

---

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
CENTRE UNIVERSITAIRE BELHADJ BOUCHAIB D'AIN-TEMOUCHENT



Institut des Sciences  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie  
**Mémoire**  
Pour l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques  
Option : Biochimie  
Présenté par :

**Melle. ATTIA Sihem**  
**Melle. MAACHOU Souad**  
**Melle. MHADJI Kheira Neserine**

---

RECHERCHE ET CARACTERISATION DE DEUX ACTIVITES HYDROLYTIQUES ET  
D'UNE ACTIVITE CATALASIQUE DU GINGEMBRE (*Zingiber officinale*)

---

Encadrant :  
M. Sofiane Mourad BENYAMINA  
Maître de Conférences « B » au C.U.B.B.A.T  
Soutenu le 03/09/2020

Devant le jury composé de :

---

Président : Dr. Mahfoud BAKLI (MCB)	CUBBAT
Examinatrice: Dr. Meriem ZERRIOUH. (MCB)	CUBBAT
Encadrant: Dr. Sofiane Mourad BENYAMINA (MCB)	CUBBAT

---

# Remerciement

*Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce travail.*

*Nous tenons à remercier très profondément notre encadrant Mr. Sofiane Mourad BENYAMINA Pour son aide, sa confiance, sa disponibilité, et de nous avoir permis de travailler dans un cadre très agréable, nous vous sommes infiniment reconnaissantes.*

*Nous exprimons nos sincères remerciements aux membres du jury Mr : Mahfoud BAKLI le président et Melle Meriem ZERRIOUH l'examinateur pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

*Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

Avec toute notre reconnaissance

*Attia Sihem*

*Maachou Souad*

*Mhadji Khatera Nesrine*

## Sommaire

### Remerciement

### Liste des abréviations

### Liste des figures

### Liste des tableaux

### Introduction

1

### Synthèse bibliographique

1. Les enzymes	2
2. La réaction catalysée par les enzymes	2
3. Classification des enzymes	2
4. Localisation des enzymes	3
4.1. Enzymes intracellulaires	3
4.2. Enzymes extracellulaires	4
5. Importance des enzymes	4
5.1. Importance des enzymes au niveau cellulaire	4
5.1.1. Importance des enzymes au niveau des cellules microbiennes	5
5.1.2. Importance des enzymes au niveau des cellules animales	5
5.1.3. Importance des enzymes au niveau des cellules végétales	5
5.2. Importance des enzymes au niveau industriel	6
5.2.1. Importance des enzymes microbiennes au niveau industriel	7
5.2.2. Importance des enzymes animales au niveau industriel	8
5.2.3. Importance des enzymes végétales au niveau industriel	8
6. Les hydrolases	9
7. La réaction catalysée par les hydrolases	9
8. Classification des hydrolases	9
9. Importance des hydrolases	10
9.1. Importance des hydrolases au niveau cellulaire	10
9.1.1. Importance des hydrolases au niveau des cellules microbiennes	10
9.1.2. Importance des hydrolases au niveau des cellules animales	11
9.1.3. Importance des hydrolases au niveau des cellules végétales	11
9.2. Importance des hydrolases au niveau industriel	11
9.2.1. Importance des hydrolases microbiennes au niveau industriel	12
9.2.2. Importance des hydrolases animales au niveau industriel	12
9.2.3. Importance des hydrolases végétales au niveau industriel	13
10. Le gingembre ( <i>Zingiber officinale Roscoe</i> )	13

### Matériels et méthode

1. L'échantillon du gingembre	16
2. Caractérisation de l'échantillon du gingembre	16
2.1 Mesure du pH de la solution gingembre	16
2.2 Détermination de la teneur en glucides du gingembre	16
2.3 Détermination de la teneur en eau (taux d'humidité) du gingembre	17
3. Caractérisation d'activités enzymatiques du gingembre	18
3.1. Recherche et caractérisation de l'activité gélatinase	18
3.1.1. Influence du temps, du pH, de la température d'incubation et du CaCl <sub>2</sub> sur l'activité gélatinase	19
3.1.1.1. Influence du temps d'incubation sur l'activité gélatinase	19
3.1.1.2. Influences du pH sur l'activité gélatinase	19

3.1.1.3. Influence de la température d'incubation sur l'activité gélatinase	19
3.1.1.4. Influence du CaCl <sub>2</sub> sur l'activité gélatinase	19
3.1.2. Effet de différents traitements, thermique, pH et CaCl <sub>2</sub> sur la stabilité de l'enzyme	19
3.1.2.1. Effet du traitement thermique sur la stabilité de l'enzyme	19
3.1.2.2. Effet du pH sur la stabilité de l'enzyme	20
3.1.2.3. Effet du CaCl <sub>2</sub> sur la stabilité de l'enzyme	20
3.2. Recherche et caractérisation de l'activité lipidique chez le gingembre	20
3.2.1. Influence du temps, du pH, de la température d'incubation et du CaCl <sub>2</sub> sur l'activité des lipases	20
3.2.1.1. Influence du temps sur l'activité des lipases	21
3.2.1.2. Influence de pH sur l'activité des lipases	21
3.2.1.3. Influence de la température sur l'activité des lipases	21
3.2.1.4. Influence du CaCl <sub>2</sub> sur l'activité des lipases	21
3.2.2. Effet de différents traitements, thermique, pH et CaCl <sub>2</sub> sur la stabilité des lipases	21
3.2.2.1. Effet du traitement thermique sur la stabilité des lipases	21
3.2.2.2. Effet du pH sur la stabilité des lipases	22
3.2.2.3. Effet du CaCl <sub>2</sub> sur la stabilité des lipases	22
3.3. Recherche et caractérisation de l'activité des catalases	22
3.3.1. Courbe étalon de l'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	22
3.3.2. Influence du temps, du pH, de la température d'incubation et du CaCl <sub>2</sub> sur l'activité des catalase	23
3.3.2.1. Influence du temps sur l'activité de catalase	23
3.3.2.2. Influence du pH sur l'activité des catalases	23
3.3.2.3. Influence de la température d'incubation sur l'activité des catalases	23
3.3.2.4. Influence de CaCl <sub>2</sub> sur l'activité des catalases	23
3.3.3. Effet de différents traitements, thermique, pH et CaCl <sub>2</sub> sur la stabilité de l'enzyme	23
3.3.3.1. Effet du traitement thermique sur la stabilité des catalases	23
3.3.3.2. Effet du pH sur la stabilité des catalases	24
3.3.3.3. Effet du CaCl <sub>2</sub> sur la stabilité des catalases	24

## **Résultat et discussion**

1. Collecte de l'échantillon du gingembre	25
2. Caractérisation de l'échantillon du gingembre	25
2.1 Mesure du pH de la solution gingembre	25
2.2 Détermination de la teneur en glucides du gingembre	26
2.3 Détermination de la teneur en eau (taux d'humidité) du gingembre	27
3. Caractérisation d'activités enzymatiques chez le gingembre	27
3.1. Recherche et caractérisation de l'activité gélatinase dans la solution du gingembre	27
3.1.1. Influence du temps, du pH, de la température d'incubation et du CaCl <sub>2</sub> sur l'activité gélatinases	28
3.1.1.1. Détermination du temps d'incubation nécessaire pour l'hydrolyse de la gélatine	28
3.1.1.2. Influences du pH sur l'activité gélatinases du gingembre	29
3.1.1.3. Influence de la température d'incubation sur l'activité gélatinases	29

du gingembre	
3.1.1.4. Influence du CaCl <sub>2</sub> sur l'activité gélatinases du gingembre	30
3.1.2. Effet de différents traitements, thermique, pH et CaCl <sub>2</sub> sur la stabilité de la gélatinases	30
3.1.2.1. Effet du traitement thermique sur la stabilité de la gélatinases	30
3.1.2.2. Effet du pH sur la stabilité de la gélatinases	31
3.1.2.3. Effet du CaCl <sub>2</sub> sur la stabilité de la gélatinases	31
3.2. Recherche et caractérisation de l'activité des lipases dans la solution du gingembre	32
3.2.1. Influence du temps, du pH, de la température d'incubation et du CaCl <sub>2</sub> sur l'activité des lipases	32
3.2.1.1. Influence du temps sur l'activité des lipases du gingembre	32
3.2.1.2. Influence du pH sur l'activité des lipases du gingembre	33
3.2.1.3. Influence de la température d'incubation sur l'activité des lipases du gingembre	34
3.2.1.4. Influence du CaCl <sub>2</sub> sur l'activité des lipases du gingembre	35
3.2.2. Effet de différents traitements, thermique, pH et CaCl <sub>2</sub> sur la stabilité des lipases	36
3.2.2.1. Effet du traitement thermique sur la stabilité des lipases	36
3.2.2.2. Effet du pH sur la stabilité des lipases	37
3.2.2.3. Effet du CaCl <sub>2</sub> sur la stabilité des lipases	39
3.3. Recherche et caractérisation de l'activité des catalases dans la solution du gingembre	40
3.3.1. Courbe étalon de l' H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	41
3.3.2. Influence du temps, du pH, de la température d'incubation et du CaCl <sub>2</sub> sur l'activité des catalases	41
3.3.2.1. Influence du temps sur l'activité des catalases du gingembre	42
3.3.2.2 Influence du pH sur l'activité des catalases du gingembre	42
3.3.2.3. Influence de la température d'incubation sur l'activité des catalases du gingembre	43
3.3.2.4. Influence du CaCl <sub>2</sub> sur l'activité des catalases du gingembre	45
3.3.3. Effet de différents traitements, thermique, pH et CaCl <sub>2</sub> sur la stabilité des catalases	45
3.3.3.1. Effet du traitement thermique sur la stabilité des catalases	46
3.3.3.2. Effet du pH sur la stabilité des catalases	46
3.3.3.3. Effet du CaCl <sub>2</sub> sur la stabilité des catalases	48
<b>Conclusion et perspectives</b>	49
<b>Référence bibliographique</b>	51
<b>Abstract</b>	

## LISTE DES ABREVIATIONS

**CaCl<sub>2</sub>** : Chlorure de calcium

**° C** : Degrés Celsius

**DO**: Densité

**g**: Gramme

**h**: heure

**H<sub>2</sub>O** : l'eau

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

**M** : Molaire

**Mg**: Milligramme

**Min**: Minute

**mL** : Millilitre

**mM** : Milli mole

**NaCl** : chlorure de sodium

**NaOH** : L'hydroxyde de sodium

**nm** : Nanomètre

**O<sub>2</sub>** : Oxygène

**pH** : Potentiel d Hydrogène

**p/p**: poids/poids

**µg**: Microgramme

**µM** : Micromole

**s** : Seconde

**%** : pourcentage

## **LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableau 1 :</b> Tableau représentatif des six classes d'enzymes	2
<b>Tableau 2 :</b> Différentes concentrations utilisées pour la préparation de la courbe étalon du glucose	16
<b>Tableau 3 :</b> Tableau récapitulatif des résultats de la caractérisation des enzymes chez le gingembre	4

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Représentation des ventes mondiales des enzymes industrielles	7
<b>Figure 2</b> : Le rhizome du gingembre	14
<b>Figure3</b> : La poudre du gingembre utilisée dans cette étude	16
<b>Figure4</b> : Réaction d'hydrolyse de la gélatine par la gélatinase	18
<b>Figure 5</b> : Mesure du pH de la solution du gingembre	25
<b>Figure 6</b> : Courbe étalon du glucose	26
<b>Figure 7</b> :Test de l'hydrolyse de la gélatine par gélatinase	27
<b>Figure8</b> : Influence du temps sur l'activité des lipases du gingembre	33
<b>Figure 9</b> : Influence du pH sur l'activité des lipases du gingembre	34
<b>Figure10</b> : Influence de la température d'incubation sur l'activité des lipases du gingembre	35
<b>Figure 11</b> : Influence du CaCl <sub>2</sub> sur l'activité des lipases du gingembre	35
<b>Figure12</b> : Effet du traitement thermique sur la stabilité des lipases du gingembre	36
<b>Figure13</b> : Effet du pH sur la stabilité des lipases.	38
<b>Figure14</b> : Effet du CaCl <sub>2</sub> sur la stabilité des lipases du gingembre	40
<b>Figure15</b> : Courbe étalon de l' H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	41
<b>Figure16</b> : Influence du temps d'incubation sur l'activité catalasique du gingembre	42
<b>Figure 17</b> :Influence du pH sur l'activité catalasique du gingembre	43
<b>Figure18</b> : Influence de la température d'incubation sur l'activité des catalases du gingembre	44
<b>Figure19</b> : Influence du CaCl <sub>2</sub> sur l'activité des catalases du gingembre.	45
<b>Figure 20</b> : Effet du traitement thermique sur la stabilité des catalases du gingembre	46
<b>Figure 21</b> : Effet du pH sur la stabilité des catalases du gingembre.	47
<b>Figure 22</b> : Effet du CaCl <sub>2</sub> sur la stabilité des catalases du gingembre	48



# *Introduction générale*

Les enzymes sont des molécules présentes dans toutes les cellules des organismes vivants et elles sont indispensables à la survie de ces organismes (Benkahoul *et al.*, 2017).

Les enzymes remplissent plusieurs fonctions dans les cellules des différents organismes vivants (Agarwal, 2006), elle interviennent dans la catalyse des réactions métaboliques (Hallez *et al.*, 2016), la réparation cellulaire (Thorin-Trescases *et al.*, 2010), le développement cellulaire (Fagard *et al.*, 1989).

Ces enzymes peuvent être également extraites des cellules des différents organismes vivants et utilisées dans une diversité de processus industriels (Robinson *et al.*, 2015), tels que des processus de l'industrie alimentaire (humaine et animale), de l'agriculture, du papier, du cuir et des textiles (Beilen *et al.*, 2002).

Pour faire face à la forte demande industrielle, de nombreux efforts ont été fournis pour la recherche d'enzymes possédant des propriétés industrielles et résistantes aux contraintes physico-chimiques des procédés industriels (température élevées, pH extrêmes, salinité...) (Littlechild *et al.*, 2015). Parmi ces enzymes recherchées en industrie, les hydrolases, qui occupent une position très importante comparé aux autres classes d'enzymes (Robinson, 2015 ; Nissen, 1982) et constituent environ 75% des enzymes industrielles (Assamoi *et al.*, 2008 ; Fulzele *et al.*, 2011 ; Rao *et al.*, 1998).

L'objectif de notre travail est de rechercher et caractériser les activités enzymatiques, chez le gingembre, de deux hydrolases (gélatinase et lipase) et une oxydoréductase (catalases).

Les résultats obtenus montrent la présence d'activité enzymatique, chez le gingembre, de ces 2 hydrolases et de l'oxydoréductase. Par contre, les résultats ont montré que la stabilité de ces 3 enzymes est affectée par les traitements de 2h aux conditions extrêmes de température, de pH et de CaCl<sub>2</sub>.

# *Synthèse bibliographique*

## 1. Les enzymes

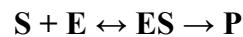
Les enzymes sont des molécules biologiques de nature protéique qui agissent comme catalyseur des réactions biochimiques essentielles au maintien de la vie. Les enzymes sont omniprésentes chez les différents organismes vivants (les animaux, les plantes et les microorganismes) (Rao *et al*, 1998), et elles permettent d'augmenter considérablement la vitesse des réactions catalytiques (Poshyvailo *et al* ., 2017), en atteignant l'équilibre réactionnel plus rapidement (Robinson, 2015).

## 2. La réaction catalysée par les enzymes

La réaction catalytique est possible suite à la formation d'un complexe Enzyme-Substrat. Le substrat se lie au niveau d'un site spécifique qui se trouve sur l'enzyme appelé le site actif.

Le site actif des enzymes est une région spécifique où se lie le substrat pour former le complexe Enzyme-Substrat et catalyser la réaction biochimique (Lakna, 2017).

Suite à la formation du complexe Enzyme-Substrat, le substrat sera convertit en un produit (Benkahoul *et al* ., 2017), selon la réaction suivante:



## 3. Classification des enzymes

Selon le NC-IUBMB les enzymes sont groupées, selon la réaction qu'elles catalysent en 6 classes : les Oxydoréductases (EC1), les Transférases (EC2), les Hydrolases (EC3), les Lyases (EC4), les Isomérases (EC5) et les Ligases (EC6) . Le tableau suivant regroupe les différentes classes, les réactions qu'elles catalysent ainsi que des exemples d'enzymes appartenant à chaque classe.

**Tableau 1** : Tableau représentatif des six classes d'enzymes (Singh *et al* ., 2016)

	Classes	Réactions	Exemples d'enzymes appartenant à chaque classe
EC1	Oxydoréductases	Transfert d'hydrogène ou d'oxygène ou d'électrons entre les molécules.	Déshydrogénases, oxydases, oxygénases, peroxydases

EC2	Transférases	Transfert de groupes d'atomes d'une molécule à une autre.	Acyltransférases, transaminases
EC3	Hydrolases	Clivage hydrolytique des liaisons	Protéases, amylases, lipases, phosphatases, acylases
EC4	Lyases	Clivage non hydrolytique par réactions d'élimination ou d'addition	lyases, hydratases, déshydratases, décarboxylases, fumarase,
EC5	Isomérases	Transfert de groupe d'une position à une autre au sein d'une molécule	Isomérases, épimérases,
EC6	Ligases	Assemblage covalent de deux molécules couplé à l'hydrolyse d'une liaison riche en énergie (ATP)	Synthétases, ligases

#### 4. Localisation des enzymes

Les enzymes peuvent être classées, aussi selon qu'elles soient retenues à l'intérieur des cellules (enzymes intracellulaires) ou excrétées à l'extérieur des cellules (enzymes extracellulaires).

Les enzymes intracellulaires jouent un rôle important dans des réactions et des processus cellulaires (Walter et Schaneider, 1946). Les enzymes extracellulaires sont responsables, entre autres, de la décomposition de la matière organique (Jackson et al., 2013) qui se trouve dans l'environnement extracellulaire.

##### 4.1 Enzymes intracellulaires

Les enzymes intracellulaires sont des enzymes qui agissent à l'intérieur des cellules, responsables de la catalyse de plusieurs réactions métaboliques (anabolisme et catabolisme) (Malgorzata *et al.*, 2011).

L'anabolisme représente l'ensemble des réactions impliquées dans la synthèse des molécules complexes, à partir des petites molécules (Lakna, 2017) telles que la synthèse de polypeptides à partir des acides aminés, du glycogène à partir de glucose et de triglycérides à

partir des acides gras. Le catabolisme, représente l'ensemble des réactions de dégradation des molécules en plus petites molécules pour être utilisées pour la synthèse d'autre constituant cellulaire (Deberardinis *et al.*.,2012), telles que la dégradation des protéines en acides aminés, du glycogène en glucose et des triglycérides en acides gras (Lakna,2017).

#### **4.2 Enzymes extracellulaires**

Les enzymes extracellulaires sont des enzymes qui permettent la dégradation des polymères complexes présents dans l'environnement extracellulaire, en sous-unités plus petites qui peuvent être récupérées par la cellule (Jackson *et al.*., 2013).

Ces enzymes interviennent dans la catalyse de plusieurs types de réactions chez les différents organismes vivants (Burns et Wallenstein, 2010) chez les microorganismes (comme par exemple, les protéases extracellulaire implique dans la dégradation des protéines de défense de l'hôte lors de l'association hôte-microorganismes (Culp et Wright, 2017)). Ces enzymes interviennent aussi chez les animaux(comme par exemple les trypsines extracellulaire une des protéases qui intervient dans le processus de digestion des protéines alimentaires (Goldberg et al., 1969 ; Simonet *al.*., 1971) et chez les végétaux (comme par exemple ,les amylases extracellulaires , impliquées dans la digestion des granules d'amidon libérés des plastes pour produire le maltose qui va servir dans le développement de la plante (Thalman,2019).

### **5. Importance des enzymes**

Les enzymes remplissent une grande importance de fonctions au sein des cellules des différents organismes vivants, elles sont indispensables dans la régulation de divers processus cellulaires (Holliday *et al.*, 2011). Elles peuvent également être extraites des cellules des différents organismes vivants puis utilisées pour catalyser une large gamme de réactions à intérêt industriel (Robinson, 2015).

#### **5.1 Importance des enzymes au niveau cellulaire**

Les enzymes sont des macromolécules (Luisi, 1979) présentes dans toutes les cellules des organismes vivants, elles sont essentielles à la vie et remplissent une diversité de fonctions importantes au niveau des différentes cellules des organismes (Agarwal, 2006).

Les enzymes peuvent remplir des fonctions à la fois cataboliques (décomposition des molécules) et anaboliques (synthèse de nouvelles molécules)(Panawala ,2017).

### **5.1.1 Importance des enzymes au niveau des cellules microbiennes**

Comme c'est le cas chez d'autres organismes, les enzymes jouent un rôle important dans des processus importants et des fonctions essentielles à la vie des microorganismes.

Les enzymes des microorganismes jouent un rôle important dans la catalyse des réactions métaboliques (Mukhtar *et al.*, 2017), ils permettent la décomposition de la matière organique (Mukhtar *et al.*, 2017), la dégradation des molécules comme par exemple les protéases qui dégradent les protéines en peptides et acides aminés (Sharma *et al.*, 2017). Ces enzymes participent, chez les microorganismes, dans la régulation transcriptionnelle (Galinié *et al.*, 2018), la synthèse, la croissance, le développement de la paroi, le maintien des processus physiologiques (Lee *et al.*, 2013) et interviennent dans des processus de pathogénicité (CulpetWright, 2017).

### **5.1.2 Importance des enzymes au niveau des cellules animales**

Dans la cellule animale, les enzymes jouent un rôle important dans des processus importants et des fonctions essentielles à la vie tels que la transduction du signal, la régulation de l'expression des gènes (Buchou *et al.*, 2003), la prolifération, la survie et la transformation cellulaire (sous l'action des kinases et phosphatase qui jouent le rôle des stimulants spécifiques dans le mécanisme du développement cellulaire (Fagard *et al.*, 1989).

Ces enzymes interviennent aussi dans la digestion des macromolécules, telles que les protéines en acides aminés par les protéases (Elgendy et Al-rvweidi, 2016) et les lipides en acides gras par les lipases (Ribeiro *et al.*, 2011).

L'addition d'enzymes spécifiques dans les aliments améliore sa valeur nutritionnelle par augmentation de sa capacité à être digéré et sa capacité à décomposer des facteurs antinutritionnels (Walsh *et al.*, 1993) comme l'acide phytique (forme de stockage du phosphore) qui a la capacité à se lier aux minéraux présents dans les nutriments (fer, zinc, calcium, magnésium...) dans le tube digestif et empêcher leur absorption par le corps (Nissar *et al.*, 2017). Cet acide phytique peut être dégradé par les phytases (Dersjant-Liet *et al.*, 2015).

### **5.1.3 Importance des enzymes au niveau des cellules végétales**

Comme c'est le cas des autres organismes, les enzymes végétales jouent un rôle important dans des processus importants et des fonctions essentielles à la vie des cellules végétales parmi lesquelles le métabolisme, la différenciation, la croissance, la maturation, la réparation des parois des cellules végétales (Franková et Fry, 2013). Ces enzymes sont impliquées dans la dégradation

de la chlorophylle (chlorophyllase) (Hörtensteiner, 1999), lors de la sénescence des feuilles et la maturation des fruits (Fang et al ., 1998).

Les enzymes des plantes peuvent intervenir aussi dans la défense contre des microorganismes pathogènes (Van Emden, 1999). Par exemple, les chitinases et les endoglucanases présentes dans les tissus des plantes comme la tomate (Pegg *et al .*, 1973), et dans les racines et les tiges d'arbres forestiers (Wargo *et al .*, 1975), sont capables de dégrader des polysaccharides des parois cellulaires des champignons phytopathogènes (Touzé *et al .*, 1979).

Aussi, les phospholipases interviennent dans la défense des plantes contre les microorganismes pathogènes, en générant un acide gras (l'acide linoléique) (Staswick *et al.*, 2004) qui est l'origine de la production d'importantes molécules de signalisation et de défense contre les pathogènes, tels que les oxylipines et les jasmonates (Blee ,2002).

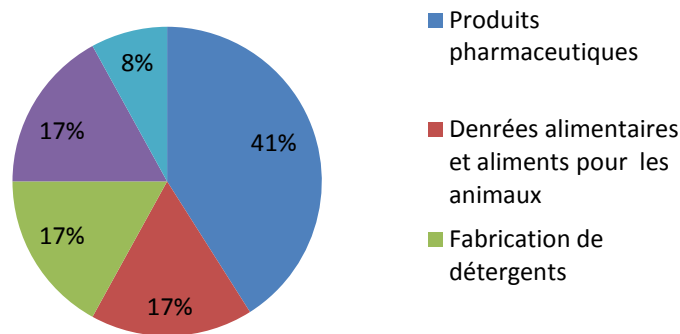
## **5.2 Importance des enzymes au niveau industriel**

Les enzymes industrielles peuvent provenir des différents organismes vivants, les végétaux, les animaux ou les microorganismes (Lambert *et al .*, 1983).

Les enzymes sont utilisées comme produits finaux mais aussi comme agents de fabrication industrielle d'autres produits (Assamoi *et al .*, 2009).

Les enzymes sont utilisées dans divers procédés industriels et dans la fabrication de plusieurs produits (Figure 1) comme par exemple les produits alimentaires (jus de fruit, additifs, laits, pain), les produits pharmaceutiques (antibiotiques, vitamines), les produits de soins personnels, les industries du nettoyage et de la décontamination (lessives, détergents) et les industries du papier (Kumar et Singh , 2013 ; Raza *et al .*, 2016 ; Signh ,2016 ; Chapman *et al.*,2018).





**Figure 1 :** Représentation des ventes mondiales des enzymes industrielles selon Chandel *et al.*, (2017).

Les microorganismes sont considérés comme la principale source d'enzymes, les levures et les moisissures contribuent d'avantage de 50% des enzymes industrielles et les bactéries de 30%. Environ 8% des enzymes sont de sources animales et 4% de sources végétales (Thapa *et al.*, 2019).

### 5.2.1 Importance des enzymes microbiennes au niveau industriel

La majorité des enzymes à usage industriel sont extracellulaires provenant soit de sources fongiques soit de sources bactériennes (Robinson, 2015).

De plus, les enzymes provenant des microorganismes représentent une grande importance dans le développement de divers bioprocédés industriels (Raza *et al.*, 2016), tels que celui du brassage, des détergents, des produits fermentés, des textiles et de la transformation du cuir (Singh, 2016).

Ces enzymes peuvent aussi être utilisées dans la dégradation ou dans la conversion des composés chimiques toxiques des déchets industriels ou domestiques (composés phénoliques, nitriles, amines, etc...) (Singh, 2016).

Aussi ces enzymes sont largement utilisées dans plusieurs préparations alimentaires pour améliorer le goût et la texture (Raveendran *et al.*, 2018).

Les enzymes microbiennes sont les plus privilégiées dans les procédés industriels du fait qu'elles sont plus actives et plus stables que les enzymes végétales et animales (Raveendran *et al.*,

2018) et elles fonctionnent à une large gamme de température, pH, salinité, et même sous des conditions extrêmes (Mukhtar *et al.*, 2017).

De plus, les microorganismes sont faciles à cultiver, à conserver ainsi la possibilité d'être manipulés génétiquement ce qui permet de produire des enzymes possédant des propriétés nouvelles (Anbu *et al.* , 2015).

### **5.2.2 Importance des enzymes animales au niveau industriel**

Les enzymes d'origine animales ont des applications dans de nombreux produits et procédés de différents secteurs industriels tels que le secteur agro-alimentaire, le secteur des détergents, du cosmétique... (Prasad *et Roy.*, 2018). Ces enzymes sont révélées très efficaces dans les réactions qu'elles catalysent (Cherry *et al.* , 2003).

Cependant, ces enzymes présentent l'inconvénient qu'elles ne soient pas stables aux changements de pH ou de températures de réaction et lors de leur récupération et réutilisation (AbolpourHomaei *et al.* , 2013) .

De plus, certaines des enzymes de la cellule animale sont attachées à la structure du cytosquelette, à la membrane et aux organites, ce qui rend difficile leur récupération (Kress *et al.* , 2002).

Par exemple, les protéases animales telles que la chymotrypsine et la rénine, sont utilisées dans l'industrie agro-alimentaire (Rao *et al.*, 1998) comme par exemple pour la désagrégation des hydrolysats des protéines de lait, afin de produire un caillé stable avec une bonne saveur pour les produits laitiers (Gaertner *et al.* , 1982). Dans l'industrie des détergents, les catalases animales jouent un rôle d'un agent blanchissant des tissus en coton (Tzanov *et al.*, 2001) utilisé dans les industries (Campanella *et al.* , 1998).

### **5.2.3 Importance des enzymes végétales au niveau industriel**

Comme c'est le cas des enzymes d'autres organismes vivants, celles des végétaux trouvent leurs applications dans plusieurs industries comme par exemple, les enzymes lignocellulolytiques qui sont utilisées dans la texturation et l'aromatization des jus de fruits et légumes, et les enzymes pectinolytiques qui dégradent les parois cellulaires lors de l'extraction des huiles végétales et améliore la qualité de l'huile en augmentant l'extraction des composés phénoliques (Toushik *et al.* , 2017).

Aussi l'amylase et la cellulase des végétaux, sont très souvent utilisés pour les opérations d'extraction ou de clarification des jus ou pulpes de fruits (Dupaigne , 1973).

L'holocellulase (dégrade l'holocellulose) est utilisée dans le traitement des déchets, la production de carburant et la fabrication de papier (Siqueira et Filho , 2010).

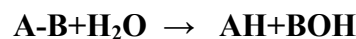
## 6. Les hydrolases

Les hydrolases sont des enzymes qui catalysent l'addition d'une molécule d'eau à des substrats telles que les amidons, les protéines, les esters, les lipides... (Paul *et al.*, 2019). (La réaction catalysée par les hydrolases).

Les hydrolases sont des enzymes physiologiquement nécessaires pour les différents organismes vivants, les plantes, les animaux et les microorganismes (Rao *et al.* , 1998). Elles sont largement utilisées dans différents domaines industriels tels que l'industries alimentaires, l'industries des détergents et les industries textiles (Setati , 2010 ).

## 7. La réaction catalysée par les hydrolases

Les hydrolases sont des enzymes, indépendantes des cofacteurs (Gaber ,2012), qui catalysent l'hydrolyse, en présence d'une molécule d'eau, diverses liaisons chimiques (Gaber, 2012) dans divers substrats de tailles et de complexité différentes telles que les protéines, les glucides, les lipides .... (Bornscheuer *et al.* , 2002 ; Sousa *et al.* , 2015), selon la réaction suivante :



**A-B** : le substrat sur lequel agissent les hydrolases.

## 8. Classification des hydrolases

Selon le NC-IUBMB, les hydrolases sont regroupées dans la troisième classe (EC3) des enzymes et comprennent 13 sous-classes, qui sont représentées comme suit :

(EC 3.1) : agissent sur les liaisons esters (Tipton et Boyce, 2000 ; Prymula *et al.*, 2011).

(EC 3.2) : agissent sur les liaisons glycosidiques (Tipton et Boyce ,2000 ; Prymula *et al.*, 2011).

(EC 3.3) : agissent sur les liaisons éthers (Prymula *et al.*, 2011).

(EC 3.4) : agissent sur les liaisons peptidiques (peptidases) (Tipton et Boyce, 2000 ;Prymula *et al.*,2011).

(EC 3.5) : agissent sur les liaisons carbone-azote, autres que les liaisons peptidiques (Prymula *et al.*, 2011).

(EC 3.6) : agissent sur les liaisons anhydrides acides (Tipton et Boyce, 2000 ; Prymula *et al.*, 2011).

(EC 3.7) : agissent sur les liaisons carbonées – carbonées (Prymula *et al.*, 2011).

(EC 3.8) : agissent sur les liaisons halogénures (Caparros-Macià *et al.*, 2013).

(EC 3.9) : agissent sur les liaisons phosphore – azote (Ohmori *et al.*, 1993).

(EC 3.10) : agissent sur les liaisons soufre – azote (Fulton et Cooper., 2005).

(EC 3.11) : agissent sur les liaisons carbone – phosphore (Quinn *et al.*, 2007).

(EC 3.12) : agissent sur les liaisons soufre – soufre (Sauvé *et al.*, 2009).

(EC 3.13) : agissent sur les liaisons carbone-soufre (Dunbar *et al.*, 2017).

## 9. Importance des hydrolases

Les hydrolases sont des enzymes qui jouent un rôle important aussi bien dans différents processus cellulaires (Lee *et al.*, 2013) que dans des processus industriels (Garcia *et al.*, 2012).

### 9.1 Importance des hydrolases au niveau cellulaire

Les enzymes hydrolytiques jouent un rôle essentiel dans le métabolisme (Ficher, 1991), le développement et la régulation cellulaire (Ficher, 1991), ces enzymes sont présents chez tous les organismes vivants, les microorganismes, les animaux et les végétaux (Bornscheuer *et al.*, 2002)

#### 9.1.1 Importance des hydrolases au niveau des cellules microbiennes

Les hydrolases microbiennes jouent un rôle important dans plusieurs processus, par exemple chez les bactéries, elles sont impliquées dans leur croissance et aussi dans la synthèse, l'expansion et le développement de leur paroi cellulaire (Vollumer *et al.*, 2008 ; Lee et Huang, 2013). Elles sont impliquées aussi dans l'adhésion bactérienne, la formation de biofilm, la conjugaison, la virulence.... (Popowska, 2004 ; Rolain *et al.*, 2012).

Les hydrolases, en raison de leur capacité à fonctionner dans des conditions physico-chimiques différentes, permettent aux microorganismes de s'adapter aux changements des conditions environnementales (Do *et al.*, 2020).

### 9.1.2 Importance des hydrolases au niveau des cellules animales

Dans la cellule animale, les hydrolases occupent une position importante dans divers processus, elles sont impliquées dans le métabolisme, la signalisation, la croissance... (Stael *et al.*, 2019).

Les hydrolases animales jouent un rôle important dans la digestion des aliments, par exemple l' $\alpha$ -amylase salivaire, hydrolyse l'amidon alimentaire en maltose qui sera transformé par la maltase en glucose (source d'énergie pour le fonctionnement de l'organisme) (Rani *et al.*, 2015 ; Gachons *et al.*, 2016). Aussi, les protéases gastriques digèrent les protéines alimentaires (Menard et Basque, 2001), en peptides pour faciliter leur absorption (Simon *et al.*, 1971).

Les hydrolases interviennent dans la synthèse des hormones telles que la prostaglandine (Lefebvre, 1975), qui jouent un rôle important dans de nombreuses fonctions biologiques, comme la régulation des réponses anti inflammatoires (Scher *et al.*, 2009).

### 9.1.3 Importance des hydrolases au niveau des cellules végétales

Les hydrolases jouent un rôle important dans la cellule végétale, elles interviennent dans de nombreux processus biologiques, tels que le métabolisme, la division cellulaire, la croissance... (Westfall *et al.*, 2013).

Les hydrolases des végétaux jouent un rôle important dans le mécanisme et le contrôle de l'expansion, de la différenciation, de la maturation et de la réparation des parois des cellules végétales (par exemple, les glycosylhydrolases qui interviennent dans la restructuration des parois pendant la croissance et le développement des plantes) (Franková et Fry., 2013). Aussi, les hydrolases sont impliquées dans la mobilisation de l'énergie (par exemple, les  $\alpha$ -Amylases qui interviennent dans le métabolisme des glucides et la fourniture de l'énergie)(Price *et al.*, 2003 ; Sivaramakrishnan *et al.*, 2006), la signalisation (par exemple, les phospholipases qui interviennent dans la synthèse d'acide jasmonique responsable de la voie de signalisation de défense de la plante contre les pathogènes) (Minic, 2007 ; Mindrebo *et al.*, 2016) et la régulation hormonale (par exemple, les phosphoribohydrolases qui interviennent dans l'activation des cytokinines (phytohormones)(Kurakawa *et al.*, 2007).

## 9.2 Importance des hydrolases au niveau industriel

En industrie, la classe d'enzyme la plus exploitée est celle des hydrolases et constituent environ 75% des enzymes industrielles (Rao *et al.*, 1998 ; Assamoi *et al.*, 2008 ; Fulzele *et*

*al.*,2011) Ces hydrolases sont impliquées dans diverses industries telles que l'industrie alimentaire, l'industrie des détergents, du textile, du papier, du cuir et du cosmétique (fiker *et al.* , 2008).

### **9.2.1 Importance des hydrolases microbiennes au niveau industriel**

Les hydrolases microbiennes jouent un rôle majeur dans des différents secteurs industriels comme par exemple l'industrie boulangère pour l'amélioration de la texture et la saveur du pain) (Raveendran *et al.* , 2018) ou l'industrie des détergents pour l'élimination des graisses et des huiles(Chapman *et al.*,2018).

Aussi, les hydrolases microbiennes sont utilisées dans les industries pharmaceutiques comme par exemple dans les produits permettant l'élimination des peaux mortes et le soin des brûlures (Signh *et al.* , 2016) . Ces enzymes sont utilisés en synthèse organique telle que la synthèse d'alcools, d'acides, d'esters (Signh *et al.* , 2016 ,Paul *et al.* , 2019) .

### **9.2.2 Importance des hydrolases animales au niveau industriel**

Les connaissances acquises sur le fonctionnement et le rôle des hydrolases d'origine animales ont permis le développement de nombreuses applications industrielles (Li *et al.*, 2012).

Dans les industries alimentaires, ces enzymes sont utilisées par exemple dans l'attendrissement de la viande et la coagulation du lait (Raveendran ,2018).

Les protéases par exemple sont utilisées dans l'amélioration de la saveur, la valeur nutritionnelle, la solubilité et la digestibilité des protéines alimentaires (Raveendran, 2018). La protéase chymosine extraite de la muqueuse gastrique de roussette et du veau, possède une activité coagulante vis-à-vis du lait avec des propriétés compatibles des présures avec ceux de l'industrie fromagère (Guérard, 1985).

Les kératinases (protéase) extraites des volailles sont utilisées en industrie agricole pour la production d'engrais azotés (Mazotto *et al.* , 2011 ;Galuh *et al.*,2016). Par exemple, la dégradation de la kératine de plume par les kératinases permet le développement d'une source riche en azote et riche en minéraux bon marché, rentable, écologique et facilement disponible en tant qu'engrais organiques potentiels (Tamreihao *et al.*, 2018).

### 9.2.3 Importance des hydrolases végétales au niveau industriel

Les hydrolases végétales jouent un rôle important dans de nombreuses industries telles que l'industrie agro-alimentaire, l'industrie du cosmétique, l'industrie du textile... (Rowanet al., 1990).

En industrie agro-alimentaire les protéases telles que la bromélaïne peut améliorer la relaxation de la pâte et empêcher le rétrécissement (Kong et al., 2007), les pectinases sont utilisées par exemple pour la clarification des jus de fruits, la clarification du vin, l'extraction des huiles, la fermentation du café et du thé... (Jacob, 2009).

Aussi, les phospholipases sont utilisées pour l'élimination des phospholipides (afin de réduire la teneur en phosphore de l'huile) (Jiang, 2014) de diverses huiles végétales (Raveendran., 2018) et les phytases participent dans l'amélioration (par dégradation de l'acide phytique) de la valeur nutritive du riz (Afinah et al., 2010).

En industrie du cosmétique la papaïne et la bromélaïne (deux protéases) sont des ingrédients actifs de certains produits cosmétiques et peuvent traiter efficacement des problèmes de la peau (Arshad et al., 2014) tels que les rides, l'acné et la peau sèche par digestion des protéines des cellules mortes ce qui permet leur remplacement par des cellules cutanées plus jeunes (Ozlen et al., 1995).

Vu l'importance grandissante des enzymes et en particulier les hydrolases d'origine végétale dans les différents secteurs industriels, l'objectif de notre travail est de rechercher et caractériser deux hydrolases (protéase et lipase) chez le gingembre et une oxydoréductase (catalase).

## 10. Le gingembre (*Zingiber officinale Roscoe*)

Le gingembre, botaniquement connu sous le nom de *Zingiber officinale Roscoe* (Figure 2) est une plante herbacée vivace de la famille des *Zingiberaceae* (Sharma, 2017 ; Stanisiere et al., 2018). Cette famille comprend environ 53 genres et plus de 1200 espèces (Johnkress et al., 2002 ; Ujang et al., 2015 ; Korga et al., 2016). Les espèces largement cultivées, de cette famille sont *Curcuma longa* (curcuma), *Zingiber zerumbet* (gingembre amer), *Elettaria cardamomum* (cardamome), *Alpinia galanga* et *Zingiber officinale* (gingembre). (Chan et al., 2011 ; Ujang et al., 2015 ; Korga et al., 2016). Cette dernière, *Zingiber officinale* (gingembre), est l'espèce la plus connue, la plus consommée et la plus utilisée par l'homme, elle appartient au genre *Zingiber*

renferme environ 150 espèces (Kzhakkayl *et* saskumar , 2011 ; Chan *et al.* , 2011 ; Korga *et al.*, 2016).

Le gingembre est une plante tropicale qui pousse bien dans les climats humides, il est cultivé un peu partout dans le monde (Chine, Népal, États-Unis, Bangladesh, Taïwan, Jamaïque, Nigéria, Indonésie et en Inde), l'Inde est le plus grand producteur de *Zingiber officinale* (Zadeh *et* Kor, 2014 ;Syafitri *et al.*, 2018 ).



**Figure 2** : le rhizome du gingembre (Singh *et al.*, 2017).

Le gingembre est une épice populaire utilisée dans le monde entier et en particulier dans les pays asiatiques (Prasad *et* Tyagi ,2015).Le gingembre est utilisé aussi comme aliment, agent aromatisant, plante médicinale... (Sharma,2017).Le gingembre joue un rôle important dans de nombreuses industries telles que l'industrie agro-alimentaire (fabrication de boissons, du pain d'épices et les pâtisseries (Crassina *et* Saudha,2014 ; Prasad *et* Tyagi, 2015), l'industrie du cosmétique (parfums, savons) (Choi,2019) et l'industrie pharmaceutique (sous différents formes galéniques pour faciliter l'administration de l'ensemble des principes actifs)(Rahmani *et al.*, 2014).

Le gingembre contient des composés terpéniques(le zingibérène, le  $\beta$ -bisabolène, l' $\alpha$ -farnésène, le  $\beta$ -sesquiphellandrene et l' $\alpha$ -curcumène ) et des composés phénoliques (gingérols et shogaol et paradol) qui donnent l'arôme, l'odeur, le goût et la saveur du gingembre (Koo *et* Gang, 2012 ; Prasad *et* Tyagi ,2015 ; Sharma,2017; Mele , 2019).



Le gingembre, en raison de ses activités biologiques on été aussi utilisé comme plante médicinale pour traiter certaines pathologies (Malhotra *et Singh*, 2003).

Le gingembre possède diverses propriétés importantes pour la santé humaine telles que des propriétés antioxydants, anti-inflammatoires et antimicrobiennes (Grzanna *et al .*, 2005, Norajit *et al.*, 2007, Terry *et al.*,2011 ; Khan *et al.*, 2012). Le gingembre est considéré comme un stimulant digestif en raison des enzymes qu'il contient (amylase, trypsine, phosphatase alcaline) et qui peuvent jouer un rôle dans la digestion (RahimiYadkooori *et al .*, 2015).

Le gingembre possède aussi divers effets bénéfiques pour la santé, tels que les effets antiémétiques ce qui permet de soulager les symptômes des nausées et des vomissements (Singletary, 2010), des effets contre les troubles digestifs en général (Rahmani *et al .*, 2014) , et des effets antidiabétiques par amélioration du bon fonctionnement du foie et du pancréas(Semwal *et al.*,2015).

Le gingembre contient plusieurs enzymes telles que des protéases (Choi *et Laursen* ,2000), des phosphatases alcalines (RahimiYadkooori *et al .*, 2015) et des enzymes anti oxydantes (catalase et la superoxidedismutase)(Sarhat., 2011). Les rhizomes du gingembre contiennent aussi des enzymes telles que les zingibaïnes (protéase à cystéine) (Nafi *et al .*, 2014) qui ont des activités similaires à celles des papaïnes (associées à la maturation des fruits)(Gonçalves *et al .*,2014).

# *Matériel et Méthodes*

Ce travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Biochimie du Centre Universitaire Belhadj Bouchaib - Ain Temouchent (CUBBAT) durant le second semestre du Master 2 de l'année universitaire 2019/2020.

### **1 . L'échantillon du gingembre**

La poudre du gingembre utilisée, pour la caractérisation d'activités enzymatiques, dans cette étude a été procurée du marché local d'Ain Temouchent (Figure 3).



**Figure 3:** la poudre du gingembre utilisée dans cette étude

### **2. Caractérisation de l'échantillon du gingembre**

#### **2.1 Mesure de pH de la solution gingembre**

La mesure du pH du gingembre a été effectuée par utilisation des bandelettes de mesure du pH.

La préparation de la solution du gingembre a été effectuée par la dissolution de 5g de la poudre de gingembre dans 10 ml d'eau distillée, ensuite la solution est filtrée en utilisant un papier filtre. Le pH est mesuré par immersion des bandelettes à l'intérieur de la solution.

#### **2.2 Détermination de la teneur en glucides du gingembre**

La méthode utilisée pour doser la teneur en glucide du gingembre est celle développée par (Dubois *et al.* , 1956).

Sont ajoutés à 2 ml de solution gingembre dilué à 1%, 1mL de phénol à 5% et 5mL d'acide sulfurique concentré. Le mélange est laissé pendant 10 min à température ambiante,

vortexé pendant 30s et incubé au bain marie à 30C° pendant 20 min. Ensuite, l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre (Jenway) à 490 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions sans l'addition de la solution de gingembre (Dubois *et al.*, 1956 ; Albalasmeh *et al.*., 2013).

Le glucose est utilisé comme références afin de déterminer la teneur en glucides du gingembre. Pour cela, une gamme étalon est préparée (40 à 200 µg/ml) à partir d'une solution mère 200 µg/ml du glucose pour établir la courbe étalon  $DO=f([\text{glucose}])$  (Tableau 02).

**Tableau 2 :** Différentes concentrations utilisées pour la préparation de la courbe étalon du glucose

	<b>0</b>	<b>40</b> <b>µg/mL</b>	<b>80</b> <b>µg/mL</b>	<b>120</b> <b>µg/ mL</b>	<b>160</b> <b>µg/mL</b>	<b>200</b> <b>µg/ mL</b>
<b>Solution de glucose à 200µg/mL (mL)</b>	<b>0</b>	<b>0,4</b>	<b>0,8</b>	<b>1,2</b>	<b>1,6</b>	<b>2</b>
<b>Eau distillé (mL)</b>	<b>2</b>	<b>1,6</b>	<b>1,2</b>	<b>0,8</b>	<b>0,4</b>	<b>0</b>

### **2.3 Détermination de la teneur en eau (taux d'humidité) du gingembre**

Pour déterminer le taux d'humidité du gingembre, 5 g de gingembre découpés en fines tranches sont déposés dans un dessiccateur puis séchés au four à 105°C. Après 5h au four les tranches de gingembre sont récupérées, refroidies puis pesées. L'abaissement du poids est suivi jusqu'à sa stabilisation (Fallbeye *et al.*., 2019)

La teneur en eau est calculée selon la formule suivante (Raponi *et al.*., 2017)

$$H (\%) = \frac{(p_{\text{initial}} - p_{\text{final}})}{p_{\text{initial}}} * 100$$

H (%) : taux d'humidité

$P_{\text{initial}}$  : Poids de l'échantillon avant mise à l'étuve en gramme.

$P_{\text{final}}$  : Poids de l'échantillon après mise à l'étuve en gramme.

### 3. Caractérisation d'activités enzymatiques du gingembre

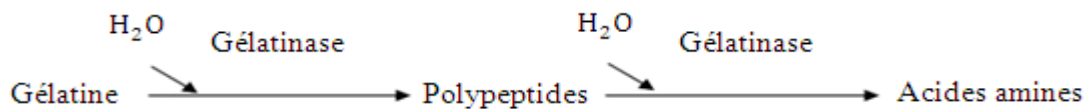
Les activités enzymatiques recherchées et caractérisées au niveau du gingembre sont les activités gélatinase , lipase (hydrolases) et catalase (une oxydoréductase).

Cette caractérisation inclut la détermination de l'influence du temps, du pH , de la température et du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité enzymatique, ainsi que la détermination de l'influence du pH, de la température élevés et du CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité des enzymes.

#### 3.1 Recherche et caractérisation de l'activité gélatinase

Ce test permet de déterminer l'activité gélatinase qui est détectée par l'hydrolyse de la gélatine (Edison *et al.* , 2012).

Les gélatinases sont des protéases qui hydrolysent la gélatine en polypeptides qui à leurs tours seront convertis en acides aminés selon la réaction suivante :



**Figure 4** : Réaction d'hydrolyse de la gélatine par la gélatinase (Edison *et al.*, 2012).

L'activité gélatinase et l'hydrolyse de la gélatine est détectée par l'utilisation d'un milieu réactionnel préparé dans un tube à essai et constitué de tampon phosphate à 0.2 M et pH 7, gélatinisé à 15%. La gélatine sert à la fois comme agent solidifiant et un substrat pour l'activité gélatinase.

Afin de détecter l'activité gélatinase , 1 mL de la solution de gingembre à 0.05g /mL est ajouté à ce milieu gélatinisé et incubé à 30 °C pendant 30 minutes , contre un blanc incubé dans les mêmes conditions sauf les 1 mL de la solution de gingembre qui seront remplacés par 1 mL tampon phosphate à 0.2 M et pH 7.

Le milieu a gélatinases positives, hydrolysent la gélatine et le milieu devient liquide, et si les milieu sont gélatinases négatives, le milieu reste solide (Edison *et al.* , 2012) .

### **3.1.1. Influence du temps, du pH, de la température d'incubation et du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité gélatinase**

#### **3.1.1.1 Influence du temps d'incubation sur l'activité gélatinase**

Pour déterminer l'influence de la durée d'incubation sur l'activité gélatinase, les tubes à essai contenant du tampon phosphate gélatinisé à 15% sont incubés à 30 °C à différents temps 30, 60 et 120 minutes.

#### **3.1.1.2 Influences du pH sur l'activité gélatinase**

Pour déterminer l'influence du pH sur l'activité protéolytique, le tampon phosphate à 0.2 M et pH 7 du milieu réactionnel, est remplacé par un tampon phosphate à 0,2M et pH 5 et du tampon glycine NaOH à 0,2 M et pH 9. Les tubes contenant le milieu réactionnel sont incubés à 30°C pendant 30min. (Lenoir *et* Aubergeral ., 1977).

#### **3.1.1.3 Influence de la température d'incubation sur l'activité gélatinase**

Pour déterminer l'influence de la durée d'incubation sur l'activité gélatinase, les tubes à essai contenant du tampon phosphate gélatinisé à 15% sont incubés à 4, 20, 30 et 45°C, pendant 30 minutes. (Lenoir *et* Aubergeral, 1977).

#### **3.1.1.4 Influence du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité gélatinase**

Pour déterminer l'influence du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité gélatinase, le tampon phosphate à 0.2 M et pH 7 du milieu réactionnel est additionné de 1% de CaCl<sub>2</sub>. Les tubes contenant le milieu réactionnel sont incubés à 30°C pendant 30min.

### **3.1.2 Effet de différents traitements, thermique, pH et CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité de l'enzyme**

#### **3.1.2.1 Effet du traitement thermique sur la stabilité de l'enzyme**

La thermo stabilité de l'enzyme est déterminée par incubation, dans un bain-marie, de solution de gingembre à 90°C pendant 1h et 2h. Après traitement thermique, l'activité résiduelle de l'enzyme est testée en suivant le protocole utilisé précédemment pour tester l'activité gélatinase, sauf la solution non-traitée est remplacée par la solution traitée (Lenoir *et* Aubergeral ,1977).

### **3.1.2.2 Effet du pH sur la stabilité de l'enzyme**

L'influence du pH sur la stabilité de l'enzyme est déterminée par pré-incubation des solutions de gingembre dans des tampons phosphate (pH 5 et pH 7) et tampon glycine NaOH à 2 M (pH 9) pendant 1h et 2 h à température ambiante. Après traitement au pH, l'activité résiduelle de l'enzyme est testée comme décrit précédemment (Lenoir *et al.*, 1977).

### **3.1.2.3 Effet du CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité de l'enzyme**

L'influence du CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité de l'enzyme est déterminée par addition de 1% de CaCl<sub>2</sub> aux solutions de gingembre, après 1 h et 2 h de traitement à température ambiante, l'activité résiduelle de l'enzyme est testée comme décrit précédemment.

## **3.2 Recherche et caractérisation de l'activité lipidique chez le gingembre**

Les lipases sont l'une des grandes classes d'hydrolases (EC 3.1.1.3, triacylglycérol hydrolases) (Bornscheuer *et al.*, 2002). Elles sont principalement actives contre les substrats insolubles dans l'eau, tels que les triglycérides composés d'acides gras à longue chaîne (Lopes *et al.*, 2011).



L'activité lipasique a été déterminée en utilisant l'huile d'olive comme substrat.

Le milieu réactionnel contient, 1mL de tampon phosphate à pH 7 et 0.2 M, 2.5 mL d'eau distillée, 3mL d'huile d'olive et 1mL de solution gingembre à 0.05g/mL. Le mélange réactionnel est incubé à 37°C pendant 30min. Après incubation, 3 mL d'éthanol à 95 % est ajouté pour stopper la réaction. Le phénolphtaléine est utilisé comme indicateur de virage de pH (Calando *et al.*, 2002).

Pour quantifier les acides gras libérés sous l'action des lipases, le NaOH (qui va neutraliser l'acidité générée par la libération des acides gras sous l'action des lipases) à 0.2 M est ajouté par la burette jusqu'à virage de couleur.

### **3.2.1 Influence du temps, du pH, de la température d'incubation et du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité des lipases**

#### **3.2.1.1 Influence du temps sur l'activité des lipases**

Pour déterminer l'influence du temps sur l'activité des lipases, le milieu réactionnel (décrit précédemment) est incubé à 30° à différents temps 5, 10, 15, 20 et 30min.

La quantification des acides gras libérés est effectuée de la même manière que précédemment (Lopes *et al.* , 2011).

#### **3.2.1.2 Influence de pH sur l'activité des lipases**

Pour déterminer l'effet de pH sur cette activité, le tampon phosphate à 0.2 M (pH 7) du milieu réactionnel, est remplacé par un tampon phosphate à 0,2M (pH 5) et du tampon glycine NaOH à 0,2 M (pH 9). Le mélange réactionnel est incubé à 30°C pendant 30min. La quantification des acides gras libérés sous l'action des lipases, sous ses conditions, est effectuée de la même manière que précédemment (Lopes *et al.* , 2011).

#### **3.2.1.3 Influence de la température sur l'activité des lipases**

Pour déterminer l'effet de la température sur cette activité, le milieu réactionnel (décrit précédemment) est incubés à 4, 20, 30 et 45°C, pendant 30 minutes. (Lopes *et al.* , 2011).La quantification des acides gras libérés est effectuée de la même manière que précédemment.

#### **3.2.1.4 Influence du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité des lipases**

Pour déterminer l'influence du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité des lipases, le tampon phosphate à 0.2 M (pH 7) du milieu réactionnel (décrit précédemment) est additionné de 1% du CaCl<sub>2</sub>, le milieu réactionnel est incubé à 30°C pendant 30min. La quantification des acides gras libérés est effectuée de la même manière que précédemment.

### **3.2.2 Effet de différents traitements, thermique, pH et CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité des lipases**

#### **3.2.2 1 Effet du traitement thermique sur la stabilité des lipases**

La thermo stabilité de l'enzyme est déterminée par incubation, dans un bain-marie, de solution de gingembre à 90°C pendant 1h et 2h. Après traitement thermique, l'activité résiduelle de l'enzyme est testée en suivant le protocole utilisé précédemment pour tester l'activité lipidique, sauf la solution non-traitée est remplacée par la solution traitée.



### **3.2.2.2 Effet du pH sur la stabilité des lipases**

L'influence du pH sur la stabilité de l'enzyme est déterminée par pré-incubation des solutions de gingembre dans des tampons phosphate (pH 5 et pH 7) et tampon glycine NaOH à 2 M (pH 9) pendant 1 h et 2 h à température ambiante. Après traitement au pH, l'activité résiduelle de l'enzyme est testée comme décrit précédemment.

### **3.2.2.3 Effet du CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité des lipases**

L'influence du CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité de l'enzyme est déterminée par addition de 1% de CaCl<sub>2</sub> aux solutions de gingembre, après 1 h et 2 h de traitement à température ambiante, l'activité résiduelle de l'enzyme est testée comme décrit précédemment.

## **3.3 Recherche et caractérisation de l'activité des catalases**

Les catalase sont des oxydoréductases qui catalysent la réduction du peroxyde d'hydrogène en molécule d' H<sub>2</sub>O et d'O<sub>2</sub> (Roggenkamp *et al.* , 1974 ;Gòth *et al.*, 2004 ), selon la réaction suivante :



Afin de caractériser l'activité de catalase, 0.5mL de la solution de gingembre à 0.05g/mL est ajouté à 1.5mL de milieu réactionnel d' H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (tampon phosphate à 50mM et pH 7 et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 30%), contre un blanc préparé dans les mêmes conditions sauf le 1.5mL de milieu réactionnel d' H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sera remplacé par 1.5mL tampon phosphate à 50mM et pH7.

A l'aide du spectrophotomètre (Janway), la cinétique de dégradation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est suivie par mesure de la DO à 240 nm (Roggenkamp *et al.* , 1974).

### **3.3.1 Courbe étalon de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Afin d'établir la courbe étalon Do=f ([H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]) et déterminer la quantité d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dégradé par la catalase du gingembre, une gamme étalon est préparée (1mM à 15mM) à partir d'une solution mère d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30mM).

### **3.3.2 Influence du temps, du pH, de la température d'incubation et du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité des catalases**

#### **3.3.2.1 Influence du temps sur l'activité de catalase**

Pour déterminer l'influence du temps d'incubation sur cette activité, le milieu réactionnel (décrit précédemment) est incubé à 30° à différents temps 0, 5, 10, 15, 20 et 30 min. La dégradation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sous ces conditions, est suivie par mesure de la DO à 240 nm (Satav *et al.*., 2000 ).

#### **3.3.2.2 Influence du pH sur l'activité des catalases**

Pour déterminer l'effet de pH sur cette activité, le tampon phosphate à 50mM (pH 7) du milieu réactionnel, est remplacé par un tampon phosphate à 50mM (pH 5) et du tampon glycine NaOH à 50mM (pH 9). Le mélange réactionnel est incubé à 30°C. La dégradation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sous ces conditions, est suivie par mesure de la DO à 240 nm après 0 et 30min d'incubation (Satav *et al.*., 2000 ).

#### **3.3.2.3 Influence de la température d'incubation sur l'activité des catalases**

Pour déterminer l'effet de la température sur cette activité, le milieu réactionnel (décrit précédemment) est incubés à 4, 20, 30 et 45°C, pendant 30 minutes. La dégradation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sous ces conditions, est suivie par mesure de la DO à 240 nm après 0 et 30 minutes d'incubation (Satav *et al.*., 2000 ).

#### **3.3.2.4 Influence de CaCl<sub>2</sub> sur l'activité des catalases**

Pour déterminer l'effet de pH sur cette activité, le tampon phosphate du milieu réactionnel (décrit précédemment) est additionné de 1% du CaCl<sub>2</sub>. Le mélange réactionnel est incubé à 37°C. La dégradation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sous ces conditions, est suivie par mesure de la DO à 240 nm après 0 et 30 min d'incubation.

### **3.3.3 Effet de différents traitements, thermique, pH et CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité de l'enzyme**

#### **3.3.3.1 Effet du traitement thermique sur la stabilité des catalases**

La thermo stabilité de l'enzyme est déterminée par incubation, dans un bain-marie, de la solution du gingembre à 90°C pendant 1h et 2h. Après traitement thermique, l'activité résiduelle de l'enzyme est testée en suivant le protocole utilisé précédemment pour tester

l'activité de catalase, sauf la solution non-traitée est remplacée par la solution traitée (Satav *et al.*, 2000 ).

### **3.3.3.2 Effet du pH sur la stabilité des catalases**

L'influence du pH sur la stabilité de l'enzyme est déterminée par pré-incubation des solutions de gingembre dans des tampons phosphate (pH 5 et pH 7) et tampon glycine NaOH à 2 M (pH 9) pendant 1h et 2 h à température ambiante. Après traitement au pH, l'activité résiduelle de l'enzyme est testée comme décrit précédemment (Satav *et al.* , 2000 ).

### **3.3.3.3 Effet du CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité des catalases**

L'influence du CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité de l'enzyme est déterminée par addition de la solution gingembre de 1% de CaCl<sub>2</sub>, après 1 h et 2 h de traitement à température ambiante, l'activité résiduelle de l'enzyme est testée comme décrit précédemment.

# *Résultats et Discussion*

## 1. L'échantillon du gingembre

La poudre du gingembre utilisée, dans cette étude, pour la caractérisation d'activités enzymatiques, a été procurée du marché local d'Ain-Temouchent. L'objectif de notre travail est de rechercher et caractériser les activités enzymatiques, chez le gingembre, de deux hydrolases (gélatinase et lipase) et une oxydoréductase (catalases).

## 2. Caractérisation de l'échantillon du gingembre

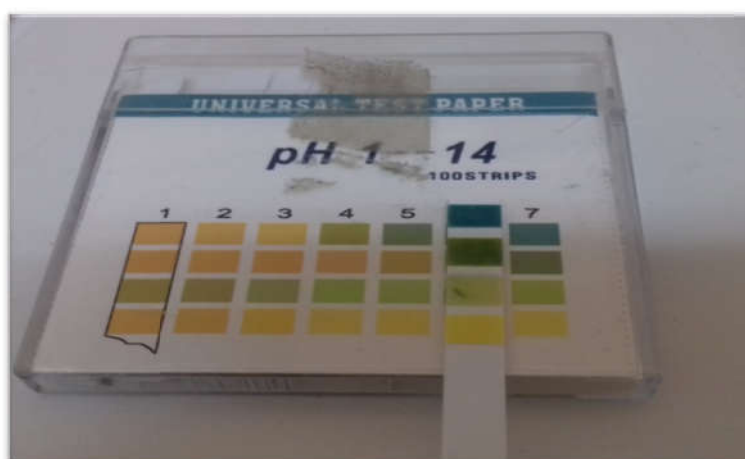
### 2.1 Mesure du pH de la solution gingembre

La mesure du pH du gingembre a été effectuée par utilisation des bandelettes de mesure du pH.

Le résultat de cette mesure, montre que la poudre du gingembre utilisée dans cette étude présente un pH de 7 (figure 5).

Les études qui ont été faites ont montré que le gingembre présente un pH de 6.4 (Praveen *et al.* , 2019) et de 6.58 (Cuevas *et al.* , 2004).

Le pH du gingembre peut être influencé par exemple par son origine, en effet, les études ont montré que le gingembre récupéré de la région indo-malaise (Kizhakkayil *et* Bhas ,2011) avait un pH de 6,4 ( Trimanto ,2017) tandis que l' espèce *Zingiber montanum* récupéré du Bangladesh (Mahadi *et al.* ,2019) avait un pH de 6,2 (Trimanto ,2017).



**Figure 5** : mesure du pH de la solution du gingembre

## 2.2 Détermination de la teneur en glucides du gingembre

Le dosage de la teneur en glucides du gingembre a été effectué par la technique colorimétrique de Dubois *et al* (1956).

Une courbe d'étalon  $DO=f([\text{glucose}])$  a été préparée, pour convertir les DO obtenues en concentration de glucose (figure6).

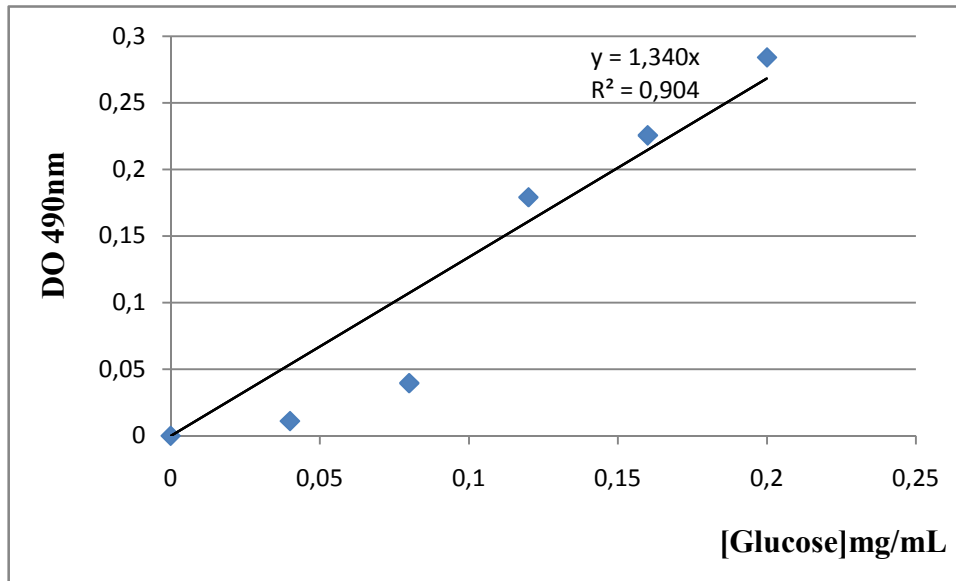


Figure 6: Courbe étalon du glucose

Le résultat de ce dosage a révélé que la teneur en glucides du gingembre est de 0.66 mg de glucides par mg de gingembre, c'est à dire la poudre de gingembre qu'on a utilisé contenait 66% (p/p) de glucides. Ces résultats sont proches de ce qui a été trouvé dans certaines études. En effet, les travaux de Ghasemzadeh *et al* ., (2014) et Ajayi *et al.*, (2013), ont montré que la teneur du gingembre en glucides est respectivement de 63,39 % et 64,71%, ce qui signifie que les glucides sont les composants les plus dominant.

Il a été signalé que le gingembre est considéré comme une source nutritive riche en glucides (Ugwoke *et Nzekwe*, 2010). Les travaux de Ghasemzadeh *et al* ., (2014) ont montré que la teneur du saccharose dans les feuilles et le rhizome de gingembre est la plus élevée suivie du glucose et du fructose.

De plus, Rayes *et al* ., (1982) ont montré que les racines du gingembre auraient une teneur en amidon comprise entre 40,4 et 59%. Ces résultats sont supérieurs à ce qui a été

trouvé par Moreschi *et al.* , (2006), et qui ont montré que la quantité de l'amidon se situe entre 25 à 29.8 %.

### **2.3 Détermination de la teneur en eau (taux d'humidité) du gingembre**

Ce test permet de déterminer le taux d'humidité au niveau du gingembre. Le résultat obtenu montre une teneur en eau de 78.2%.

Ce résultat, proche de celui obtenu par Jayashree *et al.* , ( 2012) ; Suryanti *et al.* , (2015) , qui ont trouvé un taux d'humidité au niveau du gingembre, respectivement, de 75 % et de 81,3% .

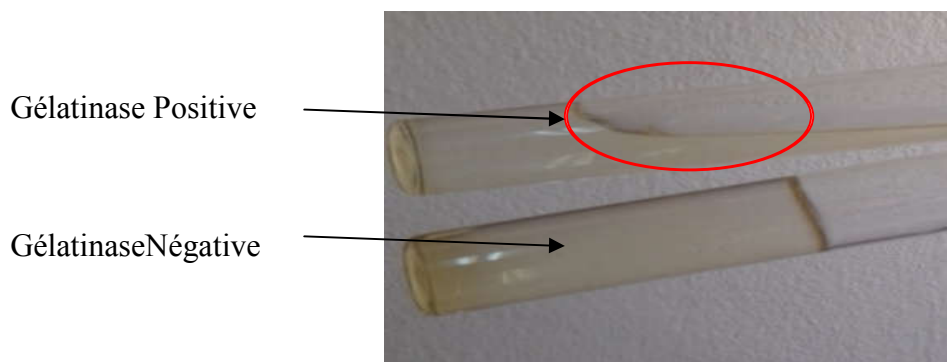
### **3. Caractérisation d'activités enzymatiques chez le gingembre**

Les activités enzymatiques recherchées et caractérisées au niveau du gingembre sont les activités gélatinase, lipase (hydrolases) et catalase (une oxydoréductase).

Cette caractérisation inclut la détermination de l'influence du temps, du pH, de la température et du  $\text{CaCl}_2$  sur l'activité enzymatique, ainsi que la détermination de l'influence du pH, de la température élevés et du  $\text{CaCl}_2$  sur la stabilité des enzymes.

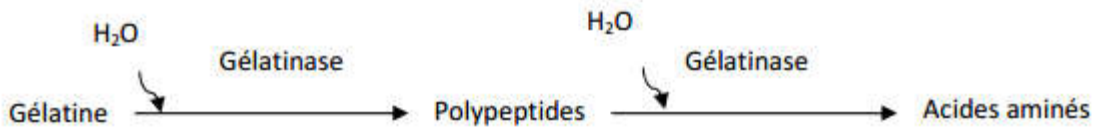
#### **3.1 Recherche et caractérisation de l'activité gélatinase dans la solution du gingembre**

La recherche d'activité gélatinase dans la solution du gingembre, a été effectuée par le test de l'hydrolyse de la gélatine (Balan *et al.* , 2012).Un résultat positif se traduit par un liquéfaction de la gélatine.



**Figure 7:**Test de l'hydrolyse de la gélatine par gélatinase

La gélatinase est une enzyme qui appartient à la classe des hydrolases (Steffen *et al* ., 1981) et la sous classe des peptidases (Maiti *et al.*,2017). Cette enzyme permet l'hydrolyse de la gélatine, en présence d'une molécule d'eau, en acides aminés (Edison *et al* ., 2012 Ekpenyong *et al.*,2016), comme le montre la réaction suivante :



La gélatinase est présente chez les différents organismes vivants (Balan *et al.*, 2012). Chez les végétaux, par exemple, elles interviennent pendant la croissance et le développement de la plante (Marino *et al* .,2001).

Comme c'est le cas d'autres enzymes, la gélatinase est une enzyme, utilisée dans différentes industries tels que, l'industrie agro-alimentaire comme par exemple pour l'attendrissement de la viande (Su *et al* ., 2009). Dans l'industrie pharmaceutique pour le développement des médicaments (Balan *et al.*,2012) .

### **3.1.1 Influence du temps, du pH, de la température d'incubation et du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité gélatinase**

Ces tests ont été effectués afin de déterminer l'influence du temps d'incubation, le pH, température, et le CaCl<sub>2</sub> sur l'activité gélatinase .

#### **3.1.1.1 Détermination du temps d'incubation nécessaire pour l'hydrolyse de la gélatinase**

Les résultats de ce test a permis de révéler que le gingembre est doté d'une activité gélatinase. L'influence du temps d'incubation sur l'hydrolyse de la gélatine a été testée à 30, 60 et 120 min. Les résultats obtenus montrent que 30 minutes sont suffisantes pour révéler la présence d'une activité gélatinase qui s'est révélé par une hydrolyse de la gélatine.



### **3.1.1.2 Influences du pH sur l'activité gélatinase du gingembre**

L'influence du pH sur l'activité gélatinase a été testée à pH acide (pH 5), pH neutre (pH 7) et pH basique (pH 9).

Ce test a révélé que le pH influence sur l'activité gélatinase. En effet à pH 5 et pH 9, l'hydrolyse de la gélatine n'a pas été détectée, par contre, cette activité a été détectée à pH 7. Des activités protéasiques optimales à des pHs qui se situent entre 6,5–7,3 ont été trouvées chez le gingembre (Thompson *et al.* , 1973)(Su *et al.*,2009).D'autres travaux ont montré aussi que des protéases végétales, avaient des pH optimum situé entre 7 à 8 (Mehnoush *et al.*,2011).

A pH 5 et 9, il y a absence de l'hydrolyse de la gélatine. Le pH acide ou basique semble influencer l'activité gélatinase. Ce résultat est proche de ce qui a été montré pour les protéases du gingembre, qui étaient moins actives à pH 5 et 9 (Nafi *et al.* , 2014).

### **3.1.1.3 Influence de la température d'incubation sur l'activité gélatinase du gingembre**

L'influence de la température sur l'activité gélatinase a été testée à 4 °C, 20°C, 30 °C et 45°C.

L'activité gélatinase est observée aux températures d'incubation de 20°C et 30 °C, et elle est absente aux températures d'incubation de 4 °C et de 45°C.

Ces résultats sont en corrélation avec ce qui a été trouvé par Nafi *et al* (2013), qui ont rapporté que la protéase de gingembre a présenté une activité protéolytique à 20°C. Aussi Huang *et al.*, (2011) ont montré que les protéases du gingembre sont actives à des températures qui se situent entre 30–40 °C.

À des températures plus élevées de 40° C une perte d'activité des protéases a été observée (Huang *et al.* , 2011).Ce qui est en accord avec le résultat de la perte de l'activité de la gélatinase qu'on a trouvé à la température d'incubation de 45°C.

A la température d'incubation de 4 °C, la gélatinase du gingembre ne présente aucune activité, des résultats similaires en été rapportés par Zhao *et al.* , (2018) qui ont montré que l'activité des protéases de gingembre diminue considérablement à des températures basses. La température de 4 °C est généralement utilisée pour conserver l'enzyme (Nafi *et al.* , 2014).

#### **3.1.1.4 Influence du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité gélatinase du gingembre**

L'influence du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité gélatinase a été testée par addition au milieu réactionnel du CaCl<sub>2</sub> à une concentration finale de 1 %.

La concentration de 1 % de CaCl<sub>2</sub> semble affecter l'activité gélatinase, une diminution de l'activité gélatinase a été observée. Plusieurs travaux ont montré que l'activité protéolytique du gingembre est affectée en présence du CaCl<sub>2</sub> (Falii *et al.*, 1918 ; Kütemeyer *et al.*, 2005 ; Demir *et al.*, 2008 ; Huang *et al.*, 2011).

#### **3.1.2. Effet de différents traitements, thermique, pH et CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité de la gélatinase**

Ces tests ont été effectués, par recherche d'activité résiduelle de la gélatinase, après les différents traitements : thermique, pH et CaCl<sub>2</sub>.

##### **3.1.2.1 Effet du traitement thermique sur la stabilité de la gélatinase**

La thermo stabilité des gélatinases du gingembre a été testée après un traitement thermique, de la solution du gingembre, à 90° C pendant 1h et 2h.

Il a été montré que le traitement thermique modifié la structure des protéines et affecte la stabilité des enzymes (Pierre *et al.*, 1977 ; Sanchez *et al.*, 2003).

Les résultats de ce test montrent que l'activité gélatinase est toujours présente après un traitement de 1 h à 90°C, par contre, cette activité a disparu après 2h de traitement à 90°C. D'après ce résultat la gélatinase du gingembre semble être thermostable après 1 h de traitement mais elle devient thermosensible après 2 h de traitement.

Des études ont montré que les protéases de gingembre sont stables à 70 ° C et conservent 70% de leurs activités après 1h de traitement (Huang *et al.*, 2011). Cependant, à des températures supérieures à 75 ° C, la protéase ne conserve que 10% de son activité et à 100°C, cette enzyme est complètement dénaturée (Murtala *et al.*, 2017). Ce qui est en accord avec le résultat qu'on a trouvé de la perte d'activité de la gélatinase après traitement de 2h à 90°C.

Les enzymes protéolytiques thermostables sont très importantes au niveau industriel (Rigoldi *et al.*, 2018). Les enzymes thermostables peuvent être utilisées dans diverses

industries nécessitant des températures élevées comme par exemple les industries alimentaires (Huanget *al.*, 2011).

### **3.1.2.2 Effet du pH sur la stabilité de la gélatinase**

L'influence du pH sur la stabilité des gélatinases a été testée par pré-incubation d'enzyme pendant 1h et 2h dans des tampons à pH 5, 7, 9 à 2 M à température ambiante.

Les résultats obtenus montrent que l'activité gélatinase du gingembre est affectée après une pré-incubation de la solution du gingembre pendant 1h à pH 5 et pH 9. Des résultats similaires rapportés par Nafi *et al.* En (2013) et en (2014) ont montré que les protéases du gingembre sont affectées par des pHs acides et basiques.

Par contre, le traitement de la solution du gingembre pendant 1h à pH 7 n'affecte pas la stabilité des gélatinases. Des travaux sur des protéases de gingembre ont montré que le traitement à pH 7 n'affecte pas la stabilité de l'enzyme (Denis *et al.* , 1980).

L'activité gélatinase est affectée par la pré-incubation de la solution du gingembre pendant 2h aux pH 5, pH 7 et pH 9.

Les traitements acide ou basique peuvent altérer la structure des protéines et affecter la stabilité des enzymes (Talley *et al.* , 2010 ;Hidaka *et al.* ,2015).

Ces enzymes protéolytiques sont largement utilisées dans les industries alimentaires (Nafi *et al.* , 2014; Gagaoua ,2015).

### **3.1.2.3 Effet du CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité de la gélatinase**

L'influence du CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité des gélatinases a été testée par addition de 1% de CaCl<sub>2</sub> aux solutions de gingembre. Après 1h et 2h à température ambiante l'activité gélatinase est testée.

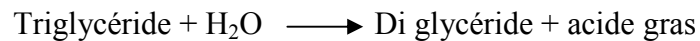
La concentration de 1 % de CaCl<sub>2</sub> semble affecter l'activité gélatinase, une faible hydrolyse de la gélatine a été observée.

Des travaux ont montré que le CaCl<sub>2</sub> a un fort effet négatif sur la stabilité des protéases du gingembre (Nafi *et al.* , 2013). Aussi il a été observé que le traitement au CaCl<sub>2</sub> affecte la stabilité des protéases est elle que celles de *Bromelia hieronymi* et *Moringa oleifera* (Bruno *et al.*, 2010 ; Emmanuel *et al.*, 2012).

### **3.2. Recherche et caractérisation de l'activité des lipases dans la solution du gingembre**

La recherche d'activité lipolytique dans la solution du gingembre, a été effectuée par la titration des acides gras libérés dans le milieu réactionnel grâce à l'action des lipases.

Les lipases sont des enzymes qui font partie de la sous-classe des hydrolases (Lanka *et al.*, 2015), elles sont responsables du catabolisme des triglycérides en acide gras et en glycérol (Jaeger *et al.*, 1994 ; Alloue *et al.*, 2007 ; Reis *et al.*, 2009). selon la réaction suivante :



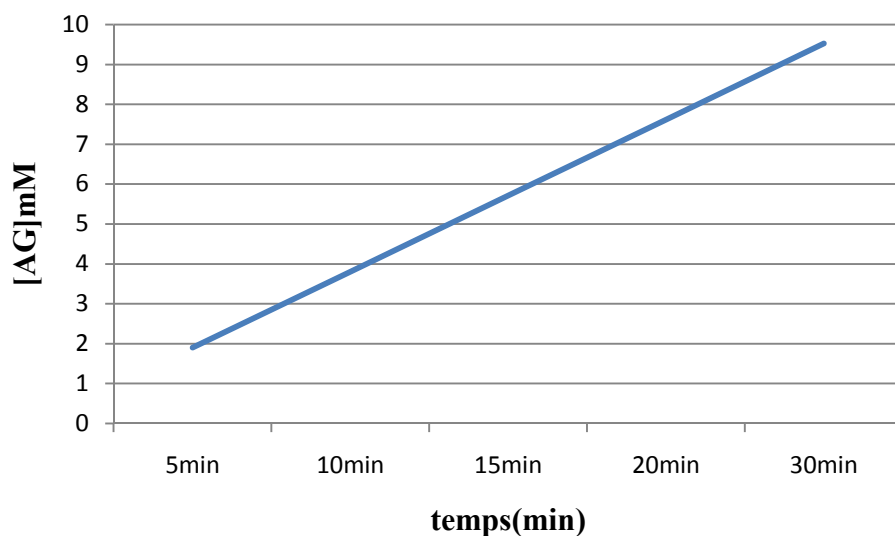
Les lipases sont présentes chez les différents organismes vivants (Heitz, 2010). Elles sont largement répandues au sein de la plante, elles sont présentes dans les tissus de réserve alimentaire, en particulier dans ceux qui contiennent de grandes quantités de triacylglycérols comme les graines (Fickers *et al.*, 2008). Elles interviennent également dans la production de l'énergie nécessaire à la germination de la graine et au développement de la plante par l'hydrolyse des triglycérides (Adlercreutz *et al.*, 1997).

#### **3.2.1 Influence du temps, du pH, de la température d'incubation et du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité des lipases**

Ces tests ont été effectués afin de déterminer l'influence du temps d'incubation, le pH, température, et le CaCl<sub>2</sub> sur l'activité des lipases du gingembre.

##### **3.2.1.1 Influence du temps sur l'activité des lipases du gingembre**

Ce test a révélé que la solution du gingembre présente une activité lipasique. L'influence du temps d'incubation sur l'hydrolyse des lipides en acides gras a été testée à différents temps (0, 5, 10, 15, 20 et 30 min). Les résultats de la cinétique de dégradation sont représentés dans la figure suivante :



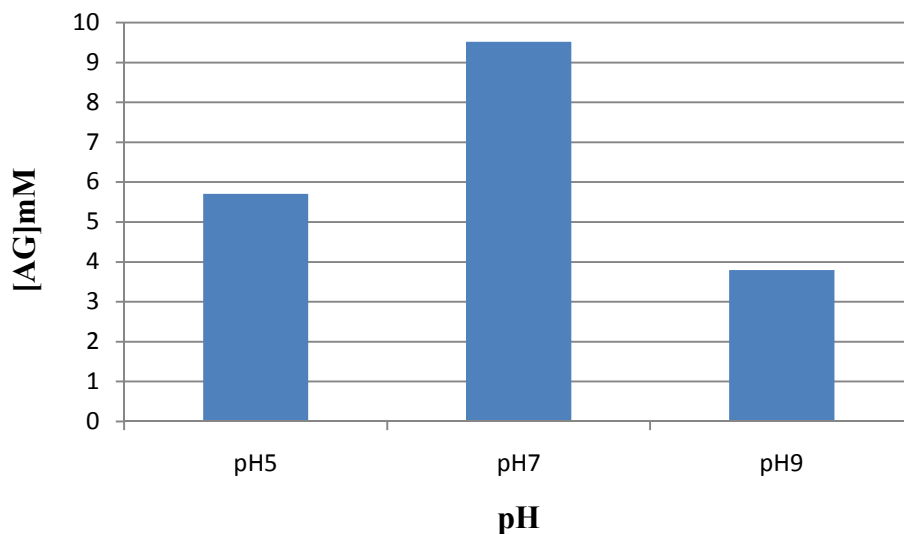
**Figure 8:** Influence du temps sur l'activité des lipases du gingembre

### 3.2.1.2 Influence du pH sur l'activité des lipases du gingembre

L'influence du pH sur l'activité des lipases a été testée à pH acide (pH 5) tampon phosphate à 0,2M, pH neutre (pH 7) tampon phosphate à 0,2M et pH basique (pH 9) tampon glycine NaOH à 0,2 M.

Ce test a révélé que l'activité lipasique du gingembre est présente aux différents pHs testés (figure9). Aussi, le pH semble influencer cette activité. En effet à pH 7, la concentration d'acide gras libérée est supérieure à celle libérée à pH 5 et à pH 9, ce qui montre que pH 7 est le pH optimal de cette activité. Des travaux ont montré que des lipases végétales ont une activité optimale à pH 7, 5 (polizeli *et al.*, 2013). Aussi, on remarque que cette activité lipasique est supérieure à pH 5 qu'à pH 9.

A pH 9, l'activité des lipases du gingembre est la plus faible comparé, respectivement, au pH 5 et 7. Le pH alcalin semble influencer l'activité des lipases du gingembre. Akova *et al.*, (2000) ont rapporté que les lipases de la plante *Nigellasativa* avaient une activité réduite à pH alcalin.



**Figure 9** : Influence du pH sur l'activité des lipases du gingembre

### 3.2.1.3 Influence de la température d'incubation sur l'activité des lipases du gingembre

L'influence de la température sur l'activité de lipase a été testée à 4 °C, 20°C, 30 °C et 45°C. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure suivante :

L'activité lipasique du gingembre est observée aux différentes températures testées. La température optimale de cette activité est 30 °C, la concentration d'acide gras libérée, à cette température est supérieure à celle libérée à 20°C et 45°C. La plus faible activité est observée à 4 °C (figure10).

Ces résultats sont en corrélation avec ce qui a été trouvé par Eze *et* Ezema, (2012), qui a rapporté que les lipases des graines de *Cucumeropsismannii* présentaient une activité lipolytique entre 20 et 37°C. Aussi Polizelli *et al* ., (2013) ont montré que les lipase des graines de *Jatropha curcas* sont actives à des températures qui se situent entre 30–40 °C.

Aussi, des activités de lipases ont été observées à 45°C (Eze *et* Ezema ., 2012), ce qui est en accord avec le résultat de l'activité des lipases du gingembre qu'on a trouvé.

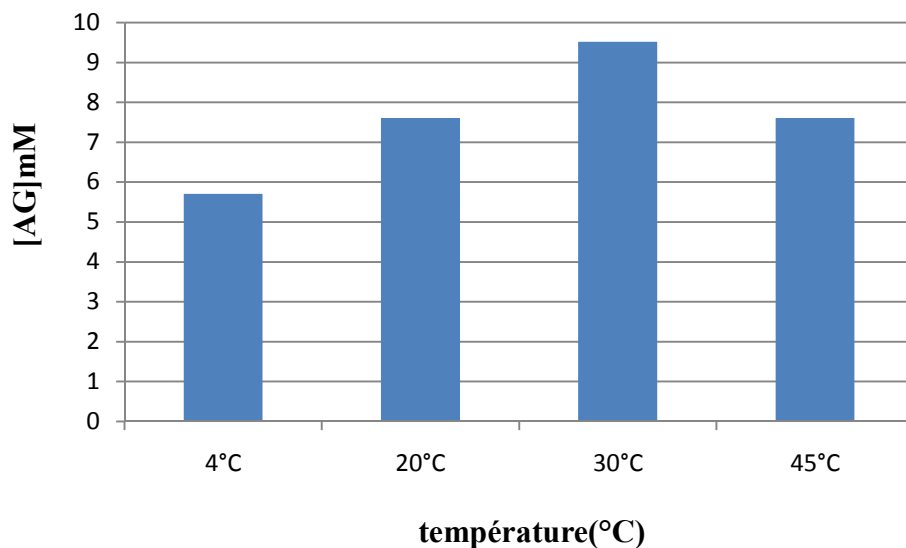


Figure 10 : Influence de la température d'incubation sur l'activité des lipases du gingembre

#### 3.2.1.4 Influence du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité des lipases du gingembre

L'influence du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité de lipase a été testée par addition au milieu réactionnel du CaCl<sub>2</sub> à une concentration finale de 1 %.

Le résultat obtenu montre que la concentration de 1 % de CaCl<sub>2</sub> n'affecte pas l'activité des lipases du gingembre, l'activité lipasique est resté identique en présence et en absence du CaCl<sub>2</sub> (figure 11)

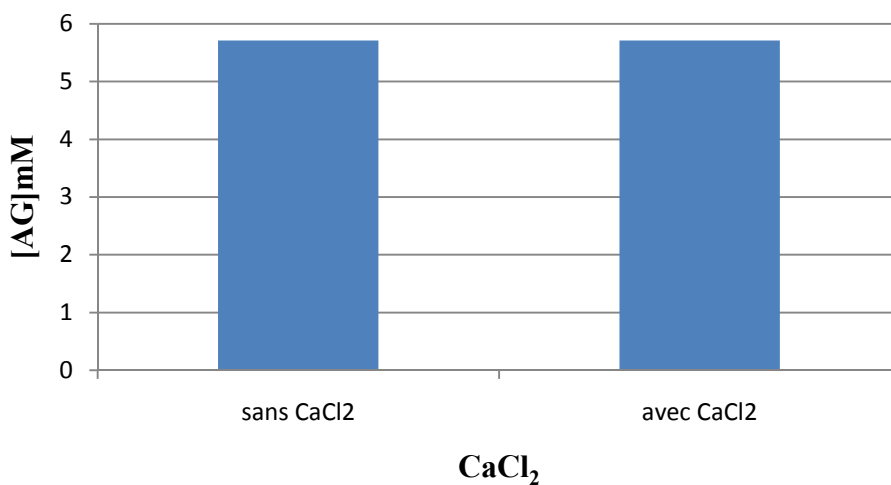


Figure 11: Influence du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité des lipases du gingembre

Des travaux ont montré que le  $\text{CaCl}_2$  n'affecte pas l'activité des lipases de l'huile de soja (Yesiloglu *et al.* , 2008), et de graine de *Brassicinapus* (Barros *et al.*,2010), ce qui est en accord avec les résultats obtenus.

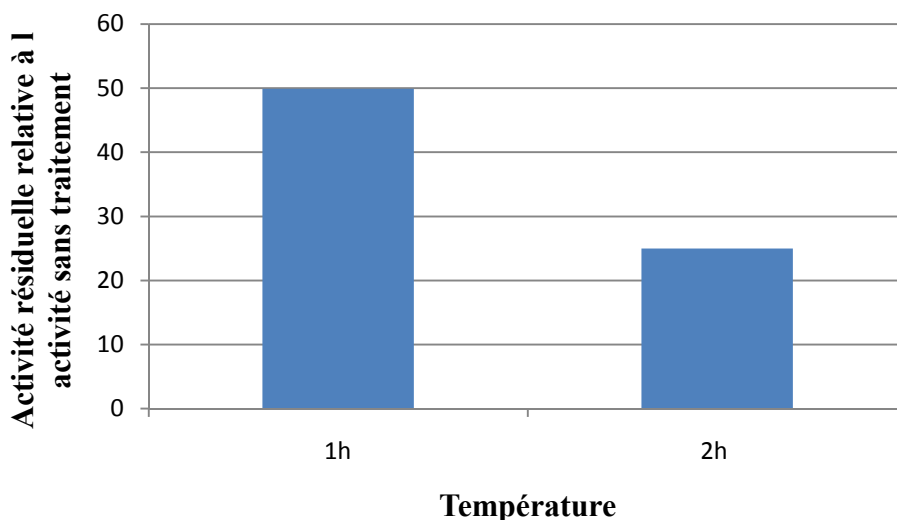
### **3.2.2. Effet de différents traitements, thermique, pH et $\text{CaCl}_2$ sur la stabilité des lipases**

#### **3.2.2.1 Effet du traitement thermique sur la stabilité des lipases**

La thermo stabilité des lipases du gingembre a été testée après un traitement thermique, de la solution du gingembre, à  $90^\circ\text{C}$  pendant 1h et 2h.

Le traitement thermique affecte l'activité des lipases (Figure 12), en effet, les lipases ne gardent que 50% de leur activité après 1h de traitement à  $90^\circ\text{C}$  et 24,96% après 2h de traitement à  $90^\circ\text{C}$ . Ce qui indique que les lipases du gingembre qu'on a testées ne sont pas stables surtout après 2h de traitement à  $90^\circ\text{C}$ .

Par contre, il a été démontré que le traitement thermique n'affecte pas la stabilité des lipases des végétaux tels que le haricot, ce qui explique l'avantage de les utiliser dans les industries (Barros *et al.*,2010) telles que les industries alimentaires, les industries des détergents et les industries pharmaceutiques (Jaeger *et Eggert.* , 2002).



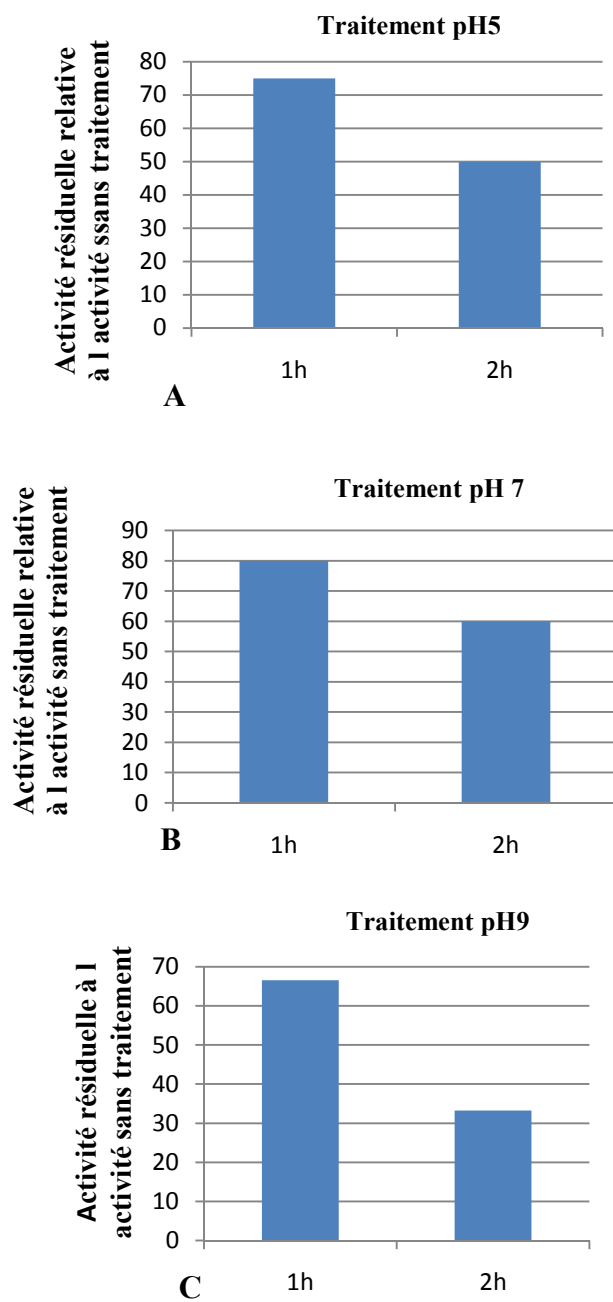
**Figure 12 :** Effet du traitement thermique sur la stabilité des lipases du gingembre



### **3.2.2.2 Effet du pH sur la stabilité des lipases**

L'influence du pH sur la stabilité des lipases a été testée par pré-incubation de la solution du gingembre pendant 1h et 2h dans des tampons à pH 5, 7, 9 à 2M à température ambiante.

Les résultats de ce test montrent que l'activité lipolytique est toujours présente après un traitement de 1 h et 2h dans des tampons à pH 5, 7, 9 à 2M à température ambiante (Figure 13(A, B et C)).



**Figure 13 :** Effet du pH sur la stabilité des lipases.(A) : Effet du pH5 sur la stabilité des lipases.(B) : Effet du pH7 sur la stabilité des lipases .(C) :Effet du pH9 sur la stabilité des lipases du gingembre

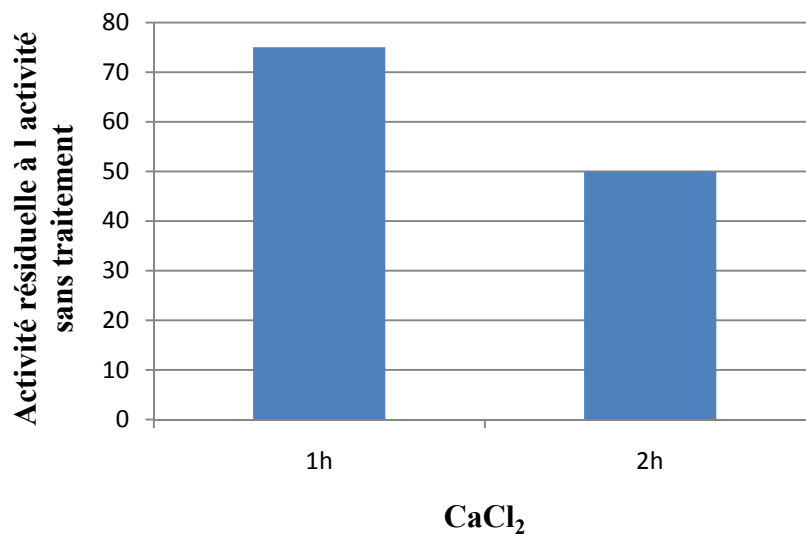
Les résultats obtenus montrent que le traitement de 1h aux différents pHs ne semble pas affecter l'activité des lipases du gingembre. En effet, les lipases, après 1h traitement, présentent une activité résiduelle de 79,93% à pH 7, de 75,03% à pH 5, et de 66,54% à pH 9 ce qui montre une bonne stabilité aux pHs acide, neutre et basique. Ce qui est en accord avec des travaux qui ont montré que les lipases des végétaux tels que le *Laurusnobilis* sont extrêmement stables à une gamme de pH allant de 7 à 10 (Barros et al., 2010). D'autres études ont montré que les lipases de *Arabidopsis* sont stables à des pHs entre 5.8 et 8.0 (Li et al., 2015).

Par contre, les résultats obtenus, du traitement pendant 2h aux différents pHs, montrent que l'activité des lipases du gingembre est plus affectée que pour le traitement de 1h. En effet, les lipases, après 2h traitement, présentent une activité résiduelle de 59,97% à pH 7, de 49,93% à pH 5, et de 33,27% à pH 9. Ce résultat confirme la bonne stabilité de l'enzyme à pH neutre. Ce qui est en accord avec des travaux qui ont montré que les lipases des graines d'haricot sont stables à un pH proche de la neutralité (Enujiugha et al., 2004).

### **3.2.2.3 Effet du CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité des lipases**

L'influence du CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité des lipases a été testée par addition de 1% de CaCl<sub>2</sub> aux solutions de gingembre. Après 1h et 2h de traitement à température ambiante, l'activité résiduelle a été testée.

Les résultats obtenus (Figure 14) montrent que les lipases du gingembre ont gardé 75,03% de leur activité après 1h de traitement et 49,93% de leur activité après 2h de traitement. Ce qui montre que le CaCl<sub>2</sub> n'affecte pas, sévèrement, la stabilité de l'enzyme surtout après 1h de traitement.



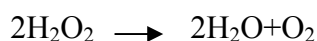
**Figure 14:** Effet du CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité des lipases du gingembre

Des travaux sur la lipase d’haricot sont montrés que l’ajout de CaCl<sub>2</sub> n’affecte pas la stabilité des lipases qui gardent 64% de leur activité après traitement (Enujiugha et al., 2004), ce qui est en accord avec les résultats qu’on a obtenus.

### 3.3 Recherche et caractérisation de l’activité des catalases dans la solution du gingembre

La recherche d’activité de catalase dans la solution du gingembre, a été effectuée par la mesure de la concentration en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> restante après la réaction. Un résultat positif se traduit par la disparition d’H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en fonction du temps.

Les catalases sont des enzymes qui appartiennent à la classe des oxydoréductases, ces enzymes catalysent la conversion du peroxyde d’hydrogène en une molécule d’eau H<sub>2</sub>O et une molécule d’oxygène O<sub>2</sub> (Alfonso-Prieto *et al.*, 2009), selon la réaction suivante :



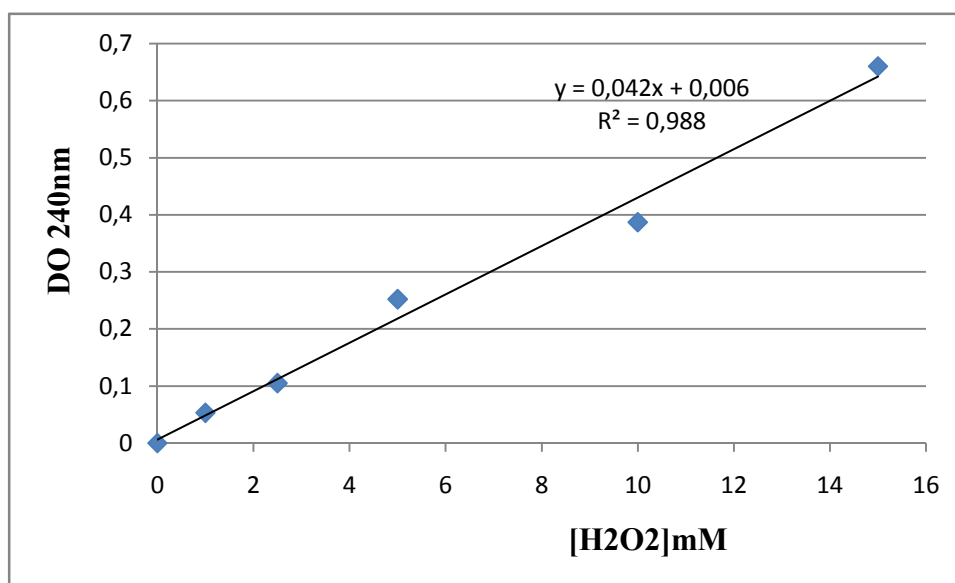
Les catalases sont des enzymes présentes chez les différents organismes vivants (Nichols *et al.*, 2001). Les catalases sont essentielles dans la défense antioxydante et dans le maintien de l’équilibre redox (Willekens *et al.*, 1997). Chez les végétaux, les catalases sont impliquées dans un réseau de métabolisation du peroxyde d’hydrogène qui agit dans la transduction de signaux cellulaires (Rindler *et al.*, 2016). Elles jouent également un rôle important dans la défense, le vieillissement et la sénescence des plantes (Yang *et al.*, 2002).

Aussi, ces enzymes permettent la protection des cellules contre les dommages d'oxydation en convertissant ces espèces d'oxygène en oxygène et l'eau (Dinçler *et al.*, 2001).

Les catalases sont utilisées dans divers processus industriel, par exemple, elles sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour éliminer le peroxyde d'hydrogène du lait avant la production de fromage ou dans les emballages alimentaires pour empêcher les aliments de s'oxyder (Sepasi *et al.*, 2018). Ces enzymes sont utilisées aussi en cosmétique dans les produits de traitement du vieillissement (Sepasi *et al.*, 2018) et dans la préparation des crèmes, émulsions et solutions désinfectantes (Campanella *et al.*, 1998). Les catalases sont également utilisées dans l'industrie du textile, éliminant le peroxyde d'hydrogène des tissus pour s'assurer que le matériau est exempt de peroxyde (Amorim *et al.*, 2002).

### 3.3.1. Courbe étalon de l' $H_2O_2$

Un courbe étalon  $DO=f([H_2O_2])$  a été établit pour déterminer la quantité d'  $H_2O_2$  dégradé par les catalases du gingembre(Figure13).



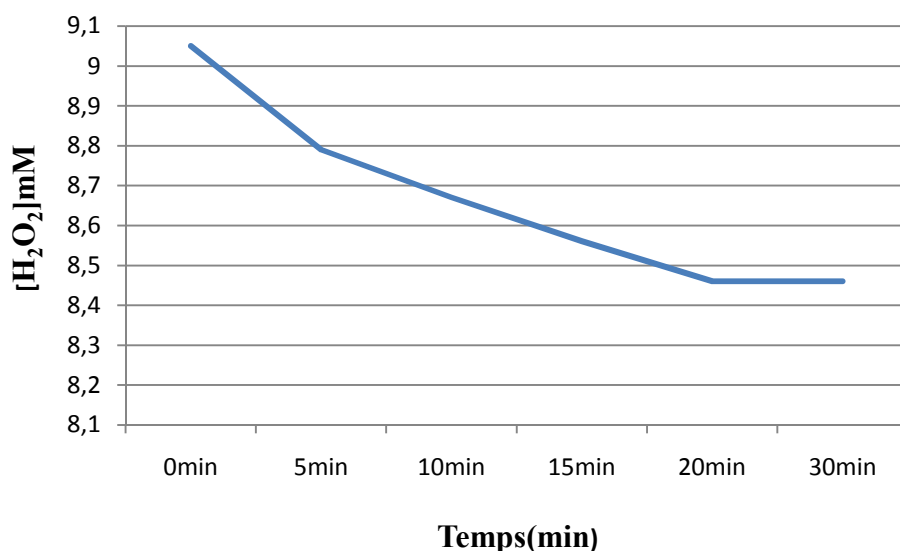
**Figure 15 :** Courbe étalon de l'  $H_2O_2$

### 3.3.2. Influence du temps, du pH, de la température d'incubation et du sur l'activité des catalases

Ces tests ont été effectués afin de déterminer l'influence du temps d'incubation, du pH, de la température, et du  $CaCl_2$  sur l'activité catalasique du gingembre.

### 3.3.2.1 Influence du temps sur l'activité des catalases du gingembre

Ce test a permis de mettre en évidence la présence d'activité catalasique chez le gingembre. L'influence du temps d'incubation sur la dégradation du  $H_2O_2$  a été testée à différents temps 0, 5, 10, 15, 20 et 30 min. Les résultats obtenus sont représentés dans la Figure suivante :



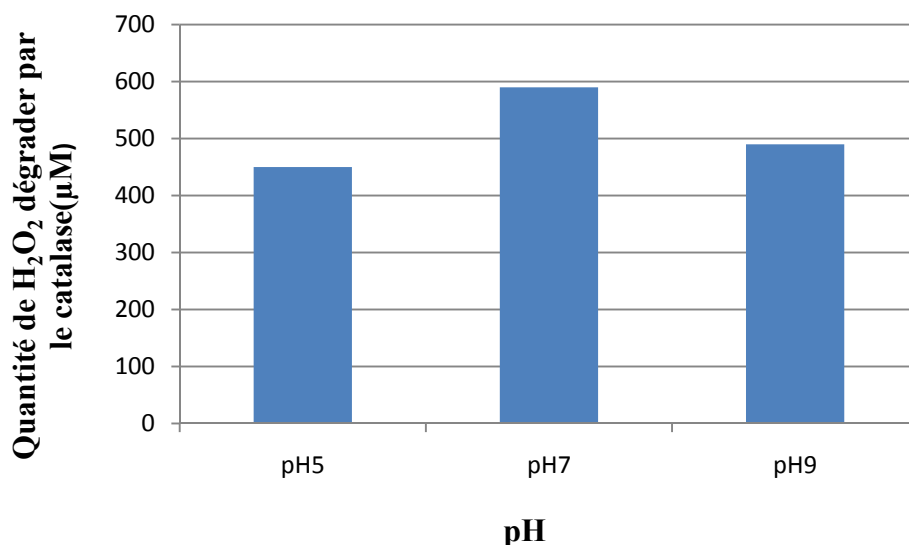
**Figure 16 :** Influence du temps d'incubation sur l'activité catalasique du gingembre

Les résultats de ce test ont permis de révéler la présence d'activité catalasique chez le gingembre. Les résultats obtenus montrent que la quantité d' $H_2O_2$  dégradée augmente en fonction du temps (Figure 16), ce qui signifie la présence d'une activité catalasique chez le gingembre.

### 3.3.2.2 Influence du pH sur l'activité des catalases du gingembre

L'influence du pH sur l'activité des catalases a été testée à pH 5, pH 7 et pH 9 après 30 minutes d'incubation.

Les résultats obtenus sont représentés dans la Figure suivante :



**Figure 17:** Influence du pH sur l'activité catalasique du gingembre

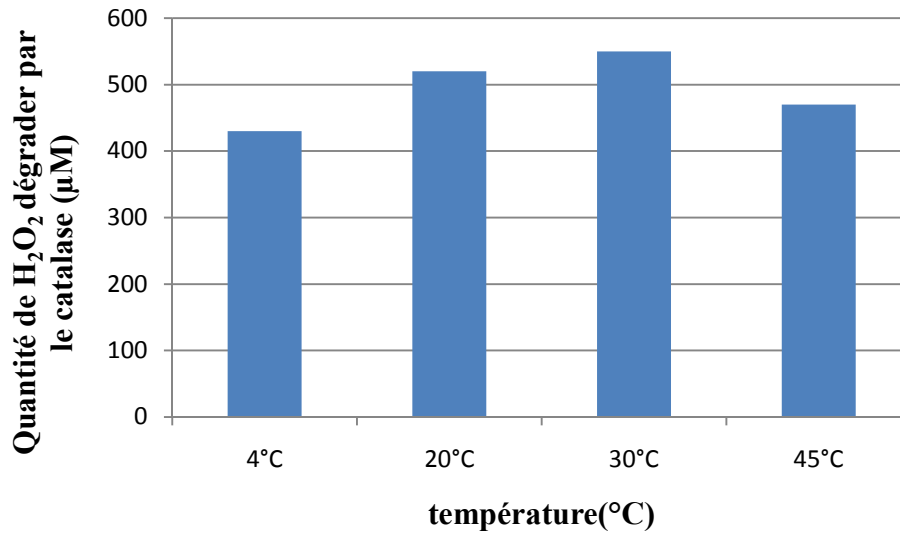
Ce test a révélé que l'activité de catalase du gingembre est présente aux différents pHs testés.

Le pH semble influencer cette activité catalasique. En effet, à pH 7 (pH optimal), la quantité du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dégradé est de 590µM, supérieure à celle dégradé à pH 9 et à pH 5 et qui ne représente, respectivement, que 490 et 450µM après 30 min d'incubation.

Des catalases avec des activités optimales à pH neutres ont été étudiées. Des travaux ont montré que les catalases de la plante *Malvasylvestri* sont une activité optimale à pH 7.5 (Arabaciet al ., 2013). D'autres travaux aussi en montre que les catalases des choux ont un optimum d'activité à des pH qui se situent entre 6.8 et 7 par (Williams ,1928).

### **3.3.2.3 Influence de la température d'incubation sur l'activité des catalases du gingembre**

L'influence de la température sur l'activité de catalase a été testée à 4 °C, 20°C, 30 °C et 45°C après 30 minutes d'incubation. Les résultats obtenus sont représentés dans la Figure suivante :



**Figure 18:** Influence de la température d’incubation sur l’activité des catalases du gingembre

Les résultats obtenus montrent que la température d’incubation influence cette activité catalasique du gingembre. En effet, à 20°C et 30°C, la quantité d’H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dégradée est, respectivement, de 520 et 550 µM, qui est supérieure à celle dégradée à 4°C et 45°C et qui sont, respectivement, de 430 et 470µM.

Ce résultat montre que la catalase du gingembre est plus active à 20°C et 30°C, qu’à 4°C et 45 °C, ce qui révèle que la température optimale de l’activité catalasique se situe entre 20 et 30°C.

Les travaux de Matters *et al* (1986), ont montré que les catalases du Maïs présentent une activité optimale entre 20°C et 40°C, ce qui est en accord avec les résultats obtenus et qui montrent que les catalases du gingembre sont actives aux températures d’incubation de 20°C et 30 °C.

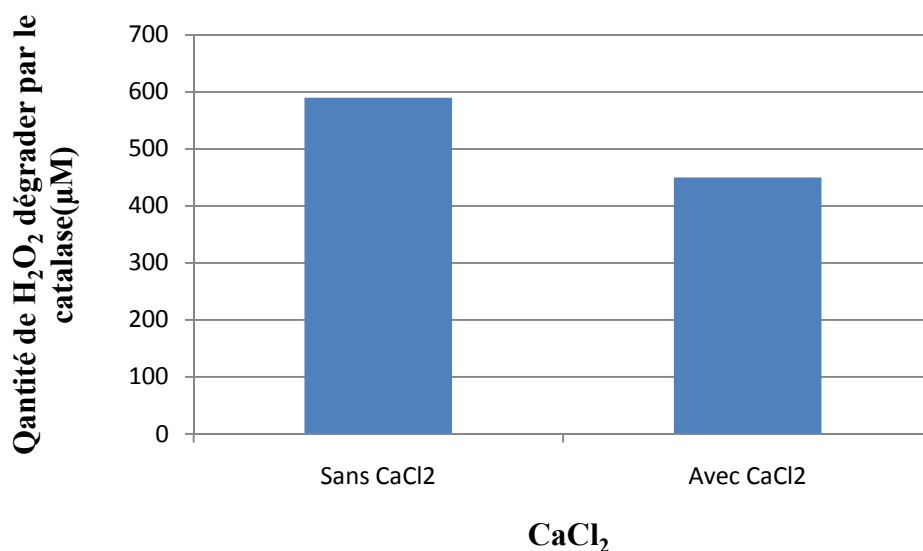
Des études ont montré, aussi, que des températures supérieures à 40° C, influencent l’activité des catalases (Scandalios *et al* ., 2000), ce qui est en accord avec notre résultat qui montre que l’activité des catalase est plus faible à 45°C.

À la température d’incubation de 4 °C, la catalase présente une faible activité, des résultats similaires rapportés par Arabaci *et al* ., (2013) ont montré que l’activité des catalases de la plante *Malvasylvestris* est faible à 4 °C.



### 3.3.2.4 Influence du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité des catalases du gingembre

L'influence du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité de catalase a été testée par addition au milieu réactionnel du CaCl<sub>2</sub> à une concentration finale de 1 %. Les résultats obtenus sont représentés dans la Figure suivante :



**Figure 19 :** Influence du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité des catalases du gingembre.

Une diminution de l'activité catalasique a été observée après ajout de 1 % de CaCl<sub>2</sub>, la quantité d' H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dégradée est passée de 590µM à 450 µM après ajout de 1 % de CaCl<sub>2</sub>. Ce résultat montre que le CaCl<sub>2</sub> a influencé l'activité du catalasique du gingembre.

Des études ont montré que le CaCl<sub>2</sub> à 1%, perturbe l'activité des catalase du *Phyllanthus amarus*, où une réduction de cette activité a été observée en présence de CaCl<sub>2</sub> (Liu *et al.*, 1999)(Cheruth *et al.*, 2008).

Un résultat similaire a été rapporté par Benkaddour *et al.*,(2013) où l'activité des catalases du blé Dur *Triticum Durum* et diminue en présence du CaCl<sub>2</sub>.

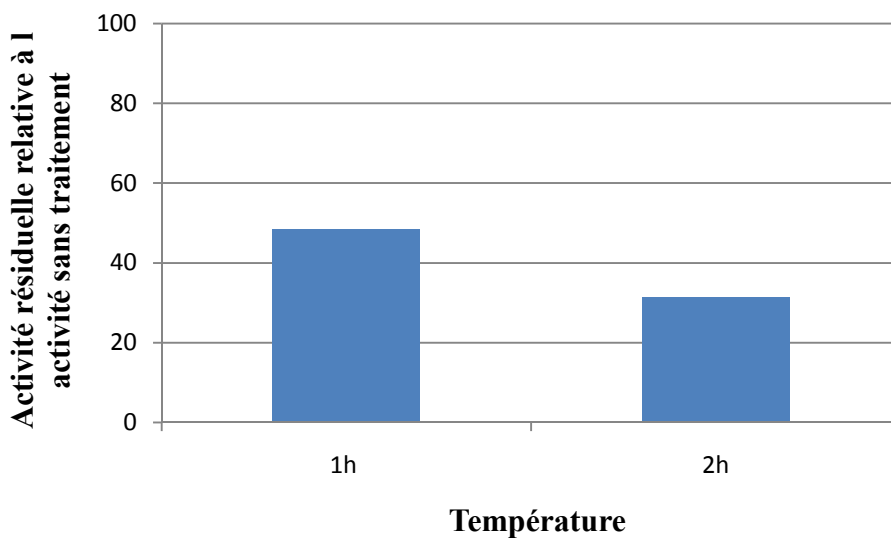
### 3.3.3. Effet de différents traitements, thermique, pH et CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité catalases

Ces tests ont été effectués, par recherche d'activité résiduelle de catalase, après différents traitements (thermique, pH et CaCl<sub>2</sub>).

### 3.3.3.1 Effet du traitement thermique sur la stabilité des catalases

La thermo stabilité des catalases du gingembre a été testée après un traitement thermique, de la solution du gingembre, à 90° C pendant 1h et 2h.

Les résultats obtenus sont représentés dans la Figure suivante :



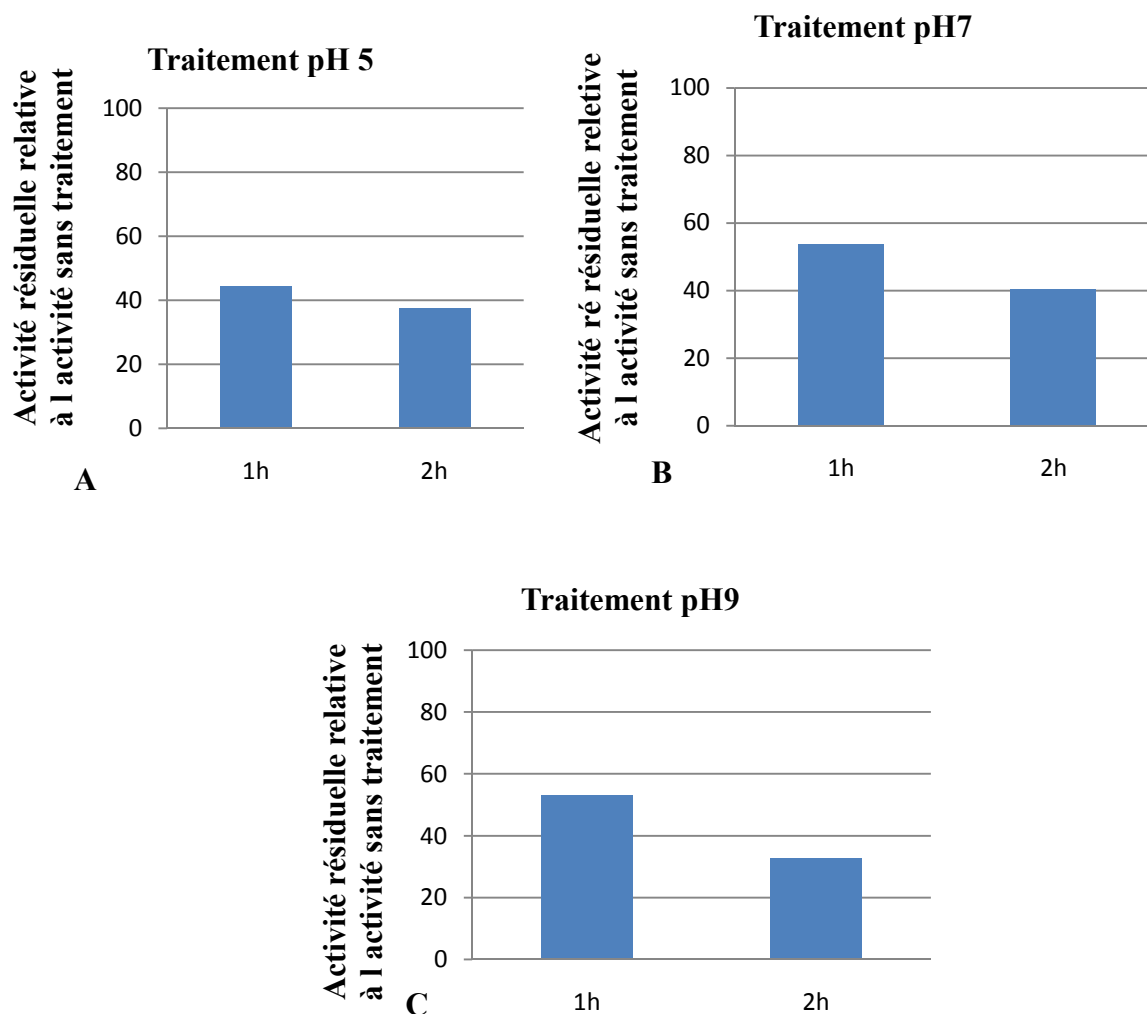
**Figure 20 :** Effet du traitement thermique sur la stabilité des catalases du gingembre

Le traitement thermique affecte l'activité des catalases (Figure 21), en effet, les catalase ne gardent que 48.57 % de leur activité après 1h de traitement à 90°C et 37.5% après 2h de traitement à 90°C. Ce résultat indique que les catalases du gingembre qu'on a testé ne sont pas stables surtout après 2h de traitement à 90°C .Il a été démontré que le traitement thermique affecte la stabilité des catalases des *Beta vulgavisvav*, après traitement de 80°C (Dincler *et al.* , 2000).

### 3.3.3.2 Effet du pH sur la stabilité des catalases

L'influence du pH sur la stabilité des catalase a été testée par pré-incubation de la solution du gingembrependant 1h et 2h dans des tampons à pH 5, 7, 9 à 2M et à température ambiante.

Les résultats de ce test montrent que l'activité des catalases est toujours présente après un traitement de 1 h et 2h dans des tampons à pH 5, 7, 9 à 2M Figure 21 (A, B et C).

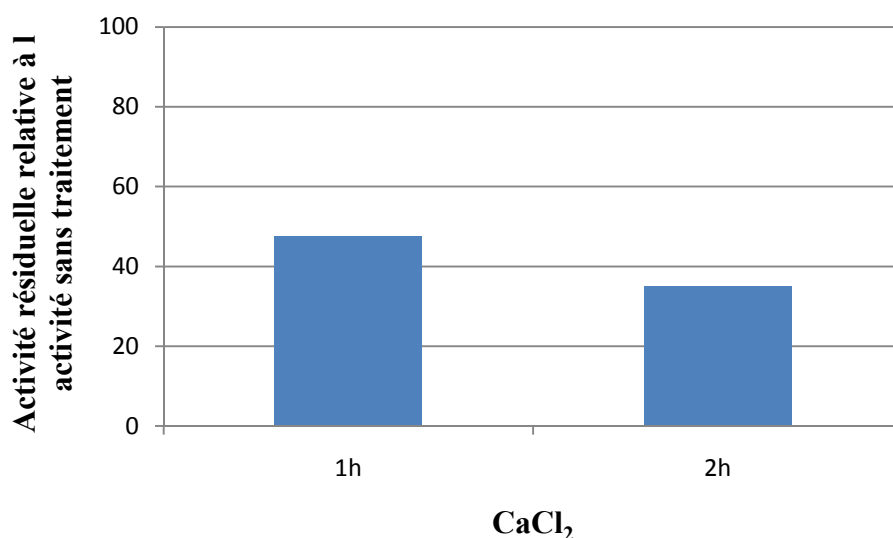


**Figure 21** : Effet du pH sur la stabilité des catalases du gingembre.(A) :Effet du pH5 sur la stabilité des catalases du gingembre.(B) :Effet du pH7 sur la stabilité des catalases du gingembre. (C) Effet du pH9 sur la stabilité des catalases du gingembre.

Les résultats obtenus montrent que le traitement de 1h et 2h aux différents pHs affecte l'activité des catalases du gingembre. En effet, les catalases, après 1h de traitement, présentent une activité résiduelle de 53.84% à pH 7, de 53.06% à pH 9, et de 44.5 % à pH 5 et de 40.38% à pH 7, de 32.77% à pH 9, et de 37.5 % à pH5 après 2h de traitement. Des travaux ont montré que les catalases des végétaux tels que *Lycopersicon esculentum* Mill perdent de leur stabilité à une gamme de pH allant de 5 à 9 (Lokhandwala *et al.* , 2014), ce qui est en accord avec les résultats obtenus. D'autres travaux ont montré que les catalases de *Malvasylvestris* L est plus stable à pH neutre, cependant, elles perdent de leur stabilité rapidement à des pHs alcalins et acides (Arabaci *et al.* , 2013).

### 3.3.3.3 Effet du CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité des catalases

L'influence du CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité des catalases a été testée par addition de 1% de CaCl<sub>2</sub> aux des solutions de gingembre. Après 1h et 2h de traitement à température ambiante, l'activité résiduelle a été testée. Les résultats obtenus sont représentés dans la Figure suivante :



**Figure22:** Effet du CaCl<sub>2</sub> sur la stabilité des catalases du gingembre

Les résultats obtenus montrent que la stabilité des catalases du gingembre est affectée après un traitement, pendant 1h et 2h, avec du CaCl<sub>2</sub>. En effet, les catalases, après 1h de traitement, présentent une activité résiduelle de 47.5% et de 35% après 2h de traitement.

Des études ont montré que le prétraitement des catalases de *Vicia faba*, par le CaCl<sub>2</sub> à 2 % affecté leur stabilité (Issam *et al.* , 2012), de même que Afiyanti *et al* (2014) ont rapporté que le CaCl<sub>2</sub> affecte significativement les catalases des feuilles de *Ipomoea batatas*

*Conclusion et perspectives*

Comme il été mentionné dans la partie synthèse bibliographique les enzymes présentent une grande importance aussi bien au niveau cellulaire qu'au niveau industriel. L'objectif de notre travail est de rechercher et caractériser, chez le gingembre, l'activité de deux hydrolases (gélatinase et lipase), qui peuvent avoir un intérêt industriel, et de les comparer avec les catalases.

Les résultats des tests effectués ont montré la présence d'activités des 2 hydrolases (gélatinases et lipases). L'étude de l'influence des températures sur l'activité de ces hydrolases a révélé, pour les gélatinases, la présence d'activité aux températures de 20°C et 30°C, une activité absente à 4 °C et à 45°C, alors que les lipases présentent une activité optimale à 30°C, une bonne activité à 20°C et 45°C et une faible activité à 4 °C.

L'influence du pH sur l'activité des 2 hydrolases a été testée à pH 5 pH7 et pH9, les résultats de ce test montrent que des hydrolases ont une activité optimale à pH7. L'influence du CaCl<sub>2</sub> sur l'activité des hydrolases a été aussi testée à une concentration de 1%, les résultats montrent que l'activité des gélatinases est affectée par la présence du CaCl<sub>2</sub>, ce qui n'est pas le cas de l'activité des lipases.

Concernant les tests de stabilité de ces hydrolases, les résultats du traitement thermique à 90°C pendant 1h ont montrés une stabilité des deux hydrolases, alors qu'elles sont thermosensibles après 2 h de traitement.

Pour ce qui est traitements aux différents pH, les résultats montrent que la stabilité de ces hydrolases est affectée aux traitements pH 5 et pH 9. Pour le traitement avec le CaCl<sub>2</sub>, la stabilité des gélatinases et lipases sont affectées par la présence du CaCl<sub>2</sub>.

Le 2<sup>ème</sup> objectif de notre travail est de rechercher et caractériser, chez le gingembre, l'activité des enzymes de la famille des oxydoréductases (catalases). Les tests de recherche des catalases ont révélés la présence de cette activité chez le gingembre. L'étude de l'influence des températures sur l'activité des catalases a révélé des températures optimales de 20°C et 30°C, une activité plus faible est détectée à 4 °C et à 45°C. L'influence du pH sur l'activité des catalases a révélé une activité optimale à pH7. Les résultats l'influence du

CaCl<sub>2</sub> sur l'activité catalases a montré que la présence du CaCl<sub>2</sub> a influencé l'activité des catalases.

Concernant les tests de stabilité des catalases, les résultats du traitement thermique à 90°C ont montrés une faible stabilité des catalases après ce traitement, avec, respectivement, 48.57 % et 37.5% d'activité résiduelle après 1h et 2h de traitement. Pour ce qui est stabilité des catalases à des traitements pHs et CaCl<sub>2</sub>, les résultats obtenus montrent que ces catalases sont affectées par ces différents traitements.

Afin de mieux caractériser les enzymes du gingembre, d'autres activités catalytiques seront recherchées, ensuite ces enzymes peuvent être extraites et purifiées pour rechercher des propriétés demandées dans les différents secteurs industriels.

**Tableau 3 :** Tableau récapitulatif des résultats de la caractérisation des enzymes chez le gingembre

		<b>Gélatinases</b>	<b>Lipases</b>	<b>Catalases</b>	
<b>Activité enzymatique</b>	<b>pH optimal</b>	7	7	7	
	<b>Température optimale</b>	Dégradation de la gélatine à 20°C et à 30°C	30°C	30°C	
	<b>Activité en présence du CaCl<sub>2</sub></b>	Activité fortement affectée	Activité non affectée	Activité un peu affectée	
<b>Stabilité enzymatique après 2 h de traitement</b>	<b>Stabilité au différents pHs</b>	<b>pH 5</b>	Instable	Instable	Instable
		<b>pH 7</b>	Instable	Stable	Instable
		<b>pH 9</b>	Instable	Instable	Instable
	<b>Stabilité à 90°C</b>		Instable	Instable	Instable
	<b>Stabilité en présence de CaCl<sub>2</sub></b>		Instable	Moins stable	Instable

# *Références bibliographiques*



1. **AbolpourHomaei, A., Sariri, R., Vianello, F., et Stevanato, R. (2013).** Enzyme immobilization: an update. *JChemBiol*, 6, 185–205
2. **Adlercreutz P., Gitlesen T., Ncube I. et Read J. (1997).** *Veronia* lipase: a plant lipase with strong fatty acid selectivity. **Methods Enzymol.**, 284, 220-231
3. **Affinah, S., Manap, Y., Hussin, A et Shuhaimi, M. (2010).** Phytase :Application in food industry. *Internnatioanl Food Research Journal* .17(1) ,13-21 .
4. **Afiyanti, M., et Chen, H.-J. (2014).** Catalase activity is modulated by calcium and calmodulin in detached mature leaves of sweet potato. *Journal of Plant Physiology*, 171(2), 35–47
5. **Agarwal, P.K. (2006).** Enzymes: An integrated view of structure, dynamics and function. *Microbial Cell Factories*, 5(1), 2.
6. **Akova, A. et Ustung, G. (2000).** Activity and Adsorption of Lipase from *Nigella sativa* Seeds on Celite at Different pH values. *Biotechnology Letters*, 22( 5), 355
7. **Albalasmeh, A.A., Berhe, A.A. et Ghezzehei, T.A. (2013).** A new method for rapid determination of carbohydrate and total carbon concentrations using UV spectrophotometry. *Carbohydrate Polymers*, 97 ,253–261.
8. **Alfonso-Prieto, M., Biarnés, X., Vidossich, P., et Rovira, C. (2009).** The Molecular Mechanism of the Catalase Reaction. *Journal of the American Chemical Society*, 131(33), 11751–11761
9. **ALLOUE, W.A.M., DESTAIN, J., GHALFI, H., THONART, P., AGUEDO, M., WATHELET, J. P., et BLECKER, C. (2007).** Les lipases immobilisées et leurs applications. Articl. 12
10. **Amorim, A. M., Gasques, M. D. G., andreaus, J., et scharf, M. (2002).** The application of catalase for the elimination of hydrogen peroxide residues after bleaching of cotton fabrics. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 74(3), 433–436
11. **Anbu, P., Gopinath, S, C., Chaulagain, B.P., Tang, T.H. et Citartan, M. (2015).** Microbial enzymes and their application in industries and medicine. *BiomedReasearch International*, 1-3.
12. **Arabaci, G., et Usluoglu, A. (2013).** Catalytic Properties and Immobilization Studies of Catalase from *Malva sylvestris* L. *Journal of Chemistry*, 1–6.
13. **Arshad, Z. I. M., Amid, A., Yusof, F., Jaswir, I., Ahmad, K., et Loke, S. P. (2014).** Bromelain: an overview of industrial application and purification strategies. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(17), 7283–7297.

14. **Assamoi, A.A ., Destain,J. et Thonart,P.(2009).**Aspects microbiologiques de la production par fermentation solide des endo- $\beta$ -1,4-xylanases de moisissures : le cas de *Penicillium canescens*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 13(2), 281-294
15. **Balan, S. S., Nethaji, R., Sankar, S., et Jayalakshmi, S. (2012).** Production of gelatinase enzyme from Bacillus spp isolated from the sediment sample of Porto Novo Coastal sites. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3), S1811–S1816.
16. **Barros, M., Fleuri, L. F., et Macedo, G. A. (2010).** Seed lipases: sources, applications and properties - a review. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 27(1), 15–29.
17. **Beilen, J. B. va., et Li, Z. (2002).** Enzyme technology: an overview. *Current Opinion in Biotechnology*, 13(4), 338–344.
18. **Benkaddour, M., Nedjeh,I., Slimani, S., Djahra. A. B.( 2013).** Effet du NaCl sur Les Paramètres Physiologiques et Les Enzymes Antioxydantes de blé Dur Triticum Durum. Desf Durant la Croissance.*European Journal of Scientific Research* , 108 ( 2 ),240-252
19. **Benkahoul, M.,Talhi,A. et Boulefkhad,N.(2017).** Bactéries des environnements chauds Algériens: isolement et mise en évidence de la production d’hydrolases. *Sciences &TechnologieC* , N 45,25-35
20. **Blee, E . (2002).** Impact of phyto-oxylipins in plant defense. *Trends Plant Sci*, 7(7):315-22
21. **Bornscheuer, T.(2002).** Microbial carboxylesterases: classification, properties, and application in biocatalysis. *FEMS Microbiology Reviews* , 73-81
22. **Bruno, M. A., Lazza, C. M., Errasti, M. E., López, L. M. I., Caffini, N. O., et Pardo, M. F. (2010).** Milk clotting and proteolytic activity of an enzyme preparation from Bromelia hieronymi fruits.*LWT - Food Science and Technology*, 43(4), 695–701
23. **Buchou,T. et Cochet, C.(2003).**La protéine kinase CK2, une enzyme qui cultive la différence. *Med Sci*, 19(6-7), 709 – 716
24. **Burns,R .,Wallenstein,M .(2010).** Microbial extracellular enzymes and natural and synthetic polymer degradation in soil : current research and future prospects
25. **Campanella ,L ., Roversi R., Sammartino M. P., Tomassetti M.( 1998).** Hydrogen peroxide determination in pharmaceutical formulations and cosmetics using a new catalase biosensor. *J Pharm Biomed Anal*, 18(1-2),105-16
26. **Caparrós-Macià,F.A.,McCarthy-Suàtez,I.etculiáñez-Macià,F.A.(2013).**La fonction hydrolase HAD dévoilée par criblage de substrats :caractérisation enzymatique de la phosphatase phosphosucré? *Arabidopsisthaliana* sous-classe I ATSGPP.*Planta*,237(4),943-954.

27. **Chandel,A.K.,Rudravam,R .,Rao,L.V.,Ravindra,P. et Narasu,M.L.(2017).**Les enzymes industrielles dans le développement du secteur bioindustriel :une perspective indienne .*Journal of commercial biotechnology*.13,283-291
28. **Chan,E.W.,Lim,Y.etWong,S.(2011).**Antioxidant properties of ginger leaves :An overview .Free radicals and antioxidants,1(1),6-16.
29. **Chapman,J ., Ismail,A.E. et Dinu,C.Z. (2018).**Industrial applications of enzymes :recent advances, techniques, andoutlooks. *Catalysts*, 8,238
30. **Cheruth ,A., Ashok, J. K., Manivannan, P., Sankar, B., Gomathinayagam, M et Panneerselvam, R. (2008).** Salt stress mitigation by calcium chloride in *Phyllanthus amarus*. *Acta Botanica Croatica*,67,1
31. **Choi, J. S. (2019).** Processed Gingers: Current and Prospective Use in Food, Cosmetic, and Pharmaceutical Industry. *Recent Pat Food NutrAgric*,10(1),20-26.
32. **Choi, K. H ; et Laursen, R. A. (2000).** Amino-acid sequence and glycan structures of cysteine proteases with proline specificity from ginger rhizome *Zingiber.officinale*. *European Journal of Biochemistry*, 267(5), 1516–1526.
33. **Cuevas, E., et Piquemal, M.(2004).** Diététique chinoise : rôle des champs électriques d’origine végétale dans la dynamique énergétique de la diétothérapie chinoise. *Acupuncture et moxibustion*, 3 (2),104-117
34. **Culp ,E et Wright ,G .(2017 ).**Bacterial proteases ,untapped antimicrobial drugtargets .*The Journal of Antibiotics* ,70 , 366-377.
35. **Deberardinis, J et Thompson,C,B . (2012).**Cellular metabolism and disease: what do metabolic outliers teach us? *Cell*, 148(6), 1132–1144.
36. **Demir, Y., Güngör, A.; Duran, E.D.; Demir, N.(2008).**Cysteine protease (capparin) from capsules of caper (*Capparis spinosa*). *Food Technol. Biotechnol*, 46, 286–291
37. **Denis,F et Veillet-Poncet,L.(1980).** Caractérisation du système enzymatique protéolytique d’*Aeromonashydrophila* LP 50 : Le Lait. INRA Editions, 60 ,238-259.
38. **Dersjant-Li,Y ., Awati,A., Schulze,H., et Partridge, G.(2015) .** Phytase in non- ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors.*JSci Food Agric*, 95(5), 878–896

39. **Dinçler, A., et Aydemir, Tül. (2001).** Purification and Characterization of Catalase from Chard (*Beta vulgaris* var. *cicla*). *Journal of Enzyme Inhibition*, 16(2), 165–175
40. **Do, T., Pag, J.E et Walker, S. (2020).** Unconverging the activities, biological roles, and regulation of bacterial cell wall hydrolases and tailoring enzymes. *JBC paper in press*, 1-26.
41. **DuBois, M., Hamilton, J., Gilles KA, E et Rebers, P. (1956).** Méthode Dubois calorimétrique pour la détermination du sucre et des substances apparentées, *Analytical Chemistry* 28 (3), 350-356
42. **Dunbar, K., Scharf, D., Litomska, A et Hertweck, C. (2017).** Formation enzymatique de liaisons carbone-soufre dans la biosynthèse des produits naturels. *Chem rev*, 8, 5521-5577.
43. **Dupaigne, P. (1973).** quelques applications industrielles de produits entrant dans la composition des fruits : enzymes. *Fruits*, vol 28, 305-318
44. **Edison, T.E., Martin, J.O. et Torres, O. (2012).** Gelatin Hydrolysis Test Protocol. *American society for microbiology article*, 1-10.
45. Jayashree, E., Visvanathan, R et Zachariah, J. (2012). Quality of dry ginger (*Zingiber officinale*) by different drying methods. *Journal of Food Science and Technology*, 51(11), 3190–3198.
46. **Ekpenyong, M., Asitok, A., Odey, A., et Antai, S. (2016.)** production and activity kinetics of gelatinase by *Serratia sp. SLO3*. *Nigerian Journal of Biopesticides*, 1 (1), 70-82.
47. **Elgendy, A et Ruweidi, M. (2016).** A Literature Review on Trypsin Enzyme. *College of Arts and Sciences*, 1-11
48. **Emmanuel, V., Pontual, L., Belany, E. A., Carvalho, L., Ranilson, S., Bezerra. (2012).** caseinolytic and milk-clotting activities from moringa oleifera flowers. *food chemistry*, 135, 1848–1854.
49. **Enujiugha, V. N., Thani, F. A., Sanni, T. M. et Abigor, R. D. (2004).** Lipase Activity in Dormant Seeds of the African oil bean (*Pentaclethra macrophylla* Benth), *Food Chemistry*, 88(3), 405 (2004).
50. **Fagard, R., Danielian, S. (1989).** Rôle des tyrosine protéine kinases dans l'activation des lymphocytes T. *médecinesciences*. 5 (8), 552-8
51. **Fang Z, Bouwkamp J, Solomos T (1998).** "Chlorophyllase activities and chlorophyll degradation during leaf senescence in non-yellowing mutant and wild type of *Phaseolus vulgaris* L.". *J. Exp. Bot.* 49 (320), 503–10
52. **Fall Beye, N., Cyrille Ayessou, N., Kane, C., Niang Mbaye, M., Talla, C., Sene, A. et Mar Diop, A. (2019).** Study of Four Onion Varieties Drying Kinetics in an Oven and Solar Greenhouse. *Journal of Food Research*, 8, 59-70.

53. **FALII, I. S. (1918.)** The influence of certain salts on enzyme action. *J. Biol. Chem*, 36,229-247
54. **Ficher,R.(1991)**,role of cell wall hydrolases in fruit ripening.*Plant Physiol*, 42, 675-703.
55. **Fickers , P ., Destain, J et Thonart, P. (2008)**.Les lipases sont des hydrolases atypiques: principales caractéristiques et applications. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 12(2), 119–130.
56. **Franková, L et Fry, S. C. (2013) .** Biochemistry and physiological roles of enzymes that “cut and paste” plant cell-wall polysaccharides. *Journal of Experimental Botany*, 64(12), 3519–3550.
57. **Fulton, C. K., et Cooper, R. A. (2005)**. Catabolism of sulfamate by *Mycobacterium* sp. CF1.*Environmental Microbiology*, 7(3), 378–381
58. **Fulzele,R ., Desa,E ., Yadav,A.,Shouche,Y.et Bhadekar,R.(2011)**.Caractérisation d’une nouvelleprotéase extracellulaire produite par un isolat bactérien marin de l’océan indien.*Journal brésilien de microbiologie*,42(4).
59. **Gaber, Y. (2012)**. Hydrolases as Catalysts for Green Chemistry and IndustrialApplications:Esterase, Lipase and Phytase. *Department of Biotechnology, LundUniversity*
60. **Gachons,C.P.D et Breslin,P.A.S.(2016)**.Amylase salivaire :digestion et syndrome métabolique .*Currdiabrep* ,16(10) ,102.
61. **GAERTNER, H ., et PUIGSERVER, A. (1982)**. Digestion in vitro de la polyméthionyl-caséine par les enzymes du tractus digestif. *Le Lait INRA*,62 ,617-620
62. **Galinier,A .,(2018)**. La répression catabolique ou comment les bactéries choisissent leurs sucres préférés. *Med Sci (Paris)*.34.531 – 539
63. **Galuhwandita,T., Triatmojo ,S ., Gumilar ,J et Fitriyanto ,N,A(2016)**,production and application of keratinase enzyme .*Asian Jr. of Microbiol.Biotech. Env. Sc.* 18, 71-
64. **Garcia, M .D., Urdiales, B. V., Gonzalez, C. N., Contreras-Esquivel ,J. C.,et Herrera. R. R.,(2012)**. Halophilic Hydrolases as a New Tool for the Biotechnological Industries. *J Sci Food Agric* ,92(13),2575-80
65. **Ghasemzadeh,A.,Jaafar,H.Z.E.,Karimi,E.etAshkani,S.(2014)**.Changes in nutritionalmetabolites of youngginger (*Zingiber officinale* rescoe)in response to elevatedcarbon dioxide.*Molecules*,19(10),16693-19706
66. **Goldberg, D. M., Campbell, R., et Roy, A. D. (1969)**. Fate of trypsin and chymotrypsin in the human small intestine. *Gut*, 10(6), 477–483

67. **Góth ,L., Rass P. et Páy,A.(2004).**Catalase Enzyme Mutations and their Association with Diseases. *Mol Diagn* , 8 (3), 141-149.
68. **Grzanna .R., Lindmark .L., et Frondoza .C,G.(2005).** «Ginger an herbal medicinal product with broad anti-inflammatory actions,». *Journal Medical of Food*, 8(2), 125-132
69. **Guerard, F. (1985).**une utilisation des enzymes proteolytiques extraites des viscères de poissons : la coagulation du lait. *Reo. Trou. Inst. Pêches mari* .49 (3 et 4). 199-203
70. **Hallez, R. (2016).** Métabolisme et cycle cellulaire, deux processus interconnectés chez les bactéries. *Médecine/sciences*, 32(10), 843–848.
71. **Heitz, T. (2010).** Les multiples fonctions des protéines lipolytiques à domaine patatine. *Médecine/sciences*, 26(2), 128–130.
72. **Hidaka, T., Shimada, A., Nakata, Y., Kodama, H., Kurihara, H., Tokihiro, T., et Ihara, S. (2015).** Simple model of pH-induced protein denaturation. *Physical Review E*, 92(1).
73. **Hörtensteiner, S. (1999).** «Chlorophyll breakdown in higher plants and algae". *Cell . Mol. Life Sci.*, 56 (3–4), 330–347
74. **Holliday, G. L., Fischer, J. D., Mitchell, J. B. O., et Thornton, J. M. (2011).** Characterizing the complexity of enzymes on the basis of their mechanisms and structures with a bio-computational analysis. *FEBS Journal*, 278(20), 3835–3845.
75. **Huang, X. W., Chen, L. J., Luo, Y. B., Guo, H. Y., et Ren, F. Z. (2011).** Purification, characterization, and milk coagulating properties of ginger proteases. *Journal of Dairy Science*, 94(5), 2259–2269.
76. **Issam, N., Kawther, M., Haythem, M., et Moez, J. (2012).** Effects of CaCl<sub>2</sub> pretreatment on antioxidant enzyme and leaf lipid content of faba bean (*Vicia faba* L.) seedlings under cadmium stress. *Plant Growth Regulation*, 68(1), 37–47
77. **Jackson,C.R, Tyler,H et Millar,J.(2013).**Détermination de l'activité enzymatique microbienne extracellulaire dans les eaux, les sols et les sédiments de haut débit microplaques dosages. *Department of Biology, The University of Mississippi*, 10,91-99.
78. **Jacob, N .2009.**Enzymes pectinolytique . Biotechnologie pour l utilisation des résidus agro-industriels .383-396
79. **Jaeger, K. E. et Eggert, T.(2002).**Lipases for Biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 13(4), 390
80. **Jaeger, K.-E., Ransac, S., Dijkstra, B. W., Colson, C., Heuvel, M., & Misset, O. (1994).** Bacterial lipases. *FEMS Microbiology Reviews*, 15(1), 29–63.

81. **Jiang,X ., Chang ,M ., Wang ,X et Jin ,Q .(2014).** A Comparative Study of Phospholipase A1 and Phospholipase C on Soybean Oil Degumming.*Journal of the American OilChemists' Society* 91(12)
82. **John Kress ,W.,Prince,L.M.etWilliams,K.J.(2002).**The phylogeny and a new classification of the gingers (Zingiberaceae) :evidencefrommoleculardata.American journal of botany,89(11),1682-1696.
83. **Khan , R ., Naz ,S ., Nikousefat ,Z ., Tufarelli ,V., Javdani ,M ., Qureshi ,M etLaudadio ,V.(2012).**Potential applications of ginger (Zingiberofficinale) in poultry diets .*World'sPoultry Science Journal* , 68, 245-252.
84. **Kizhakkayil , j et Bhas ,S.(2011).**Diversité ,caractérisation et utilisation du gingembre .*Plant Genetic Resources* ,9(3),464-477.
85. **Koga,A.Y.,Beltrame,F.L.etPereira,A.V.(2016).**Several aspects of zingiberzerumbet :areview.*Brazilian journal of pharmacognosy*,26,385-391.
86. **Kong , X ., Zhou ,H., Qian, H .(2007)** .Enzymatic hydrolysis of wheat gluten by proteases and properties of the resulting hydrolysates. *Food Chem* 102 (3), 759–763.
87. **Koo,H et Gang,D .(2012).**Des suites de synthasesterpéniquesexpliquent la production différentielle de terpénoïdesdans les tissus de gingembre et de curcuma .*PLos One*,7(12).
88. **Kress , J., Zanaletti ,R, .Amour, A ., Ladlow ,M ., Frey ,J.G ., Bradley, M. (2002).**Enzyme accessibility and solid supports: which molecular weight enzymes can be used on solid supports? An investigation using confocal Raman microscopy. *ChemEur J* , 8(16), 3769-3772
89. **Kumar, A et Singh, S.(2013).**Directedevolution: Tailoringbiocatalysis for industrial application. *Critical Review in Biotechnology*,33, 365-378.
90. **Kurakawa, T., Ueda, N., Maekawa, M., Kobayashi, K., Kojima, M., Nagato, Y., Kyojuka, J. (2007).** Direct control of shoot meristem activity by a cytokinin-activating enzyme. *Nature*, 445(7128). 652–655
91. **Kütemeyer, C., Froeck, M., Werlein, H. D., et Watkinson, B. M. (2005).** The influence of salts and temperature on enzymatic activity of microbial transglutaminase. *Food Control*, 16(8), 735-73
92. **Lakna,P.(2017).**Difference between anabolism and catabolism. *Home Science Biology*,1-11.
93. **Lakna,P.(2017).**Whatis the active site of an enzyme.omme.science.chemistry. *biochemistry. Enzymologie*

94. **Lambert, P,W ,. Et Meers, J, L., (1983).** The production of industrial enzymes. *Phil.tans. R.Soc.* 300.263-283.
95. **lanka,s,. et naveena lavanya latha , j. (2015)** .a short review on various screening methods to isolate potential lipase producers: lipases-the present and future enzymes of biotech industry. A short review. 9 (5). 207-219
96. **Lee , E ,. Matsumura , Y ,. Soga ,. Hoson ,T et Koizum, N .(2013).** Glycosyl Hydrolases of Cell Wall are Induced by Sugar Starvation in Arabidopsis.*Plant Cell Physiol* , 48(3), 405–413
97. **Lee,T et Hueng, K.(2013).**The role of hydrolases in bacterial cell-wall growth.*Curr Opin Microbiol* .16(6) ,760-766
98. **Lefebvre, S. (2017).** Les lipides en alimentation animale. *Vet Agro Sup.*5.1-20
99. **Lenoir, J.et Auberger, B.(1977)** . Les caractères du système protéolytique de *Penicillium caseicolum*. III. Caractérisation d’une protéase acide. Le Lait INRA Editions, 59 ,244-268.
100. **Li, J., Liu, J., Wang, G., Cha, J.-Y., Li, G., Chen, S., ... Guo, Y. (2015).** A Chaperone Function of no catalase activity1 is Required to Maintain Catalase Activity and for Multiple Stress Responses in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 27(3), 908–925.
101. **Liu, J.-Z., Yang, H.-Y., Weng, L.-P., et Ji, L.-N. (1999).** Synthesis of glucose oxidase and catalase by *Aspergillus niger* in resting cell culture system. *Letters in Applied Microbiology*, 29(5), 337–341
102. **Li, S., Ywang, X., Yang, S., Zhu, M., et Wang, X. (2012).** technology prospecting on enzymes: application, marketing and engineering. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2(3).
103. **Littlechild, J. A. (2017).** Improving the “tool box” for robust industrial enzymes. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 44(4-5), 711–720.
104. **Lokhandwala, A et Bora, M(2014).**Comparative analysis of Polyphenol Oxidase, Catalase and Lycopene production in *Lycopersicon esculentum* Mill. *Int.J.Curr.Microbiol. App.Sci*, 3(4), 969-983.
105. **Lopes, D.B., FRAGA, L.P., Fleurri,L.F.et Macedo,G.A.(2011).**Lipase and esterase - to what extent can this classification be applied accurately?. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 31(3),608-613.
106. **Luisi, P. L. (1979).** Why are enzymes macromolecules? *Naturwissenschaften*, 66(10), 498–504.
107. **Mahadi, H ,.Devkota,A et Devkota,H .(2019).**Dérivé de zérumbone et de kaempférol des rhizomes de *Zingiber montanum*( J.Koenig) Lien ex A.Dietr.de Bangladesh.6 (2) , 2-8 .



108. **Maiti, S., Samanta, T., Sahoo, S., et Roy, S. (2017).** The Dual Carboxymethyl Cellulase and Gelatinase Activities of a Newly Isolated Protein from *Brevibacillus agri* ST15c10 Confer Reciprocal Regulations in Substrate Utilization. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 27(6), 319–331
109. **Malgorzata A , Hans V. Westerhoff, (2011).** Enzyme Kinetics for Systems Biology When, Why and How. *Methods Enzymol*, 500,233-257
110. **Malhotra,S.,et Singh ,A, P. (2003).** Medicinal proprieties of Ginger (ZingiberofficinaleRosc).*Natural Product Radiance*, 2(6),296-301.
111. **Marino, G., & Funk, C. (2011).** *Matrix metalloproteinases in plants: a brief overview. Physiologia Plantarum*, 145(1), 196–202.
112. **Mazotto,A.,Coelho,R ., Cedrola ,S.,Fabio de Lima,M .,Couri,S .,Paraguai de Souza ,E et Vermelho ,A .(2011)** .Production de Kératinase par Three*Bacillus*spp .Utilisation de farine de plumes et de plumes entières comme substrat dans une fermentation ,Volume 2011,1-7
113. **McDonald, A.G et Tipton,K. F.(2014).**Fifty-five years of enzyme classification: advances and difficulties. *FEBS Journal*281 ,583–592.
114. **Mele,M.A.(2019).**Bioactive compounds and biologicalactivity of ginger *Journal of multidisciplinary Sciences*,1(1),1-7.
115. **Menard, D et Basque ,J .( 2011).** Gastric Digestive Function .*Vol. 46*.147-163
116. **Minic ,Z .(2008).** Physiological roles of plant glycoside hydrolases. *Planta . Mar*,227 (4),723-40
117. **Moreschi,S.R.M.,Leal,J.C.,Braga,M.E.M. et Meireles ,M.A.A.(2006).**Ginger and turmericstarcheshydrolysisusingsubcritical water +CO2 :the effect of the sfepre-treatment .*Brazilian journal of the chemical engineering*,23(2),235-242
118. **Mukhtar ,S ., Zaheer, A., Aiysha, D., Abdulla Malik, K., et Mehnaz, S.(2017).**Actinomycetes: A Source of Industrially Important Enzymes. *Journal of Proteomics & Bioinformatics. , 10*(12), 316-319
119. **Murtala, Y., Babandi, A., Babagana, K., Rajah, M.R., Yakasai, H.M., Ibrahim, A., Shehu, D., Alhassan, A.J.(2017).**Milk clotting activity of protease, extracted from rhizome of *Taffin giwa* ginger (*Zingiber officinale*) cultivar, from northwestern Nigeria *ChemSearch Journal* 8(1),13 –19

120. **Nafi, A., Foo, H. L., Jamilah, B. and Ghazali. H. M.**(2013).Properties of proteolytic enzyme from ginger (*Zingiberoficinale* Roscoe).*International Food Research Journal* 20(1), 363-368
121. **Nafi, A., Ling, F., Bakar, J., et Ghazali, H. (2014).** Partial Characterization of an Enzymatic Extract from Bentong Ginger (*Zingiber officinale* var. Bentong). *Molecules*, 19(8), 12336–12348
122. **Nichols, P., fita, I., loewen, P. C.**(2001).enzymology and structure of catalases. *in advances in inorganic chemistry; sykes, a. g., mauk, g., eds.; academic press: new York*,51-106.
123. **Nissar, J., Ahad, T.,Naik, H,R et Hussain, S,Z.**(2017).A review phytic acid: As antinutrient or nutraceutical. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*.6(6), 1554-1560
124. **Nissen,J.A.**(1982).Dégradation enzymatique limitée des protéines :une nouvelle approche dans l’application industrielle des hydrolases .*Journal of chemical technology and biotechnology*,32(1),138-156.
125. **Norajit, K., Laohakunjit, N.et Kerdchoenchuen, O.**( 2007).Antibacterial effect of five Zingiberaceae essential oils. *Molecules*, 12 (8) ,2047-2060.
126. **Ohmori , H ., Kuba,M., Kumon,A .** (1993).Two Phosphatases for 6-phospholysine and 3-phosphohistidine From Rat Brain., *J BiolChem*. 268(11).7625-7.
127. **Ozlen, S.N, .Chatsworth, C .**(1996) .Cosmetic composition containing alpha hydroxyacids, salicylic acid, and enzyme mixture of bromelain and papain., *BiotechnologyAdvances , 14 (4 )*, 562
128. **Panawala, L .**(2017).DifferenceBetweenAnabolism and Catabolism. *Home » Science » Biology»*1-11
129. **Paul, P.E.V., Sangeetha ., V.et Deepika ,R.G. (2019).**Tendances émergentes dans la production industrielle de produits chimiques par des micro-organismes. *Développement récents en microbiologie appliquée et biochimie*, 107-125
130. **Pegg, G.F.,etVessey,J.C.**(1973) . Chitinase activity in *lycopersiconesculentum* and its relationship to the in vivo lysis of *verticilliumalbo-atrummycelium*. *Physiological Plant Pathology*.3 .207-222
131. **Pierre,A, G. Brule, J. Fauquant, M. Piot**(1977). Influence des traitements thermiques sur les propriétés physicochimiques des rétentats obtenus par ultrafiltration de lait de vache et de lait de chèvre. i. denaturation des proteines solubles. *Le Lait, INRA Editions*. 57.646-662.

132. **Prasad , S et Roy, I. (2018).** Converting Enzymes Into Tools of Industrial Importance. *Recent PatBiotechnol.* 12. 33-56.
133. **Prasad,S. et Tyagi,A.K.(2015).**Ginger and its constituents :role in prevention and treatment of gastrointestinalcancer.*Gastroenterologyresearch and practice*, 1-11
134. **Praveen,N.M.,Manasa,S.,Kiran,B.M.etSathishkumar,B.Y.(2019).**Isolation ,characterization and physicochemical properties of starch from ginger (*Zingiber officinale*).Indo american journal of pharmaceutical research,9(2),1878-1882
135. **Price, J. (2003).** Mechanisms of Glucose Signaling during Germination of Arabidopsis. *PLANT PHYSIOLOGY*, 132 (3), 1424–1438
136. **Prymula,K .,Jadczyk,T. et Roterman,I.(2011).**Résidus catalytiques dans les hydrolases :analyse des méthodes conçues pour la prédiction des sites de liaison aux ligands. *Journal of computer-AIDED molecular Design*,25(2),117-133
137. **Polizelli, P. P., Facchini, F. D. A., et Bonilla-Rodriguez, G. O. (2013).** Stability of a Lipase Extracted from Seeds of Pachira aquatica in Commercial Detergents and Application Tests in Poultry Wastewater Pretreatment and Fat Particle Hydrolysis. *Enzyme Research*, 2013, 1–6
138. **Popowska,M.(2004).**Analysis of the peptidoglycan hydrolases of listeria monocytogene :multiple enzymes with multiple functions.Polish journal of microbiology.53,29-34.
139. **Poshyvailo, L ., Lieres, E.V et Kondrat,S.(2017).** Does channeling of metabolites accelerate cascade reactions catalyzed by enzymes ? Plos One, 12(2).
140. **Quinn, J. P., Kulakova, A. N., Cooley, N. A., et McGrath, J. W. (2007).** New ways to break an old bond: the bacterial carbon? phosphorus hydrolases and their role in biogeochemical phosphorus cycling. *Environmental Microbiology*, 9(10), 2392–2400
141. **Rahimi Yadkoori,N., Zangee,N., Mousavi,S.M. et Zakeri,M.(2015).**Effects of ginger (*Zingiberofficinale*)Extract on digestive enzymes and liveractivity of *Mesopotamichthyssharpeyifingerlings*. *Journal of the persiangolf (Marine science)*,6(19),1-10
142. **Rahmani,A,H., Al shabrmi,F,M., et Aly,S ,M.,(2014).**Active ingredients of ginger as potential candidates in the prevention and treatment of diseases via modulation of biological activities.*Int J PhysiolPathophysiolPharmacol*, 6(2),125–136.
143. **Rani,K.,Rana,R. et Datt,S. (2015).**Review on characteristics and application of amylases .International journal of microbiology and bioinformatics,5(1),1-5.

144. **Rao, M. B ; Tanksale, A. M ;Ghatge, M. S ; et Deshpande, V. V. (1998).**  
Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 62(3), 597-635.
145. **Raveendran,S ., Parameswaran,B ., Ummalyma,S.B ., Abraham,A ., Mathew,A.K ., Madhavan ,A ., Rebello,S.etPandey ,A. (2018).** Applications of Microbial Enzymes in Food Industry. *Food Technol. Biotechnol* ,56 (1), 16-3.
146. **Rayes,F.G.R.,D'appolonia,B.L.,Ciacco,C.F.etMontgomery,M.W.(1982).**Characterization of starch from ginger root(*Zingiber officinale*).*Starch/Starke*,34(2),40-44.
147. **Raza,S ., Shoaib,M ., Jabeen,SetMubeen,H.(2016).** Applications and uses of enzymes. *International Journal of Medical and HealthResearch*, 2(3),58-61
148. **Reis, P .K., Holmberg, H ., Watzke, M .E .,Leser., Mar-Jun, M (2009).** Lipases at Interfaces. Review. 147-148, 237-50
149. **Ribeiro, B. ., Machado de Castro, A et Coelho, M.(2011).** Production and Use of Lipases in Bioenergy: A Review from the Feed stocks to Biodiesel Production
150. **Rigoldi, F., Donini, S., Redaelli, A., Parisini, E., et Gautieri, A. (2018).** Review: Engineering of thermostable enzymes for industrial applications. *APL Bioengineering*, 2(1), 01150
151. **Rindler, P. M., Cacciola, A., Kinter, M., et Szweda, L. I. (2016).** Catalase-dependent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> consumption by cardiac mitochondria and redox-mediated loss in insulin signaling. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 311(5), H1091–H1096.
152. **Robinson, P. (2015)** .Enzyme : principes applications biotechnologiques. *Essais biochem*, Vol 59 ,1-41.
153. **Roggenkamp,R.,Sahm,H. et Wagner,F.(1974).**Microbial assimilation of methanol induction andfunction of catalase in candida bgidinii .*Febs Letters*,41(2),283-286.
154. **Rolain,T.,Berard,E.,Courtin,P.,Born,P.A.,Kleerebezem,M.,Chapot chatier,M.P.et Hols,P.(2012).**identification of keypeptidoglycan hydrolases formorphogenesis,autolysis and peptidoglycan composition of *Lactobacillus plantarum*wcfs 1.*Microbial factoriies*,11,137
155. **Rowan, A. D ., Buttle,D .J ., Barrett , A .J.(1990).**The Cysteine Proteinases of the Pineapple Plant .*Biochem J*, 266(3).869-75.
156. **Sanchez,C., Frémont,S.(2003)** .Conséquences des traitements thermiques et de la formulation sur la structure et l'allergénicité des protéines alimentaires. *Française d'Allergologie*.43.13-2

157. **Satav, J. G., Dave, R. K. et Katyare, S. S. (2000).** Influence of Insulin Status on Extra-Mitochondrial Oxygen Metabolism in the Rat. *32*, 57-61.
158. **Sarhat, E. R. (2011).** Effect of ginger on the activity of some antioxidant enzymes (superoxide dismutase and catalase) of alloxan experimental induced diabetic rabbits. *Al-Mustansiriyah j. sci*, *22*(5), 192-200.
159. **Scandalios, J. G., Acevedo, A., et Ruzsa, S. (2000).** Catalase gene expression in response to chronic high temperature stress in maize. *Plant Science*, *156*(1), 103–110.
160. **Scher, J. U et Pillinger, M. H. (2009).** The Anti-Inflammatory Effects of Prostaglandins. *Journal of Investigative Medicine*, *57*(6), 703–70
161. **Semwal R. B., Semwal D. K., Combrinck S. et Viljoen A. M., (2015),** Gingerols and shogaols: Important nutraceutical principles from ginger. *phytochemistry*, *117*, 554–568.
162. **Setati, M. E. (2010).** Diversity and industrial potential of hydrolase-producing halophilic/halotolerant bacteria. *African journal of biotechnology*, *9*(11), 1555-1560.
163. **Sepasi Tehrani, H., et Moosavi-Movahedi, A. A. (2018).** Catalase and its mysteries. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 140, 5-12
164. **Sharma, K. M., Kumar, R., Panwar, S., Kumar, A. (2017).** Microbial alkaline proteases: Optimization of production parameters and their properties. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, *15*, 115-126
165. **Sharma, Y. (2017).** Ginger (*Zingiber officinale*)-an elixir of life a review. *The pharma innovation journal*, *6*(10), 22-27
166. **Simon, G., et Giacobino, J. P. (1971).** Le rôle de la trypsine dans les manifestations secondaires de la pancréatite aiguë hémorragique. *Can Med Assoc J*, *105*(1), 52–passim.
167. **Singh, R., Kumar, M., Mittal, A. et Mehta, P. K. (2016).** Microbial enzymes: industrial progress in 21st century. *3 Biotech*, *6*, 174
168. **Singh, R. P., Gangadharappa, H. V. et Mruthunjaya, K. (2017).** Ginger: a potential nutraceutical, an updated review. *International journal of pharmacognosy and phytochemical research*, *9*(9), 1227-1238.
169. **Singletary, K. (2010).** Ginger An overview of health benefits. *Food science*, *45*(4), 171-183.

170. **Siqueira,F et Filho,E . (2010).**Plant Cell Wall as a Substrate for the Production of Enzymes with Industrial Applications *.Mini Review in Organic Chemistry, 7(1), 54-60.*
171. **Sivaramakrishnan,S., Gangadharan , D ., Madhavan, K ., Soccol,C,R et Pandey, A.(2006).**  $\alpha$ -Amylases from Microbial Sources – An Overview on Recent Developments *.Food Technol. Biotechnol. 44.173–184*
172. **S.O.O. Eze et Ezema,B.O.(2012)** .Purification and Characterization of Lipase(EC-3.1.1.3) from the Seeds of Cucumeropsis manni(White Melon) *.Thai journal of Agricultural Science ,45(2) ,115-120.*
173. **Sousa,S. F., Ramos,M.J ., Lim,C. et Fernandes ,P.A.(2015).**Relation entre les propriétés des enzymes /substrats et l'efficacité des enzymes dans les hydrolases.*ACS Catal,5(10),5877-5887.*
174. **Stael,S., Breusegem,F,V., Gevaert,K., et Nowack, M, K.(2019).**Plant proteases and programmed cell death.*JExp Bot, 70(7), 1991–1995.*
175. **Stanisiera,J.,Mousset,P. et Lafay,S.(2018).**How safe is ginger rhizome for decreasing Nausea and vomiting in women during early pregnancy ?*.Food,1-29*
176. **Staswick PE, Tiryaki I. 2004.**The oxylipin signal jasmonic acid is activated by an enzyme that conjugates it to isoleucine in Arabidopsis. *Plant Cell. ,16(8),2117-27*
177. **Syafitri,D.M.,Levita,J.,Mutakin,M.etDiantini ,A.(2018).**A review :ginger (*Zingiberofficinale* var. *Rescoe*) potential for future phytomedicine ?*IJAS,8(1),1-6*
178. **Su, H. P., Huang, M.J., et Wang, H. T. (2009).** Characterization of ginger proteases and their potential as a rennin replacement. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 89(7), 1178–1185*
179. **Suryanti, U., Bintoro, V. P., Atmomarsono, U., et Pramono, Y. B. (2015).** physical characteristics of culled magelang duck meat affected by aging and marination in ginger extract. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture, 40(2).*
180. **Terry,R ., Posadzki ,P ., Weston ,L ., Hons,B et Ernst ,E.(2011).**The Use of Ginger (*Zingiberofficinale*) for the Treatment of Pain :A Systematic Review of Clinical Trials *.pain Medicine,12 ,1808-1818.*
181. **Thalman,M .,Coiro ,M .,Meier ,T .,Wicker ,T ., Zeeman,S et Santelia ,D.(2019).** The evolution of functional complexity within the  $\beta$ -amylase gene family in land plants.*BMCEvolutionary Biology. 19(1)*

182. **Thapa,S.,Li,H.,Ohair,J.,Bhahi,S.,Chen,F.C.,AlNast,K.,Johnson,T.etZahou,S.(2019).** Biochemical characteristics of microbial enzymes and their significance from industrial perspectives .*Molecular Biotechnology*
183. **Thompson, E. H., Wolf, I. D. et Allen, C. E.(1973).** Ginger rhizome: a new source of proteolytic enzyme. *Journal of Food Science* 38, 652-655
184. **Thorin-Trescases, N., Voghel, G., Farhat, N., Drouin, A., Gendron, M.-È., et Thorin, É. (2010).** Âge et stress oxydant. *Médecine/sciences*, 26(10), 875–880
185. **Tipton,K .et Boyce ,S.(2000).** History of the enzyme nomenclature system.*Bioinformatics*,16(1),34-40.
186. **Trimanto .(2017).** Ginger Species in Besiq Bermai Forest, East Borneo: Inventory and Collection.Indonesian Institute of Science ,1-10
187. **Tzanov, T., Costa, S., Guebitz, G. M., et Cavaco-Paulo, A. (2001).** Effect of temperature and bath composition on the dyeing of cotton with catalase-treated bleaching effluent. *Coloration Technology*, 117(3), 166–170.
188. **Ugwoke,C.E.C. et Nzekwe,U.(2010).**Phytochemistry and proximate composition of ginger (*Zingiber officinale*).*Journal of pharmaceutical and allied sciences*,7(5),1182-1187.
189. **Ujang,Z.,Nordin,N.I. et Subramaniam,T.(2015).**ginger species and their traditional uses in modern applications. *Journal of industrial technology* .
190. **Van Emden, H.F.,(1999).** *Transgenic Host Plant Resistance to Insects—Some Reservations, Annals of the Entomological Society of America*, 92(6). 788–797
191. Vollmer,W.,Joris,B ., Charlier,P.et Foster,S.(2008).Bacterial peptidoglycan (murein)hydrolases. *FEMS Microbiol rev*,32,259-286.
192. **Walsh,G. A ., Power,R. F., Headon,D.R.(1993).**Enzymes in the Animal-Feed Industry. *Trends Biotechnol* , 11(10), 424-430
193. **Walter,C. et Schaneider.(1946).** Intracellular distribution of enzymes .*J.Biol.Chem.*165, 585-593.
194. **Wargo,P.M.(1975).**Lysis of the cell wall of *Armillariamellea* by enzymes from forest trees. *Physiological Plant Pathology*5 (2), 99-105
195. **Westfall, C. S., Muehler, A. M., et Jez, J. M. (2013).** Enzyme Action in the Regulation of Plant Hormone Responses. *Journal of Biological Chemistry*, 288(27), 19304–19311
196. **Willekens, H. (1997).** Catalase is a sink for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and is indispensable for stress defence in C<sub>3</sub> plants. *The EMBO Journal*, 16(16), 4806–4816
197. **Williams, J. (1928).** The decomposition of hydrogen peroxide by liver catalases. *The Journal of General Physiology*, 11(4), 309–337

198. **Yang, T., et Poovaiah, B. W. (2002).**Hydrogen peroxide homeostasis: Activation of plant catalase by calcium/calmodulin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(6), 4097–4102
199. **Yeşiloğlu, Y., et Başkurt, L. (2008).** Partial Purification and Characterization of Almond Seed Lipase. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 38(4), 397–410
200. **Zadeh, J.B. et Kor, N.M. (2014).** Physiological and pharmaceutical effects of ginger (*Zingiber officinal Rescoe*) as a valuable medicinal plant. *European journal of experimental biology*, 4(1), 87-90.
201. **Zhao, H. Y., et Feng, H. (2018).** Engineering *Bacillus pumilus* alkaline serine protease to increase its low-temperature proteolytic activity by directed evolution. *BMC Biotechnology*, 18(





## Résumé

Comme c'est le cas chez les autres organismes vivants, il a été montré que les enzymes jouent un rôle très important chez les plantes. Ces molécules interviennent dans de nombreux processus biologiques, tels que le métabolisme, le développement, ..., etc. Le présent travail est mené dans le but de rechercher et de caractériser l'activité enzymatique de 2 hydrolases (gélatinases et lipases) et d'une oxydoréductase (catalases) chez *Zingiber officinale* (gingembre), une plante qui appartient à la famille des *Zingiberaceae* et représente l'une des plantes les plus utilisées par l'homme, en raison de ces propriétés anti oxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes....

La caractérisation de ces enzymes a été effectuée par étude de l'influence de la température, du pH et du  $\text{CaCl}_2$  sur l'activité et la stabilité de ces enzymes a été testée. Les résultats obtenus montrent la présence d'activité enzymatique des gélatinases, des lipases et des catalases avec des activités optimales à 30°C et à pH 7. Le  $\text{CaCl}_2$  n'influence pas l'activité des lipases, par contre, il influence l'activité des catalases et fortement celle des gélatinases.

Pour la stabilité, les résultats ont montré que les 3 enzymes perdaient de leur stabilité enzymatique après des traitements de 2h à des conditions extrêmes de température, de pH et de  $\text{CaCl}_2$ .

**Mots-clés :** *Zingiber officinale*, activité enzymatique, stabilité enzymatique, hydrolases, oxydoréductases, gélatinases, lipases, catalases.

## Abstract

As with other living organisms, enzymes have been shown to play a very important role in plants. These molecules are involved in many biological processes, such as metabolism, development, etc. The present work is carried out with the aim of researching and characterizing the enzymatic activity of 2 hydrolyses (gelatinases and lipases) and of an oxidoreductase (catalases) in *Zingiber officinale* (ginger), a plant which belongs to the *Zingiberaceae* family and represents one of the plants most used by man, because of its antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial properties....

The characterization of these enzymes was carried out by studying the influence of temperature, pH and  $\text{CaCl}_2$  on the activity and the stability of these enzymes was tested. The results obtained show the presence of enzymatic activity of gelatinases, lipases and catalases with optimal activities at 30 ° C and at pH 7.  $\text{CaCl}_2$  does not influence the activity of lipases; on the other hand, it influences the activity catalases and strongly that of gelatinases.

For stability, the results showed that the 3 enzymes lost their enzymatic stability after treatments of 2 hours at extreme conditions of temperature, pH and  $\text{CaCl}_2$ .

**Keywords:** *Zingiber officinale*, enzymatic activity, enzymatic stability, hydrolyses, oxidoreductase, gelatinases, lipases, catalases.

## ملخص

كما هو الحال مع الكائنات الحية الأخرى، فقد ثبت أن الإنزيمات تلعب دورًا مهمًا جدًا في النباتات. تشارك هذه الجزيئات في العديد من العمليات البيولوجية، مثل التمثيل الغذائي والتطور وما إلى ذلك. يتم تنفيذ العمل الحالي بهدف البحث وتوصيف النشاط الأنزيمي لاثنتين من التحلل المائي (الجيلاتيناز والليباز) وأكسيدوروكتاز (الكاتالاز) في *Zingiber officinale* (الزنجبيل)، وهو نبات ينتمي إلى عائلة *Zingiberaceae* ويمثل واحدة من أكثر النباتات استخدامًا من قبل الإنسان، لما لها من خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات ومضادة للميكروبات ...

تم إجراء توصيف هذه الإنزيمات من خلال دراسة تأثير درجة الحرارة ودرجة الحموضة و  $\text{CaCl}_2$  على نشاط وثبات هذه الإنزيمات. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها وجود نشاط إنزيمي للجيلاتيناز والليباز والكاتالازات مع الأنشطة المثلى عند 30 درجة مئوية وعند الرقم الهيدروجيني 7. لا يؤثر  $\text{CaCl}_2$  على نشاط الليباز، من ناحية أخرى، فإنه يؤثر على نشاط الكاتالاز وبقوة على نشاط جيلاتيناز.

من أجل الثبات، أظهرت النتائج أن الإنزيمات الثلاثة فقدت ثباتها الإنزيمي بعد العلاج لمدة ساعتين في الظروف القاسية لدرجة الحرارة ودرجة الحموضة و  $\text{CaCl}_2$ .

**الكلمات المفتاحية:** *Zingiber officinale*، النشاط الأنزيمي، الثبات الإنزيمي، التحلل المائي، الأكسدة، الجيلاتيناز، الليباز، الكاتالاز.