



Les rhizomes des Zingibéracées *Zingiber officinale* et *Curcuma domestica* : de potentielles sources de phosphatases acides thermostables

***Zingiber officinale* and *Curcuma domestica* rhizomes: potential sources of thermostable acid phosphatases**

Eugène Jean Parfait KOUADIO^{1*}, Ahipo Edmond DUE¹ et Tanoh Hilaire KOUAKOU²

¹Laboratoire de Biochimie et Technologie des Aliments de l'Unité de Formation et de Recherche en Sciences et Technologie des Aliments de l'Université d'Abobo-Adjamé, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Biologie et Amélioration des Productions Végétales de l'Unité de Formation et de Recherche des Sciences de la Nature de l'Université d'Abobo-Adjamé, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

* Auteur en correspondance: nkouadiop@yahoo.fr

Mots clés

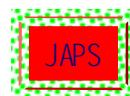
Zingiber officinale, *Curcuma domestica*, rhizome, phosphatases acides thermostables

Key words

Zingiber officinale, *Curcuma domestica*, rhizome, thermostable acid phosphatases

1 RESUME

Des activités phosphatasiques ont été détectées dans les extraits bruts obtenus avec les rhizomes de *Zingiber officinale* et *Curcuma domestica*, deux Zingibéracées cultivées en zone tropicale et utilisées couramment dans le domaine alimentaire et en médecine traditionnelle. Ces activités sont respectivement de 0,271 et 0,681 UI/mg pour l'extrait brut des rhizomes de *Z. officinale* et celui de *C. domestica*. La caractérisation de ces activités a donné une température et un pH optimums respectifs de 55°C et 5,6 pour les deux extraits bruts. Par ailleurs, les extraits bruts des rhizomes de *Z. officinale* et de *C. domestica* n'ont perdu que respectivement 20 et 8 % de leurs activités phosphatasiques après une préincubation de 180 min à 55°C, ce qui traduit leur relative stabilité thermique. L'étude de la spécificité de substrat a indiqué que ces deux activités phosphatasiques hydrolysent significativement L'ATP (Adénosine triphosphate), le phénylphosphate, le NADP (Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) et certains sucres phosphorylés, montrant ainsi, que ces activités pourraient être impliquées dans l'apport d'énergie, la production, le transport et le recyclage de phosphate inorganique (Pi) au cours des phénomènes métaboliques qui se produisent dans ces Zingibéracées. Cette étude a donc permis de mettre évidence deux activités phosphatasiques thermostables dans les rhizomes de ces Zingibéracées, faisant d'eux de potentielles sources de phosphatases acides thermostables.



SUMMARY

Phosphatasic activities were detected in the crude extract from two zingiberaceae rhizomes: *Zingiber officinale* and *Curuma domestica*. These two zingiberaceae are grown in tropical regions and are used as food and traditional medicine. The phosphatasic activities were estimated to be 0.271 and 0.681 UI/mg for *Z. officinale* and *C. domestica* rhizome crude extracts, respectively. Characterization of these activities indicated that pH and temperature optima were respectively, 5.6 and 55°C for these crude extracts. Moreover, after preincubation at 55 °C for 180 min, both crude extracts lost only 20 and 8 % of these activities for *Z. officinale* and *C. domestica*, respectively. This result indicates that acid phosphatasic activities of the two zingiberaceae rhizomes are thermostable. Study of substrate specificity showed that substrate as ATP, phenylphosphate, NADP and some phosphorylated sugars were hydrolyzed by the two acid phosphatasic activities. This result suggests that acid phosphatasic activities of *Z. officinale* and *C. domestica* rhizome are involved in energy transfer and Pi production, transport and recycling in the metabolic process taking place in these zingiberaceae. This study proved that thermostable acid phosphatasic activities are present in the two zingiberaceae species rhizomes, and therefore these can be exploited as sources of these enzymes.

2 INTRODUCTION

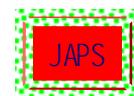
Les phosphatasases acides (EC. 3.1.3.2, orthophosphoric-monoester phosphohydrolase) forment un groupe d'enzymes qui catalysent l'hydrolyse de liaisons esters phosphoriques avec libération de phosphates inorganiques (Pi) dans un environnement acide autour de pH 6,0 (Vincent *et al.*, 1992). Elles ont été étudiées aussi bien chez les végétaux que les animaux et les microorganismes (Hollander, 1971). Chez les végétaux, les phosphatasases acides ont été étudiées dans divers organes tels les tubercules (Diopoh & Kamenan, 1981 ; Gellatly *et al.*, 1994 ; Kusudo *et al.*, 2003 ; Kouadio *et al.*, 2006a), les graines (Ullah & Gibson, 1988 ; Olczak *et al.*, 1997 ; Gonnetty *et al.*, 2006a), les feuilles (Staswick *et al.*, 1994 ; Zhang *et al.*, 2008), les racines (Panara *et al.*, 1990 ; Armienta-Aldana & Gonzalez de la Vara, 2004) et les bulbes (Guo & Pesacreta, 1997).

Les phosphatasases acides des racines semblent être impliquées dans l'hydrolyse et la solubilisation des macromolécules de phosphates organiques du sol en vue de leur utilisation par les plantes (Panara *et al.*, 1990). Par ailleurs, des études récentes indiquent l'utilisation des phosphatasases acides dans l'hydrolyse des diverses formes de phosphates organiques des sols d'une part (He *et al.*, 2004) et d'autre part dans l'hydrolyse des pesticides phosphorés (Hoehamer *et al.*, 2005), montrant ainsi l'intérêt actuel de ces enzymes.

Zingiber officinale et *Curuma domestica* sont deux Zingibéracées dont les rhizomes sont produits en très grande quantité dans les pays tropicaux, notamment en Asie du Sud-est, en Afrique et en Amérique du Sud (Chen *et al.*, 1986 ; Oti *et al.*, 1988). Ces rhizomes de *Z. officinale* et *C. domestica* sont essentiellement utilisés dans l'alimentation et la médecine traditionnelle ou même moderne. Beaucoup de travaux ont été d'ailleurs effectués dans ces domaines (Ghatak & Basu, 1972 ; Pradeep *et al.*, 1993 ; Ahmad-Raus *et al.*, 2001 ; Amani *et al.*, 2004 ; Jiang *et al.*, 2005 ; Tetchi *et al.* 2007).

Par ailleurs, de nos jours, les phosphatasases acides ont des applications dans des domaines tels que l'industrie des engrains pour la biodisponibilité du phosphate inorganique (Pi) qui est généralement sous forme organique dans les sols (He *et al.*, 2004) et des additifs alimentaires pour les animaux monogastriques comme le porc (Konan *et al.*, 2008).

Dans ce travail nous avons étudié la présence possible d'activités phosphatasiques dans les rhizomes de ces deux Zingibéracées en vue, non seulement de comprendre leurs rôles au niveau de ces plantes, mais mieux d'envisager une valorisation sur le plan enzymatique de ces rhizomes produits en grande quantité dans les pays tropicaux.



3 MATERIEL ET METHODES

3.1 Matériel: Les rhizomes des Zingibéracées (*Z. officinale* et *C. domestica*) proviennent de la région du Sud Bandama de la Côte d'Ivoire, précisément de Divo (à 200 km à l'Ouest d'Abidjan).

Le paranitrophénylphosphate (*p*NPP), l'Adénosine triphosphate (ATP), l'Adénosine diphosphate (ADP) et le Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP) proviennent de Sigma-Aldrich. Les autres produits sont de qualité analytique.

3.2 Préparation de l'extrait brut enzymatique: Les rhizomes du *Z. officinale* et *C. domestica* sont lavés avec de l'eau de robinet et bien rincés avec de l'eau distillée et essorés. Ensuite, 25 g chaque type de ces rhizomes sont râpés, puis broyés à l'aide d'un microbroyeur de type Moulinex dans 50 ml d'une solution de tampon acétate 100 mM- pH 5,6. Le broyat obtenu est filtré à l'aide de papier filtre, puis le filtrat est centrifugé à 5000 tours/min à 4 °C pendant 30 min à l'aide d'une centrifugeuse réfrigérée (ALRESA). Le surnageant obtenu pour chaque type de rhizomes constitue l'extrait brut enzymatique.

3.3 Techniques de dosage: Lors de la détermination des activités spécifiques, l'activité phosphatasique a été dosée en utilisant un milieu réactionnel constitué de 125 µl de tampon acétate 100 mM- pH 5,6; 50 µl de solution enzymatique et 75 µl de paranitrophénylphosphate (*p*NPP) 5 mM. Ce milieu est incubé au bain marie à 37 °C pendant 10 min. La réaction est arrêtée par ajout de 2 ml de carbonate de sodium 2 % (p/v). La quantité de paranitrophénol (*p*NP) libéré est mesurée au spectrophotomètre UV-visible (GENESIS 5) à 410 nm contre un témoin contenant tous les réactifs à l'exception de la solution enzymatique. Les densités optiques sont converties en µ moles de *p*NP grâce à une courbe obtenue avec une solution de *p*NP 0,2 mM. L'activité spécifique est exprimée en µmole de *p*NP par min et par mg de protéines (UI/mg)

Au cours de l'étude de la spécificité de substrat, l'activité phosphatasique a été dosée en utilisant un milieu identique avec différents substrats préparés à la concentration de 5 mM. Après 10 min d'incubation, la quantité de phosphate inorganique libéré est mesurée par la méthode de Taussky et Shorr (1953).

Les quantités de protéines, lors de la détermination des activités spécifiques, ont été estimées par la méthode de Lowry *et al.* (1951).

3.4 Caractéristiques physico-chimiques des activités phosphatasiques: Les pH optimums d'hydrolyse des activités phosphatasiques des extraits bruts enzymatiques des rhizomes des zingibéracées *Z. officinale* et *C. domestica* ont été déterminés dans une gamme de valeurs de pH comprises entre 3 et 6,2 dans les tampons acétate de sodium 100 mM (pH 3 à 5,6) et citrate de sodium 100 mM (pH 5,6, à 6, 2). L'étude de la stabilité au pH de ces deux activités enzymatiques a été réalisée dans un milieu réactionnel contenant 300 µl du tampon acétate de sodium 100 mM (pH 3 à 5,6), citrate de sodium 100 mM (pH 5,6 à 6, 2) et 50 µl d'extrait brut enzymatique. Ce milieu est préincubé au bain marie à 37 °C pendant une heure, puis 75 µl du substrat *p*NPP 5 mM y sont ajoutés pour une incubation de 10 min. L'activité résiduelle est déterminée par lecture de la densité optique à 410 nm au spectrophotomètre UV-visible (GENESIS 5) contre un témoin contenant tous les réactifs à l'exception de l'extrait brut enzymatique et exprimée en pourcentage par rapport à l'activité maximale. La zone de stabilité au pH est comprise entre 100 et 80 %.

La température optimale d'hydrolyse de l'activité phosphatasique de chacun des extraits bruts enzymatiques est déterminée en mesurant ces activités dans le tampon acétate 100 mM pH 5,6 en présence de *p*NPP 5 mM pendant 10 min à des températures allant de 30 à 80 °C. L'étude de l'inactivation thermique a été réalisée en préincubant les extraits bruts enzymatiques à la température de 37 °C et à la température optimale d'activité phosphatasique pendant 180 min. Une aliquote de 50 µl de chaque extrait brut enzymatique est prélevée tous les 20 min et l'activité phosphatasique est mesurée au spectrophotomètre UV-visible (GENESIS 5) à 410 nm contre un témoin contenant tous les réactifs à l'exception de l'extrait brut enzymatique. Cette activité est ensuite exprimée en pourcentage par rapport à l'activité initiale. Pour l'étude de la dénaturation thermique, les extraits bruts enzymatiques ont été préincubés pendant 15 min à des températures comprises entre 30 et 80 °C dans le tampon acétate 100 mM- pH 5,6. Au terme de cette préincubation, les extraits bruts enzymatiques sont refroidis à la température ambiante pendant 20 min. Ensuite, pour chaque température de préincubation, une aliquote de 50 µl de chaque extrait est prélevée et l'activité



phosphatasique est mesurée comme précédemment. Cette activité est mesurée en pourcentage par rapport à l'activité maximale.

L'étude de la spécificité de substrat a été réalisée en testant l'activité phosphatasique des deux extraits bruts de rhizomes des deux zingibéracées sur différents substrats phosphorylés préparés tous à la concentration de 5 mM. Les essais sont réalisés à 37 °C dans un milieu réactionnel contenant 125 µl de tampon acétate 100 mM pH 5,6 ; 50 µl d'extrait enzymatique et 75 µl de substrat. Le pourcentage d'hydrolyse de chaque substrat est ensuite déterminé en prenant l'activité obtenue avec le pNPP pour 100 %

L'influence des ions métalliques et d'autres composés chimiques a été étudiée aux concentrations 0,5 et 5 mM. Le milieu est composé de 125 µl de solution d'ion ou autre produit chimique préparé dans le tampon acétate 100 mM pH 5,6 et 50 µl d'extrait brut enzymatique. Après une préincubation de 20 min à 37° C, 75 µl de solution de pNPP 5 mM y sont ajoutés et après 10 min d'incubation à la même température, l'activité enzymatique est mesurée au spectrophotomètre UV-visible (GENESIS 5) à 410 nm contre un témoin contenant tous les réactifs à l'exception de l'extrait enzymatique. Cette activité est ensuite exprimée en pourcentage de l'activité sans ion ou autre produit chimique.

4 RESULTATS

4.1 Activités spécifiques phosphatasiques: Les activités spécifiques phosphatasiques des extraits bruts enzymatiques des rhizomes de *Z. officinale* et *C. domestica* sont indiquées dans le tableau 1. Elle est de 0,271 pour *Z. officinale* et de 0,681 UI/mg pour *C. domestica*.

3.2 Caractéristiques physico-chimiques des activités phosphatasiques: L'étude de l'influence du pH sur l'activité phosphatasique des extraits bruts enzymatiques des rhizomes des deux

zingibéracées a montré que les deux activités ont le même pH optimum d'hydrolyse qui est de 5,6 (Tableau 1). Quant à la zone de stabilité au pH, elle est comprise entre pH 4,6 et 6 pour l'extrait de *Z. officinale* et pH 5 et 6 pour celui de *C. domestica* (Tableau 1)

Concernant l'étude de l'influence de la température, elle a montré que la température optimale d'hydrolyse est de 55°C pour les deux extraits enzymatiques (Figure 1).

Tableau 1: Activités spécifiques phosphatasiques des extraits bruts enzymatiques des rhizomes de *Z. officinale* et *C. domestica* et influence du pH.

	Volume (µl)	Quantité de protéine (mg)	Activité spécifique (UI/mg de protéines)	pH optimum	Zones de stabilité de pH
<i>Z. officinale</i>	50	0,116	0,276	5,6	4,6 - 6,0
<i>C. domestica</i>	50	0,042	0,667	5,6	5,0 - 5,6

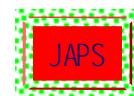
Préincubés à 37 °C pendant 180 min dans le tampon acétate 100 mM pH5,6, les extraits bruts enzymatiques des rhizomes des deux zingibéracées conservent la quasi-totalité de leurs activités phosphatasiques (Figures 2 et 3). Préincubés dans les mêmes conditions, mais à 55 °C, c'est-à-dire à leur température optimale d'activité phosphatasique, l'extrait des rhizomes de *Z. officinale* ne perd qu'environ 20 % de cette activité pendant que celui de *C. domestica* en perd seulement 8 % (Figures 2 et 3).

L'étude de la dénaturation thermique montre que ces activités phosphatasiques sont stables jusqu'à 55 °C. Au-delà de 55 °C, elles décroissent rapidement avec l'augmentation de température (Figure 4). L'étude de l'influence des

quelques ions métalliques et d'autres composés chimiques a donné les résultats indiqués dans le tableau 2.

Il ressort de l'analyse de ce tableau que tous les ions et autres produits chimiques testés n'ont pas d'effet significatif sur l'activité phosphatasique de l'extrait brut de *Z. officinale* pour les concentrations de 1 et 5 mM. Par contre, à l'exception du DTNB (Dithionitrobenzoate), tous les ions et autres produits chimiques testés ont un effet inhibiteur important sur l'activité phosphatasique de l'extrait brut de *C. domestica* pour la concentration de 5 mM.

L'étude de la spécificité de substrat a donné les résultats indiqués dans le tableau 3. L'observation de ce tableau permet de noter que l'ATP est le substrat



le plus hydrolysé par les phosphatasées acides contenues les extraits bruts des rhizomes des deux Zingibéracées. L'extrait brut des rhizomes de *C. domestica* a une activité hydrolytique deux fois élevée sur l'ATP que celui des rhizomes de *Z. officinale*. On note par ailleurs que, pendant que l'extrait des rhizomes *Z. officinale* hydrolyse l'ADP, celui de *C. domestica* ne l'hydrolyse pas. Le phénylphosphate et le

NADP sont bien hydrolysés par les deux extraits bruts enzymatiques. Les sucres phosphorylés comme le glucose-6-phosphate, le fructose-6-phosphate et le fructose-1-phosphate sont hydrolysés par les deux extraits bruts enzymatiques avec globalement une hydrolyse plus forte pour l'extrait de *Z. officinale*.

Tableau 2: Effet de quelques ions et autres produits chimiques sur les activités phosphatasiques des extraits bruts enzymatiques des rhizomes de *Z. officinale* et *C. domestica*. (L'activité phosphatasique en présence de l'ion ou autre produit chimique 1 ou 5 mM [moyenne de trois essais] est exprimée en pourcentage par rapport à un contrôle sans ion ou produit chimique).

Ion ou Produit chimique	<i>Activité Z. officinale (%)</i>			<i>Activité C. Domestica (%)</i>		
	0 mM	1 mM	5 mM	0 mM	1 mM	5 mM
K ⁺	100	99,03±1,02	98,65±0,37	100	99,04±0,63	72,62±0,28
Na ⁺	100	98,65±0,76	99,11±1,23	100	97,66±0,02	38,25±0,37
Ca ²⁺	100	100,96±0,31	101,11±0,33	100	99,15±0,32	38,25±0,11
Mg ²⁺	100	100,96±0,56	102,76±0,11	100	98,83±0,21	39,80±0,25
EDTA	100	100,38±0,98	101,03±0,22	100	99,80±0,13	38,44±0,74
SDS	100	99,42±1,32	98,53±0,93	100	97,66±0,09	36,31±0,13
pCMB	100	100,38±0,78	102,23±0,17	100	99,94±0,24	40,19±0,21
DTNB	100	101,23±1,15	101,15±1,02	100	101,24±0,17	102,40±1,02

Tableau 3: Spécificité de substrats des activités phosphatasiques des extraits bruts enzymatiques des rhizomes de *Z. officinale* et *C. domestica*.

Substrat	<i>Activité Z. officinale (%)</i>	<i>Activité C. domestica (%)</i>
pNPP	100	100
ADP	43,95	0
ATP	110,19	221,05
Phénylphosphate	96,18	80,92
Glucose-6-Phosphate	89,94	51,31
Fructose-1-Phosphate	83,06	21,71
Fructose-6-Phosphate	72,74	48,68
NADP	78,47	42,76

5 DISCUSSION

Cette étude a permis de mettre en évidence une activité phosphatasique acide dans chacun des extraits bruts enzymatiques des rhizomes des deux Zingibéracées *Z. officinale* et *C. domestica*. Les activités

spécifiques obtenues pour les rhizomes de *Z. officinale* et ceux de *C. atrauna* sont intéressantes d'autant plus qu'elles se situent dans la marge générale des activités spécifiques phosphatasiques de



la plupart des extraits bruts d'origine végétale. En effet, des auteurs ont indiqué des activités spécifiques phosphatasiques d'extrait brut de 0,15 UI/mg pour les nodules de racines de soja (*Glycine max*) (Penheiter *et al.*, 1997), de 0,22 UI/mg pour les graines du lupin jaune (*Lupinus luteus*) (Olczak *et al.*, 1997) de 0,29 UI/mg pour les fleurs et feuilles du millepertuis (*Hypericum perforatum*) (Demir *et al.*, 2004), de 0,57 UI/mg les tubercules de taro *Xanthosoma sp* (Kouadio *et al.*, 2006a), 0,62 UI/mg pour les plantules de graines en germination d'arachide (*Arachis hypogaea*) (Gonnety *et al.*, 2006b), de 0,791 pour des cultures en suspension de graines de soja (LeBansky *et al.*, 1992). L'importance de l'activité phosphatasique dans un organe végétal est liée au rôle que le phosphate inorganique produit par cette activité pourrait jouer dans le métabolisme de cet organe, ce qui justifierait les différences entre ces différentes activités suscitées. En ce qui concerne les rhizomes des deux zingibéracées, l'activité phosphatasique élevée chez *C. domestica* suggère que les phénomènes métaboliques impliquant le phosphate inorganique sont plus importants chez ce dernier par rapport à *Z. officinale*.

Concernant l'influence du pH, le pH optimum de 5,6 est identique ou très proche à ceux de beaucoup d'autres phosphatasases du règne végétal comme celui des nodules des racines du haricot commun (*Phaseolus vulgaris*) qui est de 5,6 (Tejera Garcia *et al.*, 2004), des graines non germées du blé noir (*Fagopyrum esculentum*) qui est de 5,25 (Greiner et Jany, 2002), des graines de blé tendre (*Triticum aestivum*) qui est de 5,5 (Shah *et al.*, 1998), des graines du pois (*Cicer arietinum*) qui est 5,5 (Khan *et al.*, 1998). Par ailleurs, les zones de stabilité au pH, comprises entre pH 4,6 et 6 pour l'activité phosphatasique de l'extrait brut des rhizomes de *Z. officinale* et pH 5 et 6 pour celle de *C. arvensis*, sont moins larges que celles de la phosphatase acide des jeunes plants d'ail comprise entre pH 4 et 10,0 (Yenigum et Guvenillir, 2003) et des phosphatasases acides des tubercules de taro *Xanthosoma sp* comprises entre pH 4 et 6,2 (Kouadio *et al.*, 2006a).

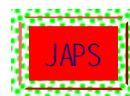
Par contre, ces zones de stabilité au pH sont légèrement plus larges que celles des phosphatasases acides des feuilles et des nodules du haricot *Phaseolus vulgaris*, comprises entre pH 5 et 5,8 (Tejera Garcia *et al.*, 2004). Les résultats concernant l'influence de la température indiquent que les phosphatasases acides responsables des activités phosphatasiques dans les extraits bruts des rhizomes de ces zingibéracées sont des enzymes mésophiles et thermostables. En effet,

les deux activités phosphatasiques ont des températures optimales de 55 °C. La plupart des phosphatasases acides d'origine végétale sont mésophiles avec des valeurs de température optimale comprise globalement entre 45 et 60 °C. Cependant, il est intéressant de signaler l'existence de phosphatasases acides psychrophiles comme celle des fleurs et feuilles du millepertuis (*Hypericum perforatum*) dont la température optimale est de 10 °C (Demir *et al.*, 2004). La stabilité thermique des phosphatasases acides des rhizomes de ces deux zingibéracées vient du fait que les extraits conservent la presque totalité de leurs activités phosphatasiques lorsqu'ils sont préincubés à 37 et 55 °C pendant 3 heures.

Cette relative stabilité thermique de ces activités phosphatasiques est un atout pour leur utilisation pratique, notamment dans l'hydrolyse des formes organiques du phosphore des sols en phosphate inorganique (Pi) en vue de rendre cet élément disponible pour les plantes comme l'a fait He *et al.* (2004) avec la phosphatase acide de blé et celle de pomme de terre.

Aucun des ions métalliques testés n'a d'effet significatif sur l'activité phosphatasique de l'extrait brut des rhizomes de *Z. officinale* de même que l'EDTA (Ethylènediaminetétracétate) qui est un chélateur de ces ions, ce qui pourrait suggérer que ces ions ne peuvent être des cofacteurs pour la phosphatase responsable de cette activité. Par conséquent, cette enzyme n'est probablement pas une phosphatase acide pourpre comme certaines phosphatasases acides d'origine végétale étudiées dans les cultures en suspension de soja (LeBansky *et al.*, 1992), la poudre sèche de tubercule de patate douce (Kusudo *et al.*, 2003), les plantules de l'arabette des dames (*Arabidopsis thaliana*) (Veljanovski *et al.*, 2006). S'agissant de l'activité phosphatasique des rhizomes de *C. domestica*, les fortes concentrations des ions étudiés ont toutes un effet inhibiteur. Ce résultat est contraire à ceux indiqués par plusieurs auteurs dans la littérature pour lesquels l'ion Mg²⁺ est activateur des phosphatasases acides (Shih *et al.*, 1997 ; Kouadio *et al.*, 2006a, Veljanovski *et al.*, 2006 ; Gonnety *et al.*, 2006a).

Par ailleurs, l'effet inhibiteur de l'EDTA indique qu'il existerait des ions indispensables à l'activité de la phosphatase des rhizomes de *C. domestica*, ce qui pourrait éventuellement faire penser à une métalloenzyme, donc une phosphatase acide pourpre. Mais une purification suivie d'études



complémentaires est nécessaire pour vérifier cette hypothèse. On note aussi que, bien que le DTNB reste sans effet sur les deux activités phosphatasiques, le PCMB (*para*-chloromercuribenzoate) inhibe significativement celle des rhizomes de *C. domestica*. Ce résultat suggère l'existence de groupements thiols essentiels à l'acte catalytique accessibles au PCMB dans la protéine enzymatique responsable de cette activité comme l'ont noté Kouadio *et al.* (2006a) pour les phosphatasases du tubercule de taro et Gonnetty *et al.* (2006a) pour celles des graines d'arachides en germination.

Concernant l'étude de la spécificité de substrat, les deux activités phosphatasiques hydrolysent remarquablement l'ATP, ce qui indique leurs rôles dans l'apport d'énergie au cours des phénomènes métaboliques qui ont lieu dans ces rhizomes. Ce résultat est en accord avec ceux de Tejera Garcia *et al.* (2004), Gonnetty *et al.* (2006b) et Kouadio *et al.* (2006a) respectivement sur les phosphatasases des nodules des racines de soja, les plantules de graines d'arachides et les phosphatasases du tubercule de taro. Par contre, l'activité phosphatasique des rhizomes de *C. domestica* n'a aucune action sur l'ADP. Ce résultat suggère que toute l'énergie nécessaire au métabolisme de ce rhizome est fournie par l'hydrolyse de l'ATP et l'ADP serait alors engagée dans des voies métaboliques de synthèse. Un résultat similaire a été rapporté par Greiner et Jany (2002) au cours de l'étude de la phosphatase des graines non germées du blé noir (*Fagopyrum esculentum*). En effet, cette phosphatase hydrolyse très faiblement l'ADP par rapport à l'ATP. Ces deux activités phosphatasiques hydrolysent également les sucres phosphorylés et d'autres substrats phosphorylés, indiquant ainsi qu'elles sont impliquées dans la production, le transport et le recyclage du phosphate inorganique

(Pi) qui constitue un élément essentiel pour la croissance des plantes.

Certains auteurs ont d'ailleurs indiqué que les phosphatasases sont très largement répandues dans les tissus végétaux pour pallier la déficience en Pi (Duff *et al.*, 1994 ; Vance *et al.*, 2003 ; Veljanovski *et al.*, 2006). Selon ces auteurs, cette déficience est un facteur limitant pour la croissance des plantes et, par conséquent du rendement agricole. Par ailleurs, concernant *Z. officinale* il est possible d'émettre l'hypothèse selon laquelle l'activité phosphatasique pourrait fournir les groupements phosphates nécessaires à la dégradation de l'amidon du rhizome par la voie phosphorylasique au cours de sa germination comme l'ont noté Diopoh et Kamenan (1981) pour les tubercules d'igname et Kouadio *et al.* (2006b) pour les tubercules de taro. En effet, des auteurs comme Natarajan *et al.* (1972) et Amani *et al.* (2004) ont indiqué que les rhizomes de *Z. officinale* ont une teneur en amidon comprise entre 40 et 50 %.

Les rhizomes de *Z. officinale* et *C. domestica* possèdent des activités phosphatasiques acides importantes. La caractérisation de ces activités a permis de montrer que les phosphatasases responsables de ces activités sont des enzymes mésophiles, mais surtout thermostables, ce qui pourrait constituer un atout pour leur utilisation pratique. Par ailleurs ces phosphatasases interviendraient dans l'apport d'énergie, la production, le transport et le recyclage du phosphate inorganique au cours des phénomènes métaboliques qui ont lieu chez ces zingibéracées.

En tout état de cause, les rhizomes de *Z. officinale* et *C. aurantiifolia* constituent de potentielles sources de phosphatasases acides thermostables. Une Purification de chacune de ces phosphatasases pourrait permettre la vérification des hypothèses émises dans cette étude.

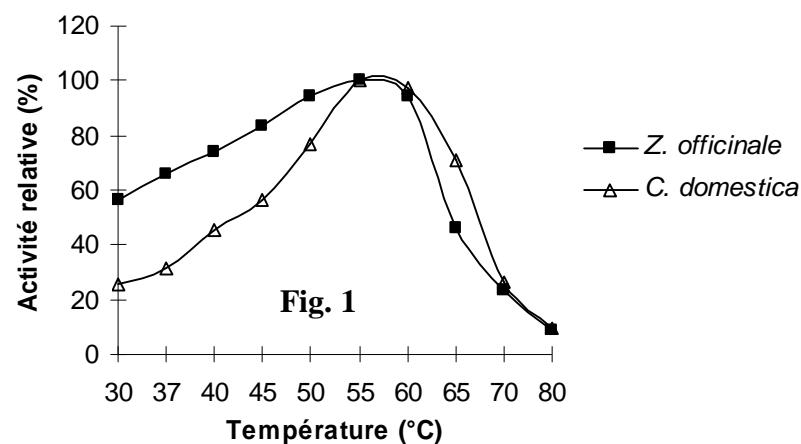


Fig. 1

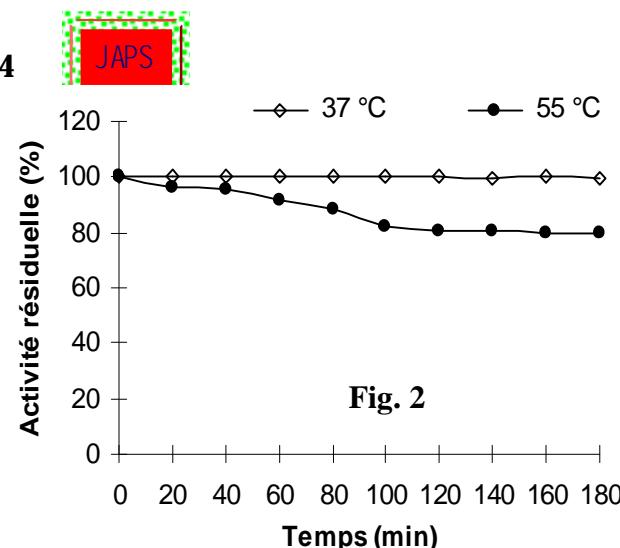


Fig. 2

Figure 1 : Température optimale d'hydrolyse des activités phosphatasiques des extraits bruts enzymatiques des rhizomes de *Z. officinale* et *C. domestica* ;
 Figure 2 : Inactivation thermique de l'activité phosphatasique de l'extrait brut enzymatique des rhizomes de *Z. officinale*

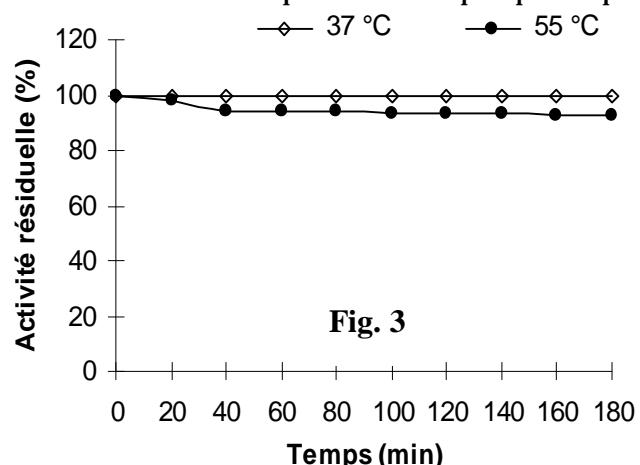


Fig. 3

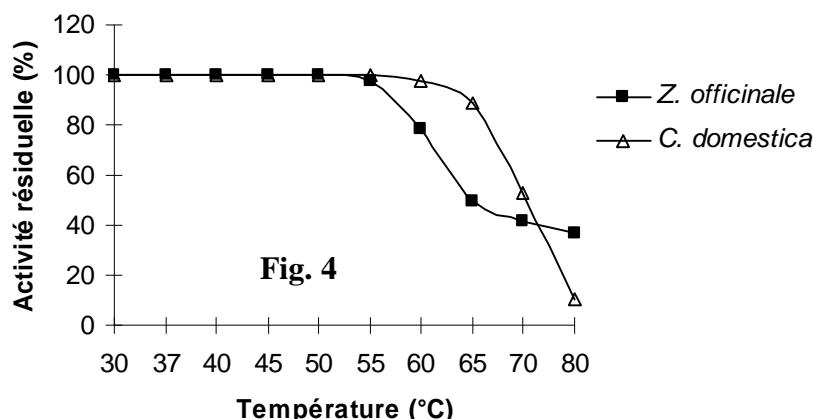
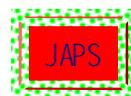


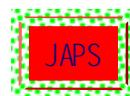
Fig. 4

Figure 3 : Inactivation thermique de l'activité phosphatasique de l'extrait brut enzymatique des rhizomes de *C. domestica* ;
 Figure 4 : Dénaturation thermique des activités phosphatasiques des extraits bruts enzymatiques des rhizomes de *Z. officinale* et *C. domestica*.



6 RÉFÉRENCES

- Ahmad-Raus RR., Abdul-Latif ES. & Mohammas JJ: 2001. Lowering of lipid composition in aorta of guinea pigs by *Curauma domestica* BMC Complementary and Alternative Medicine 1: 6.
- Amani N'G G, Tetchi FA. & Coulibaly A: 2004. Les propriétés physico-chimiques de l'amidon de gingembre (*Zingiber officinale roscoe*) de Côte d'Ivoire. Tropicultura 22: 77-83.
- Armienta-Aldana E. & Gonzalez de la Vara LE: 2004. Acid phosphatases from beet root (*Beta vulgaris*) plasma membranes. Physiol. Plant. 121: 223-230.
- Chen CC, Kuo MC. & Ho CT: 1986. High performance liquid chromatographic determination of pungent gingerol compounds of ginger (*Zingiber officinale roscoe*). J. Food Sci. 51: 1364-1365.
- Demir Y, Alayli A, Yildirim S. & Demir N: 2004. Purification and characterization of acid phosphatase from Hypericum (*Hypericum perforatum* L.). Int. J. Agri. Biol. 6: 1089-1092.
- Diopoh J. & Kamenan A: 1981. Distribution de l'amylase, de la phosphorylase et de la phosphatase acide dans quelques dioscoréacées de Côte d'Ivoire. Physiol. Vég. 129: 401-405.
- Duff SMG, Sarah G. & Plaxton WC: 1994. The role of acid phosphatase in plant phosphorus metabolism. Physiol. Plant 90: 791-800.
- Gellatly KS, Moorhead GBG, Duff SMG, Lefebvre DD. & Plaxton WC: 1994. Purification and characterization of a potato tuber acid phosphatase having significant phosphotyrosine phosphatase activity. Plant Physiol. 106: 223-232.
- Ghatak N. & Basu N: 1972. Sodium curcuminate as an effective anti-inflammatory agent. Indian J. Exp. Biol. 10: 235-236.
- Gonnet TJ, Niamké S, Faulet MB, Kouadio NEJP. & Kouamé LP: 2006a. Purification and characterization of two acid phosphatase from germinating peanut (*Aradis hypogaea*) seed. Iranian J. Biotechnol. 4: 26-35.
- Gonnet TJ, Niamké S, Faulet MB, Kouadio NEJP. & Kouamé LP: 2006b. Purification and characterization of three low-molecular-weight acid phosphatase from peanut (*Aradis hypogaea*) seedlings. Afr. J. Biotechnol. 5: 035-044.
- Greiner R. & Jany K-D: 2003. Purification and characterization of homogeneous acid phosphatase from nongerminated buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) seeds. J. Food Biochemistry 27: 197-220.
- Guo J. & Pesacreta JC: 1997. Purification and characterization of an acid phosphatase from bulb of *Allium cepa* L. J. Plant Physiol. 151: 520-527.
- He Z, Griffin TS. & Honeycutt CW: 2004. Enzymatic Hydrolysis of Organic Phosphorus in Swine Manure and soil. J. Environ. Qual. 33: 367-372.
- Hoehamer CF, Mazur CS. & Wolfe N: 2005. Purification and partial characterization of an acid phosphatase from *Spirodela oligorrhiza* and its affinity for selected organophosphate pesticides. J. Agric. Food Chem. 53: 90-97.
- Hollander VP: 1971. Acid phosphatase. In: Boyer P.D. (ed.) *The enzymes* Vol. 4. New York: Academic Press. pp: 449-498.
- Jiang X, Williams KM, Liauw WS, Ammit AJ, Roufogalis BD, Duke CC, Day RO. & McLachlan A J: 2005. Effect of ginkgo and ginger on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of warfarin in healthy subjects. Br. J. Clin. Pharmacol. 59: 425-432.
- Khan R, Tariq M, Khan A, Shah NA. & Mabood SF: 1998. Isolation and characterization of acid phosphatase from Chickpea Seeds (*Cicer arietinum*). Pak. J. Bio. Sci. 1: 386-388.
- Konan KH, Ahi AP, Kouadio NEJP, Gonnet TJ. & Kouame LP: 2008. Characterisation of purple acid phosphatase from breadfruit (*Artocarpus communis*) seeds. Journal of Applied Biosciences 10: 449 - 460.
- Kouadio EJP, Niamké S, Kouamé LP, Dabonné S. & Kamenan A: 2006a. Purification et caractérisation de deux phosphatasées acides du tubercule de taro *Xanthosoma sp* et leur rôle dans la conservation post-récolte. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 10: 83-91.
- Kouadio EJP, Niamké S, Kouamé LP, Kamenan A. & Diopoh J: 2006b. Dégradation enzymatique du tubercule de taro *Xanthosoma sp* au cours de sa conservation post-récolte. Sciences & Nature 3: 103-112.
- Kusudo T, Sakaki T. & Inouye K: 2003. Purification and characterization of purple acid phosphatase PAP1 from dry powder of



- sweet potato. Biosci. Biotechnol. Biochem. 67: 1609-1611.
- Lebansky BR, McKnight TD. & Griffing LR: 1992. Purification and characterization of Secreted Purple acid phosphatase from Soybean Suspension cultures. Plant Physiol. 99: 391-395.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL. & Randall RJ: 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.
- Natarajan CP, Padman Bai R, Krishnamurthy MN, Raghavan B, Shankaracharya NB Kuppuswamy S, Govidarajan VS. & LEWIS YS: 1972. Chemical composition of ginger varieties and dehydration studies on ginger. J. Food Sci. Technol. 9: 120-124.
- Olczak M, Watorek W. & Morawieka B: 1997. Purification and characterization of acid phosphatase from yellow lupin (*L. luteus*) seeds. Biochim. Biophys. Acta 1341: 14-21.
- Oti E, Okwuowulu PA Ohiri VU. & Chijicke GO: 1988. Biochemical changes in ginger (*Zingiber officinale rosae*) rhizomes stored under river sand and under dry grass in pits in humid tropics. Trop. Sci. 28: 87-94.
- Panara F, Pasqualini S. & Antonielli M: 1990. Multiple forms of barley root acid phosphatase. Purification and some characteristics of the major cytoplasmic isoenzyme. Biochim. Biophys. Acta 1037: 73-80.
- Penheiter AR, Duff SMG. & Sarah G: 1997. Soybean Root Nodule Acid phosphatase. Plant Physiol. 114: 597-6004.
- Pradeep KU, Georvani P. & Eggum BO: 1993. Common indian spices nutrient composition, consumption and contribution to dietary. Plant foods for human nutrition 44: 137-14.
- Shah NA, Khan R, Tariq M. & Mabood SF: 1998. Isolation and characterization of acid phosphatase from wheat (Pirsabak-85) Grains (*Triticum aestivum*). Pak. J. Bio. Sci. 1: 366-367.
- Shih SJ, Lin LF, Su JY, Soong YK. & Rong LP: 1997. Purification and characterization of thylakoid Membrane-Bound inorganic pyrophosphatase from *Spinacia oleracea*. Arch. Biochem. Biophys. 346: 102-112.
- STaswick PE, Papa C, Huang J. & Rhee Y: 1994. Purification of the major soybean leaf acid phosphatase that is increased by seed-pod removal. Plant. Physiol. 104: 49-57.
- Taussky HH. & Shorr E: 1953. A microcolometric method for determination of inorganic phosphorus. J. Biol. Chem. 202: 675-685.
- Tejera Garcia NA, Olivera M, Iribarne C. & Lluch C: 2004. Partial purification and characterization of non-specific acid phosphatase in leaves and root nodules of *Phaseolus vulgaris*. Plant Physiol. Biochem. 42: 585-561.
- Tetchi FA, Rolland-Sabaté A, Amani NG. & Colonna P: 2007. Molecular and physicochemical characterization of starches from yam, cocoyam, cassava, sweet potato and ginger produced in the Ivory Coast. J. Sci. Food Agric. 87: 1906-1916.
- Ullah AHJ. & Gibson D.M: 1988. Purification and characterization of acid phosphatase from cotyledons of germinating soybean seeds. Arch. Biochem. Biophys. 260: 514-520.
- Vance CP, Udhe-Stone C. & Allan DL: 2003. Phosphorus acquisition and its use: critical adaptations by plants for securing a non-renewable resource. New phytol. 157: 423-427.
- Veljanovski V, Vanderbeld B, Knowles VL, Snedden WA. & Plaxton WC: 2006. Biochemical and Molecular Characterization of AtPAP26, a Vacuolar Purple Acid Phosphatase Up-Regulated in phosphate-Deprived *Arabidopsis* suspension cells and seedling. Plant Physiol. 142: 1282-1293.
- Vincent JB, Crowder MW. & Averill BA: 1992. Hydrolysis of phosphate monoester: a biological problem with multiple chemical solutions. Trends Biochem. Sci. 17: 105-110.
- Yenigum B. & Guvenillir Y: 2003. Partial purification and kinetic characterization of acid phosphatase of garlic seedling. Appl. Biochem. Biotechnol. 105: 677-687.
- Zhang W, Gruszewski HA, Chevone BI. & Nessler CL: 2008. An *Arabidopsis* Purple Acid Phosphatase with Phytase Activity Increases Foliar Ascorbate. Plant Physiol. 146: 431-440.