant est parfois utilisé pour masquer le goût désagréable d'autres médicaments [15,32-33].

Les études récentes réalisées sur l'huile, l'oléorésine, les extraits et molécules actives du gingembre dévoilent diverses propriétés, soit *in vitro* ou bien *in vivo*, activité antivirale respiratoire, anti-VIH1 et anti-herpès virus ; activité antibactérienne sur différentes souches , sur des germes anaérobies de la cavité orale ,anti-mycobactérieet des extraits obtenus par CO₂

supercritique ; un bon anti-inflammatoire non stéroïdien pour les patients ayant une arthrite rhumatoïde ; effet immuno-modulateur de l'huile essentielle *in vitro* et *in vivo* et par conséquent utilise dans le cas de l'inflammation chronique et les maladies auto-immunes ; l'association d'un repas protéiné à du gingembre diminue de façon importante les nausées retardées observées après une chimiothérapie et permet de réduire l'utilisation d'un traitement antiémétique ; effet antioxydant des extraits obtenus par CO₂ supercritique et antioxydant et antifongique de l'huile et de l'oléorésine; effet antiulcéreux très proche de celui de l'Omeprazole ; traitement des troubles gastro-intestinaux comme la dyspepsie, les nausées et la diarrhée par inhibition de la motilité intestinale ; hépato-protecteur; anticancéreux et améliore l'efficacité d'un traitement du cancer cervical; cytotoxique et cytoprotecteur; neuro-protecteur de maladies dégénératives Le gingembre a été utilisé aussi en médecine vétérinaire *in vivo* comme vermifuge de nématodes gastro-intestinaux des moutons [10,25,34-52].

1.1.7.1. Propriétés biologiques

a) Propriété antioxydant

Le gingembre contient jusqu'à 12 composés importants qui lui offrent une activité antioxydant 40 fois plus élevée que la vitamine E. Le gingembre a révélé avoir d'excellentes propriétés antioxydants. Plusieurs travaux ont montré que le gingembre est doté d'une forte propriété antioxydant *in vitro* et *in vivo*. L'action antioxydant du gingembre a été proposée comme l'un des principaux mécanismes possibles pour les actions protectrices de la plante contre la toxicité et les rayonnements, un certain nombre d'agents toxiques, tel que le tétrachlorure de carbone et le cis platiné, et comme un médicament antiulcéreux. Récemment, il a été démontré que le (6)-gingérol possède une action antioxydant puissante à la fois *in vivo* et *in vitro*, en plus des actions anti-inflammatoires et anti-apoptotiques fortes [54-64].

b) Propriété antibactérienne

Il a été découvert que le [6]-shogaol possède une activité antioxydants et des propriétés anti-inflammatoires plus puissantes que le [6]-gingérol, aussi, le [10]-gingérol est le plus puissant parmi tous les gingérols. Il est donc un agent très efficace pour la prévention contre les ROS induits par l'ultra-violet, et aussi un agent thérapeutique possible contre les affections de la peau induites par ces rayonnements [12,24].

c) Propriété anti-inflammatoire

L'extrait de gingembre à empêcher Le gonflement induit de patte et était aussi actif que l'aspirine. L'huile essentielle du gingembre a empêché l'arthrite auxiliaire chronique des rats. Le gingembre et ses composants piquants sont les inhibiteurs de l'acide arachidique que du métabolisme. C'est à dire, il empêche le cyclooxygénase (synthétase de prostaglandine) et les enzymes de lipoxycgénases de la glande prostatique.

1.1.8. Formes pharmaceutiques de gingembre

Le gingembre est couramment utilisé dans des préparations pharmaceutiques sous différents formes galéniques ont pour but de faciliter l'administration de l'ensemble des principes actifs [65,66]:

- Teinture.
- Capsule.
- Pommade.
- Infusion.
- Sirop.
- Comprimée.
- Crème.
- Pansement.

1.1.9. Toxicité de gingembre

Le gingembre est généralement considéré comme une plante médicinale sans danger [67]. La littérature scientifique abondante sur le gingembre ne met pas en évidence de toxicité particulière concernant cette plante. Les précautions d'emploi résident, comme d'habitude, dans la prévention des risques encourus par l'emploi de l'huile essentielle concentrant des principes aromatiques par hydro-distillation, comme les carbures mono et sesquiterpéniques [10].

D'après les littératures, le gingembre est considéré comme une plante médicinale sûre, car la DL₅₀ est de 6.284 g/Kg d'oléorésines [68].

1.2. Les huiles essentielles

1.2.1. Définition

Il s'agit d'un extrait pur et naturel provenant de plantes aromatiques, Elle concentre l'essence de la plante, autrement dit son parfum. Il s'agit de substances odorantes, volatiles, de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs. Il faut ainsi une très grande quantité de plantes fraîches pour obtenir quelques millilitres d'huiles essentielles [69-72].

➤ Selon la pharmacopée européenne :

« Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » [73].

➤ Selon l'AFNOR (l'Association Française de Normalisation) :

Ce sont des produits généralement odorants, obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau, de végétaux ou de parties de végétaux, soit par expression du péricarpe frais de certains citrus. Cette définition excluant les essences obtenues par d'autres procédés d'extraction [74].

1.2.2. Caractères physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante mais aussi volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l'alcool, entraînables à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau. Il faut donc impérativement un tensioactif pour permettre leur mise en suspension dans l'eau. Elles présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau et un indice de réfraction élevé. Elles sont pour la plupart colorées, ex ; rougeâtre pour les huiles de cannelle et une variété de thym, jaune pâle pour les huiles de sauge sclérée et de romarin officinal. Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation. Par conséquent, leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité. De ce fait, l'utilisation de flacons en verre opaque est conseillée.

Elles sont constituées de molécules à squelette carboné, le nombre d'atomes de carbone étant compris entre 5 et 22 (le plus souvent 10 ou 15) [75-76].

1.2.3. Les procédés d'extraction des huiles essentielles

La quantité d'huile essentielle contenue dans les plantes est toujours faible, parfois très faible, voire infime. Il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle.

L'extraction des huiles essentielles est certainement la phase la plus délicate. Elle a pour but de capter les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborées par le végétal. Il existe différents procédés d'extraction, mais le choix de la méthode utilisée définit obligatoirement la nature de l'essence ainsi que son éventuelle utilisation.

1.2.3.1. Hydro-distillation

Le matériel végétal est en contact direct avec l'eau. L'hydro-distillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. Cette méthode est généralement indiquée pour les huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Cependant, l'inconvénient majeur de cette méthode est la non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de la couleur, de l'odeur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation [77-78].

1.2.3.2. Extraction par les solvants organiques

Cette méthode est utilisée pour les organes végétaux présentant une concentration en essence relativement faible ou pour les essences que l'on ne peut extraire par distillation. Etant de nature huileuse, les essences sont solubles dans les solvants organiques. Un épuisement des plantes est effectué à l'aide d'un solvant volatil dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique appelé «concrète». Le traitement de cette concrète par l'alcool absolu conduit à «l'absolue». On utilise comme solvant organique volatil l'hexane, qui est le plus utilisé actuellement ; le benzène très utilisé dans le passé mais interdit pour des raisons de

toxicité ; le propane ; le toluène, etc. L'extraction s'effectue en plusieurs étapes, on lave la matière avec le solvant deux à trois fois. Il semble que la presque totalité des produits odorants passe en solution dès la première extraction. Mais, étant donné que la matière traitée retient une forte proportion de la solution, il est nécessaire de pratiquer des dilutions successives avec de nouvelles charges de solvant (lavages). La matière épuisée retient une proportion importante de solvant. Il faut donc concentrer la solution en évaporant le solvant qui est recyclé pour d'autres lavages. La récupération du solvant atteint couramment 94 à 96 % de la quantité retenue. De ce fait une proportion résiduelle de solvants reste dans les concrètes d'où un risque de toxicité non négligeable. Pour cette raison, cette technique est limitée à l'industrie des parfums [76-77,79-82].

1.2.3.3. Extraction par le CO₂ supercritique

L'originalité de cette technique repose sur le solvant utilisé : il s'agit du CO₂ en phase supercritique. L'extraction consiste à comprimer le dioxyde de carbone à des pressions et à des températures au-delà de son point critique (P=72.8 bars et T= 31.1°C). A l'état supercritique, le CO₂ n'est ni liquide, ni gazeux, et cela lui confère un excellent pouvoir d'extraction, modulable à volonté en jouant sur la température de mise en œuvre. Les fluides supercritiques comme le CO₂ sont de bons solvants à l'état supercritique, et de mauvais solvants à l'état gazeux. Les avantages de ce procédé sont les suivants :

- Le CO₂ est totalement inerte chimiquement, il est naturel, non toxique et peu coûteux.
- En fin de cycle, la séparation entre le solvant d'extraction et le soluté pour obtenir l'extrait est facile (simple détente qui ramène le CO₂ à l'état gazeux), avec une récupération quasi-totale et peu coûteuse.
- L'extraction des huiles essentielles par le CO₂ supercritique fournit des huiles de très bonne qualité et en temps d'extraction relativement court par rapport aux méthodes classiques.

En conclusion, il n'existe pas de procédé meilleur que d'autres. Chaque méthode possède sa propre indication selon le végétal ou la partie du végétal, et l'utilisation du produit obtenu commande ainsi que l'aspect économique qui est tout aussi important [77, 80, 83,84-86].

1.2.4. Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Partie Bibliographique

Les propriétés médicinales des huiles essentielles sont nombreuses, antispasmodique, expectorant, rafraîchissant, diurétique, antiseptique.

Cependant, dans ce travail, nous allons nous limiter à leurs propriétés antimicrobiennes qui constitueront l'essentiel de notre étude de recherche. Les vertus antimicrobiennes des huiles essentielles sont bien connues et bien documentées. En effet, de nombreux travaux de recherche ont mis en évidence leur puissante activité antiseptique agissant aussi bien sur les bactéries, les champignons pathogènes que les virus, leur conférant ainsi diverses indications thérapeutiques [87, 88].

Chapitre 2 : Teinture officinale et la physiopathologie des plaies

2.1. Généralités sur la teinture

2.1.1. Définitions

a) Les teintures sont des préparations liquides, généralement obtenues à partir de matières premières végétales ou animales séchées. Pour certaines préparations, les matières à extraire peuvent subir un traitement préalable tel que l'inactivation des enzymes, le broyage ou le dégraissage.

Les teintures sont obtenues par macération, percolation ou par d'autres procédés appropriés et validés, en utilisant l'alcool de titre approprié. Les teintures peuvent également être préparées par dissolution ou dilution d'un extrait dans un alcool de titre approprié.

Les teintures sont généralement obtenues soit à partir de 1 partie de drogue et de 10 parties de solvant d'extraction, soit à partir de 1 partie de drogue et de 5 parties de solvant d'extraction. Les teintures sont généralement limpides. Au repos, les teintures peuvent présenter un léger sédiment qui est acceptable à condition que la composition de la teinture n'en soit pas modifiée de manière significative[89].

b) La Pharmacopée française définit les teintures comme étant des préparations liquides généralement obtenues à partir de matière première végétale séchée. Dans certains cas, les matières à extraire peuvent subir un traitement préalable tel que l'inactivation des enzymes, le broyage ou le dégraissage[90].

Les teintures contiennent de l'alcool et leur titre alcoolique varie selon le type de drogue. Il peut être à 60°, pour les principes actifs très solubles ou drogues à tanins, à 70, 80 ou 90°, pour les résines. Selon que l'extraction par l'alcool est réalisée sur une seule drogue ou sur des mélanges de drogues on parle de teintures simples ou de teintures composées.

On appelle teinture officinale une préparation médicamenteuse résultant de la macération de plantes sèches dans de l'alcool allant de 45 à 70° (macération à froid ou à chaud en fonction de la plante). Cela permet à l'alcool de s'imprégner des principes actifs de la plante. Cette préparation est ensuite filtrée puis diluée. Les teintures officinales traditionnelles ont une

dilution au cinquième (soit un volume de teinture pour cinq volumes de solvant). Elles peuvent habituellement se conserver cinq ans à l'abri de la lumière et de la chaleur.

Les teintures sont obtenues par action dissolvante de l'éthanol sur des plantes sèches, tandis que les alcoolatures (ou teintures mères) sont obtenues par action dissolvante de l'éthanol sur des plantes fraîches. Quant aux alcoolats, ils sont obtenus en distillant de l'éthanol en présence de substances aromatiques [91,92].

2.1.2. Production

En fonction de l'effet thérapeutique recherché, l'usage traditionnel puis la recherche, ont mis au point des procédés de traitement des plantes qui permettent de ne garder que les molécules intéressantes. Les produits phytothérapeutiques sont élaborés à partir de plantes fraîches, de plantes sèches, ou d'extraits de plantes Figure (2.5) [66,90].

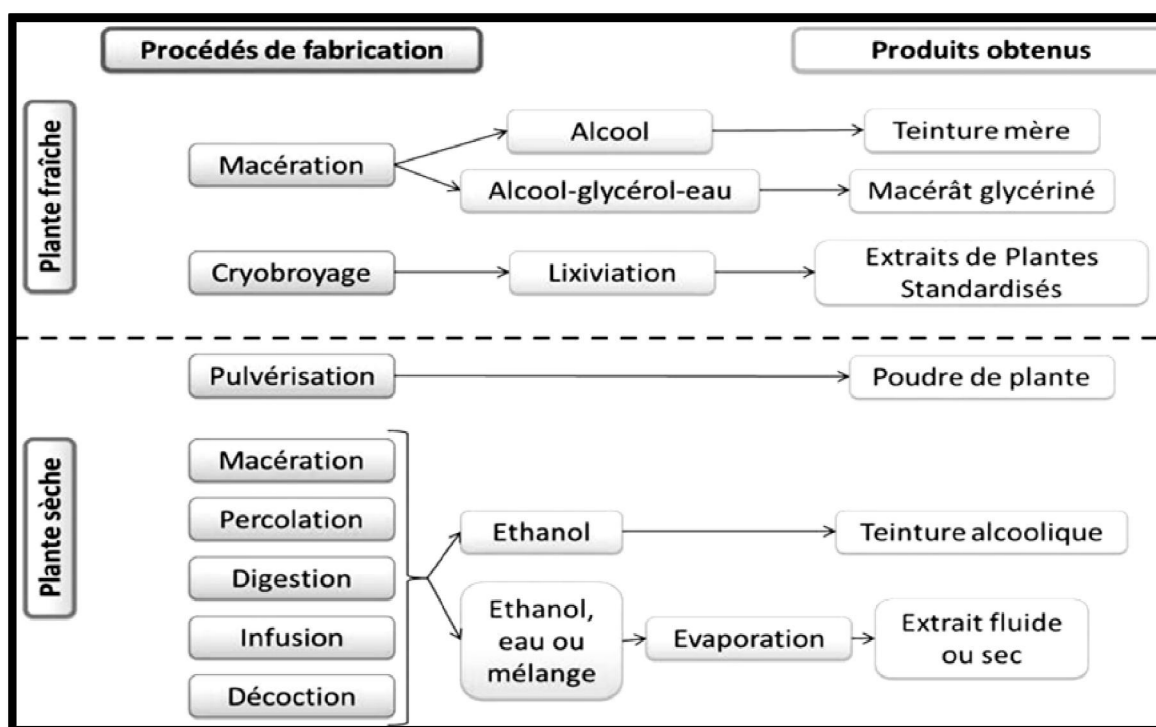


Figure (2.1) : Procédés de transformation des plantes médicinales [93].

2.1.2.1. Production par percolation

On Réduisant, si nécessaire, la drogue en morceaux de taille appropriée. Mélangez uniformément avec une partie du solvant d'extraction prescrit et laissez reposer pendant un temps approprié. Introduisez le mélange dans un percolateur et laissez le percolât s'égoutter

lentement en s'assurant que la drogue soit toujours couverte par le restant du solvant d'extraction. Le marc peut être pressé et le liquide exprimé réuni avec le percolât.

2.1.2.2. Production par macération

On réduisant la drogue en morceaux de taille appropriée, et mélangeant uniformément avec le solvant d'extraction prescrit et laissant reposer le mélange dans un récipient fermé, pendant un temps approprié. La drogue épuisée est séparée du liquide extractif et, le cas échéant, pressée. Dans ce cas, les deux liquides obtenus sont réunis.

2.1.3. Les teintures-mères

Les teintures-mères sont des préparations à usage homéopathique inscrites à la Pharmacopée française. Par définition ce sont des préparations liquides qui résultent de l'action dissolvante d'un véhicule alcoolique sur des drogues végétales fraîches.

Elles se réalisent, par macération d'une plante fraîche dans de l'alcool. Les différences résident dans le fait que celle-ci est beaucoup plus longue, elle dure environ vingt et un jours et que ces teintures-mères sont préparées en général au dixième, c'est-à-dire qu'un gramme de la plante desséchée donnera dix grammes de teinture-mère [94].

La teinture-mère est un procédé consistant à utiliser une plante fraîche qu'on laisse macérer plusieurs jours dans un mélange d'alcool. La solution hydro-alcoolique va extraire les composants végétaux et ainsi se charger en principes actifs (ceux de la plante utilisée). Le liquide est ensuite filtré, ce qui donne une teinture-mère qui pourra servir telle quelle ou qui participera à la réalisation de remèdes thérapeutiques, notamment homéopathiques.

Grâce à cette méthode d'extraction, la concentration en principes actifs est optimale[95].

2.1.4. Préparation et usage

La première phase, lors de la fabrication d'une teinture-mère, consiste à broyer les plantes fraîches triées auparavant et à les mettre immédiatement en macération dans de l'éthanol à 95°. On ajoute alors au mélange la quantité d'eau distillée nécessaire pour obtenir un degré alcoolique de 60 à 70, selon la solubilité des principes actifs. Le macérât est conservé au frais, en récipient étanche et à l'abri de la lumière pendant trois semaines. On l'agite de temps à autre.

Ensuite arrive l'étape de filtration. La plante macérée est fortement exprimée afin de récupérer toute la solution extractive. Il convient ensuite d'obtenir le titre requis par rapport au poids théorique de la plante sèche. Pour cela on ajuste le degré alcoolique et le volume de teinture.

La teinture-mère se fabrique toujours à partir d'une seule plante. La préparation des teintures-mères doit satisfaire à un cahier des charges précis et exigeant, en ce qui concerne les zones et les modes de culture, les récoltes, la sélection des souches et la préparation des produits. Il est également possible de fabriquer soi-même une teinture-mère simplifiée à usage domestique [96].

2.1.5. Stabilité de la teinture

L'industrie pharmaceutique est tenue d'un point de vue légal comme d'un point de vue moral, à fournir des médicaments qui conserveront leur qualité de départ pendant tout le temps prévu pour leur utilisation.

Les essais de stabilité sont une série d'essais exigés du fabricant dans le cadre de l'A.M.M, conçus pour fournir des informations sur la stabilité d'un médicament de façon à pouvoir définir sa durée de validité et d'utilisation dans des conditions d'emballage et de stockage spécifiées[97].

2.1.5.1. Qu'est-ce que la stabilité et date limite d'utilisation d'un médicament ?

- **Stabilité**

Aptitude d'un médicament à conserver ses propriétés chimiques, physiques, microbiologiques et biopharmaceutiques dans des limites spécifiées, pendant toute sa durée de validité.

- **Date limite d'utilisation ou date de péremption**

Date jusqu'à laquelle le médicament est censé rester conforme aux spécifications s'il est conservé correctement. Cette date doit figurer en clair sur les conditionnements primaires et secondaires.

2.1.5.2. Principales causes d'altération d'un médicament

Elles peuvent être d'origines interne ou externe.

➤ Facteurs internes

- Système médicamenteux : déséquilibre thermodynamique.
- L'état physique du milieu : les émulsions et les suspensions sont particulièrement instables et possèdent une tendance naturelle à s'altérer.
- Incompatibilité entre les différents constituants : chimique ou physique.
- Interaction contenu- contenant : migration, adsorption,...

➤ Facteurs externes

- **La température** : accélère et favorise toutes les réactions chimiques ou biologiques ; peut provoquer des changements d'états physique et favorise le développement des micro-organismes.
- **La lumière** : provoque des transformations moléculaires, dépolymérisations ou des décompositions.
- **L'air atmosphérique** : c'est le grand facteur externe d'altération. Ses composants principalement l'oxygène et l'humidité sont des éléments destructeurs capitaux par phénomènes d'oxydation, d'hydrolyse ou d'effervescence.
- Destruction par contamination microbienne.
- Le temps de conservation.
- Manipulations de fabrication brutales.

Doivent être vérifiés, la teneur en PA et les propriétés chimiques, physiques, microbiologiques et bio- pharmaceutiques. Ne sortent pas des limites spécifiées pendant toute la durée de validité proposée.

2.2. Physiopathologie des plaies

2.2.1. La Peau

La peau est un organe complexe recouvrant le corps en entier. Son poids totalise environ 15 % du poids total du corps d'un adulte, ce qui lui vaut le titre du plus grand et du plus important (de par sa surface) organe du corps humain. Elle assure plusieurs fonctions nécessaires à la survie de l'organisme comme la protection contre les agressions physiques, chimiques et

biologiques extérieures Elle a aussi un rôle dans la régulation thermique, l'excrétion, l'immunité, la synthèse de la vitamine D et elle constitue un excellent capteur d'informations extérieures grâce aux milliers de terminaisons nerveuses qu'elle contient. De plus, les nombreux vaisseaux sanguins qui traversent le derme transportent de 8 à 10 % du sang en circulation dans le corps, ce qui fait de la peau un important réservoir sanguin [96-99].

2.2.1.1. Epiderme

L'épiderme est la couche en contact direct avec l'environnement extérieur, elle protège l'organisme contre celui-ci. Elle empêche les agents pathogènes d'envahir l'organisme et maintient l'eau et les nutriments en son sein. Elle a une épaisseur moyenne de 100 μm , mais celle-ci peut varier considérablement selon la région du corps. Par exemple, l'épiderme des paupières n'a que 50 μm d'épaisseur tandis que l'épiderme de la plante des pieds peut avoisiner le millimètre. Les cellules qui composent l'épiderme forment un épithélium pavimenteux stratifié et sont à 95 % des kératinocytes. Ils produisent de la kératine, qui imperméabilise et protège la peau et les tissus sous-jacents [96,98-100].

2.2.1.2. Derme

Le derme est la couche qui donne la souplesse et la résistance à la peau. Il est composé principalement de tissu conjonctif qui le rend compressible et élastique. Il constitue un support pour les différentes annexes cutanées que sont les vaisseaux sanguins et lymphatiques, les poils, les terminaisons nerveuses et les glandes sébacées et sudoripares. L'épaisseur du derme varie considérablement selon la localisation anatomique. Par exemple, il est beaucoup plus épais dans la plante des pieds que dans les paupières. En moyenne, il a une épaisseur de deux millimètres, mais peut atteindre quatre millimètres dans certaines parties du corps [97].

2.2.1.3. Hypoderme

L'hypoderme est la couche la plus profonde de la peau. Il est constitué de tissus adipeux qui ont pour fonction d'emmagasiner l'énergie sous forme de graisse. En fait, environ la moitié de tout le gras emmagasiné dans le corps humain est retrouvée dans cette couche. L'hypoderme joue aussi un rôle de thermorégulation et de protection contre les agressions mécaniques. Les

cellules qui peuplent l'hypoderme s'appellent les adipocytes, ce sont des cellules rondes remplies d'acides gras et de triglycérides [96].

2.2.2. Définition de plaie

Une plaie normale est définie comme une interruption dans la continuité d'un tissu du corps, une rupture de la barrière cutanée. Outre la lésion d'organes sous-jacents qui peut se produire lors de l'accident, la plaie peut entraîner la pénétration de germes pathogènes dans un organisme et provoquer une infection. Le principal risque pathogène est le tétanos.

2.2.3. Causes des plaies

Une perturbation de l'intégrité de la peau peut survenir dans plusieurs contextes. La peau peut subir des dommages lors de chirurgies, de brûlures, de radiations, de coupures, de déchirures, d'éraflures, d'abrasions, de frottements, de pincements et de pressions [101].

2.2.4. Classification des plaies

L'ampleur des dommages infligés à la peau à la suite d'une blessure dépend de la profondeur de celle-ci, qui est classifiée en trois degrés (plaie du premier, second et troisième degré), de son étendue (la superficie endommagée), et de la nature de l'agression, (exemple: traumatisme, chaleur, froid, produits chimiques). Ces trois paramètres influencent le choix du traitement puisque le déroulement de la guérison en est affecté.

2.2.5. Profondeur de la plaie

2.2.5.1. Premier degré

Les plaies du premier degré (plaies partielles) ne touchent que l'épiderme (Figure 2.6). Elles proviennent généralement d'une légère brûlure, d'un coup de soleil ou d'une légère abrasion et demeurent douloureuses pendant quelques jours. Les kératinocytes morts de l'épiderme desquament et seront remplacés grâce à la prolifération des cellules basales sans qu'il y ait formation d'une cicatrice [102, 103].

2.2.5.2. Deuxième degré

Les plaies du second degré sont plus profondes et très douloureuses puisqu'elles endommagent les terminaisons nerveuses du derme. Une brûlure plus importante, l'abrasion de la peau ou une coupure provoquent généralement de telles plaies. L'épiderme, la membrane basale et une portion variable du derme sont détruites (Figure 2.6) La

réépithélialisations'effectuera à partir d'une portion saine du derme et des annexes cutanées. La réparation tissulaire sera plus laborieuse et souvent une cicatrice permanente subsistera surtout dans le cas de plaies profondes[102, 103].

2.2.5.3. Troisième degré

Les plaies du troisième degré se caractérisent par la destruction complète de l'épiderme et du derme (Figure (2.6)). Une brûlure importante, une coupure ou une abrasion profonde détruisent les terminaisons nerveuses et rendent ces plaies indolores. Compte tenu de la destruction totale des annexes cutanées et de l'épiderme, la réépithélialisation doit se faire à partir des marges des plaies plutôt qu'en foyers multiples à partir des follicules pileux comme c'est le cas dans les plaies du deuxième degré.

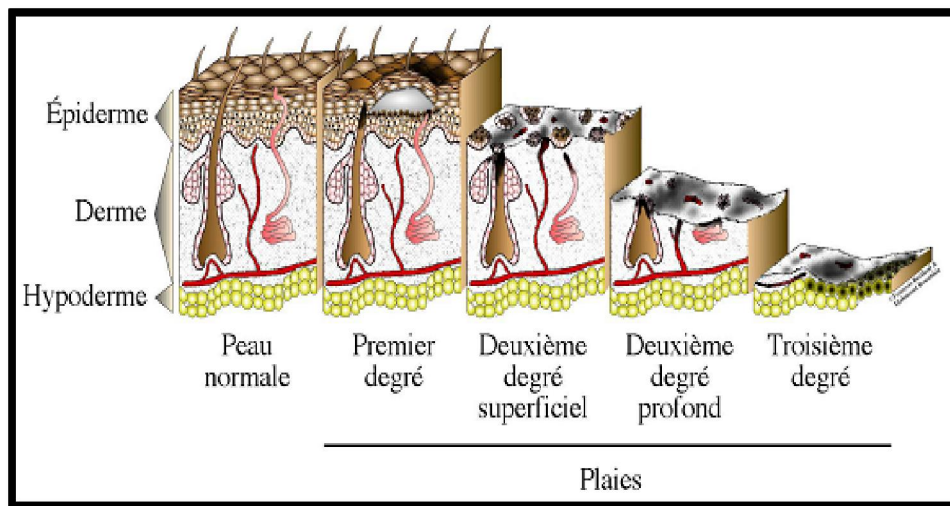


Figure (2.2) :Classification des plaies cutanées selon la profondeur [102].

2.2.6. Nature de la plaie

La nature de l'agression produit une plaie dont les caractéristiques influencent sa présentation, sa guérison naturelle et thérapeutique. A la suite d'une brûlure, la réépithélialisation débute plus tardivement de sorte que la plaie demeure ouverte plus longtemps. Ainsi, seront traitées différemment : une brûlure chaude, froide ou chimique, une incision, une éraflure[104].

2.2.7. Processus de guérison des plaies

La guérison des plaies dépend de leur présentation, de leur propreté, du temps écoulé depuis la blessure, du site anatomique, etc. La guérison par première intention vise à rapprocher les marges de la plaie à l'aide d'une suture afin de faciliter le processus de réparation, alors que la cicatrisation par seconde intention laisse la plaie ouverte (Figure 2.7). Les processus mis en branle au cours de ces deux modes de guérison sont presque identiques, c'est à dire inflammation, suivie de la formation du tissu de granulation et de la réépithélialisation, puis de la phase de remodelage [105-108].

2.2.7.1.Phase inflammatoire

L'inflammation est une réaction vasculaire et cellulaire qui permet d'éliminer les substances étrangères qui pourraient infecter la plaie. Pendant cette étape, il y a formation d'un caillot de sang qui réunit lâchement les bords de la plaie. Ce caillot est formé lorsque des vaisseaux sanguins sont endommagés. Des plaquettes entrent alors en contact avec le collagène subendothélial, ce qui déclenche la cascade de coagulation. Ces mêmes plaquettes activées relâchent des médiateurs biochimiques qui causent une vasoconstriction afin de réduire la perte sanguine. Le caillot servira de matrice sur laquelle les cellules pourront migrer durant les phases subséquentes [109, 110].

2.2.7.2.Phase proliférant (prolifération, granulation et contraction)

La phase de granulation débute à peu près quatre jours après la blessure initiale et dure normalement jusqu'au jour 21 pour les plaies aiguës et selon la taille de la plaie. En pratique clinique on la distingue par un tissu rouge et rugueux dans le lit de la plaie. Ceci implique le remplacement des tissus dermiques et parfois des tissus sous-cutanés dans les plaies plus profondes en plus d'une contraction de la plaie.

2.2.7.3.Phase de remodelage

Le remodelage des tissus cicatriciels peut durer jusqu'à un an et parfois plus. Au début de cette phase, l'épiderme a retrouvé son épaisseur normale et la croûte formée à partir du caillot sanguin tombe. Les fibres de collagène commencent à être mieux organisées ; initialement fines et désordonnées, elles deviennent plus épaisses et alignées avec les autres fibres des marges de la plaie. Malgré toutes les modifications et le remodelage que subit le derme durant cette phase, la peau ne retrouvera jamais ni sa fonction ni sa force ou résistance originale. En

effet, la force de tension de la peau cicatrisée ne dépassera pas 80 % de sa force antérieure. De la même façon, l'élasticité de la cicatrice sera moindre qu'avant la blessure [98,111-113].

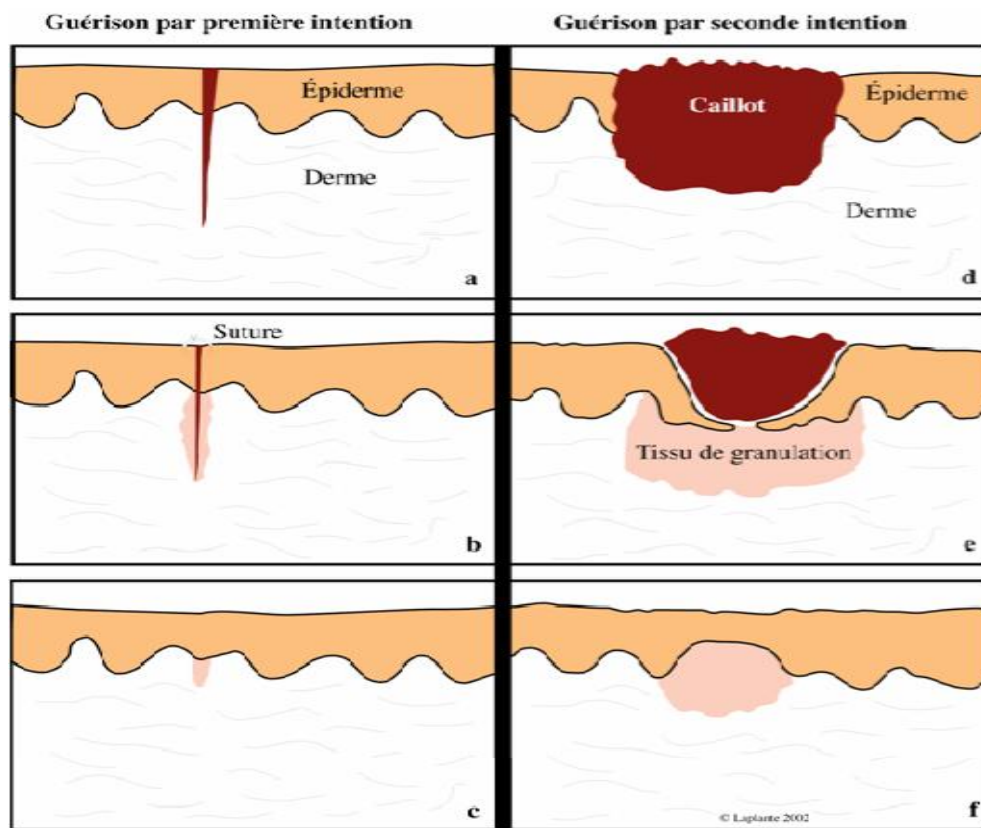


Figure (2.3) :Guérison d'une plaie par première et seconde intention [113].

2.2.8. Méthode d'étude expérimentale de l'activité cicatrisante «*in vivo*»

Les animaux de laboratoire (généralement les rongeurs) sont largement utilisés de façon expérimentale dans les tests de guérison des plaies bien que physiologiquement ces animaux ont un processus de guérison plus accéléré que chez les humains. Les avantages de leur utilisation résident dans le fait qu'il peuvent être modifiés génétiquement pour reproduire certaines pathologies comme le diabète, l'immunodéficience et l'obésité tel que chez l'homme. Contrairement aux rongeurs, la peau du porc est la plus similaire de celle des humains du point de vue de la structure de la peau, du ratio épaisseur épiderme/derme, des vaisseaux sanguins, et des follicules pileux. De ce fait, des modèles de test sur les porcs sont aussi utilisés.

Plusieurs tests sont développés chez les animaux tels que « la chambre de l'oreille du rat » ou « la Chambre d'Algire » qui consiste à placer une fenêtre transparente en plastique sur le tissu sous cutané dorsal du rat pour visualiser la vascularisation et de mesurer

Partie Bibliographique

l'angiogenèse pendant la guérison .De même que les modèles de plaies dans les différentes couches de la peau sont aussi provoqués pour évaluer la régénération de l'épiderme et la production de la matrice. Les plaies excisionnelles sont provoquées sur le dos des animaux ; la guérison de celles-ci passe par le réépithélialisation, la reconstitution du derme et la contraction de la plaie. Ce qui permet d'étudier toutes les phases de la guérison[114-116].

Chapitre 3 : Identification physico-chimiques et microbiologique

Dans cette partie d'étude, On fait l'extraction de gingembre, leur caractérisation physico-chimique et microbiologique ainsi que leur utilisation de préparation d'une teinture officinale avec leur activité biologique *in vivo* et font l'objet de discussion.

3.1. Méthodes d'extractions

3.1.1. Hydrodistillation

Matériels

- ✓ Ballon.
- ✓ Balance.
- ✓ Chauffe ballon.
- ✓ Réfrigérant.

Réactifs

- ✓ Eau distillée.
- ✓ Les trois formes de gingembre (sec, poudre et frais).

Mode opératoire

On met un volume de 500 ml d'eau avec 50g de plante rhizome de zingiber de trois formes sèche, poudre, et frais dans un ballon de 1000ml.



Figure (3.1):Montage d'hydrodistillation

Résultats

- ✓ On a obtenu une quantité insuffisante de l'huile essentielle.
- ✓ L'huile essentielle à une odeur semblable à celle du gingembre à l'état naturel.
- ✓ Pour le frais, la couleur de l'extrait est très claire.
- ✓ Pour le sec, la couleur de l'huile est jaune foncée.

Conclusion

La séparation de l'huile essentielle de gingembre par l'hydro-distillateur de type CLEVANGER est facile, à cause de non homogénéité de l'extrait récupère.

3.1.2. Extraction par soxhlet

Matériels

- ✓ Balance.
- ✓ Colonne.
- ✓ Réfrigérant.
- ✓ Ballon.
- ✓ Chauffe ballon.

Réactifs

- ✓ Acétone.
- ✓ Rhizome sec de gingembre.

Mode opératoire

On met 10g de chaque forme du rhizome dans la colonne avec 300ml d'acétone dans un ballon.

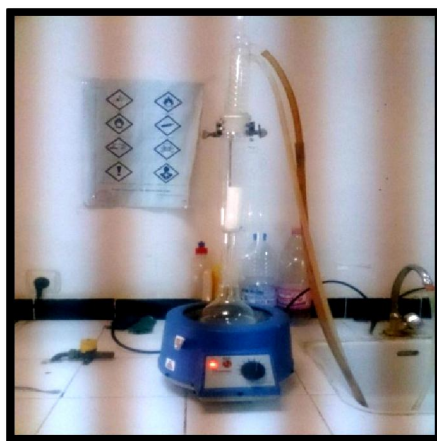


Figure (3.2):Extraction par soxhlet.

Résultats

- ❖ On a obtenu une quantité insuffisante de l'extrait.
- ❖ La séparation de l'extrait de gingembre à cause de l'homogénéité totale.
- ❖ L'extrait à une odeur semblable à celle du gingembre à l'état naturel.
- ❖ Pour le sec : la couleur de l'extrait est jaune foncée.

Conclusion

La séparation d'extrait est très difficile par Soxhlet, à cause de l'homogénéité de solution récupérée.

3.1.3. Macération à froid

Matériels

- ✓ Erlenmeyer avec bouchon.
- ✓ Balance.
- ✓ Entonnoir.
- ✓ Papier filtre.

Réactifs

- ✓ Éther de pétrole.
- ✓ Acétone.
- ✓ Éthanol.

Mode opératoire

On mélange 10g de chaque forme de la plante avec 100 ml de chaque solvant dans des Erlenmeyer et on le laisse pendant 3 jours.

Après cette période on fait une double filtration puis on procède à l'évaporation des solvants par le rotavapor.



Figure (3.3):Macération par différents solvants

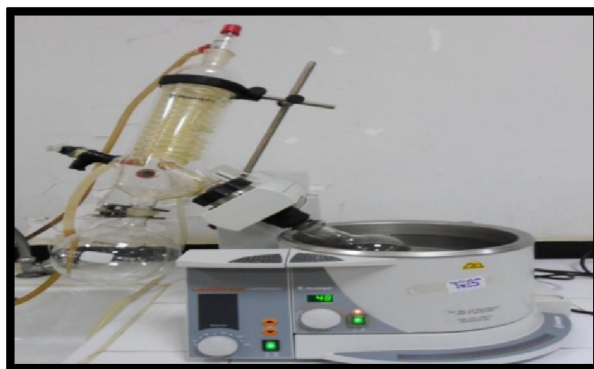


Figure (3.4):Appareille de rotavapor

Résultat

- ❖ On récupéré des mélanges homogènes.
- ❖ Pour la forme sèche : l'extrait de couleur jaune foncé.
- ❖ Pour la forme poudre : l'extrait de couleur jaune claire.
- ❖ Pour la forme frais : l'extrait de couleur transparent.



Figure (3.5): les différentes oléorésines obtenue par macération

Conclusion

On récupéré des oléorésines se formes de pate pour les deux formes sèche et poudre extraite par macération et par sohxlet, avec un extrait jaune très claire pour la forme frais.

3.1.4. Calcul de rendement

Le résidu de filtration à été séché à l'air libre pendant 4 jours puis pesé, et après on calcule le rendement comme suit :

Ce calcul se fait pour différentes méthodes d'extraction.

$$R_1 = [(P_0 - P_1) / P_0] * 100.$$

P_0 : Poids initial.

P_1 : Poids après extraction et séchage.

➤ Rendement de l'huile essentielle dans l'extrait (R_2)

Notre l'huile essentielle est très solubles dans les solvants utilisées, donc il n'y a pas une couche sur nageant qu'on l'utilise pour le calcul du rendement.

D'après la pharmacopée Européenne et British 1kg de gingembre produit 15ml de l'huile essentielle en minimum (15ml et quelques gouttes)[89, 117].

On utilisant cette donnée on peut calculer le rendement.

Alors :

$$\begin{array}{ccc} 1000\text{g (Plante)} & \longrightarrow & 15\text{ml (HE)} \\ M \text{ g} & \longrightarrow & V \text{ ml} \end{array}$$

$$M_{\text{huile}} = d_{\text{huile}} * V_{\text{huile}}$$

$$R_2 = M_{\text{huile}} / \Delta m \quad (\text{de l'extrait})$$

Partie expérimentale

Ce tableau rétablit les résultats de rendement obtenu :

Tableau (3.1) : les différents rendements obtenus.

Nature de gingembre	solvants utilisés (ml)	masse initiale de gingembre (g)	durée de l'extraction	Masse finale de gingembre (g)	R ₁ : (%) Rendement d'extraction	R ₂ : (%) Rendement de l'huile dans l'extrait
Poudre	Ether 100	10	3 jours	7.7	23	6.95
Poudre	Acétone 100	10	3 jours	8.2	18	6.95
Poudre	Ethanol	10	3 jours	9.3	7	17.83
Frais	Ether 100	10	3 jours	5	50	2.8
Frais	Acétone 100	10	3 jours	8	20	6
Frais	Ethanol 100	10	3 jours	4	60	2.08
Sec	Ether 100	10	3 jours	8,2	18	6.66
Sec	Acétone 100	10	3 jours	7.4	26	4.61
Sec	Eau distillée 500	50	3 heures	8.3	16.3	7.65
Sec	Ethanol 100	10	3 jours	9.2	8	15.63
Sec	Acétone Soxhlet 300	10	5 heures	8.3	15	8.34

Conclusion

On observe des différents rendements obtenus par différentes méthodes d'extraction de gingembre frais, sec et poudre par différents solvants (Ether, Acétone et Ethanol).

Interprétation

D'après les résultats obtenus de différentes méthodes d'extractions (hydro-distillation, macération et soxhlet) de l'extrait de gingembre à l'état frais, sec et en poudre on constate que :

- ❖ Le rendement de l'oléorésine de gingembre poudre extraite par macération dans éthanol est meilleur que ceux obtenus par les autres méthodes citées précédemment.

3.2. Caractérisations générales de l'huile de gingembre

3.2.1. Caractéristiques organoleptiques de l'huile de gingembre

- ❖ **Aspect** : Solution limpide huileuse.
- ❖ **Odeur** : à une odeur forte caractéristique de gingembre.
- ❖ **Couleur** : jaune.
- ❖ **Gout** : piquant. [118, 119, 120,53]

3.2.2. Caractéristiques physiques de l'huile (Oléorésine)

3.2.2.1. La densité relative de l'huile de gingembre

Mode opératoire

La densité relative d'une substance est le rapport entre la masse d'un certain volume de cette substance, et la masse d'un volume égal d'eau à la même température. On détermine la densité relative avec le nombre de décimales prescrit dans la monographie, à l'aide d'un pycnomètre, d'une balance ou d'un aréomètre, sans tenir compte de la poussée de l'air lors de la pesée, ce qui peut introduire une incertitude d'une unité à la troisième décimale. Les densités relatives à l'huile de référence et à l'extrait brut, déterminées à la température ambiante (23°C), sont données dans le tableau suivant. [89]

Matériels

- ✓ pycnomètre.
- ✓ Balance.

Tableau (3.2) : Densité relative de l'huile gingembre à T = 23°C.

Substance	Densité relative	Norme [66]
Huile essentielle	0,838	0,832 à 0,846

Conclusion

La densité relative de l'huile correspond à la norme.

3.2.2.2. Taux d'humidité (méthode de perte à la dessiccation)

Matériels

- ✓ Bécher.
- ✓ Dessiccateur.
- ✓ Balance.
- ✓ Etuve.

Mode opératoire

On pèse 5g de l'échantillon (poudre) dans un Bécher, en suite on met le bécher dans l'étuve à température de 105° C pendant 2 heures. Et puis mètre-le bécher dans un dessiccateur, puis on pèse le résidu [65,121]

Calcul

P_1 : (bécher +5g de la substance).

P_2 : (bécher après dessiccation).

Taux d'humidité (%) = $(P_1 - P_2) / m * 100$.

m = masse de l'échantillon.

Tableau (3.3): Résultat du taux d'humidité

Substance	Taux d'humidité (%)	Norme(%)
Poudre (5g)	10.34	≤ 12

Conclusion

Le Taux d'humidité du gingembre est selon les normes.

3.2.2.3. Calcination (les cendres)

Matériels

- ✓ Creusé en platine.
- ✓ Dessiccateur.
- ✓ Balance.
- ✓ Bec bunsen.

Mode opératoire

On calciné 1g de poudre du gingembre dans un creusé en platine, en suit on brûlé le creusé dessus de bec bunsen jusqu'une obtention une cendre blanche.

Et puis on mètre le creusé dans un dessiccateur, puis on pèse le résidu.[89]

Tableau (3.4):Les cendres.

Nature de gingembre	Les cendres (%)
Poudre	3,29

3.2.3. Caractéristiques physico-chimiques de l'huile de gingembre

3.2.3.1. PH de oléorésineet l'extrait brut

Matériel

pH mètre

Résultat

pH₁ = 4.58

pH₂ = 6.58

Conclusion

- Le pH₁ obtenu indique que notre oléorésine de gingembre a un caractère acide.
- Le pH₂ de l'extrait brut de gingembre est considéré comme neutre[122,123].

3.2.3.2. Pouvoir Rotatoire α_D^t

Mode opératoire

Amener l'échantillon à une température spécifiée et l'introduire dans le tube en s'assurant qu'il ne reste aucune bulle d'air interposée. Placer le tube dans le polarimètre, voir Figure (3.6), et lire l'angle de rotation dextrogyre (+) ou "lévogyre (-) de l'échantillon pour essai sur l'échelle de l'appareil [124].

Il est calculé suivant la formule suivante :

$$\alpha_D^t = (A/L) * 100$$

Partie expérimentale

Avec :

A : Est la valeur de l'angle de rotation en milliradians ou degrés d'angle.

L : Est la longueur du tube utilisé, en décimètre. ($L=0,1$)

Calcul

$$A = -0,017$$

$$\alpha^20_D = [-0,017/0,1] * 100$$

$$\alpha^20_D = -17$$

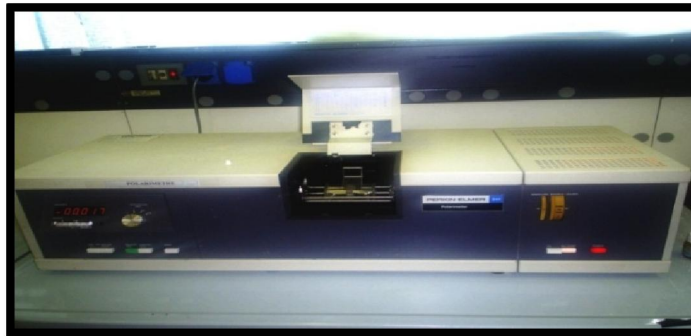


Figure (3.6):Polarimètre.

3.2.3.3. Indice de Réfraction

L'Indice de Réfraction d'un milieu homogène, transparent, isotrope peut être défini comme le pouvoir que possède ce milieu de dévier un rayon lumineux arrivant sur sa surface[117].

Si le milieu est considéré comme étant dans le vide on a :

$$N_v = \frac{\sin i}{\sin r}$$

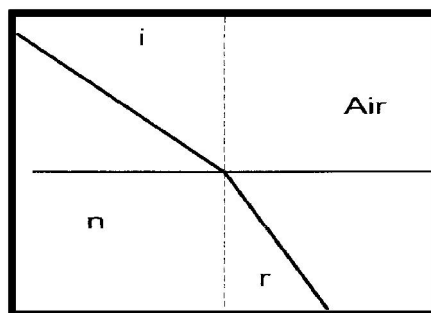


Figure (3.7):Indice de Réfraction.

Partie expérimentale

Où i et r sont les angles d'incidence et réfraction du rayon lumineux passant obliquement du vide à travers la surface plane du milieu étudié. Pour plus de commodité on a adopté l'indice de réfraction par rapport à l'air avec la correspondance:

$$\frac{N_v}{\eta} = N_{\text{air}} = 1,00027 \quad \text{où } \eta \text{ est l'indice de l'air}$$

L'Indice de Réfraction varie avec la température et la longueur d'onde de la lumière utilisée. C'est la raison pour laquelle, par souci de cohérence, on travaille à 20°C avec la raie D de la vapeur de Sodium (589.3 nm) et on écrit: η_{D}^{20}

Si les mesures sont réalisées à une température différente, par exemple 25°C, ceci doit être spécifié : η_{D}^{25}

Matériel



Figure (3.8): Dispositif du Réfractomètre d'ABBE.

Mode opératoire

- ✓ Placer du produit à l'aide d'une pipette dans la cellule de mesure jusqu'au trait signalé.
- ✓ Refermer le couvercle et appuyer sur "Mesure". Au bout de 15 secondes (temps nécessaire pour l'appareil soit stabilisé à 20°C).

Résultat

L'indice de réfraction n_D^t , à la température de référence t (à 20°C) est également donné par la formule suivante :

$$n_D^t = n_D^{t'} + 0.0004 (t' - t)$$

$n_D^{t'}$ est la valeur de la lecture, obtenue à la température t' (en °C).

Calcul

$$n_D^t = n_D^{20} + 0.0004 * (23 - 20)$$

$$n_D^t = 1,362 + 0.0004 * 3$$

$$n_D^t = 1,3624$$

Tableau (3.5): Résultat d'indice de réfraction.

Test	Résultat	Norme [125]
Indice de Réfraction	1,3624	1.3 - 1.7 (± 0.0002)

Conclusion

L'indice de réfraction d'extrait de gingembre est selon les normes.

3.2.4. Caractéristiques Chimiques de l'oléorésine

3.2.4.1. Indices Chimiques

a) Indice de Saponification

L'Indice de Saponification I_S est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'Hydroxyde de Potassium nécessaire à la neutralisation des Acides libres et à la saponification des esters présents dans 1g de substance [89,117].

Matériels

- ✓ Fiole 250ml.
- ✓ Réfrigérant à reflux.
- ✓ Billes de verre.
- ✓ Bain marie.

Réactifs

- ✓ Hydroxyde de Potassium 0,5M Alcoolique.
- ✓ Phénolphtaléine.
- ✓ Acide Chlorhydrique 0,5M.

Mode opératoire

Dans une fiole de 250ml de verre borosilicaté et munie d'un réfrigérant à reflux, introduisez la prise d'essai (1g) d'extrait de gingembre. Ajoutez 25,0ml d'Hydroxyde de Potassium Alcoolique 0,5M et quelques billes de verre. Adaptez le réfrigérant et chauffez à reflux pendant 30min. Ajoutez 1ml de solution de Phénolphtaléine R1 et titrez immédiatement (alors que la solution est encore chaude) par l'Acide Chlorhydrique 0,5M (n_1 ml d'Acide Chlorhydrique 0,5M). Effectuez un essai à blanc dans les mêmes conditions (n_2 ml d'Acide Chlorhydrique 0,5M)[89].

$$I_s = \frac{28,05 * (n_2 - n_1)}{M}$$

Calcul

Pour l'échantillon (n_1) : $V_{HCl} = 13,4$ ml

Pour le blanc (n_2) : $V_{HCl} = 21$ ml

$M = 1$ g

Résultat

$I_s = 213.18$

b) Indice d'Acide

L'indice d'Acide I_A est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'Hydroxyde de Potassium nécessaire à la neutralisation des Acides libres présents dans 1g de substance [89,126].

Matériels

- ✓ Fiole 100ml.
- ✓ Burette.
- ✓ Balance.

Réactifs

- ✓ Alcool.
- ✓ Ether Oxyde.
- ✓ Hydroxyde de Potassium 0,01 M.
- ✓ Phénolphthaléine.

Mode opératoire

Dissolvez 1g d'extrait de gingembre, dans 50ml d'un mélange à volumes égaux d'Alcool R et d'Ether R. le solvant doit être neutralisé au préalable par l'Hydroxyde de Potassium 0,1M en présence de 0,5ml de solution de Phénophtaléine R1. Après dissolution, titrez par l'Hydroxyde de Potassium 0,01M. Le titrage est terminé lorsque la couleur rose persiste pendant 15s au moins (n ml d'Hydroxyde de Potassium 0,01M)[89].

$$I_A = \frac{5,61 * n}{M}$$

5,61: Eq de KOH.

n: Volume de KOH.

M: Pesée de l'échantillon.

Calcul

n = 0.3 ml

$I_A = 1.683$

c) Indice d'Ester

L'Indice d'Ester I_E est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'Hydroxyde de Potassium nécessaire à la saponification des Esters présents dans 1g de substance. Il est calculé à partir de l'Indice de Saponification I_S et de l'Indice d'Acide I_A [122].

Indice d'Ester = Indice de Saponification – Indice d'Acide

$$I_E = I_S - I_A$$

Calcul

$I_E = 213.18 - 1,683$

$I_E = 211,49$

Tableau (3.6) : Résultats des Indices

Les indices			
Tests	I _S	I _A	I _E
Résultats	213.18	1.683	211,497

3.2.4.2. Analyse de la vitamine «C»

Matériels

- ✓ Erlenmeyer 250ml.
- ✓ Burette.
- ✓ Balance.
- ✓ Becher.

Réactifs

- ✓ Acide Sulfurique.
- ✓ Amidon.
- ✓ Iode 0,01 N.

Mode opératoire

On calciné 5g de poudre du gingembre + 10ml H₂SO₄ + 1ml Amidon dans une Erlenmeyer puis on ajoute 80ml H₂O, on titre avec l'Iode 0,01 N, on obtention d'une couleur bleu foncé[122,123].

Calcul

$$\text{Titre} = (V_{I_2} * F_{(I_2)} * Eq_{(\text{vitamine C})} / m (\text{mg})) * 100$$

$$Eq_{(\text{vitamine C})} = 0,881 \text{mg} \quad F(12) = 0.8$$

1ml de I₂ correspond à 0,881mg de vitamine C

Tableau (3.7) : résultat de vitamine (C).

Nature de gingembre	V (I ₂ 0.01N) (ml)	Titre calculé (mg/g)	Référence [53] (mg/g)
Huile standard	1.8	0 ,345	≈ 0,35
Poudre	2,2	0.341	≈ 0,35

Conclusion

La quantité de vitamine C dans la poudre du gingembre est selon la norme.

3.2.4.3. Les tests limites(Essais des impuretés inorganiques)

Ces tests sont utilisés aux différents produits chimiques et matières premières utilisées dans l'industrie chimique et pharmaceutique et ce pour éviter les problèmes de toxicité et d'effets secondaires.

a)Arsenic

A pour but de détecter la présence d'Arsenic dans la poudre de gingembre et de s'assurer que ce dernier répond aux limites d'acceptation[89,126].

Matériels

- ✓ Fiole conique de 100ml avec bouchon rôdé.
- ✓ Tube en verre.
- ✓ Coton hydrophile.
- ✓ Bouchon en plastique troué.

Réactifs

- ✓ Acide Sulfurique dilué (1 dans 5).
- ✓ Eau distillée.
- ✓ Chlorure Stanneux.
- ✓ Iodure de Potassium.

Partie expérimentale

- ✓ Papier imbibé d'Acétate de Plomb.
- ✓ Zinc granulé.

Mode opératoire

L'appareil est composé d'une fiole "A" conique de 100ml fermée par un bouchon rôdé muni d'un tube en verre "B" de dimension 8,1cm. Ce tube est relié à un autre tube "C" de 12cm * 3mm. Le tube "B" est garni d'une couche non tassée de coton à l'Acétate de Plomb en solution saturée (1+1).

Préparation du papier

Le papier au Bromure mercurique S est préparé comme suit :

Immerger le papier dans une solution de 5g de Bromure mercurique dans 100ml d'Alcool pendant 1 heure, puis sécher à 105°C. Conserver ce papier dans une boîte fermée et à l'abri de la lumière.

Prendre ce papier et l'introduire dans le tube "C".

Dissoudre la prise d'essai de l'échantillon à analyser dans :

- ✓ 20ml de l'Acide Sulfurique 1 dans 5ml,
- ✓ 0.5ml de Chlorure Stanneux,
- ✓ 25ml d'eau distillée,
- ✓ 2ml d'Iodure de Potassium (1dans 5).

Et pour la même manière préparer le témoin.

Mélanger et attendre 15min, introduisez 15g de Zinc, dans les deux fioles. Assembler aussitôt les deux tubes B+C dans la fiole et plonger la fiole dans bain d'eau à 25°C ; il se produit un dégagement de gaz (H_2), agiter doucement la fiole à 10min d'intervalle.

Après 45min, la tache éventuelle observée sur le bout du papier de l'échantillon n'est pas plus foncée que celle obtenue sur le papier du témoin.

Résultats

On observée une coloration jaune comme des traces sur bout inférieur du papier de témoin et absence total de coloration sur le papier de l'échantillon.

Conclusion

La présence de l'Arsenic dans le gingembre est inférieure de la limite d'acceptation (2ppm).

b) Les métaux lourds

A pour but de détecter la présence du Plomb dans l'huile de gingembre et de s'assurer que ce dernier répond aux limites d'acceptation (<10 ppm)[65,127].

Matériels

- ✓ Creusée de Platine.
- ✓ Bec bunsen.
- ✓ Balance.
- ✓ Pince.
- ✓ Dessiccateur.
- ✓ Deux tubes à essai.

Réactifs

- ✓ Glycérine,
- ✓ Thioacétamide 4%,
- ✓ Hydroxyde de Sodium 1N,
- ✓ Tampon Acétate pH 3,5.

Mode Opérateur

On va réaliser une calcination de 1g l'huile de gingembre jusqu'à l'obtention d'une cendre blanche.

On ajoute 1ml d'Acide Chlorhydrique (HCl) 6N pour dissoudre les résidus minérales dans le creusé pendant 5min, puis recouper le tout dans un tube a essai et compléter à 10ml de l'eau distillée.

Préparation du réactif thioacétamide

2ml de Glycérol + 1,5ml NaOH + 0,5ml d'eau distillée + 0,8ml d'une solution Thioacétamide 4%, on chauffe le tout dans un bain marie pendant 20s, et refroidir.

- **Tube témoin** : 10 ppm de Plomb + 10 ml d'eau distillée + + 2ml du tampon Acétate. Le pH = 3,5 pour fixer le pH + 1,2ml de réactif Thioacétamide.
- **Tube échantillon** : 10 ml d'eau distillée + solution des résidus minérales + 2ml du tampon Acétate. Le pH = 3,5 pour fixer le pH +1,2 ml réactif Thioacétamide.

Résultats

Après 5min et sur un fond blanc

- Tube témoin : on observe une légère coloration brune.
- Tube échantillon : aucune coloration ou moins intense que le témoin.

Conclusion

La présence de plomb dans le gingembre est inférieure de la limite d'acceptation (10ppm).

3.2.5. Tests spectrophotométriques

3.2.5.1. Spectrométrie Infrarouge à transformée de Fourier

Cette technique nous a permis d'identifier et de caractériser les différents pics correspondants aux groupements constitutionnels du gingembre.

Deux gouttes d'extraits de gingembre ont été mélangées à l'huile de nujol de grade spectroscopique.

L'analyse a été réalisée sur un appareil de type SHIMADZU 8400 ($400-4000\text{ cm}^{-1}$)[122].

Résultats d'FTIR

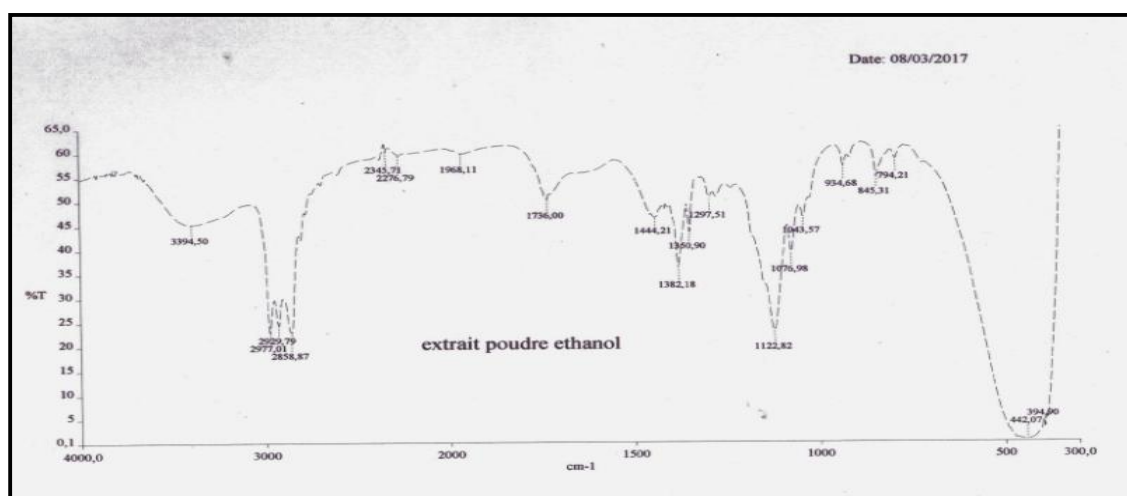


Figure (3.9) : Spectre FTIR de l'extrait de gingembre poudre Obtenu par macération dans l'éthanol.

Partie expérimentale

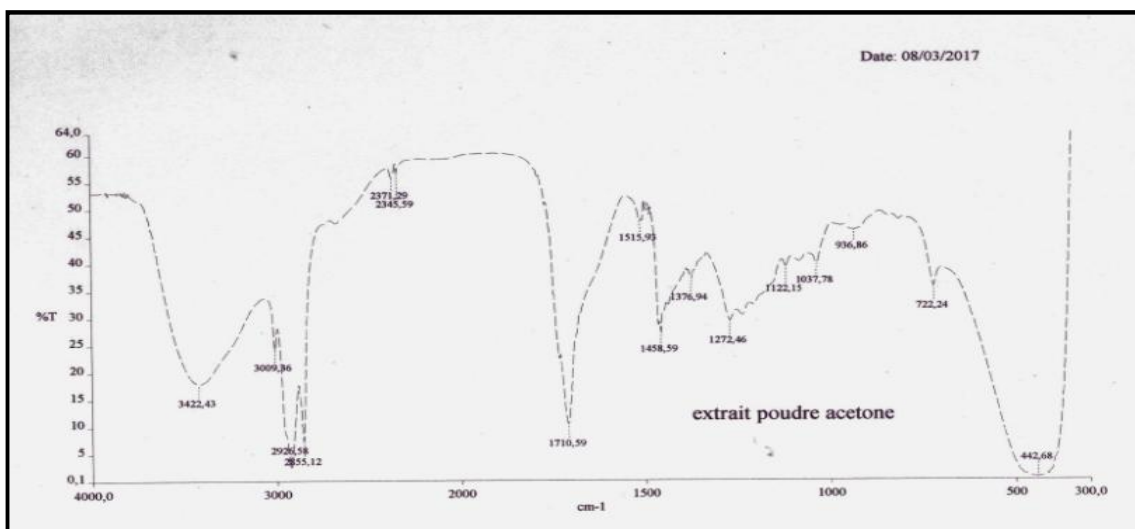


Figure (3.10) : Spectre FTIR de l'extrait de gingembre poudre
Obtenu par macération dans l'acétone.

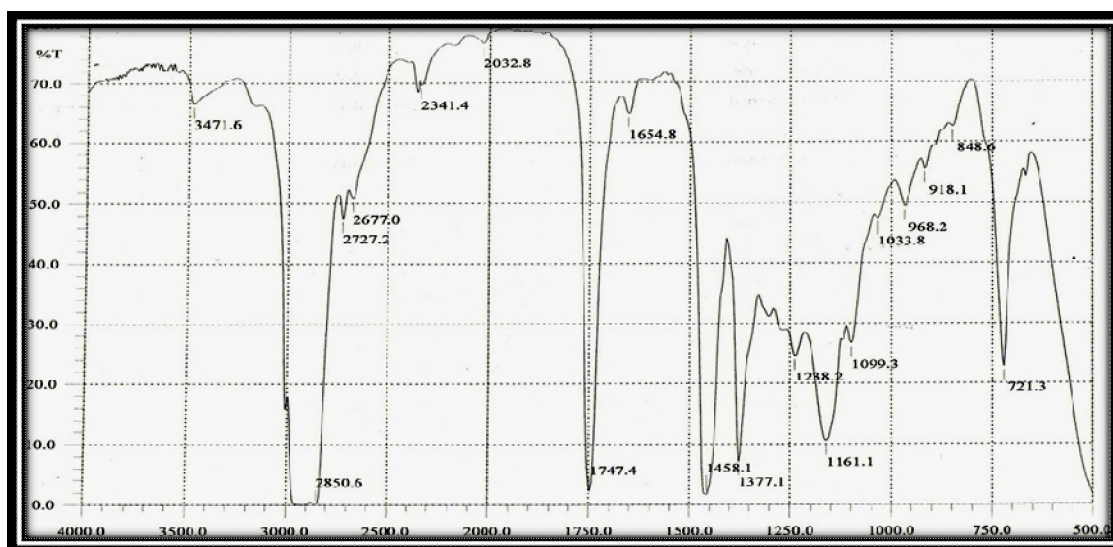


Figure (3.11) : Spectre FTIR de l'extrait de référence

Partie expérimentale

On résumé les spectres d'Infrarouge dans le **Tableau (3.8)** :

Les liaisons chimiques	Les Nombres d'ondes (cm ⁻¹)						
	Huile [53]	Huile Standard*	Poudre (Acétone)	Sèche (Acétone)	Poudre (Ethanol)	Sèche (Ethanol)	Sèche Hydro-Distillation
O-H	3400	3471.6	3422.43	3355.40	3394.50	3418.34	3434.09
(C-H)_{CH2}	2930	2850.6	2855.12	2924.82	2929.79	2858.29	2927.89
C = O	1710	1747.4	1710.59	1707.52	1736.00	1713.38	1718.34
C = C	1603	1654.8	1651.00	1618.09	1633.49	1613.87	1678.03
(C-H)_{CH3}	1430 à 1465	1458.1	1458.59	1458.40	1444.21	1643.06	1450.42
(C-O)_{Ar-OH}	1370	1377	1376.94	1376.34	1382.18	1377.11	1377.32
C-OH	935 à 1151	1033.8 à 1161.1	1122.15	1236.74	1122.18	1151.76	1110.27
Cycle aromatique	723 à 850	720.3 à 848.6	722.24 à 848.60	721.64 à 815.41	794.21 à 934.68	722.46 à 889.61	729.58 à 878.15

* huile de gingembre commercialisé.

Conclusion

Les résultats de l'étude par Spectrométrie Infrarouge à transformée de Fourier des différentes huiles sont donnés dans le Tableau (3.8).

Les valeurs des Nombres d'onde (ν) de vibration de différentes liaisons sont consignées sur ce tableau.

Les attributions des différents pics sont regroupées dans le Tableau (3.8), Nous constatons que la majorité des bandes caractéristiques des extraits de gingembre obtenus à partir de hydro-distillation et de la macération sont pratiquement semblables à celles correspondantes à l'huile standard et celle de D.W.Connell *et al* [128].

Notons par ailleurs, que ces liaisons sont celles caractéristiques des constituants de l'extrait de gingembre.

3.2.5.2. Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet visible

On fait un balayage de longueur d'onde entre [200-400] nm pour avoir les bandes d'absorption caractéristiques de l'huile de gingembre[95].

Tableau (3.9) : Les résultats de l'Ultra violet.

Nature de gingembre	Méthode d'extraction	Absorbance (Abs)	Longueur d'onde λ_{\max} (nm)
Huile [53]	-	1,596	281,6
Huile Standard*	-	0,710	288,0
Poudre	Macération par Acétone	0.8718	280.19
Poudre	Macération par Ethanol	0,3208	281.02
Poudre	Macération par Ether	1.564	280.27
Sèche	Macération par Acétone	1.7947	280.06
Sèche	Macération par Ethanol	3.2456	280.85
Sèche	Macération par Ether	2.5668	281.92
Sèche	Soxhlet par Acétone	0,9895	279,45
Frais	Macération par Ethanol	0,3750	277,21
Frais	Macération par Acétone	0,7547	280,05

Conclusion

L'analyse par spectrophotomètre UV-Visible des huiles qu'on a extraites et celles de références et standard a donné les résultats regroupés sur le Tableau (3.9).

On remarque que les longueurs d'ondes d'absorptions de bande sont presque identiques pour tous les produits : 270 nm à 282 nm avec huile de référence.

3.2.6. Tests chromatographiques

3.2.6.1. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Pour la Phase mobile : Acetonitrile 55 ml + Eau 45 ml.

Partie expérimentale

Pour la phase stationnaire, on choisit une colonne de C18, un débit de 1.3ml/mn et une température de 25 C° pour la phase mobile qui va transporter 20µl de l'échantillon à analyser (injecté par une seringue) [53].

Résultats de la HPLC

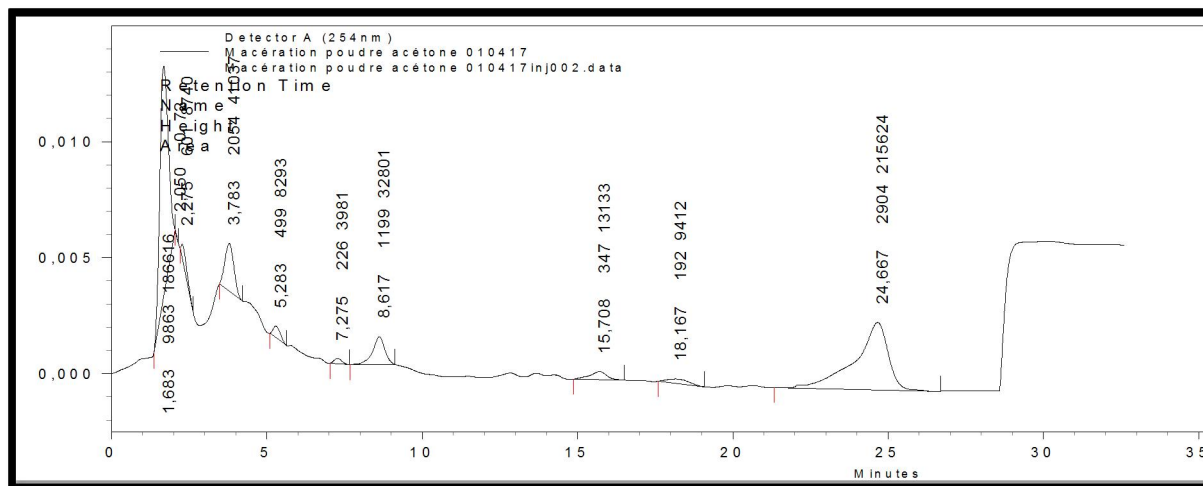


Figure (3.12) : Spectre HPLC de l'extrait de gingembre poudre
Obtenu par macération dans l'acétone.

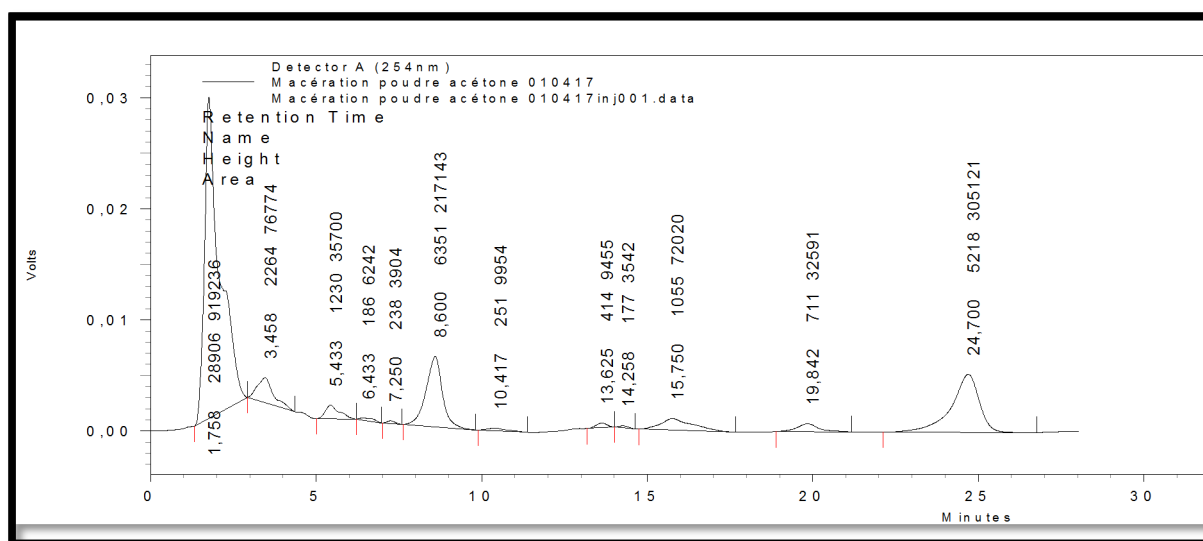


Figure (3.13) : Spectre HPLC de l'extrait de gingembre poudre
Obtenu par macération dans l'éthanol.

Partie expérimentale

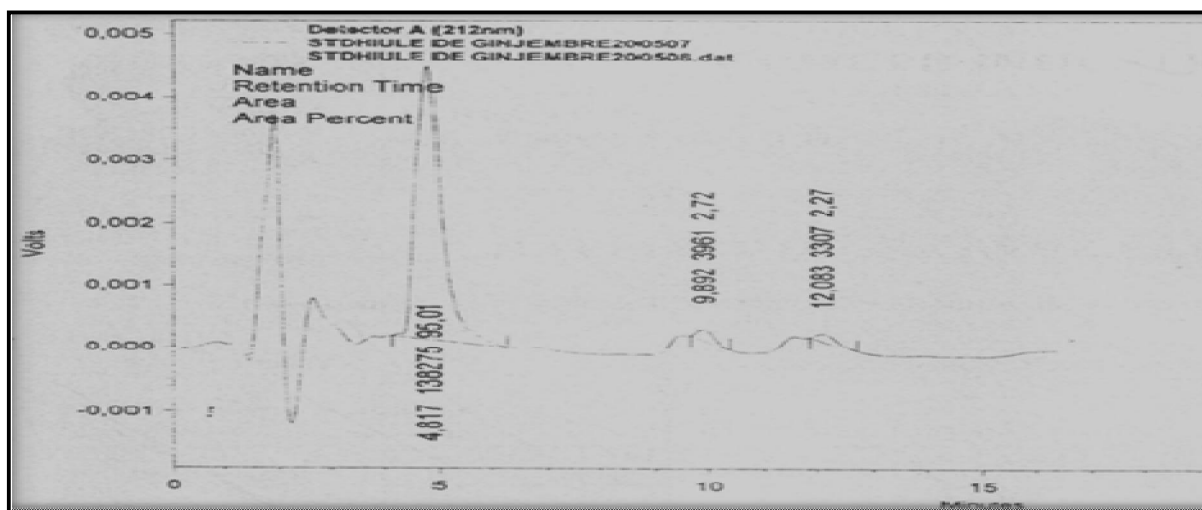


Figure (3.14) : Spectre HPLC de l'extrait de référence.

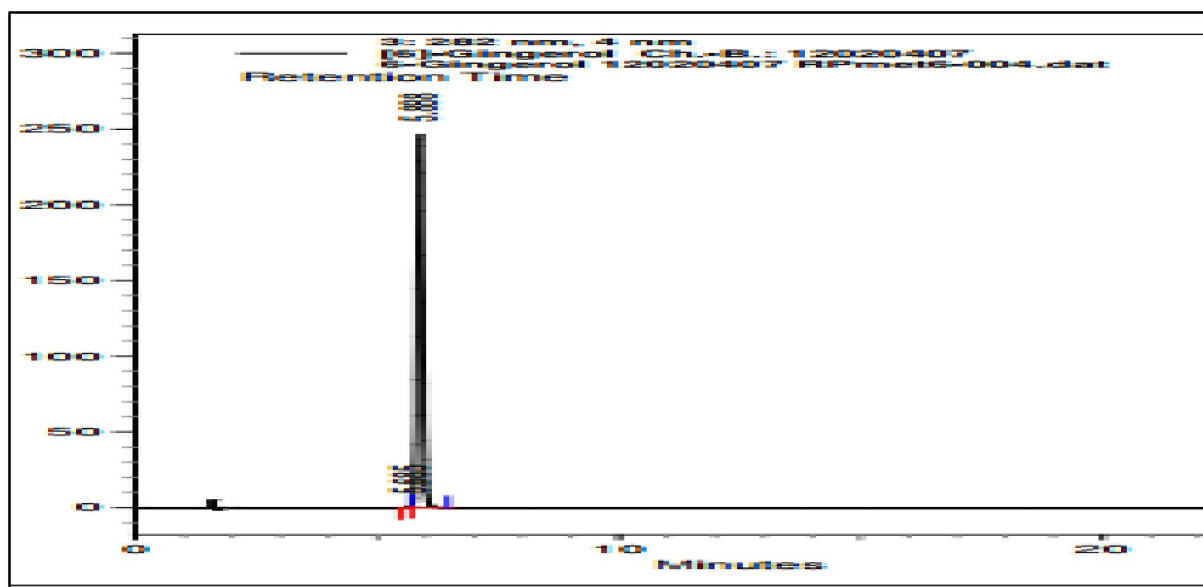


Figure (3.15) : Spectre HPLC de l'extrait de référence 6-gingérol.

On résumé les spectres d'HPLC dans le tableau suivant :

Tableau (3.10): Résultats du HPLC.

	Temps de Rétention (min)			
	6-Gingérol	8-Gingérol	6-Shogaol	Composés Inconnues
Référence [53]	4.75	10,463	13,233	10,275
Huile Standard*	4,825	9,892	12,117	11,542
Référence [129]	5,888	-	-	-
Sèche (extrait par Acétone)	5,283	-	-	15.200
poudre (extrait par Ethanol)	5,433	10,417	13,625	14.258
poudre (extrait par acétone)	5.308	10.442	13.625	15.708
Sèche (extrait par Ethanol)	5.392	-	-	24.792

Conclusion

La chromatographie liquide à haute performance nous a permis de mettre en évidence et d'identifier les différents constituants de nos extraits, comme il est illustré dans le tableau ci dessus.

Nous notons la présence du 6-Gingérol dans tous les extraits effectués avec un temps de rétention très proche les uns des autres (5,283 à 5,433 min).

Cependant et contrairement au 6-Gingérol, le constituant 8-Gingérol ne se trouve que dans l'extrait obtenu par utilisation de la poudre dans l'éthanol et poudre acétone. Il est de même pour le 6-Shogaol. Les temps de rétention de ces deux constituants sont identiques à ceux obtenus avec l'huile standard.

3.2.6.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Phase mobile 1

Phase mobile 1 [53]	93ml du Toluène + 7ml Ethyle Acétate.
Détection	Vanilline dans l'acide sulfurique.
Préparation de l'échantillon	50mg de l'huile + 5ml du Chloroforme
Révéléateur de la plaque de C.C.M	1g de vanilline dans 20ml de H ₂ SO ₄

- Les échantillons :
 - (1): huile sec extraite par Soxhlet.
 - (2):huile sec extraite par Acétone.
 - (3): huile sec extraite par éthanol.
 - (4) : huile sec extraite par Ether.
 - (5): huile poudre extraite par Ether.
 - (6) :huile poudre extraite par acétone
 - (7): huile poudre extraite par éthanol
 - (8) :huile de référence [51]

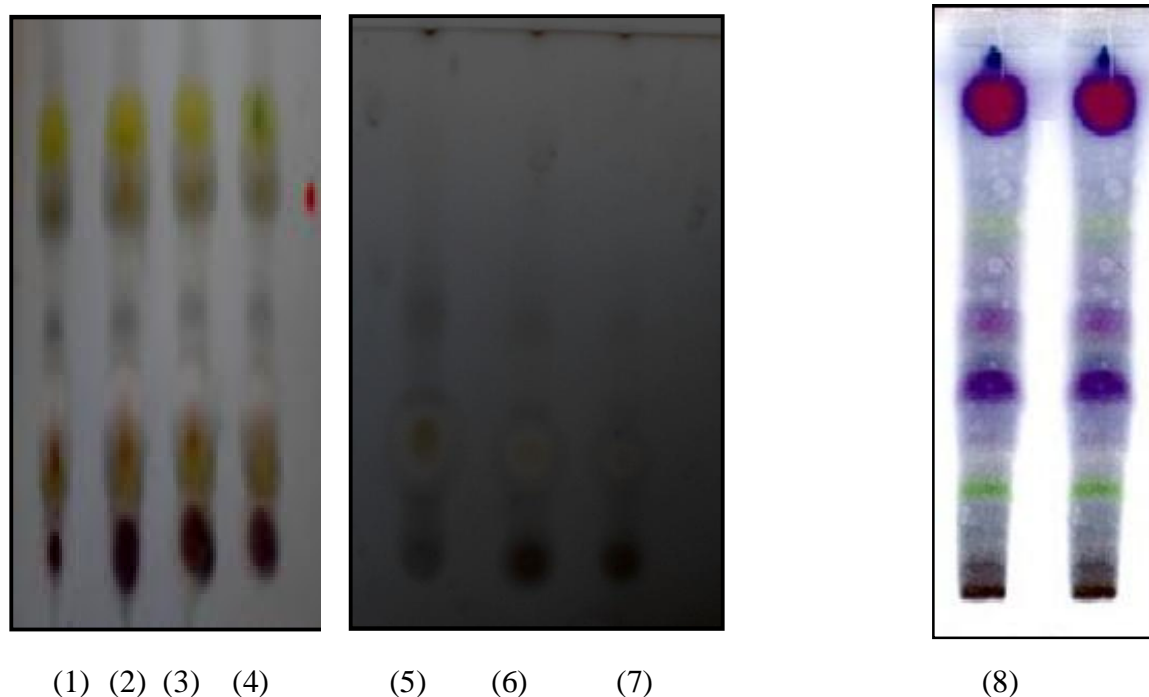


Figure (3.16):CCM de phase 1

➤ Phase mobile 2

Phase mobile 2	60ml d'éther + 40ml n-Hexane.
Détection	Vanilline dans l'acide sulfurique.
Préparation de l'échantillon	50mg de l'huile + 5ml du Chloroforme
Révéléateur de la plaque de C.C.M	1g de vanilline dans 20ml de H ₂ SO ₄

- **Les échantillons :** (1): huile sec extraite par Soxhlet.
- (2): huile sec extraite par Acétone.
- (3): huile sec extraite par éthanol.
- (4) : huile sec extraite par Ether.
- (5): huile poudre extraite par Ether.
- (6): huile poudre extraite par Acétone.
- (7): huile poudre extraite par éthanol.
- (8):huile sec extraite par Hydro-distillation.
- (9):huile de référence [51]

Partie expérimentale

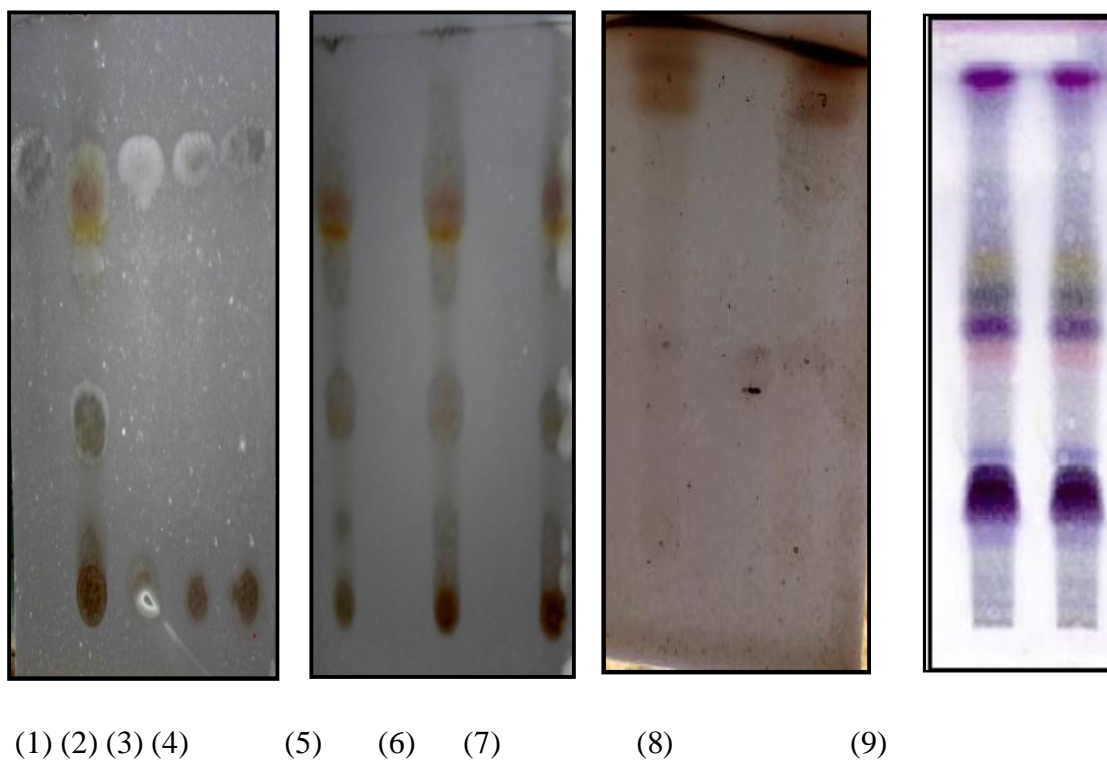


Figure (3.17):CCM de phase 2

Partie expérimentale

Tableau (3.11) : Résultats de la CCM.

Phase mobile [53]	n-Hexane + Ether		Toluène + Ethyl Acétate
Le détecteur [53]	Vanilline + Acide Sulfurique		Vanilline + Acide Sulfurique
	Rapport frontal (Rf) de Gingerols	Rapport frontal (Rf) de zingiberene	Rapport frontal (Rf) de zingiberene
La couleur	Spot violet	Spot noir pourpre	Spot rouge
Huile [53]	0,30	0,90	0,90
Huile Standard*	-	-	0,91
Sèche (Extrait par Acétone)	0.36	-	0.88
Sèche (Extrait par Ethanol)	0.37	-	0.91
Sèche (Extrait par Ether)	0,36	-	0,88
Poudre (Extrait par Acétone)	0.38	-	0.75
Poudre (Extrait par Ethanol)	0.32	-	0.91
Poudre (Extrait par Ether)	0.39	-	0,77
Sèche (Extrait par Soxhlet)	0,30	-	0,91
Sèche (Extrait par Hydro-distillation)	0,39	-	0,90

Interprétation

L'utilisation de la chromatographie sur couche mince (CCM) nous a permis de déterminer le rapport frontal (R_f) pour certains de nos extraits, et de les comparer avec ceux de la référence et de l'huile standard.

La première remarque à relever est l'absence des Gingerols et zingiberene dans l'huile standard, cet état de fait est dû peut être à la nature de la phase mobile utilisée, vu qu'avec une autre phase mobile, on arrive à avoir le zingiberene.

Pour les extraits par nos soins, on remarque la présence de 6-gingérol dans tous les extraits par contre on remarque l'absence de zingiberene dans les extraits (oléorésines) de poudre dans l'acétone et l'éther. Avec présence dans les autres extraits.

Conclusion

A la lumière des résultats obtenus par utilisation des spectrophotomètres UV, FTIR, HPLC et de la CCM, on peut conclure de façon générale, que l'huile extraite par macération poudre du gingembre dans l'éthanol est celle qui possède en son sein les principaux constituants du gingembre. Aussi la suite de nos expériences et de notre travail a été menée par utilisation de cette huile pour les tests microbiologiques, préparation de teinture officinale et on finit avec l'étude pharmacologique.

3.4. Tests microbiologiques

Les souches bactériennes conservées ont été fournies par le laboratoire microbiologique de groupe SAIDAL à Médéa, le pouvoir antibactérien des extraits est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm).

Tableau (3.12) : Les différentes souches bactériennes utilisées

Souches Bactéries	Gram	Référence
<i>Escherichia coli</i>	Gram-	ATCC 25912
<i>Bacillus subtilis</i>	Gram+	ATCC 14416
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Gram+	ATCC 12228
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram+	ATCC 29213

3.4.1. Détermination des zones d'inhibition en milieu solide

3.4.1.1. Préparation du milieu de culture

On utilise le milieu de culture suivant :

- **Gélose de soja triptyque (G.S)** : Milieu gélose de soja digéré par la caséine.

Mode opératoire

On fait la dilution de notre extrait de gingembre poudre dans l'éthanol, faire les dilutions par l'éthanol et quelques gouttes de Tween 80, (100, 80, 60, 40, 20).

On va faire la préparation de l'inoculum d'essai (germe d'essai), on fait le test spectroscopique des quatre bactéries utilisées.

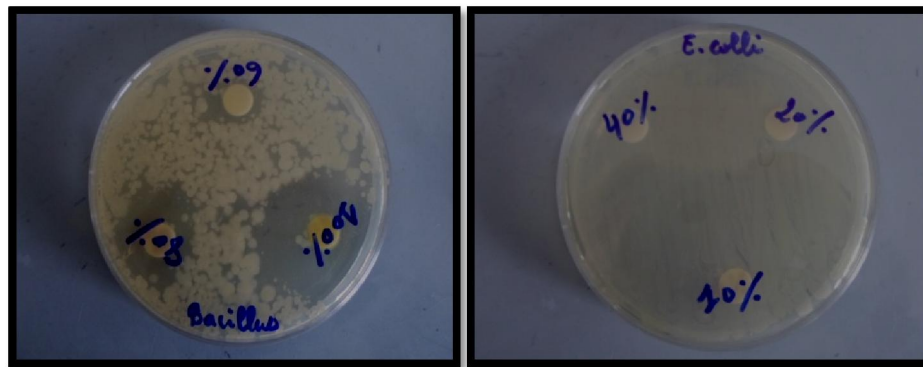


Figure (3.18): Diamètres d'inhibitions des souches par les différentes concentrations de notre extrait de gingembre.

Les résultats de notre travail sur l'extrait de gingembre poudre dans l'éthanol sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau (3.13): Diamètres d'inhibitions des souches par les différentes concentrations de notre extrait de gingembre.

Concentration (%)	Diamètre d'inhibition (mm)			
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. Coli</i>
100	23	30	0	0
80	18	21	0	0
60	15	19	0	0
40	0	14	0	0
20	0	0	0	0

Observation

Pour les bactéries, *S. aureus* et *B. subtilis* on observe des zones d'inhibition dans huile de gingembre poudre en éthanol, extrait par macération.

Pour les bactéries, *E. coli* et *S. epidermidis* une absence des zones d'inhibition.

Commentaire

- Pour les bactéries, *S. aureus* et *B. subtilis* :
Plus les concentrations de l'extrait de gingembre augmentent plus les diamètres d'inhibition augmentent.
- Pour les bactéries, *S. epidermidis* et *E. Coli* : Aucuns résultats observés.

Conclusion

L'extrait de gingembre poudre dans l'éthanol inhibe la croissance des bactéries de Gram (+), (*S. aureus* et *B. subtilis* sauf *S. epidermidis*), par contre il n'inhibe pas la croissance des bactéries de Gram (-), (*E. Coli*), d'après Kalemba D., et al, L'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles dépend des deux principaux paramètres, l'huile essentielle et sa composition chimique d'une part, et le microorganisme (type structure ...) d'autre part [130]

3.4.2. Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide

On va déterminer la CMI de notre extrait de gingembre poudre dans l'éthanol par les bactéries *Staphylococcus aureus* et le *Bacillus subtilis* en milieu liquide par la méthode des dilutions successives.

3.4.2.1. Préparation du milieu de culture

On utilise le milieu de culture suivant :

- **Bouillon de soja triptyque (B.S)** : Milieu de soja digéré par la caséine.

Mode opératoire

- ✓ Deux tubes contiennent le Bouillon de soja triptyqueensemencés l'un par la *S. aureus*, et l'autre tubes par *S. Bacillus* les deux représentent le blanc.
- ✓ Cinq tubes contiennent le Bouillon de soja triptyqueensemencés par la *S. aureus* + les différentes concentrations de l'extrait de gingembre.
- ✓ Sept tubes contiennent le Bouillon de soja triptyqueensemencés par la *S. Bacillus* + les différentes concentrations de l'extrait de gingembre.

Après on mètre les 14 tubes dans l'incubateur pendant 24h à T=32C°

- ✓ On fait la lecture des deux tubes blancs à t=24 après l'ajout de formaldéhyde pour inhiber (ralentir) la croissance de germe,
- ✓ Après le temps précédent, on ajoute le formaldéhyde (0,5ml) dans les 14 tubes et, puis on fait l'agitation de ces tubes par l'appareil VOLTEX, et ensuite on fait la lecture de la D.O dans le spectrophotomètre (UV-Visible) à 530 nm.



Figure (3.19):Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide.

Partie expérimentale

Les résultats de notre travail sur l'extrait poudre dans l'éthanol de gingembre sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau (3.14): Les valeurs de D.O de *S. aureus* et *S. Bacillus* par différentes concentrations de notre extrait poudre dans l'éthanol de gingembre.

Concentration %	D.O (<i>S.aureus</i>) D.O =1.826 (t=24h)	D.O (<i>S. Bacillus</i>) D.O =0.315 (t=24h)
100	3.569	3.570
80	1.688	2.860
60	1.658	2.345
40	1.521	1.975
20	1.337	1.720
10	-	1.017
5	-	0.309

Commentaire

Plus que la concentration de l'extrait poudre dans l'éthanol de gingembre augmente plus que les tubes sont plus clairs (la turbidité diminue avec l'augmentation de la concentration).

Conclusion

La valeur de la CMI de notre extrait de gingembre pour inhiber la croissance de ce germe (*S. aureus*) comprise entre 80% et 100%.

La valeur de la CMI de notre extrait de gingembre pour inhiber la croissance de ce germe (*S. Bacillus*) comprise entre 5% et 10%.

Chapitre 4 : Préparation d'une teinture officinale à base de gingembre

Teinture de zingiber officinale

200mg/ml

4.1.Présentation de la teinture

4.1.1.Forme

Liquide pour application cutané.

Flacon de 60 ml

4.1.2.Composition

Tableau (4.1):Composition de teinture (gingembre officinale)

Substances actives et excipients	QSP 100 ml
Huile de gingembre	20 g
Alcool éthylique 96°	70 ml
Eau purifiée	30 ml

4.1.3. Indications thérapeutiques

- Médicament homéopathique utilisé en usage local dans le traitement des plaies superficielles de faible étendue.
- Des crevasses.
- Ecorchures.
- Gerçures.
- Des piqûres d'insectes.
- Antiseptique.
- cicatrisante.

4.1.4. Précautions d'emploi

- ❖ Ne pas appliquer sur les plaies ou les lésions surinfectées.
- ❖ Ne pas appliquer sur les yeux et les muqueuses.
- ❖ Arrêter le traitement dès la disparition des symptômes.
- ❖ Usage externe. Ne pas avaler.

4.1.5. Conservation

Dans des récipients bien fermés, à l'abri de la lumière et une température de 25°C.

4.1.6. Posologie

- Appliquer la teinture sur la peau, 1 à 4 fois par jour à l'aide d'une compresse.
- L'utilisation chez l'enfant de moins de 6 ans nécessite un avis médical.

4.1.7. Mode et voie d'administration

Voie cutanée (Solution à appliquer sur la peau).

4.1.8. Durée du traitement

La durée du traitement ne doit pas dépasser une semaine.

4.1.9. Description des effets indésirables

Comme tous les médicaments TEINTURE de zingiber officinale, solution pour application cutanée est susceptible d'avoir des effets indésirables, bien que tout le monde n'y soit pas sujet.

En raison de la présence d'alcool, les applications fréquentes sur la peau peuvent provoquer des irritations et une sécheresse de la peau.

4.2. Identification de la composition de teinture

Partie expérimentale

Spécification technique

Principe actif :Extrait de gingembre

Documentation de référence

Tableau (4.2):Document de références d'extrait de gingembre

TESTS	SPECIFICATION
Aspect	Liquide limpide huileux de couleur jaunâtre à une odeur caractéristique de gingembre
Densité relative	0,832 à 0,846
Arsenic	<1 ppm
Métaux lourds	<10 ppm
Activité microbiologique	Effet sur : <i>Staphylococcus Aureus</i> , <i>Bacillus</i> .

Partie expérimentale

Certificat d'analyse

Principe actif : Extrait de gingembre

Tableau (4.3): résultat d'analyse d'extrait de gingembre (poudre dans l'éthanol)

TESTS	RESULTATS
Aspect	Conforme
Densité relative	0,838
Arsenic	Conforme
Métaux lourds	Conforme
Identification (UV)	281,02nm
Identification (IR)	Spectre identification à celui de référence
Identification (HPLC)	6-gingérol (5,433) 8-gingérol(10.417) 6-Shogaol(13.625)
Identification (CCM)	R _f =0,36 gingérol (bleu) R _f =0,91 zingiberene (rouge)
pH	4,58
Propreté microbiologique <i>Bacillus, staphylococcus</i>	Positive
Vitamine C	0.341mg/g
Indice de saponification	179,0712
Indice d'acide	1,68
Indice d'ester	177,388
Indice de réfraction	1.362
Pouvoir rotatoire	-17
Perte à la dessiccation	10,34%

Certificat d'analyse

Excipient : Alcool Ethylique

Tableau (4.4):résultat d'analyse d'alcool éthylique.

TEST	SPECIFICATION	RESULTAT
Aspect	Liquide limpide incolore avec odeur caractéristique.	Conforme
Identification chimique	-Développement d'une odeur iodoforme et précipité jaune. -Présence d'une coloration bleue intense qui devient pale après quelques minutes.	Positive
Solubilité	Miscible avec l'eau, le chloroforme, et l'éther.	Positive
Densité relative	0,812 à 0,816 à 15,56°C.	0,814
pH (10g/l, H₂O, 20°C)	5 à 7	6,8
Substance insoluble dans l'eau	Le mélange est clair pendant 30min après refroidissement à 10°C.	Conforme
Acidité	≤ 0,9ml de NaOH de 0,02 N.	0,04ml
Résidu non volatile	≤ 1mg.	0,75mg
Méthanol	On ne doit obtenir une coloration violette	Conforme

Conclusion

Les résultats obtenus selon les références (Conforme).

Certificat d'analyse

Excipient : Eau purifiée (H₂O)

Tableau (4.5): résultat d'analyse d'eau purifiée.

TESTS	SPECIFICATIONS	RESULTATS
Aspect	Liquide limpide et incolore	Conforme
Acidité ou alcalinité	Par addition de 0,1ml de NaOH 0,01M la solution devient rouge ou 0,15ml Hcl 0,01M la solution devient jaune.	0,1ml NaOH 0,01M
PH	5 à 7	6,75
Substance oxydable	La solution doit rester légèrement colorée en rose	Conforme
Chlorures	≤ 0,5 ppm	Conforme
Nitrate	≤ 0,2 ppm	Conforme
Sulfates	Solution limpide	Conforme
Ammonium	≤ 0,2 ppm	Conforme
Calcium et magnésium	Apparition d'une couleur bleu franc	Conforme
Métaux lourds	< 0,1 %	Conforme
Résidu à l'évaporation	< 0,004 %	0,0020%
Conductivité	≤ 25μS.cm ⁻¹	Conforme

Conclusion

Les résultats obtenus selon les références (Conforme).

4.3. Préparation de la teinture

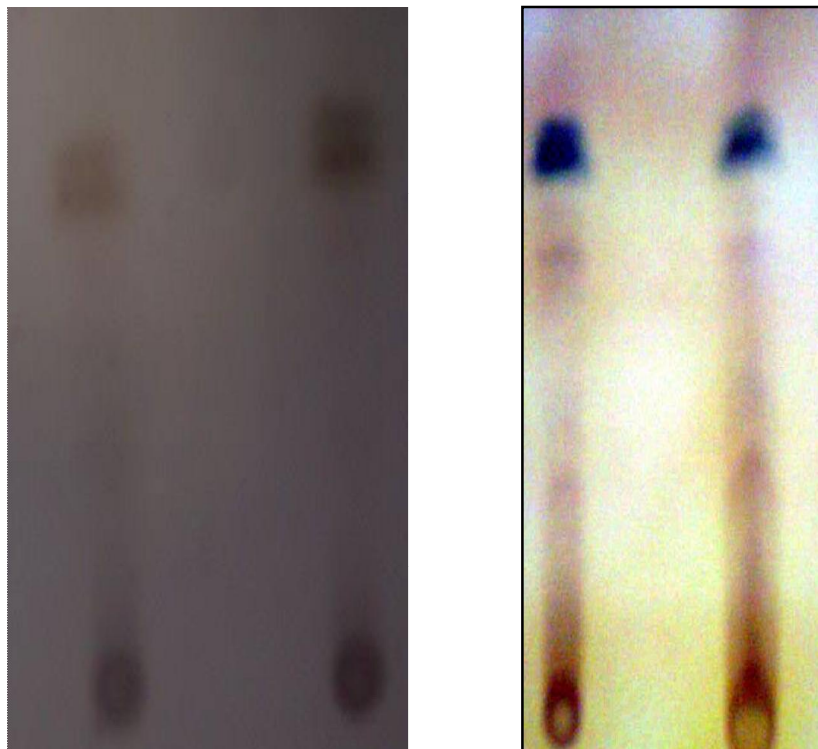
Dissout 20 g de huile gingembre dans 100 ml de solution contenue (70 ml alcool + 30ml eau purifiée).

Après la préparation de la teinture, on filtre cette dernière par filtre à seringue de 0,22μm, pour bien assurer l'absence des germes qui vit dans la teinture.

4.4. Caractérisation de teinture

4.4.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La phase mobile : n Hexane + Ether



Teinture(Extrait par éthanol)(53)

Figure (4.1):CCM de teinture officinale.

Résultat

Tableau (4.6):résultat de la CCM.

	Rapport frontal (Rf) de 6-gingérol	Rapport frontal (Rf) de zingiberene
La couleur	Spot violet	Spot noir pourpre
Référence [53]	0,2 à 0,4	0,91
Teinture	0,43	0,95

4.4.3. Test microbiologique

Le pouvoir antibactérien de teinture est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm).

Les résultats de notre travail sur la teinture et le mélange de Ethanol et l'eau purifiée sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau (4.8): Diamètres d'inhibitions des souches par les différents composants.

Les composants	Diamètres d'Inhibition (mm)			
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. Coli</i>
Teinture	25	27	16	0
Ethanol et Eau purifiée	20	11	0	0

Résultats

- **Pour la teinture :** On observe des zones d'inhibition chez les bactéries *S. aureus*, *B. subtilis* et *S. epidermidis* de Gram +.
- **Pour Ethanol :** On observe des zones d'inhibition chez les bactéries *S. aureus* et *B. subtilis* et l'absence de zone chez *S. epidermidis*. D'après Dorman H. J. D. et al, Les alcools sont généralement plus connus pour leur activité létale que bactériostatique sur les cellules végétatives, en dénaturant les protéines [131].

Avec une absence totale des zones d'inhibition chez la bactérie *E. Coli* de Gram - dans la teinture et Ethanol.

Partie expérimentale

Certificat d'analyse

Produit Fini : Teinture de gingembre

Tableau (4.9): résultat d'analyse de teinture officinale.

TESTS	SPECIFICATION	RESULTAS
Aspect	Liquide de couleur jaunâtre à odeur caractéristique d'alcool et de gingembre	conforme
Densité (20°C)	0,90 à 0,99	0,98
Arsenic	≤ 1 ppm	Conforme
Identification CCM	Identique au témoin	Conforme
Identification HPLC	Même temps de rétention	conforme
Substances non volatiles	80-120mg	90mg
Métaux lourds	≤ 10 ppm	conforme
Limite microbiologique	Effet sur : <i>Staphylococcus Aureus</i> , <i>Bacillus-subtillis</i> <i>et staphylococcus epidermidis</i> .	conforme

Conclusion

La teinture officinal est conforme selon la :

- ✓ EP 2001
- ✓ USP 24
- ✓ BP 2004
- ✓ EP 2008

4.5. Activité biologique

Ce test consiste à créer des plaies sur des animaux puis à les traiter avec la préparation de teinture à tester.

Les animaux utilisés étaient des lapins de couleur blanche (un mâle ou une femelle), une race albinos hybride entre les Néozélandais de poids compris entre 1,500 et 2,300kg sélectionné pour les laboratoires d'analyses. De telle sorte qu'on les traite séparément dans des cages.



Figure (4.3):Les lapins utilisés au cours de l'expérience.

Matériels

- ✓ Balance en bascule.
- ✓ Ciseaux.
- ✓ Lame de rasoir.
- ✓ Lame de bistouri.
- ✓ Pince.
- ✓ Coton.
- ✓ Règle.

Réactifs

- ✓ Teinture de gingembre.
- ✓ Extrait de gingembre.
- ✓ Teinture industrielle.
- ✓ Ethanol+Eau purifiée.

Mode opératoire

Partie expérimentale

Les lapins ont été marqués au dos et les deux côtés dans le but de les identifier. Ils ont été pesés en vue de déterminer leur poids. Les lapins ont été rasés avec des ciseaux et une lame de rasoir. Les plaies d'incision d'environ 4 cm ont été créées avec une lame de bistouri et nettoyées avec du coton avant application de la teinture. Le pansement des plaies a été fait tous les jours en raison d'une fois par jour avec une quantité précise de teinture et d'autres composants appliquée sur les plaies. Les mesures des plaies ont été faites tous les deux jours jusqu'à guérison complète. L'aspect des plaies ont été noté pendant toute la durée du traitement.

4.5.1. Activité antiseptique et cicatrisante « *in vivo* »

Le processus de guérison s'est passé par plusieurs phases, une disparition progressive de l'inflammation (plaies devenaient moins rouges 1^{er} jour), une phase de contraction (les plaies devenaient dures et se couvraient de croûtes un peu noirâtres, 3^{ème} jour), Le traitement a permis d'obtenir une guérison complète des plaies (9^{ème} jour).

4.5.1.1. Plaies traitées avec la teinture

Les plaies traitées avec la teinture, ont guéri au bout de 9 jours. Elles ont été traitées avec une quantité d'environ 0,40g de teinture pendant tous les jours de traitement. La figure ci-dessous montre les images des plaies traitées avec la teinture au J1 (création de la plaie), J3 (lorsque la plaie a atteint 25% de rétrécissement) et J9 (repousse des poils). En 10 jours de traitement de teinture a entraîné une guérison totale de la plaie cutanée, le remodelage des tissus et la repousse des poils.



1^{ère} jour 3^{ème} jour 9^{ème} jour

Figure (4.4) : Photo des plaies traitées avec la teinture.

4.5.1.2. Plaies traitées avec extrait de gingembre poudre dans l'éthanol

Partie expérimentale

Les quatre plaies traitées avec l'extrait de gingembre ont guéri au bout de 6 jours. Les mêmes quantités de teinture ont été utilisées comme précédemment Figure (4.5). Mais on observe des pores sur la peau de lapin «irritation» comme la figure ci-dessous. D'après Couic-Marinier F., *etal*, L'usage des huiles essentielles en application locale, en parfumerie ou en cosmétique, peut générer des irritations, allergies voire photosensibilisation. C'est le cas de l'huile essentielle de Thym, d'Origan, de la Sarriette qui sont connues pour leur pouvoir irritant et agressif, l'huile essentielle de Cannelle qui est dermocaustique et allergisante pour les terrains sensibles, et les essences d'agrumes (pamplemousse, citron...) qui sont photosensibilisantes par des réactions épidermiques après exposition au soleil[132].



1^{ère} jour 3^{ème} jour 9^{ème} jour

Figure (4.5) :Photo des plaies traitées avec extrait de gingembre poudre dans l'éthanol.

4.5.1.3. Plaies traitées avec teinture industrielle

Teinture industrielle a induit la guérison des plaies en 8 jours. Elle a été utilisée selon les mêmes conditions et quantités que les produits à tester Figure (4.6).

Partie expérimentale



1^{er} jour

3^{ème} jour

9^{ème} jour

Figure (4.6) :Photo des plaies traitées avec la teinture industrielle.

4.5.1.4. Plaies traitées avec le mélange de 70ml d'éthanol-30ml eau purifiée

La plaie traitée avec le mélange d'éthanol-eau purifiée à ne guéri pas au bout de 9 jours. Cette dernière a été traitée avec une petite quantité pendant les jours de traitement avec 70ml d'éthanol et 30ml eau purifiée.



1^{er} jour

3^{ème} jour

9^{ème} jour

Figure (4.7):Photo des plaies traitées avec (Ethanol+eau purifiée)

4.4.1.5. Plaie non traitée

La plaie non traitée n'a guéri pas totalement au bout de 9 jours (Figure (4.8)).



1^{er} jour 3^{ème} jour 9^{ème} jour

Figure (4.8): Photo des plaies non traitées.

4.5.2. Récapitulatif des longueurs de rétrécissement des plaies

On va mesurer les longueurs des fissures de chaque jour

Tableau (4.10) : Les longueurs de rétrécissement des plaies.

Les composants	21-03-2017	23-03-2017	26-03-2017	30-03-2017
Témoin	a- 4 cm b-4 cm c-4 cm	a- 3,9 cm b-3,9 cm c-3,9 cm	a- 3,4 cm b-3,3 cm c-3,9 cm	a- 2 cm b-1,8 cm c-1,5 cm
Teinture	a-4 cm b-4 cm c-4 cm	a-3,8cm b-3,6cm c-3,5cm	a-2 cm b-1,9cm c-1,3 cm	a-0,2 cm b-0.4 cm c-0 cm
Huile de gingembre (poudre Ethanol)	a-4 cm b-4 cm c-4 cm	a-2,9cm b-1,9 cm c-2,4cm	a-0 cm b- 0 cm c-1.5 cm	a- 0 cm b- 0 cm c- 0 cm
Teinture industriel	a-4 cm b-4 cm c-4 cm	a-2,9cm b-2 cm c-2,5 cm	a-1,2 cm b-0,8 cm c-1,9 cm	a-0,2 cm b-0 cm c-0,3 cm
Ethanol+ eau purifiée	a-4 cm b-4 cm c-4 cm	a- 3,2cm b-2,9cm c-2 cm	a- 1,6 cm b-1,4 cm c-0,8 cm	a- 0,8 cm b-0,7 cm c-1 cm

Les résultats de tableau est se rapproche se forme de graphe :

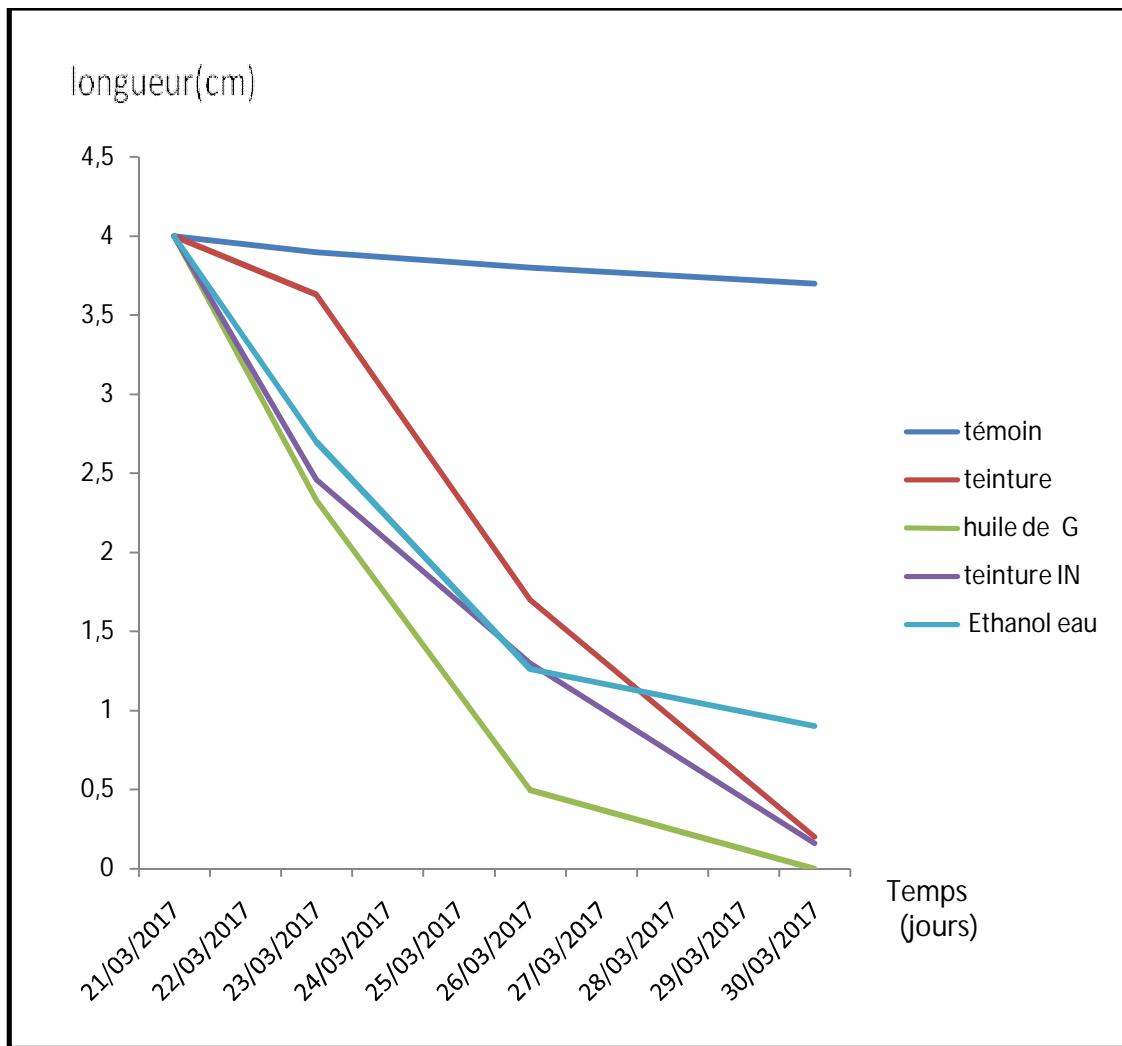


Figure (4.9):les longueurs des fissures en fonction de temps (jrs)

Conclusion

L'efficacité a été presque la même pour la teinture préparée à base de huile de gingembre et la teinture industrielle avec une même durée de traitement (9 jours). L'excipient l'éthanol-eau purifiée ne semble pas avoir démontré un effet de cicatrisation notable puisque les plaies traitées avec ce mélange ont guéri presque au même rythme que les plaies non traitées. Le principe actif (extrait de gingembre poudre dans l'éthanol) utilisé dans la fabrication de teinture testée a guéri au bout de 6 jours mais le 5^{ème} jour démontré une irritation sur la peau se forme des pores.

Notre étude a porté sur l'activité antiseptique et cicatrisante de teinture à base de gingembre contre les plaies.

Un certain nombre de résultats ont été obtenus.

L'extraction de masse liquide du gingembre poudre, frais et sèche, par différents procédés et le calcul de leurs rendements nous a permis de constater que :

- L'extraction par macération de l'huile de gingembre «sèche avec l'éthanol» ayant un meilleur rendement par rapport les autres solvants et les autres procédés.
- La récupération de l'huile de gingembre est très difficile car elle en résulte une quantité très infime par rapport à la traitée.

Des études sur les caractéristiques physico-chimiques de la plante et ses divers principes actifs (gingérols, zingabirène, ...etc) Comprenant tous les tests mis à notre disposition, au niveau du laboratoire de SAIDAL (tests physico-chimique, bactériologique et biologique) ont été menées.

Les résultats obtenus sont comparables à ceux donnés par les publications spécialisées.

L'identification de l'huile a été obtenue par deux méthodes de séparation :

- Chromatographie à haute performance en phase liquide (HPLC).
- Chromatographie sur couche mince (CCM).

Et par deux méthodes de détection :

- Spectrométrie Infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).
- Ultra-violet (UV).

On a conclu que l'huile, extraite par macération de gingembre sous forme sèche à partir de l'éthanol, contenait les principaux constituants du gingembre et ces divers principes actifs (gingérols, zingabirènes, etc...).

Les tests microbiologiques sur l'huile de gingembre extraite par l'éthanol ont montré une grande activité antiseptique sur les bactéries de Gram (+) (*Staphylococcus et Aureus, Bacillus subtilis*) et rien à voir avec les bactéries de Gram (-) (*Echeria coli*), par la méthode de diffusion en milieu solide et de dilution en milieu liquide par contre l'extrait brut de gingembre ayant une moins activité anti bactérienne sur les mêmes bactéries utilisées et avec la même méthode.

On a mis en évidence, la préparation pharmaceutique de teinture à base de gingembre, en réalisant des tests in vivo sur les lapins.

Les résultats de l'activité antiseptique et cicatrisante ont montré un potentiel de guérison rapide des plaies par la teinture de l'extrait de gingembre sur les lapins.

L'efficacité a été presque la même pour la teinture préparée à base de l'huile de gingembre et la teinture industrielle avec une même durée de traitement.(9 jours).

Dans tous les cas, le gingembre n'est pas loin d'être une plante providentielle.

Pour compléter notre travail on va faire :

- Réalisation d'une étude histologique sur les tissus de lapin pour confirmer l'effet cicatrisant.
- Déterminer le meilleur effet cicatrisant de notre teinture par un changement de principe actif à différentes concentrations.
- Elaboration des autres formes pharmaceutiques à base de l'extrait de gingembre pour déterminer son effet thérapeutique.

Références Bibliographiques

- [1] Li, W., Dasgeb, B., Phillips, T., Li, Y., Chen, M., Garner, W. et Woodley, D. T., (2005) :Wound-healing perspectives. *Dermatol Clin.*, 23 (2): 181-192.
- [2] Smith, K. L. & Dean, S. J. (1998) : Tissue repair of the epidermis and dermis. *J Hand Ther.* 95-104.
- [3] Eddouks M. Ouahidi ML, Farid O, Moufid A, Khalidi A, Lemhadri A. (2007) :L'utilisation des plantes medicinales dans le traitement du diabete au Maroc. *Phytotherapie* ; 5(4) : 194-203.
- [4] Chaudhary SA, Gadhvi KV, Chaudhary AB. (2010) : Comprehensive review on world herb trade and most utilized medicinal plant. *Int J Appl Biol Pharmaceut Tech* ; 1(2) : 510-7.
- [5] O.M.S.Organisation Mondiale de la Santé (2014) : Résistance aux antimicrobiens, Centre des Médias, Aide-mémoire N°194.
- [6] Farnsworth NR, Akerele O, Bingel AS, Soejarto DD, Guo Z. (1985) : Medicinal plants in therapy. *Bull World Health Organ*; 63(6) : 965-81.
- [7] Eisenberg DM, Kessler RC, Foster C, Norlock FE, Calkins DR, Delbanco TL. (1993) :Unconventional medicine in the United States. Prevalence, costs, and patterns of use. *N Engl J Med* ;328(4) : 246-52.
- [8] Awe FB, Fagbemi TN, Ifesan BOT, Badejo AA. (2013):Antioxidant properties of cold and hot waterextracts of cocoa, Hibiscus flower extract, and ginger beverage blends. *Food Res Int*; 52(2): 490-5.
- [9] Minaiyan M, Ghannadi A, Karimzadeh A. (2006):Anti-ulcerogenic effect of ginger (rhizome of *Zingiber Officinale* Roscoe) on cystemine induced duodenal ulcer in rats. *DARU* ; 14(2) : 97-101.
- [10] Gigon F. (2012) : Le gingembre, une épicecontre la nausée. *Phytotherapie* ; 10(2) :87-91.

Références Bibliographiques

- [11] Singh G, Kapoor IP, Singh PK, de Heluani CS, de Lampasona MP, Catalan CA. (2008) : Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food Chem Toxicol* ; 46(10) : 3295-302.
- [12] Ali BH, Blunden G, Tanira MO, Nemmar A. Some phytochemical, pharmacological and Toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a review of recent research.
- [13] Pharmacopée Européenne (2000).
- [14] Faivre CI, Lejeune R, Staub H, Goetz P. (2006) : *Zingiber officinale* Roscoe. *Phytothérapie* ; 4(2): 99-102.
- [15] 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.
- [16] Richard H., Loo A. (1992) : Nature, origine et propriétés des épices et aromates bruts. In Richard H (Coordonnateur) *Epice et Aromates*. Tec et Doc - Lavoisier, Paris.
- [17] Wilson R, Haniadka R, Sandhya P, Palatty PL, Baliga MS. (2013) : Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) the Dietary Agent in Skin Care: A Review. In: Watson RR and Zibadi S. Eds. *Bioactive Dietary Factors and Plant Extracts in Dermatology*. Nutrition and Health. New York: Springer Science+Business Media; 103-11.
- [18] Grzanna R, Lindmark L, Frondoza CG. (2005) : Ginger: An herbal medicinal product with broad anti-inflammatory actions. *J Med Food*; 8(2): 125-32.
- [19] Langner E, Greifenberg S, Gruenwald J. (1998) : Ginger: history and use. *Adv Ther*; 15(1) : 25-44.
- [20] Evans WC. (2009) : Trease and Evans' pharmacognosy, 16^{ème} édition. Oxford: Saunders Limite,

- [21] Wohlmuth H, Leach DN, Smith MK, Myers SP. (2005) : Gingerol content of diploid and tetraploid clones of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *J Agric Food Chem*, ; 53(14) : 57728.
- [22] Corrigan D. (1997): *Zingiber Officinale*. *Adverse Effects of Herbal Drugs*; 3: 215-28.
- [23] Braga M.E.M., Moreschi S.R.M., Meireles M.A.A. (2006): Effects of Supercritical Fluid Extraction on *Curcuma longa* L. and *Zingiber officinale* R. *Starches, Carbohydrate Polymers*, 63, 340-346.
- [24] Dugasani S, Pichika MR, Nadarajah VD, Balijepalli MK, Tandra S, Korlakunta JN. (2010): Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol and [6]-shogaol. *J Ethnopharmacol*, 3; 127(2): 515-20.
- [25] Ha S.K., Moon E., Ju M.S., Kim D.H., Ryu J.H., Oh M.S., Kim S.Y. (2012): 6-Shogaol, A Ginger Product Modulates Neuroinflammation: A New Approach to Neuroprotection, *Neuropharmacology*, 63, 211-223.
- [26] Pancharoen O., Prawat U., Tuntiwachwuttikul P. (2000): Phytochemistry of The Zingiberaceae. In: Atta-ur-Rahman (Ed) *Studies in Natural Products Chemistry*, Volume 23, *Bioactive Natural Products (Part D)*, Elsevier. pp 797-865.
- [27] Ma J., Jin X., Yang L., Liu Z.-L. (2004): Diarylheptanoids From the Rhizomes of *Zingiber officinale*, *Phytochemistry*, 65, 1137-1143.
- [28] Kiuchi F., Iwakami S., Shibuya M., Hanaoka F., Sankawa U. (1992): Inhibition of Prostaglandin and Leukotriene Biosynthesis by Gingerols and Diarylheptanoids, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 40, 387-391.
- [29] Zhou C.X., Zhang X.Y., Dong X.W., Tao Q.F., Dou H., Zhang R.P., Huang K.X., Li X.K., Chen C.X., Zeng S., Zhao Y. (2007) : Three New Diarylheptanoids and Their Antioxidant Property, *Chinese Chemical Letters*, 18, 1243-1246.

- [30] Ghasemzadeh A., Jaafar H.Z.E., Rahmat A. (2010): Elevated Carbon Dioxide Increases Contents of Flavonoids and Phenolic Compounds, and Antioxidant Activities in Malaysian Young Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe.) Varieties, *Molecules*, 15, 7907-7922.
- [31] Charles DJ.(2013) :Ginger. In: Charles DJ. Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources. New York: Springer Science+Business Media; 335-45.
- [32] Ody P. (1995):Les Plantes Médicinales, Encyclopédie Pratique. Sélection Reader's Digest. p115.
- [33] Van Wyk B.-E., Wink M. (2004) : Medicinal Plants of The World. Briza Publication, South Africa. pp 43, 349
- [34] Lee H.S., Kim S.-S., Kim G.J., Lee J.-s., Kim E.-J., Hong K.J. (2008): Antiviral Effect of Ingenol and Gingerol During HIV-1 Replication in MT4 Human T Lymphocytes, *Antiviral Research*, 78, A44.
- [35] Chang J.S., Wang K.C., Yeh C.F., Shieh D.E., Chiang L.C. (2013): Fresh Ginger (*Zingiber officinale*) has Anti-viral Activity Against Human Respiratory Syncytial Virus in Human Respiratory Tact Cell Lines, *Journal of Ethnopharmacology*, 145, 146-151.
- [36] Schnitzler P., Koch C., Reichling J. (2007) : Susceptibility of Drug-Resistant Clinical Herpes Simplex Virus Type 1 Strains to Essential Oils of Ginger, Thyme, Hyssop, and Sandalwood, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51, 1859-1862.
- [37] Bonjar G.H.S. (2004): Antibacterial Screening of Plants Used in Iranian Folkloric Medicine, *Fitoterapia*, 75, 231-235.
- [38] Park M., Bae J., Lee D.-S. (2008): Antibacterial Activity of [10]-Gingerol and [12]-Gingerol isolated from Ginger Rhizome Against Periodontal Bacteria, *Phytotherapy Research*, 22, 1446-1449.

- [39] Hiserodt R.D., Franzblau S.G., Rosen R.T. (1998) : Isolation of 6-, 8-, and 10-Gingerol from Ginger Rhizome by HPLC and Preliminary Evaluation of Inhibition of Mycobacterium avium and Mycobacterium tuberculosis, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 2504-2508.
- [40] Mesomo M.C., Corazza M.L., Ndiaye P.M., Dalla Santa O.R., Cardozoc L., Scheer A.P.(2013) : Supercritical CO₂ Extracts and Essential Oil of Ginger (Zingiber officinale R.): Chemical Composition and Antibacterial Activity, The Journal of Supercritical Fluids, 80, 44- 49.
- [41] Fouda A.-M.M., Berika M.Y. (2009): Evaluation of the Effect of Hydroalcoholic Extract of Zingiber officinale Rhizomes in Rat Collagen-induced Arthritis, Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 104, 262-271.
- [42] Zhou H.-I., Deng Y.-m., Xie Q.-m.(2006) : The Modulatory Effects of the Volatile Oil of Ginger on the Cellular Immune Response In Vitro and In Vivo in Mice, Journal of Ethnopharmacology, 105, 301-305.
- [43] Zancan K.C., Marques M.O.M., Petenate A.J., Meireles M.A.A. (2002): Extraction of Ginger (Zingiber officinale Roscoe) Oleoresin with CO₂ and Co-solvents: A Study of the Antioxidant Action of the Extracts, The Journal of Supercritical Fluids, 24, 57-76.
- [44] Amir M., Khan A., Mujeeb M., Ahmad A., Usmani S., Akhtar M. (2011) : Phytochemical Analysis and In vitro Antioxidant Activity of Zingiber officinale, Free Radicals and Antioxidants, 1, 75-81.
- [45] Bellik Y. (2014) : Total Antioxidant Activity and Antimicrobial Potency of the Essential Oil and Oleoresin of Zingiber officinale Roscoe, Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 4, 40-44.

- [46] Uz Zaman S., Mirje M.M., Ramabhimaiah S. (2014):Evaluation of the Anti-Ulcerogenic Effect of Zingiber officinale (Ginger) Root in Rats, International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 3, 347-354.
- [47] Borrelli F., Capasso R., Pinto A., Izzo A.A. (2004): Inhibitory Effect of Ginger (Zingiberofficinale) on Rat Ileal Motility In vitro, Life Sciences, 74, 2889-2896.
- [48] Haniadka R., Saxena A., Shivashankara A.R., Fayad R., Palatty P.L., Nazreth N., Francis A., Arora R., Baliga M.S. (2013) :Ginger Protects the Liver against the Toxic Effects of Xenobiotic Compounds: Preclinical Observations, Journal of Nutrition and Food Sciences, 3,226.
- [49] Brown A.C., Shah C., Liu J., Pham J.T.H., Zhang J.G., Jadus M.R. (2009) :Ginger's (Zingiber officinale Roscoe) Inhibition of Rat Colonic Adenocarcinoma Cells Proliferation and Angiogenesis In Vitro, Phytotherapy Research, 23, 640-645.
- [50] Sharma C., Ahmed T., Sasidharan S., Ahmed M., Hussain A. (2009): Use of Gemcitabine and Ginger Extract Infusion May Improve the Efficiency of Cervical Cancer Treatment, African Journal of Biotechnology, 8, 7087-7093.
- [51] Peng F., Tao Q., Wu X., Dou H., Spencer S., Mang C., Xu L., Sun L., Zhao Y., Li H., ZengS., Liu G., Hao X. (2012) : Cytotoxic, Cytoprotective and Antioxidant Effects of Isolated Phenolic Compounds From Fresh Ginger, Fitoterapia, 83, 568-585.
- [52] Iqbal Z., Lateef M., Akhtar M.S., Ghayur M.N., Gilani A.H. (2006) :In vivo AnthelminticActivity of Ginger Against Gastrointestinal Nematodes of Sheep, Journal of Ethnopharmacology, 106, 285-287.
- [53] Natural remedies-recherch centre:Quality Control Dept, 11-99 " Zingiber Officinal " ; DOCUMENT [Magistère].
- [54] Nair S, Nagar R, Gupta R. (1998) : Antioxidant phenolics and flavonoids in common Indian foods. JAssoc Physicians India ; 46(8) : 708-10.

- [55] Rababah TM, Hettiarachchy NS, Horax R. (2004): Total phenolics and antioxidant activities of fenugreek, green tea, black tea, grape seed, ginger, rosemary, gotu kola, and ginkgo extracts, vitamin E, and tert-butylhydroquinone. *J Agric Food Chem*, 52(16) : 5183-6.
- [56] Chohan M, Forster-Wilkins G, Opara EI. (2008): Determination of the antioxidant capacity of culinary herbs subjected to various cooking and storage processes using the ABTS(+) radical cation assay. *Plant Foods Hum Nutr*, 63(2) : 47-52.
- [57] Shimoda H, Shan SJ, Tanaka J, Seki A, Seo JW, Kasajima N, Tamura S, Ke Y, Murakami N. (2010) : Anti-inflammatory properties of red ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) extract and suppression of nitric oxide production by its constituents. *J Med Food*, 13(1) : 156-62.
- [58] Singh PK, Kaur IP. (2012): Synbiotic (probiotic and ginger extract) loaded floating beads: a novel therapeutic option in an experimental paradigm of gastric ulcer. *J Pharm Pharmacol*, 64(2) : 207-17.
- [59] Jagetia GC, Baliga MS, Venkatesh P, Ullloor JN. (2003): Influence of ginger rhizome (*Zingiber officinale* Rosc) on survival, glutathione and lipid peroxidation in mice after whole-body exposure to gamma radiation. *Radiat Res*, 160(5): 584-92.
- [60] Haksar A, Sharma A, Chawla R, Kumar R, Arora R, Singh S, Prasad J, Gupta M, Tripathi RP, Arora MP, Islam F, Sharma RK. (2006): *Zingiber officinale* exhibits behavioral radioprotection against radiation-induced CTA in a gender-specific manner. *Pharmacol Biochem Behav*, 84(2): 179-88.
- [61] Amin A, Hamza AA. (2006): Effects of Roselle and Ginger on cisplatin-induced reproductive toxicity in rats. *Asian J Androl*, 8(5): 607-12. *Food Chem Toxicol*, 2008; 46(2): 409-20.

Références Bibliographiques

- [62] Yemitan OK, Izegbu MC. (2006) :Protective effects of Zingiber officinale (Zingiberaceae) against carbon tetrachloride and acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Phytother Res*, ; 20(11) : 997-1002.
- [63] Siddaraju MN, Dharmesh SM.(2007) : Inhibition of gastric H⁺, K⁺-ATPase and Helicobacter pylori growth by phenolic antioxidants of Zingiber officinale. *Mol Nutr Food Res*, 51(3) : 324-32.
- [64] Kim JK, Kim Y, Na KM, Surh YJ, Kim TY,(2007) : [6]-Gingerol prevents UVB-induced ROS production and COX-2 expression in vitro and in vivo. *Free Radic Res*, 41(5) : 603-14.
- [65] Copyright © (2001) :The United States Pharmacopeial Convention,Inc.USP24-NF19.
- [66] Schau enberg P & Paris F, (1977):" guide to Médicinal plants " ,Keats Publishing,New Canaan CT.
- [67] Rong X, Peng G, Suzuki T, Yang Q, Yamahara J, Li Y. (2009) : A 35-day gavage safety assessment of ginger in rats. *Regul Toxicol Pharmacol*; 54(2) :118-23.
- [68] Ravindran P.N, and Nirmal Babu, (2005).
- [69]Roulier G. (1990) :Les huiles essentielles pour votre santé : traité pratique d'aromathérapie.Propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. Editions Dangles.
- [70] Wegrzyn R., Lamendinh H. (2005) :Huiles essentielles et aromathérapie buccodentaire. *Chir*; 1225 :62-66.
- [71] Lardry J-M, Haberkorn V. (2007) : L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Rev*; 61 : 14-7.
- [72] Nogaret-Ehrhart A-S. (2008) : La phytothérapie : se soigner par les plantes. Ed. Eyrolles, Paris.

Références Bibliographiques

- [73] **Pharmacopée européenne, (2009)** : Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles.
- [74] **Paris M., Hurabielle M.(1981)** : Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie, Tome I, édition Masson.
- [75] **Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de santé (AFSSAPS), Mai (2008)** :Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles.
- [76]**Belaiche P. (1979)** :Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. L'aromatogramme Tome I, Edition Maloine.
- [77]**Bruneton J. (1999)** :Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris.
- [78] **Chalchat J.K., Carry L. P., Menut C., Lamaty G., Malhuret R. and Chopineau J. (1997)** : Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. J. Essent. Oil Res; 9: 67-75.
- [79] **Duraffourd C., D'Hervicourt L. et Lapraz J. C. (1990)** :Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques, 2^{ème}éd. Masson, Paris.
- [80]**Peron L., Richard H. (1992)** : Epices et aromates, techniques et documentations Lavoisier.
- [81] **Stagliano M. (1992)** :Actifs et additifs en cosmétologie, techniques et documentations Lavoisier.
- [82] **Georges Sens-Olive, (1979)** :« Les huiles essentielles - généralités et définitions », dans Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, éd. Maloine.
- [83] **Lorrain E. (2013)** :100 questions sur la phytothérapie. Ed. La boétie, Italie.

Références Bibliographiques

- [84] **Wichtel M. et Anton R. (1999)** :Plantes thérapeutiques: tradition, pratiques officinales, science et thérapeutiques, , Ed. Tec et Doc.
- [85]**Scheffer J.J.C.(1996)** :Various methods for the isolation of essential oils. *Phytother. Res.*; 10:S6-S7.
- [86] **Collin G. (2000)** :Quelques techniques d'extraction de produits naturels. *Info-essences*,;13: 4-5.
- [87]**Safaei-Ghomi J., Ahd AA. (2010)** :Antimicrobial and antifungal properties of the essential oiland methanol extracts of *Eucalyptus largiflorens* and *Eucalyptus intertexta*. *Pharmacogn Mag*; 6:172-5.
- [88]**Belletti N., Lanciotti R., Patrignani F., Gardini F.(2008)** : Antimicrobial efficacy of citron essential oil on spoilage and pathogenic microorganisms in fruit-based salads. *J Food Sci*; 73: 331-8.
- [89]**Pharmacopée Européenne,(2001)** :8^{ème} édition,Service Eurpéen de la Qualité du Médicament-Conseil de L'europa.
- [90] **Journal des femmes avec santé médecine 12/2016.**
- [91] **Christophe amandine /Faculté de pharmacie de limoges 2/2014.**
- [92] **Aiache J.-M., Beyssac E., Cardot J.-M., Hoffart V., Renoux R. (2008)** : Initiation à la connaissance du médicament, coll. Abrégés, 5ème édition, Ed. Masson,
- [93] **Gibellin D, (2003)** : La phytothérapie en médecine vétérinaire : états des lieux et perspectives. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon .
- [94] **Boiron J., Chesnard C. (1970)** : Codification 65 Teintures-mères homéopathiques, médecine, Ed. Des laboratoires P.H.R.
- [95]**Dominique pradeau ; " l'analyse pratique du médicament "** Editions Médicales Internationales.

Références Bibliographiques

- [96] Kanitakis, J. (2002) : Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. *Eur J Dermatol.* 12 (4): 390-401.
- [97] Wysocki, A. B. (1999): Skin anatomy, physiology, and pathophysiology. *Nurs Clin North Am.*, 34 (4): 777-797.
- [98] Tortora, G. J., Grabowski, S. R. & Parent, J. (1994) : Principes d'anatomie et de physiologie. Anjou: Centre Éducatif et Culturel inc., 1203 pages.
- [99] Gartner, L. P. & Hiatt, J. L. (1992) : Atlas d'histologie. 2e ed. Bruxelles: De Boeck-Wesmael.
- [100] Kanitakis, J. (1998) : Immunohistochemistry of normal human skin. *Eur J Dermatol.* (8): 539-547.
- [101] Fortin, V. (2005) : Etude de régénération de la membrane basilaire au cours de la guérison de plaies cutanées humaines. Université Laval.
- [102] Lindsay, D. T. (1996) : The integument. In *Functional human anatomy* (Smith, J. M., Ed) pp. 345-375, Mosby-Year Book, St-Louis
- [103] Paletz, J. L., & Morris, S. F. (1996): Burn care: outpatient management. *Can. J. Diag.*13, 64-75.
- [104] Winter, G. D. (1972): Epidermal regeneration studied in domestic pig. In *Epidermal Wound Healing*(Maibach, H. I., and Rovee, D. T., Eds) pp. 71-113, Year Book Medical Publishing, Chicago.
- [105] Calvin, M. (1998): Cutaneous wound repair. *Wounds*10, 12-32.
- [106] Robbins, S. L., Cotran, R. S., and Kumar, V. (1994): Robbins pathologic basis of disease, W.B. Saunders, Philadelphia.
- [107] Cohen, I. K., Diegelmann, R. F., & Crossland, M. C. (1994): Wound care and wound healing. In *Principles of Surgery*(Schwartz, S. I., Shires, G. T., Spencer, F. C., and Cowles Husser, W., Eds) pp. 279-303, McGraw-Hill, New-York.

- [108] Stevens, A., & Lowe, J. (1995): Pathology, Times Mirror International, London.
- [109] Witte, M. B. & Barbul, A. (1997): General principles of wound healing. Surg Clin North Am., 77 (3): 509-528.
- [110] Martin, P. (1997): Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. Science, 276 (5309): 75-81.
- [111] Hunt, T. K., Hopf, H. et Hussain, Z. (2000) : Physiology of wound healing. Adv Skin Wound Care. 13 (2 Suppl): 6-11.
- [112] Clark, R. A. F. (1985): Cutaneous tissue repair: Basic biologic considerations. I. J Am Acad Dermatol, 13 (5): 701-725.
- [113] Doillon, C. J., Dunn, M. G., Berg, R. A. et Silver, F. H. (1985) : *Collagen deposition during wound repair*. Scanning Elect Microsc. 11: 897-903.
- [114] Davidson J. M. (1998): Animal models for wound repair. Arch Dermatol Res. 290 (Suppl):S1-S11.
- [115] Arfors K. E., Jonsson J. A., McKenzie F. N. (1970) : A titanium rabbit ear chamber: assembly, insertion and results. Microvasc Res.; 2(4):516-518.
- [116] Lebel L., Gerdin B. (1991) : Sodium hyaluronate increases vascular ingrowth in the rabbit ear chamber. Int J Exp Pathol. 72(2):111-118.
- [117] British Pharmacopoeia, (2004): 4^{ème} édition.
- [118] Indian Standard Spécification for Ginger Oleoresin, (1984): 5^{ème} édition, 1st Revision, Bureau of Indian Standards, IS : 7826-1984.
- [119] Indian Standard Spécification for Ginger Oleoresin, (1988): 6^{ème} édition, 1st Revision, Bureau of Indian Standards, IS : 761.
- [120] Derelanko Micheal, (2008) : The Toxicologist's Pocket Handbook Second édition. CRC press ; Taylor & Francis Group ; Library Of Congress Cataloging-in-Publication Data. Pages : 12, 134, 142.

- [121] (science directe). <http://libproxy.cortland.edu:2074/science/journals>.
- [122] Edition the pharmaceutical society of Britain : " Clarke's isolation and identification of drugs".
- [123] Moffat A, Jackson J.U, (1986).
- [124] Chaux cl. Foury cl. (1994) : Production légumière - tome1. Généralités (série Agricultured'aujourd'hui). Edition Tec et Doc. Lavoisier Paris, Londres, New York
- [125] AFNOR: T 75-112.
- [126] The United States Pharmacopial Convention, (2001): 9^{ème} édition, Inc. USP24-NE19.
- [127] Pharmacopée française : 6^{ème} édition.
- [128] Connell D.W, Aust, chem J, (1969): FTIR. Spectrum Matches with the Peak Position ; 22 : 1033-1043 .
- [129] Analytical Report to the Certificate of Analysis (CA) ,(07.02.2012) : [6]-Gingerol ; CA No.: 1899/1. Batch No.: 1202040.
- [130] Kalemba D., Kunicka A. (2003): Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Med Chem; 10(10): 813-29.
- [131] Dorman H. J. D. et Deans S. G. (2000): Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J Appl Microbiol; 88(2): 308-16.
- [132] Couic-Marinier F., Lobstein A. (2013) : Mode d'utilisation des huiles essentielles. Actual pharm; 52 (525) : 26-30.

**Annexe 1 : Les résultats Spectrométrie Infrarouge à
transformée de Fourier (FTIR)**

Tableau (1.2) : Résultats de l'FTIR 1.

Les liaisons chimiques	Les Nombres d'ondes (cm ⁻¹)				
	Huile [51]	Huile Standard*	Frais (Ethanol)	Frais (Acétone)	Soxhlet (Acétone)
O-H	3400	3471.6	3418.12	3448.37	3568.30
(C-H)_{CH2}	2930	2850.6	2972.45	2924.21	2924.43
C = O	1710	1747.4	1712.45	1718.56	1718.43
C = C	1603	1654.8	1633.91	1618.03	1617.98
(C-H)_{CH3}	1430 à 1465	1458.1	1454.95	1458.67	1458.69
(C-O)_{Ar-OH}	1370	1377	1377.12	1376.73	1376.72
C-OH	935 à 1151	1033.8 à 1161.1	1056.71	-	-
Cycle aromatique	723 à 850	720.3 à 848.6	-	721.80	722.07

Tableau (1.3) : Résultats de l'FTIR 2

Les liaisons chimiques	Les Nombres d'ondes (cm ⁻¹)			
	Huile [51]	Huile Standard*	Sèche (Ether)	poudre (éter)
O-H	3400	3471,6	3563.05	3491.80
(C-H)_{CH2}	2930	2850,6	2914.08	2923.94
C = O	1710	1747,4	1713.36	1712.56
C = C	1603	1654,8	1613.91	1614.08
(C-H)_{CH3}	1430 à 1465	1458,1	1462.88	1462.59
(C-O)_{Ar-OH}	1370	1377	1376.72	1377.25
C-OH	935 à 1151	1033,8 à 1161,1	1149.75	1055.60
Cycle aromatique	723 à 850	720,3à 848,6	722.12	721.86

**Annexe 2 : Les résultats chromatographie liquide à
haute performance (HPLC)**

Annexe 3 : Les modes opératoires

Alcool Ethylique : C₂H₆O PM : 46,07

1- Aspect :

Liquide limpide, incolore à odeur caractéristique.

2-Identification :

A- Réaction chimique :

Mélanger 5 gouttes de substance à examiner avec 1 ml de permanganate de potassium (1 dans 100) et 5 gouttes d'acide sulfurique de 2N dans une bêche, couvrir le bêche immédiatement avec un papier filtre humecté avec une solution fraîchement préparée en dissolvant 100 mg de Nitroferrocyanure de sodium et 250 mg de pipérazine dans 5 ml d'eau : une coloration devient pale.

B- Réaction chimique :

A 5 ml de la solution (1 dans 10), ajouter 1 ml d'hydroxyde de sodium de 1N puis doucement ajouter 3 ml d'iode (durant une période de 3 min), une odeur iodoforme se développe et un précipité jaune se forme en moins de 30 min.

3- Densité relative :

Pour une concentration de 92,3% à 93,8% en m/m ou 94,9% à 96% en v/v d'éthanol, la densité doit varier entre 0,812 à 0,816 à une température de 15,56°C.

3-1 Méthode de calcul :

$$d = m / v$$

$$d = d(\text{C}_2\text{H}_6\text{O}) / d(\text{H}_2\text{O})$$

4- Acidité:

À 50 ml d'alcool ajouter 50 ml d'eau distillée et quelques gouttes de phénolphthaléine 1% et titrer avec la soude de 0,02 N. On ne doit pas utiliser plus de 0,9 ml d'hydroxyde de sodium de 0,02 N.

5- Solubilité :

Miscible dans l'eau, chloroforme et éther.

6- Substance insoluble dans l'eau :

Diluer un volume de substance à examiner avec la même volume d'eau : le mélange est claire et reste ainsi pendant 30 min après refroidissement à 10°C.

7- Résidu non volatil :

Dans un récipient taré, évaporer 40 ml de substance à examiner dans un bain-marie puis sécher à 105°C pendant une heure (1h), le résidu ne doit pas dépasser 1 mg.

8- Méthanol :

A une goutte d'alcool ajouter une goutte d'eau, une goutte d'acide phosphorique dilué (1 dans 20), une goutte de permanganate de potassium (1 dans 20).

Mélanger et laisser reposer pendant une minute, Ajouter goutte à goutte une solution de bisulfate de sodium (1 dans 20) jusqu'à disparition de la couleur du permanganate.

Si la couleur bleue persiste ajouter une goutte d'acide phosphorique dilué.

Ajouter 5 ml d'acide chromo tropique TS récemment préparé. Chauffer dans un bain marie à 60 °C pendant 10 minutes : On ne doit pas obtenir une coloration violette.

Eau purifiée

1-Aspect :

Ampoulen verre incolore, contenant unliquide limpide et incolore .

2-Acidité ou alcalinité :

A 20ml d'eau stérilisée, ajoutez 0,05ml de solution rouge de phénol R, la solution est colorée en jaune, elle vire au rouge en présence de 0,1 ml d'hydroxyde de sodium 0,01 M. Si la solution est rouge, elle vire au jaune en présence de 0,15 ml d'acide chlorhydrique 0,01M.

3- pH :

Examiner une solution contenant 0,3ml d'une solution saturée de chlorure de potassium R pour 100ml d'eau. Le pH de la solution est de 5 à 7.

4- Substances oxydables :

A 100ml d'eau stérilisée ajouter 10ml d'acide sulfurique 2N avec 0,4ml de permanganate de potassium 0,02M et portez à l'ébullition pendant 5min .la solution reste légèrement rose.

5 -Chlorures :

A 15 ml de l'eau stérilisée pour analyser à l'essai des chlorures (0,5ppm) préparez le témoin avec un mélange de 1,5ml de solution à 5ppm de chlorure (cl) et de 13,5ml l'eau. Examinez les solutions dans l'axe vertical des tubes.

6- Nitrates :

Dans un tube à essai placé dans l'eau glacée, on introduit 5ml d'eau, ajouté 0,4ml d'une solution de chlorure de potassium R à 100g/l et 0,1ml de solution de diphénylamine R, puis goutte à goutte en agitant 5ml d'acide sulfurique R. On place le tube au bain-marie à 50°C. Après 15 min s'il apparaît une coloration bleue, elle n'est pas plus intense que celle d'un témoin préparé simultanément et dans les mêmes conditions avec un mélange de 4,5ml d'eau exempt de nitrate R et de 0,5ml de solution à 2 ppm de nitrate (NO₃).

7-Sulfates :

A 10ml d'eau stérilisée on ajoute 0,1ml d'acide chlorhydrique dilué et 0,1ml de solution de chlorure de baryum. L'aspect de la solution ne présente aucun changement pendant au moins 1h.

8- Ammonium :

A 20ml d'eau stérilisée on ajoute 1ml de solution alcaline de tétraiodomercurate de potassium R. Après 5min, on examine la solution suivant l'axe vertical du tube. La solution n'est pas plus fortement colorée qu'un témoin préparé simultanément par addition de 1ml de solution alcaline de tétraiodomercurate de potassium R à un mélange de 4ml de solution à 3ppm d'ammonium (NH₄) R et de 16ml d'eau exempte d'ammonium R (0,2ppm).

9- Calcium et magnésium :

A 100ml d'eau stérilisée, on ajoute 2ml de solution tampon chlorure d'ammonium (pH=10); 50mg de mélange composé du mordant noir 11R et 0,5ml d'édétate de sodium 0,01M, il apparaît une coloration bleue franc.

10- Métaux lourds :

Evaporé 150ml d'eau stérilisée jusqu'à 15ml sur un bain-marie, 12ml de cette eau concentrée doivent satisfaire le test des métaux lourds (0,1ppm). Préparer le témoin avec la solution à 1ppm de plomb.

11- Résidu à l'évaporation :

Evaporé 100ml d'eau sur un bain-marie à sec, sécher le résidu à l'étuve à 100-105°C pendant une heure. Le résidu ne doit pas dépasser 4mg.

Teinture officinale

a. Aspect :

Liquide de couleur jaunâtre a odeur caractéristique d'alcool et de gingembre.

b. Densité relative :

On utilise un pycnomètre muni d'un thermomètre de capacité 50ml,

$$d = m / v$$

c. Arsenic :

Témoin (un ajout de 1µg/g de l'Arsenic) : Coloration jaune sur le bout de le papier imbibé a acétate de mercure.

Teinture (extrait par l'Acétone) : coloration doit être moins intense que le témoin.

Limite d'acceptation : pas plus de 1µg/g.

d. Substances non volatile :

On fait l'évaporation d'une 10 ml portion dans un creuset de platine, et sécher à 105°C pour 6 heures, puis peser le reste.

e. Métaux lourds:

Témoin (un ajout de 10µg/g du Plomb) : Coloration brunâtre sur le papier de bromure mercurique.

Teinture (extraction par l'acétone) : Aucune coloration ou moins instance que le témoin.

Limite d'acceptation : pas plus que 10µg/g.

f. Cendre totale :

A l'aide d'un creuset en platine ont calcine 1 g de substance. Le résidu doit être inférieur ou égale à 0,5%.