

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA
BADJI MOKHTAR – ANNABA UNIVERSITY



جامعة باجي مختار – عنابة

Faculté : TECHNOLOGIE

Département : GENIE DES PROCEDES

Domaine : SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Filière : GENIE DES PROCEDES

Spécialité : GENIE DES PROCEDES DE L'ENVIRONNEMENT

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Thème:

**VALORISATION DES EXTRAITS AQUEUX DU CAMELLIA
SINENSIS ET LEURS ACTIVITES ANTIOXYDANTE**

Présenté par : *Ziti Chaima*

Temmam Amani

Encadrant : *Dr. Kadri Hadjer*

MAB

Université Badji Mokhtar-Annaba

Jury de Soutenance :

Dr. LARABA	MCB	Université Badji Mokhtar - Annaba	Président
Dr. KADRI	MAB	Université Badji Mokhtar - Annaba	Encadrant
Dr. GUILANE	MAB	Université Badji Mokhtar - Annaba	Examineur

Année Universitaire : 2023/2024

Remercîments

Surtout, nous remercions Dieu Tout-Puissant de nous avoir donné Santé, force, courage et patience pendant notre long parcours éducatif.

Un grand Merci .. a notre promotrice *Dr. KADRI Hadjer* en nous proposant ce thème, pour nous avoir guidé et pour ses judicieux conseils.

On aimerai également remercier les membres du jury *Dr. LARABA et Dr. GUILANE* d'avoir pris le temps d'examiner et d'évaluer ce travail.

Nos remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Merci à tous



DEDICACES

Louange, amour, remerciement et gratitude, le début et la fin. Après 5 ans de fatigue et d'expériences de rêves et de connaissances, il portait en lui les vœux des nuits. Et me voilà sur le point d'obtenir mon diplôme et je lève mon chapeau avec fierté. C'est avec une joie immense et le cœur ému que je dédie ce mémoire à ma chère famille pour leurs affections inépuisables et leurs précieux conseils ils n'ont cessé de prier pour moi durant mon cursus scolaire et m'ont encouragé régulièrement.

A mon père (ALLAWA)

Avec tout mon amour, je dédie le fruit de ma réussite et de mon témoignage. À celui qui a orné mon nom des plus beaux titres, à celui qui m'a soutenu sans limites et m'a donné gratuitement, à celui qui m'a appris que le monde est un combat et que son arme est le savoir et le savoir, et mon premier soutien sur mon chemin, ma force et mon refuge après Dieu, ma gloire et ma fierté. De tous les parents, vous êtes le meilleur et aucune dévotion ne peut exprimer ma profonde gratitude et mon amour.

A ma mère (HAYAT)

Et à la reine de mon cœur et de mon âme qui m'a donné naissance et qui m'a accompagné à chaque étape de ma vie. Puisse Dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et Bonheur.

A mes cher frères et sœurs

Et aux frères les plus beaux et les plus compatissants (*Athman Hindo Marwa Maryam Nasser Sabah*) et aussi les enfants de mes sœurs et frère (*Amir Yousef Amine Mayer*), tous la famille qui ont toujours été à mes côtés et m'ont soutenu tout au long de mon parcours éducatif et mon chère amie *Amani* qui a partagé avec moi l'honneur de la réalisation Ce travail.

Et à tous mes chers proches qui m'ont toujours soutenu
Je vous dédie à tous cet humble travail et le fruit de mes efforts. Que Dieu vous bénisse.

Mlle, Ziti Chaima

DEDICACES

Je dédie ce travail

A Mon très *cher père Rabah*, qui me nourrit

Toujours de ses sages conseils

A mon support dans ma vie, m'a appris m'a supporté et

Ma dirigé vers la gloire.

A celle qui m'a donnée la vie, qui m'a arrosé de tendresse et

D'espoirs, à la source d'amour,

A ma tendre *mère Rachida*,

A mes chères frères *Amir* et *Yahya*.

A ma sœur *Loubna*.

A mon bras droit, mon fiancé *Tayeb* la source de joie et de bonheur.

A mon chère amie *Chaima* qui a partagé avec moi l'honneur de la réalisation

Ce travail.

A mes meilleures amies lesquels j'ai partagé mes moments de

Joie et de bonheur, *Ranya, Aya et Jouhaina*

Toute la *famille Temmam*.

Mlle, Temmam Amani

Résumé :

Les feuilles du *Camellia sinensis* qui est une plante largement utilisée pour produire des feuilles de thé, ont été analysées par le screening phytochimique, et l'activité antioxydante des extraits aqueux des deux genre thé vert et le thé noir a été évalué par la méthode *in vitro* du test DPPH exprimée par Equivalent Vitamine C (EVC), ainsi que les polyphénols totaux et les flavonoïdes totaux ont été mesurés.

Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux mesurées sont de 762.60 EAG/100 g MS, 1194 EC/100 g MS et de 870.1 EAG/100 g MS 855.7 EC/100g MS pour le thé vert et le thé noir, respectivement. L'activité antioxydante est de 2097.5 mg EVC/100 g MS et de 2055 mg EVC/100g MS, ces résultats sont en bonne corrélation avec les teneurs en flavonoïdes. En conclusion, on constate que le *Camellia sinensis* possède un pouvoir anti radicalaire puissant pour les deux genres de thé étudiés, ce qui augmente la valeur de la plante.

Mot clé : *Camellia sinensis*, polyphénols, DPPH.

Abstract:

The leaves of *Camellia sinensis*, a plant widely used as a stimulating beverage (tea), were analyzed by phytochemical screening, and the antioxidant activity of aqueous extracts of both green tea and black tea was carried out by the *in vitro* DPPH assay expressed by Vitamin C Equivalent (VCE), as well as total polyphenols and total flavonoids were measured.

The total phenolic contents and total flavonoids contents measured were 762.60 EAG/100 g DM, 1194 EC/100 g DM and 870.1 EAG/100 g DM 855.7 EC/100g DM for green tea and black tea respectively. Antioxidant activity was 2097.5 mg EVC/100 g DM and 2055 mg EVC/100 g DM, these results are in good correlation with the flavonoids contents. In conclusion, we can say that *Camellia sinensis* has powerful antioxidant properties for both studied types green and black tea, which increases the value of the plant.

Key words: *Camellia sinensis* , phenolic contents, DPPH.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Les deux genre étudiés du <i>Camellia sinensis</i>	4
Figure 2 : Les deux espèces principales d'arbre du <i>Camellia sinensis</i>	4
Figure 3 : Les fleurs du <i>Camellia Sinensis</i>	6
Figure 4 : Traitement et séchage des feuilles du thé.....	7
Figure 5 : Les différentes classes de polyphénols.....	11
Figure 6 : Structures des acides hydroxybenzoïques	12
Figure 7 : Structures des acides hydroxycinnamiques	12
Figure 8 : Structure de base des catéchines.....	13
Figure 9 : Structure générale des flavonols.....	14
Figure 10 : Structure de la caféine.....	15
Figure 11 : Test de tanins.....	33
Figure 12 : Test de flavonoids.....	34
Figure 13 : Test d’anthocyanes.....	34
Figure 14 : Test des stérols et terpènes.....	34
Figure 15 : Test de saponines.....	35
Figure 16 : Test de cardinolides.....	35
Figure 17 : Courbe d’étalonnage des polyphénols totaux	36
Figure 18 : Courbe d’étalonnage des flavonoïdes totaux.....	37
Figure 19 : Dosage des polyphénols totaux	37
Figure 20 : Histogramme de la teneur en polyphénols exprimée en mg EGA/100g MS..	38
Figure 21 : Dosage des flavonoïdes totaux.....	39
Figure 22 : Histogramme de la teneur en flavonoïdes exprimée en mg EC/100g MS.....	39
Figure 23 : Courbe de la vitamine C en utilisant le test DPPH.....	40
Figure 24 : Test de l’activité antioxydante DPPH.....	41
Figure 25 : Histogramme de la capacité antioxydante exprimée en mg EVC/100g MS déterminée par le test DPPH.....	41

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Classification du <i>Camellia sinensis</i>	5
Tableau 2 : Description botanique du <i>Camellia sinensis</i>	6
Tableau 3 : Différences et comparaisons entre le thé vert et noir.....	8
Tableau 4 : Les différents composés chimiques du thé vert.....	9
Tableau 5 : Principales catéchines du thé et leurs substitutions relatives.....	13
Tableau 6 : Les flavonoïdes dominants du thé	14
Tableau 7 : Composition de la feuille de thé en vitamines du groupe B.....	16
Tableau 8 : Résultats des tests phytochimiques d'extrait aqueux de <i>Camellia sinensis</i>	35
Tableau 9 : Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux	39

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	I
DIDICACES.....	II
RÉSUMÉ.....	IV
ABSTRACT.....	V
LISTE DES FIGURES.....	VI
LISTE DES TABLEAUX	VII
TABLE DES MATIERES	VIII
INTRODUCTION GENERALE	1

Partie I

Chapitre 1 : Généralités sur le *Camellia sinensis*

1. Historique	3
2. Définition du <i>Camellia sinensis</i>	3
3. Caractéristiques du <i>Camellia sinensis</i>	5
3.1. Description botanique	5
3.2. Condition pour la culture du <i>Camellia sinensis</i>	6
3.3. Fabrication du <i>Camellia sinensis</i> (thé noir)	7
3.4. Différences et comparaisons (thé vert vs thé noir).	8
4. Les métabolites secondaires du <i>Camellia sinensis</i> (thé vert)	9
4.1. Les polyphénols	10
4.1.1. Les différentes classes de polyphénols	10
4.1.2. Acides phénoliques.....	11
4.1.3. Les flavonoïdes	13
4.1.4. Les tannins.....	14
4.2. Les alcaloïdes.....	15
4.3. Les vitamines.....	15
4.4. Acides aminés.....	16
4.5. L'huile essentielle.....	16
5. Usage thérapeutique du <i>Camellia sinensis</i>	17

Chapitre 2 : L'activité antioxydante

1. Définition des antioxydants.....	18
2. Origines des antioxydants.....	18
3. Les type des antioxydants.....	18
3.1. La composition chimique dans les aliments.....	19
3.2. Le mécanisme d'action.....	19
4. Activité des antioxydants.....	20
4.1. Méthode de détermination de l'activité antioxydante.....	20
4.1.1. Le test d'ABTS.....	20
4.1.2. Le test DPPH.....	20
4.1.3. Le test TPTZ.....	21
4.1.4. Le test FRAP.....	21
4.1.5. Le test ORAC.....	21
5. Activité antioxydant des végétaux.....	21
6. Pouvoir antioxydant de <i>Camilla sinensis</i>	22

Partie II :

Partie expérimentale

Chapitre 3 : matériel et méthodes

1. Objectif.....	24
2. Screening Phytochimique	24
2.1. Test des flavonoids.....	24
2.2. Test des tanins.....	25
2.3. Test des cardinolides.....	25
2.4. Test de mousse pour les saponines.....	26
2.5. Test d'anthocyanes.....	27
2.6. Test des stérols et terpènes.....	28
2.7. Test d'alcaloïdes	28
3. Dosage des composés phénoliques.....	29
3.1. Préparation des extraits.....	29
3.2. Dosage des polyphénols totaux.....	30
3.3. Dosage des flavonoïdes totaux.....	31

4. Étude de l'activité antioxydante des extraits.....	31
4.1. Évaluation de l'activité antioxydante des extraits.....	31
4.2. Méthode utilisé test DPPH.....	32

Chapitre 4 : Résultats et discussion

1. Le screening phytochimique	33
2. Dosage des composés phénoliques.....	37
2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	38
2.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	39
3. Etude de l'activité antioxydante (DPPH).....	41
Conclusion.....	42
Références bibliographique.....	43

Introduction :

Introduction :

Le thé se classe comme la deuxième boisson la plus consommée après l'eau à l'échelle mondiale. Peu calorique, il se décline en différentes couleurs, chacune correspondant à un type de thé spécifique. Des études suggèrent que la plante possède une activité antioxydante supérieure aux autres variétés [1].

Principalement populaire en Chine et au Japon pour ses propriétés thérapeutiques, le *Camellia sinensis* gagne en popularité en Occident, les buveurs traditionnels de thé noir ont souvent recours à l'infusion de feuilles de thé, qui est également utilisée comme base pour le thé à la menthe. Pendant le processus de fermentation, le thé noir acquiert des huiles essentielles qui confèrent son arôme distinctif. La différence entre les deux réside dans leurs polyphénols : le thé vert est riche en catéchines tandis que le thé noir contient principalement des théaflavines et des théarubigines [2].

Au-delà, cette plante suscite un intérêt croissant en raison de sa richesse en composés phytochimiques, notamment les polyphénols, qui confèrent à cette boisson des propriétés antioxydantes.

Les polyphénols, caractérisés par la présence de cycles benzéniques et de fonctions hydroxyles, sont omniprésents dans le règne végétal. Ils jouent un rôle crucial dans la physiologie des plantes et leurs interactions avec l'environnement [3]. Le *Camellia sinensis* regorge de métabolites secondaires, il est particulièrement riche en divers composés tels que les tanins, les catéchines, l'acide gallique, les saponines, les huiles essentielles, les acides aminés (comme la L-théanine), ainsi que des caroténoïdes, de la vitamine C et des minéraux (Tanins, les Catéchines et acide gallique). Des recherches antérieures ont exploré l'activité photochimique et antioxydante du thé vert, souvent par le biais d'expérimentations comparatives.

Notre travail consiste à valoriser phytochimiquement les extraits aqueux du *Camellia sinensis* et étudier leurs activités antioxydantes. Une étude phytochimique des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux présent dans les extraits des deux genres du *Camellia sinensis* (le thé vert et noir), ainsi qu'une évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante par la méthode DPPH.

Cette étude englobe deux parties : La première partie consacrée à une synthèse bibliographique qui traite une description générale sur *Camellia sinensis* (le thé vert et noir), ces métabolites secondaires, et l'activité antioxydante. La deuxième partie illustre les méthodes utilisées ainsi que les résultats obtenus avec une conclusion générale.

Partie I :

Partie bibliographique

Chapitre 1 :

Chapitre 1 : Généralités sur le *Camellia sinensis*

1- Historique :

Le *Camellia sinensis* a une longue histoire qui remonte à plus de 4000 ans en Chine. Il est considéré comme l'un des types de thé les plus anciens et les plus appréciés. Selon une légende, l'empereur ShenNong, aurait été le premier à découvrir ce nectar.

Le théier (*Camellia sinensis*) est originaire d'Asie, comme de nombreuses autres plantes, par le premier empereur chinois Qin (220-210 avant J.C), fasciné par les élixirs de vie éternelle. Cependant, les premiers documents attestant de l'utilisation du thé sous forme de potions médicinales, de boissons ou d'aliments ne remontent qu'au IV^{ème} siècle avant notre ère. Sous la dynastie Tang (618-904 après J.C.), les Chinois commencèrent à boire suffisamment de thé pour assurer la célébrité d'un ouvrage lui étant consacré le "ChaChing" ou "Livre du thé" écrit par Lu Yu, philosophe. C'est lui qui a, en quelque sorte, instauré le culte du thé, décrivant comment le cultiver, le produire et l'apprécier. C'est sous la dynastie Song (960-1280) que les raffinements de la culture du thé s'épanouirent à la fois en Chine et au Japon. La vogue était alors au thé en poudre et à la porcelaine délicate, et les premières maisons de thé firent leur apparition [4]. Aujourd'hui, le thé est apprécié dans le monde entier pour sa saveur délicate, ses propriétés antioxydantes et ses nombreux bienfaits pour la santé [5].

2- Définition du *Camellia sinensis* :

Le thé vert (*Camellia sinensis*) est une boisson obtenue par trempage des feuilles non fermentées de *Camellia sinensis*, un arbuste originaire d'Asie. Le thé est considéré comme la deuxième boisson la plus consommée au monde après l'eau. Il se caractérise par des calories très faibles, prend toutes les couleurs et chaque couleur correspond à un type de thé très spécifique. Le thé vert contient également une plus grande activité antioxydante que les autres types de thé. Le thé contient plus de 4000 produits chimiques dont certains sont bioactifs.

Ce type de thé est très populaire en Chine, où on lui attribue des propriétés thérapeutiques plus efficaces, il devient de plus en plus populaire en Occident. Aussi il existe le thé noir [6].

Le thé noir, appelé thé rouge en Chine, provient de la plante *Camellia sinensis*, le théier commun. Pour le fabriquer, les feuilles subissent un traitement particulier qui mène à leur oxydation. Son goût est plus doux et moins amer que celui des thés verts (ceux majoritairement consommés en Asie). Par ailleurs, il peut être conservé pendant plusieurs années. Ainsi, son transport et sa commercialisation sont facilités. Il est produit dans de nombreuses régions d'Asie, en Chine, en Inde, au Japon, au Sri Lanka, à Taiwan, mais aussi en Afrique. Après la récolte, les feuilles sont traitées de manière à produire l'oxydation nécessaire à son obtention selon plusieurs étapes [7].



Thé vert

Thé noir

Figure 1 : Les deux genres étudiés du *Camellia sinensis*

Il existe 2 espèces principales d'arbre de thé, *Camellia sinensis* var. *sinensis* et *Camellia sinensis* var. *assamica* (figure 2).



A: *Camellia sinensis* var. *sinensis*

B: *Camellia sinensis* var. *assamica*

Figure 2 : Les deux espèces principales d'arbre du *Camellia sinensis* [5]

A. *Camellia sinensis* var. *sinensis* (Théier de Chine) :

Théier de Chine, résistant au froid et délicatement feuillu, cultivé dans des régions au climat modéré, offrant un goût doux et subtil, riche en nutriments [5].

B. *Camellia sinensis* var. *assamica* (Théier d'Assam) :

Camellia sinensis var. *assamica*, originaire d'Assam, Inde, est un théier imposant, adapté aux basses altitudes, à croissance rapide, offrant un goût plus amer et moins de composants chimiques nutritifs et médicinaux [8].

Tableau 1 : Classification du *Camellia sinensis* [9]

Règne	<i>Plantae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Dicotylédones ou Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Theales</i>
Famille	<i>Theaceae</i>
Genre	<i>Camellia</i>
Espèce	<i>Camellia sinensis</i>

3- Caractéristiques du *Camellia sinensis* :

Camellia sinensis, frais et légèrement amer, varie en couleur de jaune pâle à vert clair lors de l'infusion, offrant des arômes végétaux, floraux ou fruités. Il est riche en antioxydants, comme les catéchines, bénéfiques pour la santé cardiovasculaire et la prévention du cancer, et contient moins de caféine que le thé noir. Ses bienfaits incluent la promotion de la perte de poids et l'amélioration de la fonction cognitive [10].

3-1- Description botanique :

La plante étudiée est décrite comme mentionné au tableau 2 et la figure 3 :

Tableau 2 : Description botanique du *Camellia sinensis* [11]

Nom scientifique	<i>Camellia sinensis</i>
Famille	Théacées
Origine	Extrême-Orient (Chine, Inde)
Type de plante	Arbuste à feuilles persistantes
Taille	Peut atteindre 30 m de haut en nature, mais généralement maintenu à environ 1,5 en culture.
Feuilles	Ovales, vert clair à vert foncé, brillantes et coriaces
Fleurs	Blanches, odorantes, regroupées en grappes
Fruit	Capsules globuleuses, 3graines rondes et brunes à 4 à 15 mm de diamètre



Figure 3 : Les fleurs du *Camellia Sinensis* [12]

3-2- Condition pour la culture du *Camellia sinensis* :

La plante *Camellia sinensis* a besoin de conditions climatiques et de sols spécifiques pour croître [13], ou le théier prospère dans des climats chauds et humides, avec des précipitations abondantes et une température optimale de 18 à 24 degrés Celsius. Sensible au gel et à la sécheresse, il nécessite des conditions météorologiques spécifiques pour sa croissance optimale.

Le théier prospère dans un sol limoneux, bien drainé et avec un pH entre 5,5 et 6,5, tout en bénéficiant d'une richesse en matière organique.

Aussi a besoin de beaucoup de lumière du soleil pour prospérer au moins six heures de lumière directe du soleil par jour, besoin d'un arrosage régulier, surtout pendant la saison de croissance. Le sol doit être maintenu humide mais pas détrempé.

L'engrais, la découpe et l'exploitation des champs sont aussi importants [13], les plants de thé doivent être fertilisés régulièrement avec un engrais équilibré, taillés régulièrement pour maintenir une forme et une taille compactes.

Pour la récolte : les feuilles de thé sont récoltées tout au long de la saison, privilégiant le début du printemps et l'automne pour obtenir une meilleure qualité.

Et enfin l'étape de traitement du thé, une étape essentielle pour préserver sa qualité. Il comprend le fanage pour réduire l'humidité, l'oxydation pour développer la saveur, le séchage pour éliminer l'excès d'eau, le tri selon la taille et la qualité, et enfin l'emballage pour la vente (figure 4) [14].



Figure 4 : Traitement et séchage des feuilles du thé

3-3- Fabrication du *Camellia sinensis* (thé noir) :

La fabrication du thé noir, également connu sous le nom de "thé rouge" en Chine, est un processus complexe qui comprend plusieurs étapes essentielles. Tout d'abord, les feuilles jeunes et saines sont récoltées, souvent à la main, en sélectionnant soit uniquement les deux premières feuilles et le bourgeon terminal (fine cueillette), soit la tige et les trois premières feuilles (cueillette entière). Ensuite, les feuilles sont étalées sur des claies dans une pièce ventilée pour le flétrissage, un processus qui dure de 18 à 32 heures à une température de 20 à 24°C. Ce flétrissage permet d'assouplir les feuilles et d'activer les enzymes nécessaires à l'oxydation. L'étape suivante est l'oxydation, où les feuilles sont étalées dans un environnement humide avec une humidité de 90 à 95% et une température d'environ 22°C pendant 1 à 3 heures. Pendant cette période, les enzymes transforment les composés des feuilles, développant ainsi la couleur et les arômes caractéristiques du thé noir. Une fois l'oxydation terminée, les feuilles sont séchées dans un four à 90°C pendant 10 à 15 minutes pour arrêter le processus d'oxydation et stabiliser le thé. Enfin, les feuilles sont triées selon leur taille et leur forme, puis emballées dans des contenants hermétiques pour préserver leur fraîcheur et leurs arômes [15].

3-4- Différences et comparaisons (thé vert vs thé noir) :

Tableau 3 : Différences et comparaisons entre le thé vert et noir [16]

	Thé vert	Thé noir
Origine	Proviennent de la même plante, le <i>Camellia sinensis</i> . La différence réside dans le traitement des feuilles après la cueillette.	Proviennent de la même plante, le <i>Camellia sinensis</i> . La différence réside dans le traitement des feuilles après la cueillette.
Oxydation	Les feuilles sont séchées rapidement pour empêcher l'oxydation, ce qui préserve leur couleur verte et leurs arômes délicats	Les feuilles subissent une oxydation contrôlée, ce qui les brunit et développe des saveurs plus intenses et robustes
Goût	Goût frais, végétal, légèrement amer et parfois avec des notes marines ou florales.	Goût plus corsé, riche et aromatique, avec des notes boisées, épicées ou maltées

Caféine	Contient généralement moins de caféine que le thé noir (environ 30 mg par tasse).	Contient plus de caféine que le thé vert (environ 45 mg par tasse).
Antioxydants	Riche en catéchines, des antioxydants puissants aux nombreux bienfaits pour la santé	Contient des théaflavines, un autre type d'antioxydant aux propriétés bénéfiques.
Bénéfices pour la santé	Aide à la perte de poids, à la réduction du cholestérol et à la prévention du cancer.	Améliore la vigilance, la concentration et la digestion

Le thé vert et le thé noir sont deux boissons saines et délicieuses aux propriétés distinctes. Le choix entre les deux dépend des préférences gustatives et des besoins en matière de caféine et d'antioxydants des consommateurs.

4- Les métabolites secondaires du *Camellia sinensis* (thé vert) :

Le thé vert contient de nombreux métabolites secondaires, Actuellement, de nombreuses recherches scientifiques montrent que le thé est une source d'antioxydants qui renforcent les défenses naturelles. Parmi eux comprend les phénols (tanins, composés amers, dont les catéchines), de saponine, des huiles essentielles, des acides aminés (L-theanine), des vitamines, des minéraux, des oligoéléments et des alcaloïdes (dont la caféine). Ces composés sont responsables des bienfaits pour la santé associée à la consommation de thé vert [17].

Tableau 4 : Les différents composés chimiques du thé vert [18 - 20]

Composés chimiques :	% de masse sèche :
Polyphénols (simples)	25-35 %
Cellulose, Lignine, Amidon etc.	20-30 %
Protéine	10-20 %
Lipides	3-9 %
Minéraux	4-8 %

Polysaccharides	4-7 %
Acides Aminés	3-4 %
Caféine	2-4 %
Chlorophylle et Caroténoïdes	2-3 %
Composés volatiles	Traces

4-1- Les polyphénols :

Les polyphénols, abondants dans le thé vert, offrent un goût amer et possèdent de puissantes propriétés antioxydantes, aidant à protéger contre diverses maladies chroniques telles que le cancer, les maladies cardiaques et le diabète. Identifiés comme plus de 8000 composés, les polyphénols sont des métabolites secondaires des plantes, caractérisés par leur hétérogénéité et leur cycle phénolique commun. Leurs propriétés incluent celles d'additifs alimentaires naturels, d'antioxydants, de pièges à métaux, ainsi que de protecteurs contre l'inflammation, le cancer, les maladies cardiovasculaires et neuro dégénératives [21].

4-1-1- Les différentes classes de polyphénols :

Les composés phénoliques sont des substances caractérisées par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes, généralement de hauts poids moléculaires, constituées d'un groupement phényle (C6) et d'un hydroxyle (-OH) (figure 8). Il en existe environ 4500. Selon le nombre d'unité phénolique présente, on les classe en composés phénoliques simples et en polyphénols [22].

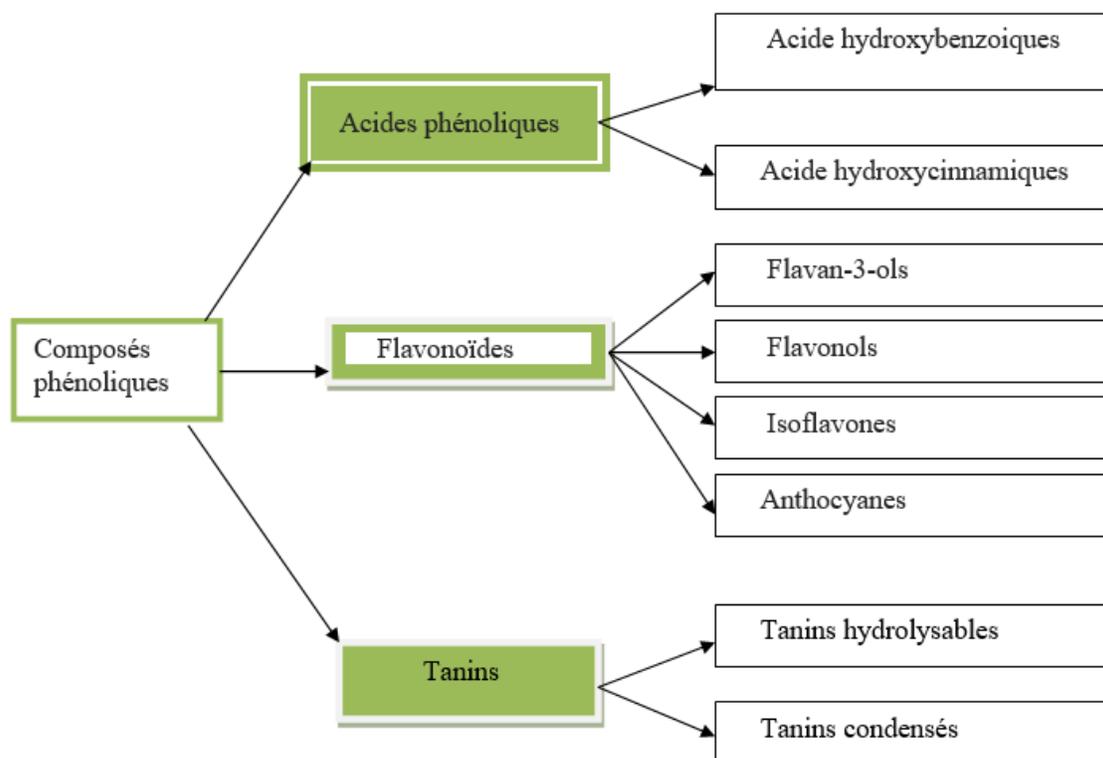


Figure 5 : Les différentes classes de polyphénols [23]

4-1-2 - Acides phénoliques :

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Les acides phénoliques font partie des formes les plus simples des composés phénoliques et se séparent en deux grands groupes distincts qui sont les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques [24].

- Acides hydroxybenzoïques :

Les dérivés de l'acide benzoïque, incluent l'acide salicylique, l'acide gallique et l'acide protocatéchique, avec une formule de base en (C₆-C₁). Principalement présents chez les gymnospermes et les angiospermes, ils sont souvent libérés après hydrolyse alcaline des matières végétales. Ces acides se retrouvent fréquemment sous forme d'esters ou de glycosides, tels que le p-hydroxybenzoïque, le protocatéchique, le vanillique et la gallsyrine. Ils possèdent des propriétés antioxydantes et peuvent être bénéfiques pour la santé.

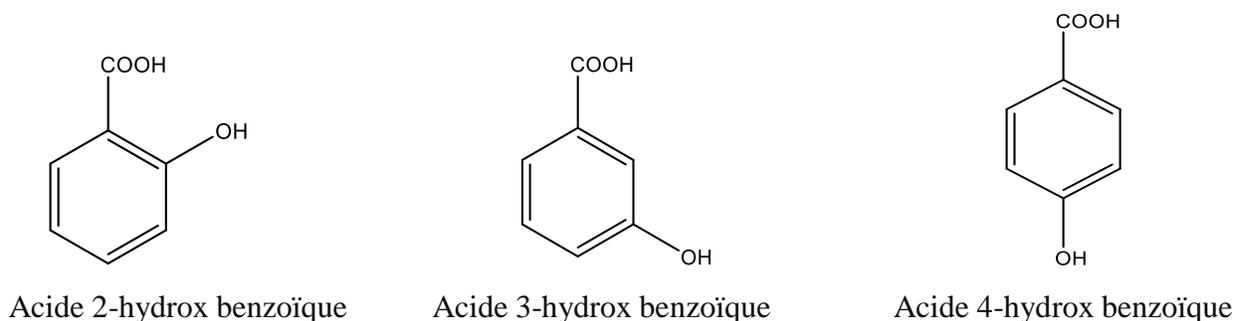


Figure 6 : Structures des acides hydroxybenzoïques [24]

L'acide hydrox benzoïque lui-même n'est pas très utilisé, mais ses dérivés ont de nombreuses applications. Par exemple, l'acide salicylique est utilisé comme médicament anti-inflammatoire et analgésique. Les esters de l'acide *para*- hydrox benzoïque, également connus sous le nom de parabènes, sont utilisés comme conservateurs dans les produits cosmétiques et pharmaceutiques.

- Les acides hydroxycinnamiques : qui constituent une classe de composés chimiques répandus dans de nombreux aliments d'origine végétale, tels que les fruits, les légumes et les céréales. Parmi eux, on retrouve l'acide caféïque, l'acide férulique et l'acide *p*-coumarique, qui confèrent arôme et couleur à ces aliments. Leur présence est associée à des bienfaits pour la santé, notamment en raison de leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et potentiellement anticancéreuses. De plus, les acides hydroxycinnamiques peuvent jouer un rôle dans la protection cardiovasculaire, ce qui en fait des éléments clés d'une alimentation équilibrée.

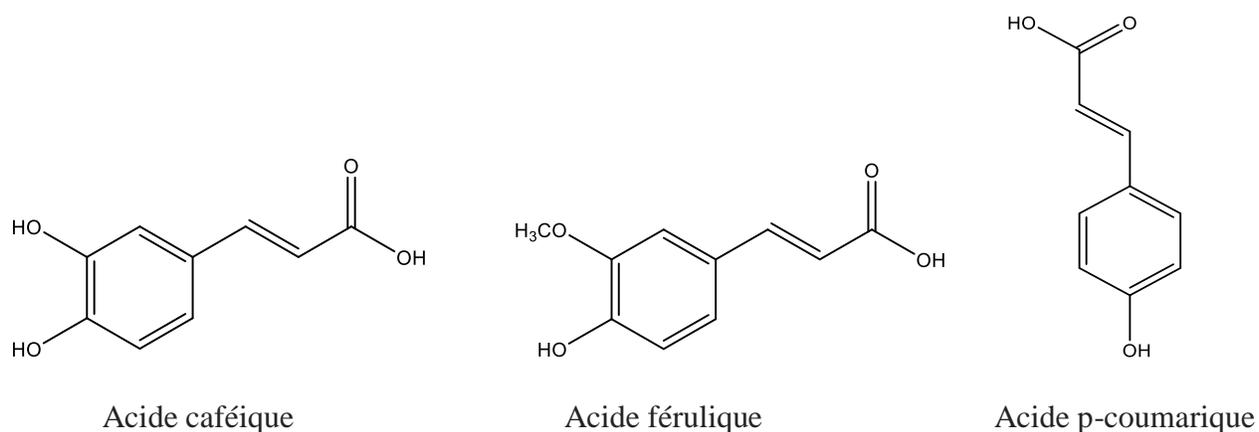


Figure 7 : Structures des acides hydroxycinnamiques [24]

4-1-3- Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes, composés naturels hydrosolubles et appartenant aux polyphénols, ils possèdent un squelette (C6-C3-C6), sont des pigments végétaux essentiels, offrant une large gamme de couleurs aux plantes. Avec plus de 4000 types répartis en 6 classes, ils sont des antioxydants puissants, surpassant même les vitamines, et se trouvent notamment dans le thé sous forme de flavanols [25].

- **Les flavanols et les catéchines :** les flavanols et les catéchines sont des polyphénols présents dans divers aliments comme les fruits, les légumes et le thé, offrant des avantages pour la santé tels que la protection contre les maladies cardiaques, le cancer et le maintien du poids. Cette sous-famille est la plus abondante dans le thé, constituant environ 25% du poids sec de la drogue, ils agissent comme des antioxydants puissants, protégeant les cellules contre les dommages des radicaux libres [26, 27].

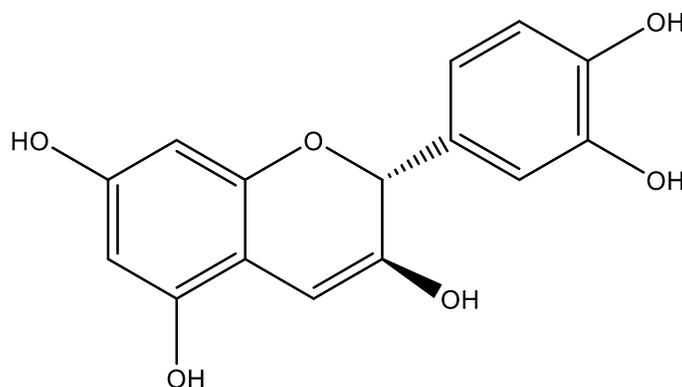


Figure 8 : Structure de base des catéchines [27]

Tableau 5 : Principales catéchines du thé et leurs substitutions relatives [28]

		R ₁	R ₂
Gallate d'épigallocatechine	EGCg	Gallate	OH
Gallate d'epicatechine	ECg	Gallate	H
Epigallocatechine	EGC	H	OH
Epicatechine	EC	H	H

- **Les flavonols :** Les flavonols, abondants dans le thé, suivent les catéchines en termes de présence dans la boisson. Leur structure chimique partage des similitudes avec les flavanols mais se

distingue par un cycle carboné spécifique. Les principaux flavonols présents dans le thé incluent la quercétine et son glycoside, la rutine, ainsi que le kaempférol et la myricétine, tous reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, bénéfiques pour la santé cardiovasculaire et cognitive [29].

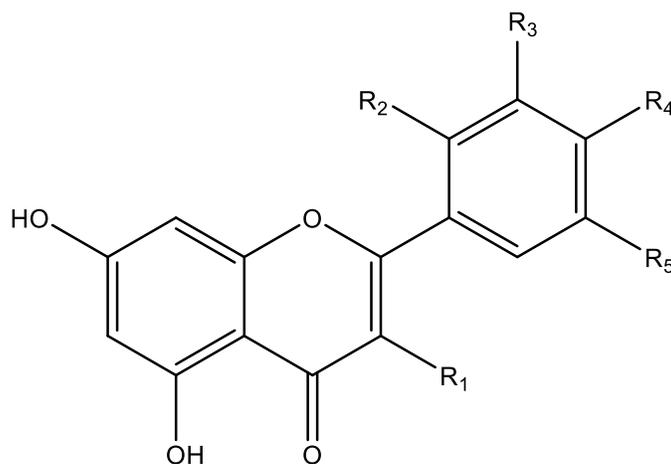


Figure 9 : Structure générale des flavonols [28]

Tableau 6 : les flavonoïdes dominants du thé [28]

		R₁	R₂	R₃
Glycoside de kaempférol	KaG	H	OH	OH
Glycoside de Quercétine	QuG	OH	OH	H
Glycoside de myricétine	MyG	OH	OH	OH

4-1-4- Les tannins :

Les tanins sont des composés phénoliques de hauts poids moléculaires, fortement hydroxylés, présents dans divers aliments. Leur niveau varie selon le type de thé, les thés verts jeunes étant souvent plus riches en tanins, ce qui contribue à leur influence sur l'astringence du thé. Malgré cette caractéristique, les tanins offrent des avantages potentiels, comme ils peuvent favoriser la santé digestive. Ils se divisent en **tanins hydrolysables**, décomposables en sucre et acide phénol, et **en tanins condensés**, polymères de flavanols aux propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes [30].

4-2- Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes, des composés organiques naturels présents principalement dans les plantes, se caractérisent par la présence d'azote dans leur structure, souvent associés aux tanins végétaux. Parmi eux, la caféine, ou 1, 3,7-triméthylxanthine, est largement étudiée pour ses effets stimulants sur le système nerveux central, présente en concentration variable dans les feuilles de thé avec des taux allant de 2,5 % à 5,5 %, offrant une alternative modérée pour ceux recherchant stimulation et bienfaits du thé [31].

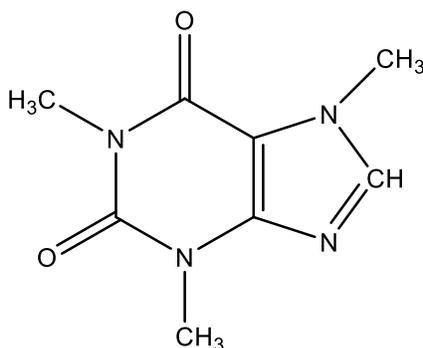


Figure10 : structure de la caféine [32]

4-3- Les vitamines :

Le thé vert est effectivement plus riche en vitamines que le thé noir. Cela est dû à la fermentation et à la température élevée utilisées pour produire le thé noir, qui dégrade une grande partie des vitamines présentes dans les feuilles. La vitamine C, en particulier, est absente du thé noir. Voici quelques exemples de vitamines présentes dans les feuilles de thé vert [33].

- **Vitamine C (acide ascorbique) :** 2 à 2,5 g/kg de feuilles desséchées de thé vert. Le thé vert était d'ailleurs utilisé par les marins pour lutter contre le scorbut lors des longs voyages maritimes au 16ème et 17ème siècle.

- **Vitamine E :** Antioxydant important pour la protection des cellules.

- **Vitamines du groupe B** : Notamment B1, B2 et B3, importantes pour le métabolisme énergétique et le fonctionnement du système nerveux [34].

Tableau 7 : Composition de la feuille de thé en vitamines du groupe B [34]

Quantité en microgrammes (μg) par 100 g de feuille du *Camellia sinensis*

Thiamine (vitamine B1)	135
Riboflavine (vitamine B2)	1266
Niacine (vitamine B3)	7500
Acide panthoténique (vitamine B5)	1260
Inositol (vitamine B7)	1000
Biotine (vitamine B8)	82.5
Acide folique (vitamine B9)	76

4-4- Acides aminés :

La théanine, principal acide aminé du thé vert, influence sa qualité et son prix, et associée aux polyphénols, elle forme l'arôme distinctif du thé. Ses propriétés apaisantes atténuent les effets stimulants de la caféine, offrant une boisson relaxante avec des bienfaits immunitaires et neuroprotecteurs. En plus de la théanine, d'autres acides aminés comme l'acide γ -aminobutyrique, l'acide aspartique et la sérine contribuent à la composition nutritionnelle et aux effets santé du thé [35,36].

4-5- L'huile essentielle :

L'huile essentielle est essentielle pour l'arôme et le goût du thé vert, générant plus de 75 substances volatiles durant sa production, telles que le linalol et le nérïdol et la cis-jasmone, en plus d'antioxydants et de vitamines et des minéraux, qui contribuent à sa saveur distinctive et à ses bienfaits pour la santé [37].

D'autres classes de composés chimiques sont présentes aussi chez le *Camellia sinensis* comme les composés minéraux, les glucides, les lipides et les caroténoïdes [38].

5- Usage thérapeutique du *Camellia sinensis* :

Camellia sinensis qui est riche en antioxydants, est connu pour ses multiples bienfaits pour la santé. Il peut aider à prévenir des maladies cancéreuses, améliorer la santé cardiaque, favoriser la perte de poids, stimuler la fonction cognitive, réduire le stress, promouvoir la santé bucco-dentaire et renforcer le système immunitaire. Cependant, la plupart des études ont été menées sur des animaux ou des cellules en laboratoire, nécessitant ainsi des recherches supplémentaires pour confirmer ces effets chez l'homme [39].

Chapitre 2 :

Chapitre 2 : L'activité antioxydante

1- Définition des antioxydants :

Un antioxydant est toute substance chimique qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manières significatives l'oxydation de ce substrat [40].

Les séquestrant de métaux, qui inactivent les métaux en occupant leurs sites de coordination, et les phagocytes de radicaux libres, tels que le BHT, le BHA, les tocophérols (vitamine E) et l'acide ascorbique (vitamine C) [41-42].

Dans beaucoup de systèmes biologiques, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont formées en tant que sous-produits normaux de métabolisme de l'oxygène. Ces espèces Produisent dans les processus métaboliques cellulaires incluent le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), les radicaux libres tels que le radical hydroxyle (OH^\bullet), et l'anion de super oxyde ($O_2^{\bullet-}$). Pendant l'effort oxydant, des grands nombres de ces espèces sont produits, et ils peuvent déclencher les réactions chimiques telles que la peroxydation de lipide ou oxyder l'ADN ou les protéines, endommageant les cellules. Ils mènent aux mutations, qui sont à leur tour responsables des maladies relatives telles que le cancer, la maladie cardiaque, l'artériosclérose, les désordres inflammatoires, et les maladies liées aux processus d vieillissement [43].

2- Origines des antioxydants :

Les antioxydants sont des substances qui protègent les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres. Les antioxydants peuvent être classés en deux catégories :

- Antioxydants exogènes: ceux que nous obtenons de notre alimentation, comme les vitamines C et E, les caroténoïdes et les poly phénols.
- Antioxydants endogènes: ceux que notre corps produit naturellement, comme la super oxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase.

3- Les types des antioxydants :

Les antioxydants sont divisés selon leur nature chimique dans les aliments aux antioxydants naturels qui sont naturellement présents dans les plantes, les micro-organismes, les champignons et les tissus [44]. En fonction de leur mécanisme d'action et de leur moment d'intervention, les

antioxydants peuvent être classés en tant que préventifs, neutralisateurs ou réparateurs des dommages oxydatifs.

3-1- La composition chimique des aliments :

A) Les antioxydants naturels : Les antioxydants naturels sont des substances qui préviennent les effets nocifs des ERO en les bloquant ou en les inhibant et font généralement partie de l'alimentation [45].

B) Les antioxydants synthétiques : Ils sont fabriqués chimiquement, efficaces et pas cher par rapport aux antioxydants naturels, ils sont donc largement utilisés et interfèrent dans toutes les formulations contenant des graisses insaturées. Actuellement, les antioxydants synthétiques les plus importants autorisés pour une utilisation dans les aliments sont le butylhydroxytoluène (BHT), le butylhydroxyanisole (BHA), le gallate de propylée (PG), le gallate de dodécyle (DG) et butylhydroquinone tertiaire (TBHQ) [46, 47].

3-2- Le mécanisme d'action :

A) Antioxydants de prévention : C'est la première ligne de défense qui élimine la formation radicale libre. Le produit de la décomposition des minéraux devrait être les hydro peroxydes et le peroxyde d'hydrogène, bien que le mécanisme et l'emplacement de la formation de radicaux dans le corps n'aient pas encore été déterminés [48].

B) Antioxydants de Scavenger : C'est la deuxième ligne de défense constituée d'antioxydants endogènes anti-radicalaires, dont certains sont hydrophiles (vitamine E, acide urique, albumine, thiols et bilirubine) et l'autre est lipophile (ubiquinol, vitamine E qui est la plus antioxydant puissant pour lipophil anti-radicalaire). Cette ligne élimine les radicaux Actifs [48]. Ils éliminent les radicaux libres en donnant un ou plusieurs électrons aux espèces Réactive. Cette réaction se traduit par la transformation du piègeur en radical, même s'il n'interagit pas [49].

C) Antioxydants de novo et réparation : La troisième ligne de défense est une novo et réparation qui reconnaît les enzymes, les protéines et les peptides présents dans la mitochondrie et le cytosol, les dégrade et élimine les oxydants, ainsi que la modification des protéines et la prévention de leur accumulation [48].

4- Activité des antioxydants :

L'utilisation des molécules antioxydants de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées. En effet, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires ; ils sont également utilisés comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique. Des recherches scientifiques ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir des différentes sources telles que les cultures agricoles et horticoles ou les plantes médicinales.

4-1- Méthode de détermination de l'activité antioxydante :

Il existe plusieurs méthodes pour déterminer l'activité antioxydante d'une substance.

4-1-1- Le test d'ABTS :

L'extrait de plante est mis en contact avec les radicaux libres d'ABTS préformés et l'absorbance est lue avec un spectrophotomètre à 734 nm. Les radicaux libres d'ABTS sont fondamentalement créés de deux manières :

- A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium $K_2S_2O_8$: les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12- 16 h ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée à 0.700 ± 0.020 à 734 nm avant l'usage.
- A partir de l'ABTS et du chlorure du 2, 2'-azobis (2-amidino-propane) (AAPH) jouant le rôle d'initiateur de réaction dans le tampon phosphate salin (PBS) à pH 7,4. Le mélange est chauffé à 68°C. L'absorbance de la solution obtenue (bleu – vert) est ajustée à $0,650 \pm 0,020$ à 734 nm [50].

4-1-2- Le test DPPH :

Les radicaux du 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl sont dissous dans du méthanol généralement à 100 μ mol. L'extrait de plante ou l'antioxydant de référence est mis en contact avec la solution radicalaire de DPPH ; après incubation l'absorbance est lue à 515-517 nm.

4-1-3- Le test TPTZ :

La réduction des ions ferriques est aussi utilisée pour déterminer le potentiel antioxydant. Le Réactif est fraîchement préparé en mélangeant une solution de 10 mm de 2, 4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) et de 20 mm de chlorure ferrique dans un tampon acétate (0.25- 0,3 M) à ph = 3,6 dans le rapport 1 / 1 / 10. L'absorbance du mélange (extrait de plante et réactif) est lue à 593 nm après incubation à la température ordinaire. L'activité antioxydant de l'extrait de plante est comparée à celle d'un antioxydant de référence en termes d'équivalence ou en termes d'inhibition [51-53].

4-1-4- Le test FRAP :

Le test FRAP (ou Ferric Reducing Ability of Plasma) est une méthode basée sur le changement de coloration lors de la réduction du fer, de l'ion ferrique (Fe^{3+}) à l'ion ferreux (Fe^{2+}) par transfert d'électrons. Cette réduction se fait en présence d'un antioxydant [53]. De par la nature de la réaction de réduction, l'antioxydant doit présenter une Capacité de donneur d'électron. Le transfert d'atome d'hydrogène ne sera pas le mécanisme privilégié. L'absorbance est mesurée à 593 nm. Ce test est peu coûteux, simple, reproductible et rapide. Toutefois il n'est pas capable d'évaluer l'activité antioxydant des thiols (SH), Incluant donc les polypeptides et les protéines à groupement cystéine.

4-1-5- Le test ORAC :

Le test ORAC (ou Oxygène Radical Absorbance Capacité) est une méthode de mesure de la capacité antioxydante des échantillons biologiques *in vitro* [54]. Cette méthode mesure la dégradation oxydative d'une molécule fluorescente après ajout d'un générateur de radicaux Libres, le 2,2-azobis (2-amidinopropane) (AAPH). La dégradation thermique de cette molécule en présence d'oxygène va provoquer la génération de radicaux libres de façon Régulière qui vont pouvoir attaquer la membrane des globules rouges [55].

5- Activité antioxydante des végétaux :

Les antioxydants de synthèse (BHT, BHA) sont efficaces, mais leur utilisation est de plus en plus agréablement controversée. Il convient donc d'étudier avec attention les antioxydants naturels végétaux. Les propriétés antioxydantes des produits végétaux sont attestées par un certain nombre

de tests comme le test au DPPH ou le test ORAC en milieu aqueux, et la mesure de l'indice de peroxydes. Certains tests sont avant tout des modèles d'étude, et peu sont pourtant réellement reconnus certaines normes sont esquissées, et la standardisation arrive enfin (voir le test ORAC, référence USDA). Parmi les légumes composés qui se démarquent très nettement au niveau de leurs propriétés antioxydantes propriété, les poly phénols sont les plus représentés dans le règne végétal. C'est une famille très vaste, mais les extraits de pépins de raisin ou de thé sont désormais bien identifiés, et présentent des résultats dans la lutte contre l'oxydation complètement surprenante. L'intérêt porté aux antioxydants naturels en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement dès que les premiers travaux annoncent le fort pouvoir antioxydant, anti-inflammatoire, anti-allergique, antivirale, antimicrobienne...des molécules bioactives issues des différents organes des plantes (tiges, écorces, racines, feuilles, fleurs, graines et fruits).

Les travaux scientifiques actuels ont permis de confirmer que les poly phénols sont absorbés à travers les barrières intestinales et parviennent au niveau des tissus cibles, où ils peuvent exercer des effets protecteurs contre le stress oxydant qui développe divers pathologies (maladies cardiovasculaires, cancers, maladies neuro-dégénératives ...)

6- Pouvoir antioxydant de *Camellia sinensis* :

Les flavonoïdes du thé sont nettement plus antioxydants que ceux des fruits et légumes [56]. Les flavonoïdes expriment les propriétés antioxydantes par : Le piégeage direct des ROS, la suppression de la formation des ROS par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production, La protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme [57].

L'analyse de la structure moléculaire des catéchines et des flavonols a permis de mettre en évidence leur pouvoir donneur d'électron, et par conséquent leur activité antioxydant par des réactions d'oxydoréduction Les caractéristiques essentielles est :

- Le groupement ortho-dihydroxycatéchol (en position 3', 4') sur le cycle B des catéchines et des flavonols di- ou tri-hydroxylés, sert de donneur d'électrons. Une délocalisation électronique efficace favorise la formation d'un groupe phénoxy stable [58].
- La dihydroxylation du cycle A des deux familles renforce l'activité antioxydant [59].

- Les catéchines, et principalement les gallos catéchines, imputent leur activité oxydoréductrice à la structure catéchol et au groupement hydroxy en 5' du cycle B, ainsi qu'au groupement hydroxy substitué en 3 du cycle C.

Partie II :

Partie expérimentale

Chapitre 3 :

Chapitre 3 : Matériels et méthodes

Dans ce chapitre, on présente les différentes méthodes utilisées pour la valorisation de deux extraits aqueux des feuilles du thé vert et du thé noir.

1- Objectif :

La matière végétale d'origine commerciale a été étudiée d'abord par screening phytochimique, qui est un test chimique réalisé sur un extrait végétal pour identifier la présence de différents groupes phytochimique. Ensuite une valorisation des composés phénoliques par détermination des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux par des analyses spectrophotométriques (UV-Visible).

2- Screening phytochimique :

Ces groupes phytochimique sont appelés métabolites secondaires, qui sont des composés organiques qui ne sont pas directement impliqués dans la croissance et le développement de la plante, mais qui peuvent avoir des propriétés biologiques bénéfiques. Il s'agit d'une méthode relativement simple et peu coûteuse qui peut fournir une multitude d'informations sur la composition chimique d'un extrait végétal. Les groupes phytochimiques majeurs responsables des activités biologiques, et qui ont été testés par la méthode de Harbone sont les suivants [60] :

Les flavonoïdes, les tanins, les cardinolides, les saponines, les anthocyanes, les stérols et les terpènes, Alcaloïdes.

Les différents protocoles pour chaque famille de produits sont décrits ci-dessous :

2-1- Test des flavonoïdes [61] :

- **Objectif** : Déterminer la présence de flavonoïdes dans une poudre végétale (le thé vert et le thé noire).

- **Macération** :

- Peser 2 g de la poudre végétale pulvérisée.
- Introduire la poudre dans un tube à essai.
- Ajouter 40 ml de HCl dilué à 1%.

- Mélanger et laisser macérer pendant 24 heures à température ambiante.
- Filtrer le mélange obtenu à l'aide d'un papier filtre.
- Recueillir le filtrat dans un tube à essai propre.

- Test de coloration :

- Prélever 10 ml du filtrat.
- Ajouter quelques gouttes d'ammoniaque (NH_4OH) jusqu'à obtention d'un pH basique (environ 8-9).
- Observer la coloration de la partie supérieure du tube.
 - Présence de flavonoïdes : Une coloration jaune claire apparaît dans la partie supérieure du tube.
 - Absence de flavonoïdes : La solution reste incolore.

2-2- Test des tanins [61] :

- Préparation de l'infusé :

- Peser 2 g de la poudre sèche.
- Recouvrir la poudre de 20 ml d'eau très chaude ou bouillante.
- Laisser reposer pendant 5 à 6 minutes.
- Remuer légèrement et filtrer l'infusé.

- Détection des tanins :

- Diluer une portion de l'infusé avec de l'eau distillée dans un rapport de 1/4.
- Ajouter 3 gouttes de FeCl_3 à 10 % à la solution diluée.

- Interprétation des résultats :

- L'apparition d'une coloration bleu vert indique la présence de tanins.

2-3- Test des cardinolides [61] :

- Macération :

- Pulvériser 2 g de la plante (thé vert et noire).
- Mélanger la poudre avec 40 ml d'eau distillée

- Laisser macérer pendant 24 heures.
- Filtrer le mélange.

- Extraction :

- Prélever 10 ml du filtrat.
- Ajouter 10 ml de chloroforme (CHCl_3) et 10 ml d'éthanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$).
- Mélanger vigoureusement.
- Séparer les phases organique et aqueuse.
- Évaporer la phase organique.

- Détection des cardinolides :

- Dissoudre le précipité dans 3 ml d'acide acétique (CH_3COOH).
- Ajouter quelques gouttes de chlorure de fer (FeCl_3).
- Incliner le tube à essai et ajouter 1 ml d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) le long des parois.

- Interprétation des résultats :

- L'apparition d'une couleur vert bleu dans la phase d'acide acétique indique la présence de cardinolides.

2-4-Test de mousse pour les saponines [61] :

- Objectif : Déterminer la présence de saponines dans une matière végétale (thé vert et noire).

- Préparation de l'extrait :

- Peser 1 g de matière végétale et la placer dans un tube à essai.
- Ajouter 10 ml d'eau distillée.
- Chauffer le mélange jusqu'à ébullition.
- Laisser refroidir le mélange et le filtrer.

- Test de la mousse :

- Pipeter quelques millilitres du filtrat dans un tube à essai propre.
- Agiter vigoureusement le tube à essai pendant 1 minute.
- Observer la formation de mousse.

- Interprétation des résultats :

- **Présence de saponines :** Si une mousse persistante se forme après agitation et reste visible pendant plusieurs minutes, cela indique la présence de saponines dans la matière végétale (thé vert et noire). La hauteur et la persistance de la mousse peuvent donner une indication de la concentration en saponines.
- **Absence de saponines :** Si aucune mousse ne se forme ou si elle disparaît rapidement, cela indique l'absence de saponines dans la matière végétale (thé vert et noire).

2-5- Anthocyanes [62] :

- Préparation de l'infusion :

- Mélangez 1 g de poudre végétale avec 10 ml d'eau chaude.
- Laissez reposer pendant 5 minutes.

- Coloration à l'acide chlorhydrique (HCl) :

- Prélevez 1 ml de l'infusion.
- Ajoutez quelques gouttes d'HCl pur.
- Observez la couleur : une coloration rose-rouge devrait apparaître.

- Changement de couleur à l'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) :

- Ajoutez quelques gouttes de NH₄OH à la solution obtenue précédemment.
- Observez la couleur : un changement de couleur vers le bleu violacé devrait se produire.

- Interprétation des résultats :

L'observation des changements de couleur lors des tests à l'HCl et à l' NH_4OH confirme la présence d'anthocyanes dans la poudre végétale (thé vert et noire).

2-6- Test des stérols et terpènes [63] :

- Préparation de l'extrait :

- Prendre 2 g de poudre pulvérisée de la matière végétale (thé vert et noire).
- La macérer dans 30 ml d'éther de pétrole ou de toluène pendant une heure.
- Filtrer et évaporer le résidu obtenu.
- Dissoudre le résidu dans 0,5 ml d'acide acétique et 0,5 ml de CHCl_3 .

- Réaction colorimétrique :

- Transférer les deux phases dans un tube à essai.
- Ajouter 1 ml d'acide sulfurique concentré.
- Observer la zone de contact entre les deux liquides.

- Interprétation du résultat :

- La formation d'un cercle violet ou marron, puis gris, dans la zone de contact indique la présence de stérols et terpènes.
- La couleur violette ou marron est due à la formation d'un complexe coloré entre les stérols/terpènes et l'acide sulfurique.
- La couleur grise indique la déshydratation du complexe coloré.

2-7-Alcaloïdes [61]:

-Objectif: Déterminer la présence d'alcaloïdes dans le (thé vert et noire)

-Maceration:

- Peser 5 g de thé vert sec et les placer dans un flacon.

- Ajouter 50 ml de HCl à 1%.
- Mélanger et laisser macérer pendant 2 heures à température ambiante.
- Filtrer la solution obtenue.

-Test de Mayer:

- Ajouter quelques gouttes de réactif de Mayer au filtrat.
- Observer la formation d'un précipité.

-Interpretation des résultats:

- **Présence d'alcaloïdes** : Un précipité blanc jaunâtre apparaît après l'ajout du réactif de Mayer.
- **Absence d'alcaloïdes** : Aucune réaction n'est observée après l'ajout du réactif de Mayer.

3- Dosage des composés phénoliques :

Dans cette étude, nous avons utilisé un spectrophotomètre UV-visible Biochrom WPA pour analyser les composés phénoliques totaux (PPT) et les flavonoïdes totaux (FVT) présents dans les extraits de *Camellia sinensis*. Les concentrations de ces composés ont été déterminées à l'aide de courbes d'étalonnage linéaires basées sur l'équation $y = ax + b$. Les étalons standards utilisés étaient l'acide gallique pour les PPT et la catéchine pour les FVT. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent d'acide gallique ou de catéchine par 100 g de poudre de plante. Cette méthode, bien que simple, rapide et relativement peu coûteuse, ne permet pas d'identifier les différents composés phénoliques présents et peut être influencée par la présence d'autres substances dans l'extrait [63].

3-1- Préparation des extraits :

La préparation des deux extraits aqueux du *Camellia sinensis* a été réalisée en pesant 1 gramme de poudre de matière végétale (le thé vert et le thé noir) et en la plaçant dans un tube à essai. Ensuite, 10 ml de solvant H₂O ont été ajoutés au tube à essai. Le mélange a été agité pendant 24 heures dans l'obscurité, puis filtré avec du papier filtre, et le filtrat obtenu a été fraîchement utilisé pour l'analyse.

3-2- Dosage des polyphénols totaux :

3-2-1- Principe :

L'estimation des polyphénols est généralement réalisée par des méthodes colorimétriques. Ces méthodes sont largement utilisées pour leur simplicité et leur sensibilité élevée [64].

3-2-2- Mode opératoire :

- Le principe repose sur l'utilisation du réactif de Folin-Ciocalteu, un acide jaune composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$).
- Ce réactif est réduit en un mélange d'oxydes de tungstène et de molybdène de couleur bleue lors de l'oxydation des phénols.
- L'intensité de la coloration, mesurée à une longueur d'onde maximale de 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

3-2-3- Préparation des différentes dilutions du standard :

L'acide gallique est utilisé comme polyphénol standard dans cette méthode, ou les dilutions à différentes concentrations sont comme suit : 10, 25, 50, 100, 150, 200 mg/l.

3-2-4- Dosage des composés phénoliques totaux :

- Prélever 1 ml de la solution d'extrait de plante (thé vert et thé noire) ou de la solution d'acide gallique diluée dans une fiole jaugée de 25 ml.
- Ajouter 9 ml d'eau distillée.
- Ajouter 1 ml de la solution de Folin-Ciocalteu et agiter.
- Attendre 5 minutes, et ajouter 10 ml de la solution de Na_2CO_3 à 7% et agiter.
- Diluer immédiatement la solution au trait de jauge avec de l'eau distillée et agiter vigoureusement, ensuite incuber la solution pendant 90 minutes dans l'obscurité à température ambiante.
- Mesurer l'absorbance à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre en utilisant le méthanol comme blanc.

3-3- Dosage des flavonoïdes totaux :

3-3-1- Principe :

Le dosage des flavonoïdes totaux repose sur l'utilisation du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) comme réactif. En présence de soude, l' AlCl_3 réagit avec les flavonoïdes pour former un complexe rose absorbant la lumière visible à 510 nm. La catéchine est utilisée comme flavonoïde standard dans cette méthode [65, 66].

3-3-2- Mode opératoire :

- Diluer l'extrait (1 ml) ou la solution de catéchine (25 à 500 mg/L) dans un tube ou une fiole et ajouter 4 ml d'eau distillée.
- À $t = 0$, ajouter 0,3 ml de NaNO_2 à 5% (P/V).
- À $t = 5$ min, ajouter 0,3 ml de AlCl_3 à 10%.
- 6 minutes après, ajouter 2 ml de NaOH à 1M.
- Diluer immédiatement le mélange réactionnel avec 2,4 ml d'eau distillée et agiter vigoureusement.
- Déterminer l'absorbance de la solution rose à 510 nm contre un blanc (méthanol) à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.
- Exprimer la teneur en flavonoïdes totaux en équivalents de mg de catéchine (mg EC) par 100 g de matière sèche.
- Réaliser une droite d'étalonnage avec la catéchine avant d'analyser les échantillons.

4- Étude de l'activité antioxydante :

4-1- Évaluation de l'activité antioxydante des extraits :

L'activité antioxydante des extraits aqueux des deux plantes (thé vert et noire) a été étudiée par le test du DPPH [67, 68].

- Préparation des extraits :

- 1 gramme de matière végétale broyée est macéré dans 10 ml de solvant H₂O pendant 24 heures.
- Après filtration, le filtrat obtenu est utilisé frais pour l'analyse.

4-2- Le test DPPH :

4-2-1- Principe :

Le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) repose sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH[•], un radical libre, en présence d'un antioxydant (AH) capable de céder un hydrogène. Cette réaction conduit à la formation d'une forme non radicalaire DPPH-H. La solution de DPPH[•] présente une coloration pourpre foncée et une forte absorbance à 517 nm. La présence d'un antioxydant entraîne la décoloration de la solution et une diminution de l'absorbance à 517 nm [69-71].

4-2-2- Mode opératoire :

- Ajouter 0,1 ml de l'extrait aqueux de la plante (le thé vert et le thé noire) à 2,9 ml de DPPH à 100 µmol dans le méthanol.
- Incuber le mélange réactionnel à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante.
- Mesurer l'absorbance à 517 nm et réaliser une courbe d'étalonnage avec des solutions d'acide ascorbique (vitamine C) à différentes concentrations (25, 50, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 mg/l).

Chapitre 4 :

Chapitre 4 : Résultats et discussion

1- Le screening phytochimique :

Les tests préliminaires de caractérisation, réalisés sur les feuilles des deux genre *Camellia sinensis* : feuilles du thé vert et les feuilles du thé noir, ces tests nous ont permis de mettre en évidence la présence de plusieurs groupes de groupes phytochimiques.

Les résultats sont repris dans le tableau 06, ou on s'aperçoit que les flavonoïdes constituent le groupe le plus fréquent, aussi en remarque la présence des tanins et des terpènes et des stérols avec une très forte présence (test fortement positif) chez les feuilles du *Camellia sinensis*. De plus, on constate que les feuilles du thé noir contiennent plus de teneur de saponines par rapport au feuilles du thé vert.

D'après le criblage phytochimique réalisé, il a été mis en évidence la présence des stérols et terpènes dans les feuilles des deux genres de thé vert et noir. Quant aux cardinolides, ils sont absents chez les genres de la plante étudiée.

Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques, et les résultats sont regroupés dans le tableau 9.

(1) : Tanins, (2) : flavonoïdes, (3) : Anthocyanes, (4) : Stérols et terpènes, (5) : saponine, (6) : cardinolides

1-1- Tanins :

Une coloration verdâtre indique la présence de tanins caté chiques dans l'extrait du thé vert et noire (figure 11).



Figure 11: Test de tanins

1-2- Flavonoïdes :

Le changement de couleur dans la partie supérieure du tube indique que la richesse de l'extrait aqueux du *Camellia sinensis* en flavonoïdes (figure 12).

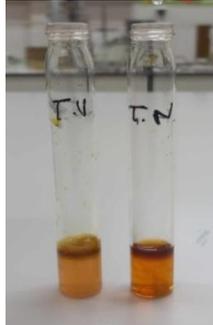


Figure 12 : Test de flavonoïdes

1-3- Anthocyanes :

Le changement de couleur indique la présence d'anthocyanes (figure 13).



Figure 13 : Test d'anthocyanes

1-4- Stérols et terpènes :

La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase indique la présence de Stérols et terpènes (figure 14).



Figure 14 : Test des stérols et terpènes

1-5- Saponines :

L'apparition d'une mousse qui persiste quelques minutes indique la présence des saponines (figure 15).

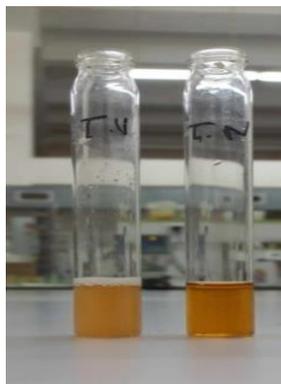


Figure 15 : Test de saponines

1-6- Cardinolides :

Pour ce test y- avait pas de changement de couleur (vert bleu) dans la phase d'acide acétique ce qui indique l'absence des cardinolides (figure 16).

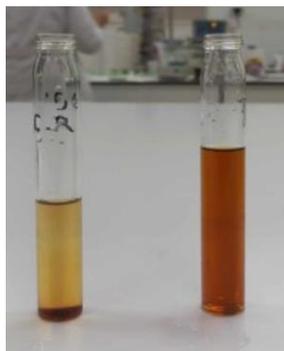


Figure 16 : Test de cardinolides

Tableau 8 : Résultats des tests phytochimique d'extrait aqueux de *Camellia sinensis*

Composés :	<i>Camellia sinensis</i> (Thé vert)	<i>Camellia sinensis</i> (Thé noire)
Tanins	+++	+++
Flavonoïdes	+++	+++
Anthocyanes	++	++
Stérols et terpènes	+++	+++
Saponines	+	-
Cardinolides	-	-

(+++): Réaction positive. (+): Réaction faiblement positive. (-): Réaction négative

2- Dosage des composés phénoliques :

En traçant les courbes d'étalonnage des solutions standards d'acide gallique (figure 17) et de catéchine (figure18), et à partir des valeurs d'absorbance des solutions des extraits aqueux des feuilles des deux genres de *Camellia sinensis*, on a déterminé les teneurs de polyphénols totaux et de flavonoïdes totaux selon la relation suivante :

$$T = \frac{C.V.100}{m}$$

C : concentration en mg/l

V : Volume utilisé en litre

m : masse de la poudre de plante en g.

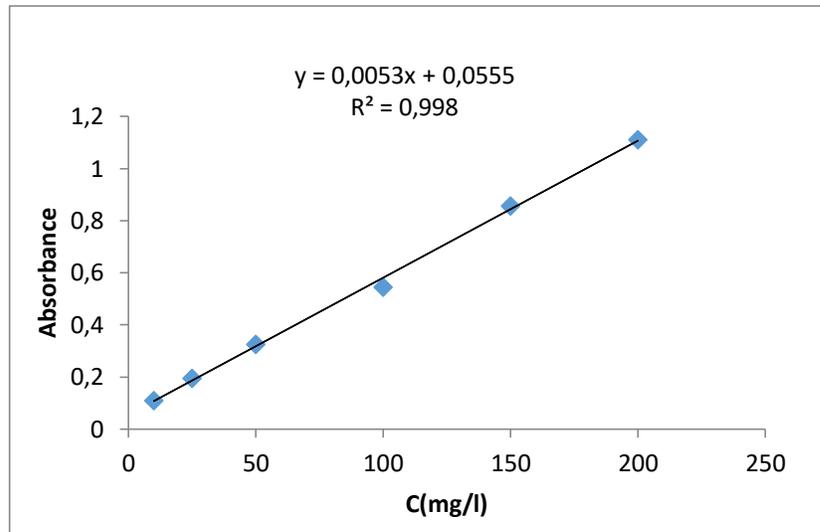


Figure 17 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux

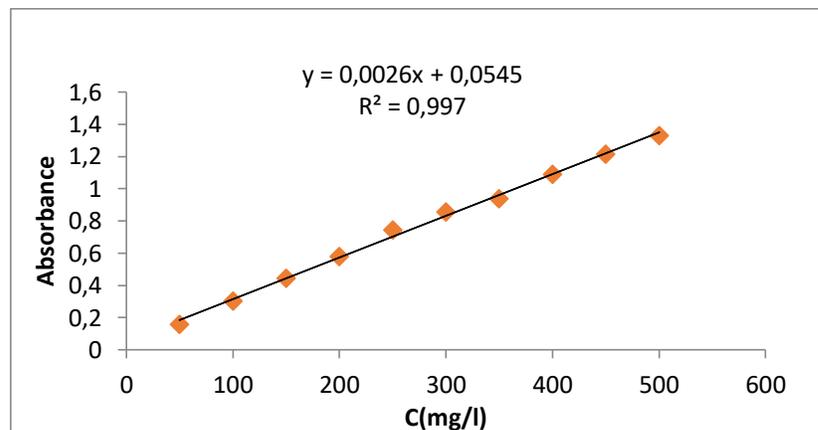


Figure 18 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes totaux

2-1- Dosage des polyphénols totaux :

Les résultats de l'analyse spectrophotométriques de la teneur en polyphénols totaux sont indiqués dans le tableau 09, ils sont aussi représentés par les figures 19 et 20.

Ces résultats sont exprimés en milligrammes équivalents à l'acide gallique (mg EGA) par 100 gramme de matière sèche.

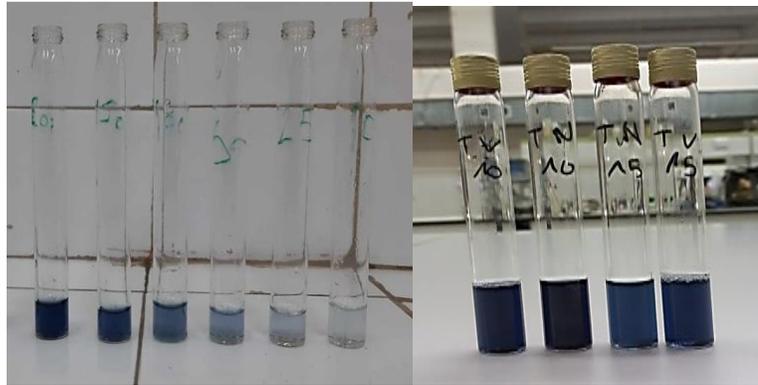


Figure 19 : Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des composés phénoliques totaux contenus dans les extraits aqueux des feuilles du *Camellia sinensis*, a donné des teneurs en composés phénoliques qui varient de la valeur : 762.60 mg EGA/100g MS (extrait H₂O) du genre thé vert, à la plus grande valeur : 870.10 mg EGA/100g MS (extrait H₂O) du genre thé noire.

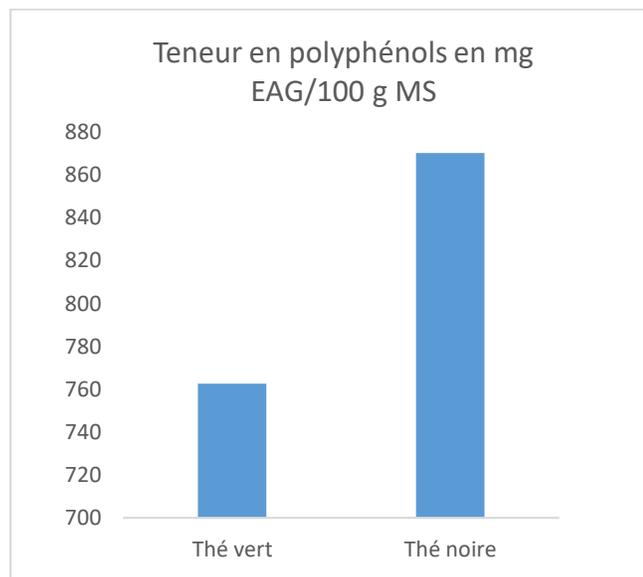


Figure 20 : Histogramme de la teneur en polyphénols exprimée en mg EGA/100g MS

D'après ces résultats et d'après la figure 20, on s'aperçoit que le thé noir possède une teneur de polyphénols plus élevée par rapport au thé vert due à la présence d'autres structures phénoliques comme les acides phénoliques et les tanins qui réagissent avec les réactifs.

2-2- Dosage des flavonoïdes totaux :

Les résultats de l'analyse spectrophotométriques des flavonoïdes totaux sont obtenus en se basant sur les valeurs d'absorbance des solutions d'extraits, comparées à celles de la solution étalon de catéchine. Les résultats sont indiqués dans le tableau 09, et aussi représentés par les figures 21 et 22. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalents à la catéchine. Ils se rapportent à 100 gramme de matière sèche.

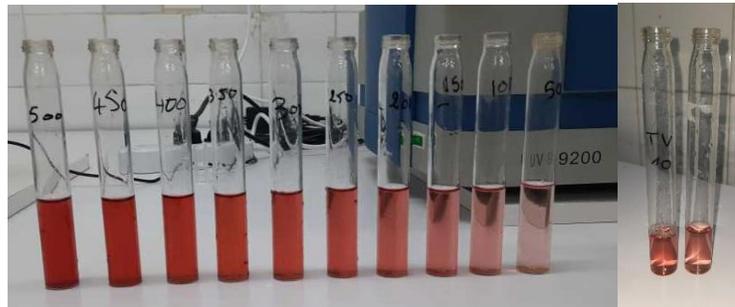


Figure 21 : Dosage des flavonoïdes totaux

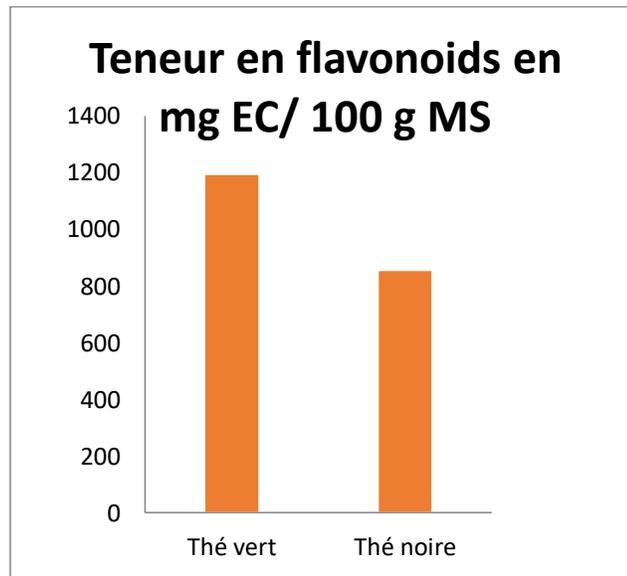


Figure 22 : Histogramme de la teneur en flavonoïdes exprimée en mg EC/100g MS

A partir de ces résultats, on observe que la quantité des flavonoïdes totaux variée à travers les deux genres de l'espèce étudiée. Les teneurs sont plus importantes dans l'extrait du thé vert que le thé noir avec des teneurs de 1194 mg EC/ 100 g de MS et 855.7 mg EC/ 100 g de MS, respectivement.

Tableau 09 : Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux

	Teneur en polyphénols totaux exprimée en mg EAG/100g MS	Teneur en flavonoïdes totaux exprimée en mg EC/100g MS
Feuilles de thé vert	762.60	1194
Feuilles de thé noir	870.1	855.7

En outre, il ressort que les teneurs en polyphénols de l'extrait du thé noir est plus élevée par rapport au thé vert, ce peut être expliqué par la présence d'autres structures phénoliques comme les acides phénoliques et les tanins.

En remarque aussi que la teneur en flavonoïdes pour le thé vert est plus élevées que celles des polyphénols, cela peut être expliqué par le fait que ces extraits renferment des composés ayant des structures semblables aux flavonoïdes, ce qui augmente l'absorbance de l'extrait à 510 nm.

3- Étude de l'activité antioxydant :

Dans la présente étude, la méthode qui a été exploités pour estimer la capacité antioxydante *in vitro* des extraits aqueux des deux genres du *Camellia sinensis* est la méthode du pouvoir piègeur du radical DPPH⁺ ou test DPPH. Ce test a été choisi, parmi les tests les plus cités dans la littérature, pour sa facilité de mise en œuvre.

L'activité de piégeage du radical DPPH peut également être exprimée en mg d'équivalente vitamine C par 100 gramme de poids sec (EVC). La solution de stock de radicaux a été préparée quotidiennement.

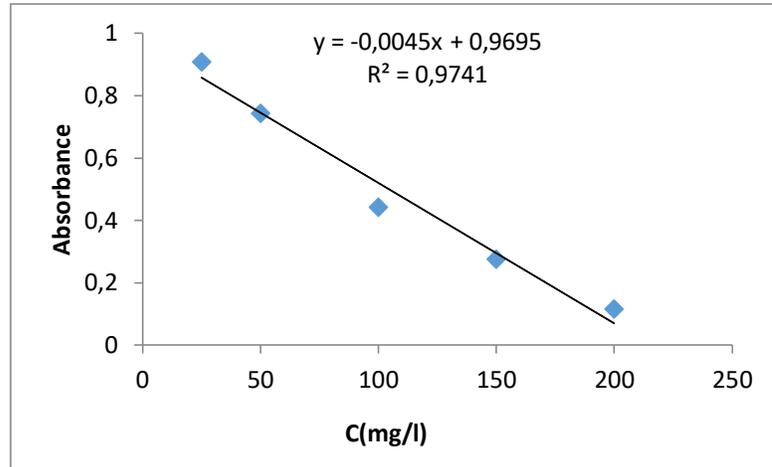


Figure 23 : Courbe de la vitamine C en utilisant le test DPPH.

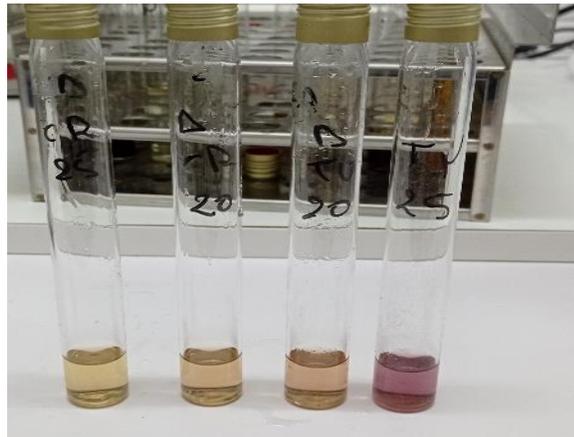


Figure 24 : Test de l'activité antioxydante DPPH

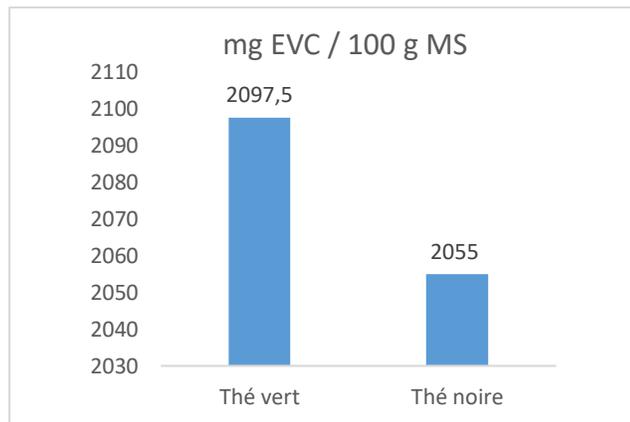


Figure 25 : Histogramme de la capacité antioxydante exprimée en mg EVC/100g MS déterminée par le test DPPH.

Ce test a confirmé l'efficacité du thé en tant qu'antioxydant. Cette efficacité a été démontrée par des valeurs exprimées en mg EVC. Les résultats ont montré une légère différence entre les deux échantillons. Les résultats ont montré que l'extrait aqueux des feuilles du thé vert possédait un pouvoir antioxydant plus puissant par rapport aux feuilles du thé noir avec 2097,5 mg EVC/100g MS et 2055 mg EVC/100g MS, respectivement.

En comparaison avec d'autres études rapportées dans la littérature, nos résultats démontrent que l'extrait hydraulique de feuilles du thé vert possède plus de teneur en flavonoïdes et plus de pouvoir anti-radicalaire que l'extrait du thé noir [72,73].

Conclusion :

Conclusion :

Les plantes sont une source de composés à structures complexes auxquels sont attribués de nombreuses propriétés thérapeutiques. Notre travail représente une étude phytochimique en commençant par un criblage phytochimique, suivi par le dosage de teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux, et en dernier la partie de l'évaluation de l'activité antioxydante par le test du piégeage par le radical DPPH.

L'étude phytochimique des extraits aqueux des feuilles du *Camellia sinensis* met en évidence sa richesse en antioxydants, forte présence des composés phénoliques et surtout les flavonoïdes. Ces deux genres de thé plantes contiennent également d'autres familles de composés tels que les tanins, les terpènes. Quant aux cardinolides, ils sont absents dans les feuilles du thé vert et du thé noir étudiées. Les polyphénols totaux sont présents avec des teneurs de 762.60 mg EAG/100g MS et 870.10 mg EAG/100g MS, les flavonoïdes présentent des teneurs de 1194 mg EC/100 g de MS et 855.7 mg EC/100g MS pour le thé vert et le thé noir respectivement. La richesse des feuilles du *Camellia sinensis* en composés phénoliques permet d'expliquer son large utilisation.

Il ressort de l'étudiant *vitro* de l'activité antioxydante que l'extrait aqueux des feuilles du thé vert exhibent légèrement plus de valeur estimée par la méthode DPPH à 2097.5 mg et que l'extrait du thé noir de 2055 mg EVC/100 g de MS. Ces résultats présentent une bonne corrélation positive avec les teneurs en flavonoïdes totaux.

En conclusion, les résultats obtenus méritent d'être complétés. Il serait intéressant d'évaluer d'autres activités pharmacologiques de cette plante largement consommée.

Références bibliographiques :

- [1]- Le thé vert et ses bienfaits pour la santé: <https://www.laboratoire-lescuyer.com/blog/nos-conseils-sante/le-the-vert-un-actif-ancestral-aux-vertus-remarquables>. Page consultée mars 2024
- [2]-Pascale Sarni-Manchado, Véronique CheynierÉditions Tec & Doc, (2006 - 398 page) :Les polyphénols en agroalimentaire
- [3]- Composition chimique du thé vert: <https://www.thevert.com/ingredients/> . Page consultée mars 2024
- [4]- Chassagne N., (2005). Le thé : Historique, composition et nouvelles perspectives thérapeutiques, Thèse en Pharmacie. Clermont, 140p.
- [5]- Schweikart, G. (2011). The: A comprehensive guide to the beverage and its history. Reaktion Books.
Rinzler, C. A. (2001). The: A cultural history. M.E. Sharpe. <https://www.thevert.com> . Page consultée mars 2024
- [6]- Graham, H. N. (1992)Tea: The plant and its manufacture; chemistry and consumption of the beverage
- [7] -Michael Harney (1998):*The Harney & Sons Guide to Tea*
- [8]-Rinzler, C. A. (2001). The: A cultural history. M.E. Sharpe Tea: History, Terroirs, Varieties" par Kevin Gascoyne, François Marchand, Jasmin Desharnais et Hugo Américi
- [9]-Mary Lou Heiss et Robert J. Heiss:The Tea Enthusiast Handbook: A Guide to Enjoying the Worlds Best Teas" par - Ce livre offre un aperçu des différents types de thé, y compris les thés verts, et explique souvent comment ces thés sont classés en fonction de leur région de production, de leur méthode de fabrication, etc.
- [10]- Mair, Victor H.,(1943):The true history of tea(p. [271]-275) and index
- [11]- Sánchez-Alonso *et al* Trends in Food Science and Technology (2001):By-products of plant food processing as a source of functional compounds—recent developments
- [12]-Hitoshi Ashida , Takashi Furuyashiki, Hironobu Nagayasu, Hiroaki Bessho, Hiroyuki Sakakibara, Takashi Hashimoto, Kazuki Kanazawa2004;22(1-4):135-4 doi:10.1002/biof.5520220126:Anti-obesity actions of green tea: possible involvements in modulation of the glucose uptake system and suppression of the adipogenesis-related transcription factors
- [13]-de Mary Lou Heiss (Author), Robert J. Heiss (Author 30 mars 2010):the Tea Enthusiast's Handbook: A Guide to the World's Best Teas
- [14]-Xerfi, secteur France 2002:cité par Elise hameury-IUP.SIAL-mars2004 projet marketing Le guide du thé de François-Xavier Delmas.»:Thé l'art de la dégustation de Kazuko Hashimoto. L'encyclopédie du thé" de Jane Pettigrew
- [15] - Production of black tea with high theanine content by enzymatic conversion of theanine to glutamic acid: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4023445/> . Page consultée mars 2024

- [16] -Balentine D.A., Wiseman S.A., Bouwens L.C.M., (2000).:The chemistry of tea flavonoids
- [17] - Kumar et . Jennifer T., (2013) .Green Tea: A Potential Alternative Anti-infectious Agent Catechins and Viral Infections, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, USA, Vol.3, No.4, 198-20
- [18] -Jean Bruneton Éditions médicales internationales Editions Technique & Documentation*',(1999 1120 pages): Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants (2e ed. - retirage broch")
- [19]- *Claudine MANACH, Véronique AZAÏS-BRAESCO, C. REMESY, Christine MORAND* Doi :(CND-012-2000-35-S1-0007-9960-101019-ART7):BIODISPONIBILITÉ DES POLYPHÉNOLS DU THÉ
- [20]-D A Balentine I, S A Wiseman, L C Bouwens (1997) Dec;37(8):693-704.
doi: 10.1080/10408399709527797:The chemistry of tea flavonoids
- [21]-I Urquiaga I, F Leighton (2000;33(2)):55-64.doi: 10.4067/s0716-97602000000200004:Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress
- [22] François Nsemi Muanda (2010) : Identification de polyphénols, évaluation de leur activité Références bibliographiques 118 antioxydant et étude de leurs propriétés biologiques (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat, Université Paul Verlaine-Metz, 55-86).
- [23]- MOSSION Aurélie:Etude de la composition minérale et organique des liqueurs de thé et de leurs caractéristiques organoleptiques Influence des paramètres physico-chimiques de l'eau. Thèse : Sciences de la Matière : Institut National de Polytechnique de Toulouse .2007 , 213 p
- [24]- Manach C, Azaïs-braesco V, Remesy C, Morand CCah. Nutr. Diét.2000, 35(1) : 1S46-1S55 Benhamou ,2012):Biodisponibilité des polyphénols du thé.
- [25]- Lee Hooper I, Paul A Kroon, Eric B Rimm, Jeffrey S Cohn, Ian Harvey, Kathryn A Le Cornu, Jonathan J Ryder, Wendy L Hall, Aedín Cassidy(2008) Jul;88(1):38-50.doi: 10.1093/ajcn/88.1.38:Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized controlled trials
- [26]- Balentine, D. A., Wiseman, S. A., & Boué, S. M. (2000). The chemistry of dietary flavonoids. CRC Press.
- [27]- Banerjee B, Chaudhuri T.Cnc. 2005, p 206. Catéchines: Therapeutic Effects of Tea. Meidcine environmental Science
- [28]- BALENTINE D.A., WISEMAN Sheila A., BOUWENS Lisbeth C.M., MALVY D Cah. Nutr. Diét. (2000), 2000, vol. 35, supplément 1, p. 1S13-1S21:Chimie des flavonoïdes du thé
- [29]- Balentine, D. A., Wiseman, S. A., & Boué, S. M. (2000):The chemistry of dietary flavonoids. CRC Press.

- [30]- BRUNETON JeanLavoisier,(2 oct. 2009 - 1292 page):Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed.)
- [31]- Bruneton J. Pharmacognosie. Phytochimie : Plantes médicinales. 3e édition, Paris : Editions TEC & DOC, Cachan : Editions Médicales Internationales. 1999 : p. 239-249, p. 309-327, p. 369-388, p. 1070-1079
- [32]-Tomomi Sugiyama , Yasuyuki Sadzuka(2004 Aug 30);212(2):177-84. doi: 10.1016/j.canlet.2004.03.040:Theanine, a specific glutamate derivative in green tea, reduces the adverse reactions of doxorubicin by changing the glutathione level
- [33]- Garel, F. (2006): Le thé vert: bienfaits et vertus pour la santé. Éditions Jouvence.
- [34]- Chassagne, D. (2005): Le thé: une boisson aux multiples vertus. Éditions Grancher.
- [35]- Paul M. DewickFirst published:4 February(2009)Print ISBN:9780470741689 |Online ISBN:9780470742761|DOI:10.1002/9780470742761:Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach
- [36]- GAREL Emile Université de Rennes I(2006, p.1-85): Sources et intérêt de la théanine présente dans le thé et ses préparations, Thèse : Pharmacie .
- [37]- Cattan M.(2007)Université de la Méditerranée AixMarseille II, p. 1-5: Le thé à l'officine. Thèse : Pharmacie
- [38]- List, P. H., & Hörhammer, L. (1972) Zeitschrift für Lebensmittel- Untersuchung und -Forschung, 149(2), 104-108.:Carotenoids in tea.
- [39]-Lester A. Mitscher, Victoria ToewsPenguin Publishing Group,(1 sept. 1997 - 240 pages):The Green Tea Book
- [40]-Aminata, K 2005 (doctorat)Université de Bamako, Mali: Etude de trois plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'ulcère gastroduodéal dans le District de Bamako: *Borassus æthiopum*Mart (Palmeae), *Sclerocaryabirrea* (A.Rich.).
- [41]-Aouissa, I.W.R. 2003. (Doctorat). Etude des Activités Biologiques et de la Toxicité Aigüe de l'Extrait Aqueux des Feuilles de mangifera indica L. (anacardiacee). Université de Bamako, Mali.
- [42]- Rizk, S.M.; Sabri, N.A.(2009). Evaluation of clinical activity and safety of Daflon□ 500 mg in type 2 diabetic female patients. Saudi Pharmaceutical Journal, 17, 199–207.
- [43]-Wang, A.Y.; Zhou, M.Y & Lin, W.C.(2011).Antioxidative and anti-inflammatory properties of Citrus sulcataextracts.Food Chemistry, 124, 958–963.
- [44]-Pelli, K., Lyly, M.(2003). Les antioxydants dans l'alimentation. INRA, French NationalResearch Institute for Agriculture, Food and Environment, France,4-17
- [45]-Olugbami, JO. Gbadegesin, MA and Odunola, OA. (2014). In vitro evaluation of theantioxidant potential, phenolic and flavonoid contents of the stem bark ethanol extract of nogeissus leiocarpus. African Journal of Medicine and Medical Sciences, 43, 101–109.
- [46]- Shahidi, F.(1992).Wanasundara PK. Phenolic antioxidants. Critical Reviewes in Food Science and Nutrution. 32(1),67-103.

- [47] - Maamri, S.(2008). Etude de pistacia atlantica de deux régions de sud algérien. Dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Université de Boumerdes. Mémoire de Magister. Pp14. Algérie.
- [48]- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Review*, 4(8),118- 126.
- [49]-Kim, D-O.; Seung, W. J.; Lee, C.Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry* 81, 321–326.
- [50]- Luximon-Ramma, A., Bahorun, T., Soobrattee, M.A., and Aruoma, O.I., (2002). Antioxidant Activities of Phenolic, Proanthocyanidin, and Flavonoid Components in Extracts of *Cassia fistula* J. *Agric. Food Chem.* 50, 5042-5047.
- [51]-Ozgen, M., Reese, R.N., Tulio JR, A. Z., Scheerens J.C. and Miller, A.R., (2006). Modified 2, 2'-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid (ABTS) Method to Measure Antioxidant Capacity of Selected Small Fruits and Comparison to Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) and 2, 2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Methods. *J. Agric.Food Chem.*54, 1151-1157.
- [52]-Céspedes, C.L., El-Hafidi, M., Pavon, N., Alarcon, J., (2008). Antioxidant and Cardioprotective activities of phenolic extracts from fruits of Chilean blackberry *Aristotelia Chilensis* (Elaeocarpaceae), Maqui. *Food Chemistry* 107, 820–829.
- [53]-Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, Bianchi M, et al.(2003). Total Antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three Different in vitro assays. *J Nutr.* sept ;133(9):28129.
- [54]-Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL.(2001) Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. *J Agric Food Chem.* 1 oct ;49(10):461926
- [55]-International Journal for Vitamin and Nutrition Research [Internet]. [cité 4 févr. 2016]. Disponible sur: <http://www.hogrefe.ch/index.php/international-journal-for-vitamin-and-nutrition-research.html/>. Page Consultée mai 2024
- [56]- Chassagne N. (2005).Le thé : Historique, Composition et Nouvelles Perspectives Thérapeutiques, hèse : Pharmacie : Clermont I,5, p. 1-140.
- [57]- Girotti-channu C.(2006). Etude de la lipolyse et de synthèse des composés du Derme sous l'effet de la Cirsimarine, Flavone extraite de *Microtea Debilis*. Thèse de Doctorat .Institut national des sciences appliquées de Lyon, p127.
- [58]- Chassagne N.(2005) Le thé : Historique, Composition et Nouvelles Perspectives Thérapeutiques, Thèse : Pharmacie : Clermont I, p. 1-140.
- [59]- Harbone , J.B (1984) : *Phytochemical methods a guide to modern technique of plants analysis* chapman et Hall, 2 nd ed . London
- [60]- Harbone , J.B (1994) :*the flavonoids : Advances in research since 1986*. Chapman & Hall Campridge .
- [61]- Razafindrambao, R.S. (1973) : *Travaux et documents de l'ORSTOM , N° 25 ORSTOM*. Paris .

- [62] - Amarowicz, R., Estrella, I., Hernandez, T., Troszynska, A. (2008) : Antioxidant activity of extract of Adzuki bean and its fractions. *Journal of Food Lipids* 15(1), 119-136.
- [63] -Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999): The determination of flavonoids contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64(4), 555- 559.
- [64] -Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A., Legret, P., & Villeneuve, P. (1994). Standardization of propolis extract and identification of principal components. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 12(6), 661-668.
- [65] - Molyneux, P. G. (2004). The use of stable free radicals to determine antioxidant activity. *Food Chemistry*, 81(2), 291-300.
- [66] -Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- [67] -Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 412-422.
- [68] - Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 28(1), 25- 30.
- [69] -Molyneux, P. G. (2004). The use of stable free radicals to determine antioxidant activity. *Food Chemistry*, 81(2), 291-300.
- [70]: Nor Qhairul Izzreen and Mohd Fadzelly , Hasmadi Mamat. *International Food Research Journal* 20(1): 307-312 (2013)
- [71]: Chatterjee P, Chandra S, Dey P, Bhattacharya S. (2012).Evaluation of anti-inflammatory effects of green tea and black tea: A comparative in vitro study. *J Adv Pharm Technol Res.* Apr;3(2):136-8. doi: 10.4103/2231-4040.97298. PMID: 22837963; PMCID: PMC3401676.
- [72]- Kaloyan Geogiev¹ , Iliya Zhelev² , Svetlana Georgieva² : total phenolic compounds and tannins content of banche green tea (*camellia sinensis*) depending on extraction conditions. *Scripta scientifica pharmaceutica*, vol.1,2014, pp.48-51 .
- [73]- Fawwaz, Mulfihunna,pratama, Rahmawati, Razak,Baits: Total phenolic and Flavonoid compound , *Jurnal Fiyofarmaka Indonesia* , vol.9 no 3 , 2022