

République algérienne démocratique et populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
Université a. Mira de Bejaia



Faculté de Technologie  
Département de Génie des procédés  
Laboratoire des Génie Alimentaire

## Mémoire EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE Master

Domaine : Science et Technologie Filière : Génie des Procédés  
Spécialité : Génie Alimentaire

Présenté par

**RANBI DIHIYA**

**AGUELMIME ANISSA**

*Thème*

**Etude biologique d'un extrait de thé vert et son incorporation  
dans un emballage alimentaire**

Soutenue le 07/07/2022

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade		
M <sup>me</sup> Bouras .K	<b>MCA</b>	Université de Bejaia	Président
M <sup>me</sup> Arkoub . L	<b>MCA</b>	Université de Bejaia	Examineur
M <sup>me</sup> BEY Zakia	<b>MAA</b>	Université de Bejaia	Encadrant
/	/	/	Co- Encadrant

Année Universitaire : 2021/2022

## Remerciements

*Avant toute chose, nous remercions « Allah » le tout puissant de nous avoir donné le courage et la santé pour réaliser ce travail.*

*Nous tenons à remercier vivement notre promotrice Madame **BEY Zakia.**, d'avoir Accepté de nous encadrer. Nous la remercions aussi pour son aide, ces conseils, ses Orientations et pour sa patience, ainsi que pour ses qualités relationnelles et humaines et son Soutien moral.*

*Nous adressons également nos reconnaissances à tous les membres de jury, qui ont fait l'honneur de juger ce travail et de participer au jury de ce mémoire.*

*Enfin, On adresse nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.*

*Merci à toutes et à tous*

*Avec tous les estimes et profonds respects.*

*Je commence ma dédicace au nom du Dieu.*

*Je voudrais dédie ce modeste travail à Toi MA MÈRE Djamila, l'être la chère dans ma vie, toi qui est toujours là à me consoler, me soulager et m'encourager, toi qui donner le précieux de toi pour me voir réussir de jour en jour,*

*MÈRE tu es « La cause de ma réussite dans la vie »*

*L'être que j'aime tant, toi PÈRE Rachid qui a veillé toujours pour mon bien-être « Toi PÈRE la lueur de mon chemin »*

*« A Mes adorables Sœurs »*

*Samra et Asmahal merci pour votre aides, conciles, soutiens et sacrifices. Je vous adore énormément.*

*« A ma belle-famille « Chabouni »*

*Allal et fatiha merci Pour votre soutien moral et votre encouragement au long de ma formation.*

*« A mon fiancé Arris Chabouni »*

*Qui m'a guidé tout au long de ce projet avec son amour incessant, son aide, ses conciles et son dévouement envers ma réussite.*

*« A ma binôme DIHYA qui est une sœur pour moi »*

*Anissa*

*Je dédie ce travail*

*A l'aide d'allah tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma mère **FADILA** qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude , pour son sacrifice qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité . A mon cher père **DJAMEL** qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements*

*Que dieu les gardes et les protège*

*Ames chers frère et sœur **SALIM** et **KATIA** qui m'ont soutenu dans mes études, que dieu les protèges et les garde*

*A ma chère tante **GHANIA** qui est comme une 2<sup>ème</sup> maman pour moi, Amon oncles **AKLI** qui m'a beaucoup aidé et encouragé que dieu les gardes.*

*Amon cher amie **YANIS** pour son courage, ces conseils, sa patience, sa gentilles qui conte énormément pour moi.*

*A ma chérie **AGUELMIME ANISSA**, ma binôme pour sa patience et son courage durant ce travail.*

**DIHIYA**

## Table des matières

### Liste des abréviations

### Liste des figures

### Liste des tableaux

Introduction .....	1
Partie 01 : synthèse bibliographique	
Chapitre I : Généralités sur le thé vert et emballage alimentaire (PLA)	
I.1 Thé vert .....	3
I.1.1. Historique.....	3
I.1.2 Définition de thé vert .....	3
I.1.3. Classification systématique.....	3
I.1.4. Description botaniques.....	4
I.1.5.Les différents types de thé vert .....	4
I.1.1.6. Fabrication de thé vert .....	6
I.1.7.effet bénéfique de thé.....	7
I.1.7.1. Prévention des maladies cardiovasculaires .....	7
I.1.7.2. Prévention contre le cancer .....	8
I.1.7.3 Effet antidiabétique.....	8
I.1.7.4. Réduction le taux de cholestérol .....	9
I.1.8. Propriétés antimicrobiennes .....	9
I.2.Emballage alimentaire.....	10
I.2.1.Définition de l'emballage .....	10
I.2.2Les fonctions de l’emballge .....	10
I.2.3. Le polyacide lactique (PLA).....	11
I.2.3.1. Structure et synthèse du PLA.....	11
I.2.3.2 Propriétés du PLA .....	12

## Chapitre II : Radicaux libres et système antioxydant

II. Stress oxydatif et système antioxydant.....	14
II.1.Stress oxydatif .....	14
II.2. Espèces réactives ou radicaux libres.....	14
II.3. Sources des espèces réactives .....	15
II.3.1. Sources endogèn .....	15
II.3.2. Sources exogènes.....	15
II.4.Dommages biologique causés par le stress oxydatif .....	16
II.5.Conséquence du stress oxydatif.....	17
II.5.1. Peroxydation lipidique.....	17
II.5.2. Oxydation des protéines .....	17
II.5.3. Dégradation d'ADN .....	17
II.6. Système antioxydant .....	18
II.6.1. Définition .....	18
II.6.2. Classification des antioxydants .....	18
II.6.2.1. Antioxydants enzymatiques.....	18
II.6.2.2. Antioxydants non enzymatiques.....	19
II.7.Antioxydants d'origine végétal .....	20
II.7.1.Polyphénols naturels comme antioxydants.....	21
II.7.1.1.Non flavonoides.....	21
II.7.1.2. Les flavonoïdes.....	22
II.7.1.2.1.Classification des flavonoides .....	23
II.7.1.3.Tanins .....	26
II.7.1.3.1. Classification des tanins .....	26

## ChapitreIII : Matière et méthode

III.1Matière végétale .....	27
III.2.Preparation des echantils.....	27
III.3.Rendement des extractions.....	28
III.4.Analyse calitative .....	28

III.4.1 Le screening phytochimique .....	28
III.4.2Chromatographie phase liquide haute pression.....	30
III.4.3.IR.....	30
III.5.Analyse quantitative .....	30
III.5.1. Dosage des polyphénols .....	30
III.5.2 Dosage des tanins .....	31
III.5.3 Dosage des flavonoïdes .....	31
III.5.4 Détermination de la teneur en pigments liposoluble.....	32
III.5.5 Activité anti-oxydante par la Réduction du radical DPPH * .....	32
III.5.6. pouvoir reducteur.....	33
III.6.Activité antibactérienne .....	34
III.6.1 les souches teste .....	34
III.7.Préparation des films Alimentaire.....	35

#### Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1.Rendement des extractions .....	37
IV.2. étude photochimique .....	37
IV.3. Analyse HPLC d'extrait de thé vert.....	39
IV.4. Analyse par spectroscopie IR .....	40
IV.5.Teneur en polyphénols .....	40
IV.6. Teneur en tanins .....	41
IV.7.Teneur en flavonoïdes .....	42
IV.8.Teneur en pigments liposolubles.....	43
IV.9. Piégeage de radical DPPH* et le pouvoir réducteur .....	45
IV.10.L'activité antibactérienne de thé vert.....	45
IV.10.1.Escherichia Coli(25922) .....	46
IV.10.2.Staphylococcus aureus (ATCC : 43300) .....	47
IV.10.3.Salmonelle .sp (Souche hospitalière) .....	47
IV.10.4.Pseudomonas.aeruginosa (ATCC27853) .....	47
IV.11. Emballage alimentaire de PLA .....	48

Conclusion.....51

Références bibliographique

Résumé

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Classification botanique de <i>Camellia sinensis</i> .....	3
<b>Tableau II</b> : Les propriétés physico-chimiques et mécaniques du PLA .....	12
<b>Tableau III</b> : Sources endogènes des ER .....	16
<b>Tableau IV</b> : Rendement des extractions de thé vert .....	37
<b>Tableau V</b> : Tests photochimiques d'extrait aqueux de <i>Camellia sinensis</i> .....	38
<b>Tableau VI</b> : Résultats HPLC .....	39
<b>Tableau VII</b> : Teneurs en polyphénols pour le thé vert .....	41
<b>Tableau VIII</b> : Teneurs en tanins dans le thé vert .....	42
<b>Tableau IX</b> : Teneurs en flavonoïdes pour thé vert .....	42
<b>Tableau X</b> : Teneurs en pigments liposolubles .....	44
<b>Tableau XI</b> :Les résultats obtenus pour test de DPPH et le pouvoir réducteur de Thé vert .....	45
<b>Tableau XII</b> : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induite par les extraits du thé vert (mm) .....	46
<b>Tableau XIII</b> : Diamètre des zones d'inhibition d'emballage de PLA.....	49

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Le thé vert ( <i>Camellia sinensis</i> ) .....	4
<b>Figure 2 :</b> Thé blanc.....	5
<b>Figure 3 :</b> Thé vert .....	5
<b>Figure 4 :</b> Thé oolong .....	6
<b>Figure 5 :</b> Thé noir.....	6
<b>Figure 6 :</b> Les principales étapes de transformation des feuilles de théières après la récolte ...	7
<b>Figure7 :</b> PLA.....	11
<b>Figure 8:</b> Structure moléculaire du Poly (acide lactique).....	12
<b>Figure 9 :</b> Dommages induits par le stress oxydant.....	17
<b>Figure10:</b> Structure chimique de la vitamine C .....	19
<b>Figure 11:</b> Structure chimique de la vitamine E.....	20
<b>Figure 12:</b> Structure des flavonoïdes.....	22
<b>Figure 13:</b> Distribution des flavonoïdes présents dans les plantes.....	23
<b>Figure 14 :</b> Structure chimique de flavonols .....	23
<b>Figure 15:</b> Structure chimique de Flavones.....	24
<b>Figure 16 :</b> Structure chimique des flavanones .....	24
<b>Figure 17:</b> Structure chimique des Isoflavones .....	25
<b>Figure 18 :</b> Structure chimique des anthocyanes.....	25
<b>Figure 19 :</b> Structures chimique des Flavonols .....	26
<b>Figure 20 :</b> Thé vert.....	27
<b>Figure 21 :</b> Les différentes étapes de préparation des extraits de thé vert .....	27

<b>Figure 22</b> : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	33
<b>Figure 23</b> : Profil du chromatogramme de thé vert .....	39
<b>Figure 24</b> : Spectre Infra rouge de thé vert .....	40
<b>Figure 25</b> : Spectre infra rouge de polymère de thé .....	48
<b>Figure 26</b> : Spectre infra rouge de PLA pur .....	49
<b>Figure 27</b> : Infra rouge de thé vert et polymère de thé.....	50
<b>Figure 28</b> : Image photographique de PLA avec extrait et sans extrait .....	50

## Liste des abréviations

**ERO** : espèces réactives de l'oxygène

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**AlCl<sub>3</sub>** : trichlorure d'aluminium

**DPPH** : 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl

**E. Coli** : Escherichia coli

**Mg EAG/ml** : milligramme équivalent acide gallique par millilitre

**MgEq/ml** : milligramme équivalent Quercitain par litre

**GM** : gentamicine

**S. aureus** : staphylococcus aureus

**L'EGCG** : épigallocatechine-3-gallate

**UV** : ultra-violet

**IR** : infrarouge

**PLA** : Poly-Lactique Acide

# **Introduction**

### Introduction

Les altérations alimentaires par des microorganismes sont devenues un problème croissant. Ainsi, pour préserver l'environnement, la qualité et la fraîcheur des aliments, il est important de choisir les matériaux adéquats issus des technologies d'emballage innovantes. D'où l'émergence de l'emballage alimentaire actif.

En général, il existe quatre principales fonctions communes à tout emballage, une fonction de contenant; de protection, de commodité et communication (**Shlush and Davidovich-Pinhas.,2022**)

En plus de ces fonctions les emballages actifs offrent une protection active libérant en permanence des composés actifs tels que des antioxydants, des agents antimicrobiens, des enzymes, des arômes ...etc. En raison de leurs interactions avec l'aliment et l'environnement, ils augmentent la durée de conservation des aliments, préservent les saveurs, et réduisent les teneurs en additifs et conservateurs dans des formulations alimentaires tout en préservant la qualité du produit. Ainsi, la plupart des emballages actifs en plastiques rencontrés dans la littérature permettent d'incorporer dans leurs systèmes des substances actives synthétiques et artificielles.

L'objectif de notre travail est d'étudier la composition phénolique, l'activité antioxydante et antimicrobienne de l'extrait de thé vert dans le but de son incorporation dans un emballage à base de PLA (Polyacide Lactique) un polymère biodégradable fabriqué à partir de ressources renouvelables comme le maïs.

Le thé vert issu des feuilles de *Camellia sinensis* constitue une source importante d'antioxydants (**Castro et al., 2010**) aux propriétés antimicrobiennes (**Lee et al., 2000**). Ces propriétés sont en partie, attribuées aux alcaloïdes et aux composés phénoliques (**Peng et al., 2008**) et elles constituent un atout majeur pour pouvoir utiliser les extraits de thé vert comme conservateur soit dans un aliment ou dans un emballage alimentaire.

Notre manuscrit est subdivisé en deux parties importantes.

La première partie concerne une synthèse bibliographique partagée en deux chapitres,

- ✓ le premier chapitre consacré à quelques généralités sur le thé et Emballage alimentaire et PLA .
- ✓ le deuxième chapitre : traite les principales informations sur les radicaux libres, le système antioxydant et le stress oxydatif.

La deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale et comprend deux parties :

- ✓ Matériels et méthodes utilisées pour préparation d'extrait, le dosage des différents antioxydants particulièrement les polyphénols, les tanins, les flavonoïdes et l'évaluation de l'activité anti-oxydante.
- ✓ la deuxième partie présente les résultats et discussion.
- ✓ Enfin nous terminerons le travail par une conclusion.

**Chapitre I**  
**Le thé vert et les**  
**emballage**  
**alimentaires**

## I.1 Thé vert

### I.1.1. Historique

Le thé vert est le trésor de la nature pour l'humanité, il est le deuxième breuvage le plus consommé après l'eau, il est obtenu à partir de la plante de thé *Camellia Sinensis* qui appartient à la famille Théacée et est cultivé dans au moins 30 pays à travers le monde, couramment consommé au Japon, la Chine, l'Inde et l'Afrique du Nord, les États-Unis et l'Europe (Olurati,2017).

Le thé vert a été infusé pour la première fois en 2737 avant J-C sous le règne de l'empereur Shennong, un sage mythique qui est devenu la mythologie populaire de l'agriculture et de médecine chinoise, il est dit que pendant un de ses voyages Shennong et ses membres étaient épuisés et ils ont décidé de s'arrêter et de se reposer, quelque feuilles de thé sont tombées dans sa tasse d'eau chaude d'une branche de thé qui se trouvait à proximité, il l'a trouvée extrêmement rafraichissant et a demandé aux membres de ce convois de la préparer une fois de plus (Sharma *et al.*,2018). Le thé vert possède des niveaux élevés d'antioxydants et utilisé pour ses effets antiviellissement et neuroprotecteur, en plus de traiter ou de prévenir plusieurs maladies (Mani *et al.*, 2019).

### I.1.2 Définition de thé vert

Le thé vert a acquis une popularité assez récente, comparé au thé noir que l'on consomme en occident depuis des siècles. Un retour vers des médecines plus douces, plus naturelles et surtout un nombre croissant d'études positives réalisées sur le thé vert en font un produit de plus en plus tendance et dont la consommation ne cesse de croître. (Jörg Schweikart ,2011).

### I.1.3 . Classification systématique

**Tableau 1:** Classification botanique de *Camellia sinensis* (Mahmood *et al.* 2012)

Règne	Plantae
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Theales</i>
Genre	<i>Theaceae</i>
Famille	<i>Camillia</i>

Espèce	<i>Camellia sinensis</i>
--------	--------------------------

#### I.1.4. Description botaniques

*Camellia sinensis* est un arbuste à fleurs persistantes, appartenant à la famille des théaceae. (Fillonr . 2014). Il existe deux variétés (Espèce) principales, la variété *sinensis* (de Chine) utilisée plus particulièrement pour la production de thés verts avec des feuilles petites et vert olive et la variété *assamica* (d'Assam) utilisée pour les thés noirs à la pousse large, claire et charnue. (Gaboury.,2014). A l'état naturel, le théier est un petit arbre très rameux, de 5 à 10 mètres de haut et pouvant atteindre 15 mètres. Il est maintenu à une taille d'environ 1,50 mètre afin de faciliter la cueillette de ses feuilles (Fillonr., 2014), il possède un système racinaire pivotant et une durée de vie moyenne de 50ans. Ses feuilles persistantes sont isolées, alternes et d'une couleur vert foncé brillante. Leurs taille est de 5 à 14 cm de longueur sur 1,9 à 5 cm de largeur. Les fleurs de théier sont petites blanches à jaune claire, solitaires ou groupées. Le fruit est une capsule loculicide, les graines sont assez peu nombreuses, souvent aplaties ou aillées (Namita *et al.*, 2012).



**Figure 1:** photographie de thé vert (*Camellia sinensis*) (Mahmood *et al.*, 2010)

#### I.1.5. Les différents types de thé vert :

##### ❖ Thé Blanc

Le thé blanc est un thé qui n'a pas été vieilli, qui est non oxydé ou seulement légèrement oxydé. Traditionnellement, seuls les bourgeons et les jeunes feuilles pas complètement ouvert, sont utilisés. (Sharangi, 2009).



**Figure 2** : Photographie de thé blanc (Anonyme II)

#### ❖ Thé vert

Les feuilles de thé vert ne sont pas oxydées. Il a un très grand nombre de variétés, chacune avec une saveur et un arôme propre et unique. Une grande importance est placée sur les feuilles choisies lors de la récolte. (Sharangi, 2009).



**Figure 03** : Photographie de thé vert (Anonyme III)

#### ❖ Thé Oolong

Le Oolong, est un thé traditionnel chinois produit par un processus unique, comprenant le flétrissement de la plante sous le soleil et à l'oxydation avant le flétrissage. Il combine les techniques de finition du thé vert et d'oxydation du thé noir. (Sharangi, 2009).



**Figure 4** : Photographie de thé oolong (Anonyme IV)

#### ❖ Thé noir

Le thé noir est un thé totalement oxydé. Il est généralement plus fort en saveur que les moins oxydés. Le thé noir conserve sa saveur pendant plusieurs années. Le thé noir est le thé le plus largement produit et bu dans le monde. (Sharangi, 2009).

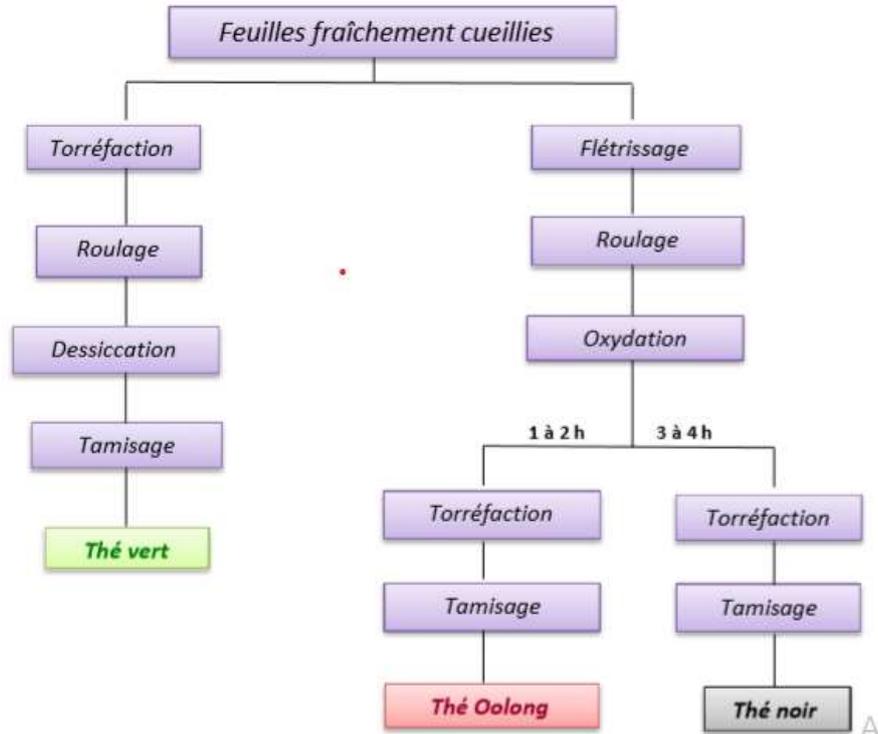


**Figure 5** : Photographie de thé noir (Anonyme V)

#### **I.1.6. Fabrication des différents types de thé :**

A partir du moment où les nouvelles feuilles cueillies atteignent l'usine de transformation, le traitement peut commencer. L'opération consiste à transformer les feuilles du théier en feuilles séchées, afin d'obtenir le thé à infuser (CNUCED, 2016). Tous les types de thé, qu'ils s'agissent de thé vert, de thé oolong ou de thé noir, proviennent d'une seule espèce, *Camellia sinensis*. La principale différence entre les différents thés réside dans leur mode de

préparation, qui aura une influence sur le contenu qualitatif et quantitatif en polyphénols. Selon le procédé de fabrication, les thés sont classés en 3 types : non-fermentés (thé vert), partiellement fermentés (thé oolong) ou fermenté (thé noir) (Morin, 2015)



**Figure 6** : Les principales étapes de transformation des feuilles de théières après la récolte (Dalmas et Minet ., 2007)

### I.1.7.Effets Antioxydants de thé vert :

#### I.1.7.1. Prévention des maladies cardiovasculaires :

Les maladies cardiovasculaire (MCV) sont complexe impliquant plusieurs facteurs. Parmi ces facteurs figurent l'inflammation, le stress oxydatif, l'agrégation plaquettaire et le métabolisme lipidique. Certains de ces facteurs sont également impliqués dans d'autres processus pathologiques. Il y a eu un certain nombre d'études au fil des années évaluant la consommation de thé vert en ce qui concerne le risque de maladies cardiovasculaires (Reygaert, 2017).

La consommation de thé vert est associée à un risque plus faible de maladie cardiaque et d'accident vasculaire cérébral. Une recherche publiée par Harvard démontre que les personnes qui boivent au moins une tasse de thé par jour ont un risque de crise cardiaque inférieur à 44%. Le thé vert augmente également et considérablement la capacité antioxydante

du sang, qui protège les particules de cholestérol LDL de l'oxydation, qui est une partie de la voie vers les maladies cardiaques. Les femmes qui consommaient cinq tasses ou plus par jour avaient moins 31% de risque de mourir d'une maladie cardiovasculaire et d'un accident vasculaire cérébral (**Kuriyama *et al.*, 2006**).

### **I.1.7.2. Prévention contre le cancer**

La substance antioxydante la plus importante dans le thé vert est l'EGCG (épigallocatechine-3-gallate), un polyphénol puissant de la famille des catéchines qui favoriserait l'autodestruction des cellules cancéreuses. Le thé vert en général est souvent cité pour ses propriétés de prévention et de soin du cancer. La réalité est bien moins claire. Côté prévention, la revue de littérature Cochrane s'est penchée en 2020 sur 140 études pour évaluer l'effet du thé vert sur le risque de cancer et de mortalité par cancer. Les résultats sont "contradictoires", et les preuves de l'effet bénéfique de la consommation de thé vert sur le risque global de cancer ou sur des sites de cancer spécifiques sont "limitées", notamment à cause d'études peu solides. En outre, la revue Cochrane signale des effets indésirables liés à la prise d'extraits de thé vert : troubles gastro-intestinaux, élévation des enzymes hépatiques et, plus rarement, des insomnies, une augmentation de la pression artérielle et des réactions cutanées. Du côté des malades, la Fondation Contre le Cancer, avance que "le thé vert pourrait ralentir la progression de la maladie, principalement dans les cas de leucémies lymphatiques chroniques ainsi que de cancers du sein, de la peau et de la prostate". Sous forme de complément, il "permettrait de prévenir ou d'atténuer les diarrhées et vomissements provoqués par une radiothérapie dans la région de l'abdomen ou du pelvis". En revanche, le thé vert pourrait réduire les effets de certains traitements de chimiothérapie et radiothérapie, justement en raison de ses effets antioxydants, qui contrecarrent le mode d'action de ces traitements.

Les principaux agents de chimio prévention dans le thé vert sont des structures complexes comme flavonoïde : EGCG, EGC, ECG et pro anthocyanidines. (**Kuzuhara *et al.*, 2008**)

### **I.1.7.3 Effet antidiabétique**

Dans le diabète de type II, qui est un trouble hétérogène, il existe une résistance du métabolisme du glucose et des lipides dans les tissus périphériques à l'activité biologique de l'insuline et la sécrétion d'insuline par les cellules  $\beta$  pancréatiques est insuffisante. Dans une étude sur l'administration de polyphénols de thé vert (500mg/Kg) à des rats normaux, il y avait une augmentation significative de la tolérance au glucose à 60 minutes. Les taux de

glucose dans le sérum ont également été réduits chez les rats diabétiques à l'alloxan à une dose de 100mg/Kg. Pendant 15 jours d'administration continue de l'extrait de thé vert à 50 ou 100mg/Kg par jour, il a produit une réduction de 29% et 44%, respectivement, de la glycémie élevée produite par l'administration d'alloxan (**Sabu et al., 2002**).

Le thé vert améliore le métabolisme des lipides et du glucose, empêche l'augmentation soudaine de la glycémie et équilibre notre taux métabolique. Les effets du thé sur le diabète ont fait l'objet d'une attention croissante. Les catéchines du thé, en particulier l'EGCG, semblent avoir des effets antidiabétiques (**Kao et al., 2006**).

#### **I.1.7.4. Réduction le taux de cholestérol**

Une méta-analyse a trouvé que la consommation de thé vert réduisait le taux de cholestérol, mais n'avait aucun effet sur les HDL. Une étude observationnelle au japon a révélé que la consommation de thé vert était inversement associée à la mortalité et à la mortalité cardiovasculaire, le résultat ne semblait pas spécifiquement et uniquement lié aux lipides (**Kuriyama et al.,2006**).

Les études indiquent que les catéchines du thé vert qui sont les principaux polyphénols, joue un rôle important dans mécanisme sous-jacente à cette réduction du risque micellisation des lipases dans le processus de digestion et diminue le taux de cholestérol sérique et de triglycéride (**Kuriyama et al.,2006**).

#### **I.1.8. Propriétés antimicrobiennes**

Les catéchines du thé, y compris l'EGCG, l'ECG, l'EGC et l'EC, possèdent des effets antimicrobiens qui endommagent la membrane cellulaire bactérienne, inhibent la synthèse des acides gras et bloquent l'activité enzymatique (**Shumin et al.,2013**). L'ECG, l'EGC et l'EGCG possèdent des effets antibactériens à large spectre (**Bai et al ., 2016**). (**Shi et al. (2018)**) ont découvert que l'huile d'arbre à thé présentait de bonnes activités antibactériennes contre deux bactéries pathogènes d'origine alimentaire en endommageant la membrane cellulaire bactérienne. (**Nakayama et al. (2012)**) ont rapporté que les extraits de GT interagissant avec les protéines associées à la paroi cellulaire bactérienne forment des complexes de poids moléculaire élevé, inhibaient l'absorption et la sécrétion de substrats et inhibaient l'activité enzymatique.

## **I.2.Emballages alimentaires**

### I.2.1.Définition de l'emballage

« Tout objet, quelle que soit la nature des matériaux dont il est constitué, destiné à contenir et à protéger des marchandises, à permettre leur manutention et leur acheminement du producteur au consommateur ou à l'utilisateur, et à assurer leur présentation » (CNE.,2011).

L'emballage alimentaire ne doit pas présenter de danger pour la santé humaine, ne doit pas modifier les caractéristiques organoleptiques des aliments et ne doit pas altérer la composition des aliments. (LNE., (2013).

### I.2.2Les fonctions de l'emballage

L'emballage a les fonctions suivantes (CNE., (2010) :

- ✓ **Préserver/protéger** L'emballage alimentaire peut protéger les aliments contre les détériorations chimiques, biologiques et physiques et prolonger la durée de vie et assurer la qualité des produits
- ✓ **Informier** : Renseigner sur les informations légales et obligatoires et diffuser des informations liées aux caractéristiques propres au produit, afin d'éviter les mauvais usages.
- ✓ **Regrouper** : Rassembler les produits en unités manipulables, assurer l'appréhension et faciliter la mise en rayon, etc.
- ✓ **Transporter/Stocker** : Assurer la livraison du lieu de production au lieu de vente sans dommages et assurer les possibilités de rangement chez le consommateur, etc.
- ✓ **Faciliter l'usage** : Faciliter l'ouverture pour certains groupes de consommateurs, etc.
- ✓ **Industrialiser l'opération de conditionnement du produit** : Garantir la sécurité des employés responsables du conditionnement, etc.
- ✓ **Etre visible et véhiculer les valeurs de la marque de l'entreprise** : Faciliter l'acte d'achat et garantir l'acceptabilité pour le consommateur, etc (Benslimane., 2014 ; Trinetta.,2016).

### I.2.3. Le polyacide lactique (PLA)



**Figure07 :PLA(Dorgan et al ., 2010).**

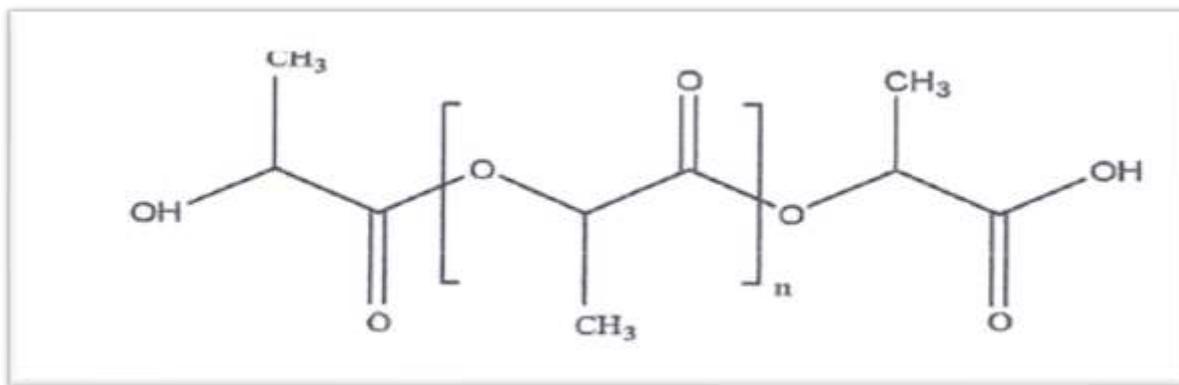
Le polyacide lactique (PLA) est un matériau thermoplastique biodégradable qui peut être produit à partir de ressources renouvelables. Le polymère est d'un intérêt pour la production de films pour des applications d'emballage. Cependant, la plastification du PLA est nécessaire afin d'obtenir des films ayant une flexibilité suffisante (Sungsanit,et al., 2010) et limiter sa dégradation (Dorgan et al ., 2010).

Comme la majorité des polyesters aliphatiques, le PLA présente une stabilité thermique médiocre en milieu fondu. De nombreuses réactions à l'origine de la diminution de la masse molaire du PLA peuvent se produire pendant la mise en forme sous l'effet de la température, du temps de séjour, du cisaillement, de l'hydrolyse due aux traces d'eau restantes, la dépolymérisation, coupures de chaîne aléatoire thermo-oxydante, la formation d'oligomères cycliques d'acide lactique de faible masse molaire.

Ainsi, pour diminuer la dégradation thermique du PLA, il est recommandé de sécher convenablement le polymère avant l'opération de mise en forme afin d'éviter la réaction d'hydrolyse en milieu fondu. Des agents stabilisants peuvent aussi être employés afin de limiter la dégradation du PLA. (Dorgan JR.,2010).

#### I.2.3.1. Structure et synthèse du PLA

Le PLA est un polyester aliphatique, linéaire, thermoplastique rigide qui est composé d'éléments constitutifs d'acide lactique (acide 2-hydroxy-propénoïque) (Pluta et al.,2007)



**Figure 8:** Structure moléculaire du Poly (acide lactique) (Dana et al., 2006)

### I.2.3.2 Propriétés du PLA

Le PLA présente les propriétés suivantes (Anthony Loiseau.,2009)

- ❖ Une rigidité importante.
- ❖ Une très bonne propriété optique en termes de transparence et de brillance.
- ❖ De bonnes propriétés barrières aux graisses, aux huiles et aux arômes.
- ❖ Des propriétés barrières aux gaz (CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>), ce qui lui permet d'être intermédiaire aux différents polymères de grande diffusion.
- ❖ Une faible tension superficielle permettant une impression facile.
- ❖ Soluble dans majorité des solvants organiques communs comme le THF, l'acétone, le chloroforme.
- ❖ le PLA est sensible à la conjugaison de l'humidité, et de la température. Il est recommandé de sécher le polymère avant utilisation.

**Tableau II:** Les propriétés physico-chimiques et mécaniques du PLA (Okada et al .,1995)

Caractéristiques	PLA
Densité	<b>1.25</b>
Température de transition vitreuse (°C)	<b>58</b>
Température de fusion (°C)	<b>165-180</b>

Elongation à la rupture (%)	<b>9</b>
Biodégradabilité à 60 jours en compost (%)	<b>100</b>
Perméabilité à la vapeur d'eau (g.m-2j-2) à 25°C	<b>172</b>

# **Chapitre II**

## **Stress oxydatif et système antioxydant**

## II. Stress oxydatif et système antioxydant

### II.1. Stress oxydatif

Le stress oxydant ou le stress oxydatif, est défini comme un déséquilibre entre la production d'oxydants et les mécanismes de défense antioxydant au sein d'un même organisme, ce qui conduit à des dommages dans les biomolécules comme les lipides, les protéines et les acides nucléiques. Ces dommages sont impliqués dans le développement de nombreuses pathologies chroniques notamment le cancer, le diabète, les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires, le vieillissement prématuré et les maladies neurodégénératives (**Matschke et al., 2019 ; Guillouty, 2016**). Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité des radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas de ressources antioxydantes (vitamines, oligoéléments, enzymes) suffisantes pour les éliminer (**Niki, 2018; Tu et al., 2019**)

### II.2. Espèces réactives ou radicaux libres.

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atome ou molécule) contenant un ou plusieurs électrons non appariés dits électrons célibataires, ces radicaux peuvent se former par transferts mono-électroniques ou par scission homolytique de liaison covalente. Cette molécule est extrêmement instable et réagit rapidement avec les molécules voisines non radicalaires. La formation des radicaux libres se fait de manière spontanée et continuellement dans l'organisme humain. Le maintien d'un niveau cytotoxique de ROS est assuré par des systèmes antioxydants (**hocine & Gorinec, 2017**). Plus de 90 %, de l'oxygène consommé par les cellules est catalytiquement réduit par quatre électrons pour produire deux molécules d'eau. Cependant, l'O<sub>2</sub> peut être réduit par moins de quatre électrons, par certaines oxydases, donnant ainsi naissance à des espèces oxygénées partiellement réduite et hautement réactives appelées espèces réactives de l'oxygène (ERO). Les espèces réactives oxygénées (ERO) incluent les radicaux libres comme le radical hydroxyle (OH.), le radical superoxyde (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) et sa forme protonée (HO<sub>2</sub>.), le radical peroxy (ROO.) et les espèces non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et l'oxygène singulet (O<sub>2</sub>) sont des molécules hautement réactives produites dans les organismes vivant sous des conditions physiologiques et pathologiques. D'autres espèces radicalaires dérivent de l'azote nommés les espèces réactives du nitrogène incluent le radical monoxyde d'azote (NO.), l'anion peroxydite (ONOO<sup>-</sup>), le radical dioxyde d'azote (NO<sub>2</sub>.) et d'autres oxydes d'azote sont produit par la réaction du monoxyde d'azote avec l'O<sub>2</sub>. (**Santo et al., 2016**).

### II.3. Sources des espèces réactives

Les ER peuvent être produits à partir des sources endogènes et/ou exogènes.

#### II.3.1. Sources endogènes

Parmi les sources endogènes, on peut citer les enzymes de la chaîne respiratoire mitochondriale, la NADPH oxydase, la xanthine oxydase, la NO synthase, le cytochrome P450 et les peroxyosomes. En outre, quelques métaux de transition tels que le fer et le cuivre peuvent générer des ER par la réaction de Fenton (**Poprac et al., 2017**).

#### II.3.2. Sources exogènes

Les espèces réactives dans un système biologique peuvent être produits par plusieurs facteurs exogènes comme :

Le rayonnement solaire : les rayonnements ultraviolets induisent une rupture des liaisons dans les molécules réactives ce qui favorise la formation des radicaux libres (**Santos-Sánchez et al., 2019**).

**Les xénobiotiques:** l'organisme tend généralement à convertir les substances chimiques étrangères (xénobiotiques) en substances moins dangereuses et moins toxiques (détoxification), en favorisant la libération des radicaux libres. En fait, la toxicité de nombreux médicaments est due à leur conversion en métabolites de nature radicalaire. En plus, certains métaux lourds peuvent favoriser la formation des radicaux libres lorsqu'ils sont absorbés massivement par l'organisme (**Grara et al., 2012**).

La présence des contaminants, des additifs ou des pesticides dans les aliments peuvent également devenir une source de radicaux libres.

**Les maladies:** les radicaux libres se produisent également durant certaines pathologies. Lors d'une crise cardiaque, par exemple, l'apport d'oxygène et de glucose musculaire suspendu favorisent la production de nombreux radicaux libres (**Santos-Sánchez et al., 2019**).

Tableau III : sources endogènes des ER.

Enzyme	Réaction catalysée	ER généré	Référence
NADPH oxydase	$\text{NADPH} + 2\text{O}_2 \longrightarrow \text{NADP}^+ + \text{H}^+ + 2\text{O}_2^{\bullet-}$	Anion superoxide ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ )	(Garrido-urbani <i>et al.</i> , 2014)
Xanthine oxydase (XO)	$\text{Hypoxanthine} + \text{O}_2 \longrightarrow \text{Xanthine} + \text{O}_2^{\bullet-}$	Anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ )	(Favier, 2003)
NO synthase	$\text{Arginine} + \text{O}_2 \longrightarrow \text{Citrulline} + \text{NO}$	Monoxyde d'azote (NO)	(Santos-Sánchez <i>et al.</i> , 2019)
Cytochrome P450	$\text{O}_2 + 1 \text{ é} \longrightarrow \text{O}_2^{\bullet-}$	Anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ )	(Delattre <i>et al.</i> , 2005)
Peroxisome (Oxydase)	$\text{RH}_2 + \text{O}_2 \longrightarrow \text{R} + \text{H}_2\text{O}_2$	Peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )	(Delattre <i>et al.</i> , 2005)

#### II.4. Dommages biologiques causés par le stress oxydatif

Le stress oxydatif a été décrit réellement comme un facteur étiologique crucial impliqué dans diverses maladies chroniques humaines telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, les maladies neuro-dégénératives, l'inflammation, le diabète et le vieillissement (**Ghedadba et al., 2015**). Dans des conditions physiopathologiques, la production des ER dépasse la défense antioxydante naturelle des cellules, en provoquant des altérations cellulaires et tissulaires plus ou moins graves. Ces dommages oxydatives touchent divers biomolécules, en particulier les protéines, les lipides et l'ADN (Figure 1), et conduisent à la dégradation et à la mort des cellules (**Ghedadba et al., 2015**).

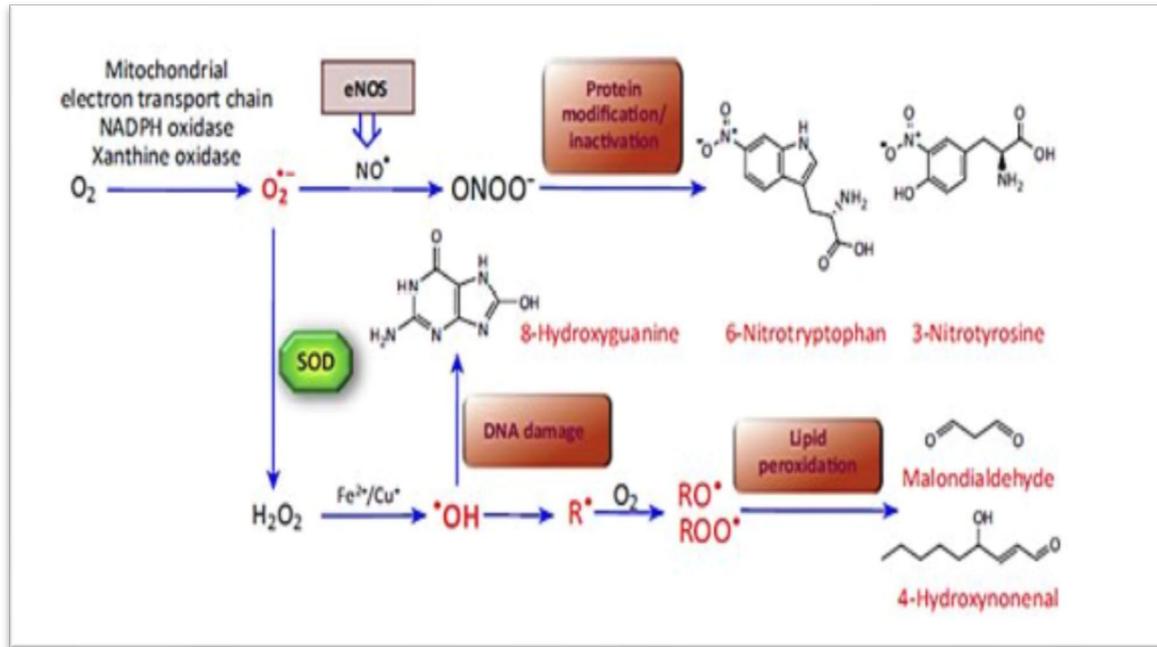


Figure 09: dommages induits par le stress oxydatif (Poprac et al., 2017).

## II.5. Conséquence du stress oxydatif

### II.5.1. Peroxydation lipidique

L'attaque des doubles liaisons lipidiques membranaires par les radicaux libres induit des processus d'oxydations en cascade puis une désorganisation complète de la membrane ; c'est la peroxydation lipidique (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Dans un premier temps, un radical libre ajoute un oxygène pour former un radical peroxyde ( $ROO^{\bullet}$ ) qui devient suffisamment réactif pour arracher un proton d'un acide gras voisin, en propageant ainsi la réaction en chaîne (Haleng et al., 2007).

### II.5.2. Oxydation des protéines

Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoque l'oxydation de certains résidus et des groupements carbonylés, des clivages des chaînes peptidiques, des ponts intra- et inter-chaînes peptidiques et, par conséquent, une agrégation et une inactivation de plusieurs molécules protéiques (Haleng et al., 2007).

### II.5.3. Dégradation d'ADN

Les radicaux  $O_2^{\bullet-}$  et  $OH^{\bullet}$  peuvent interagir avec les désoxyribose et les bases puriques et pyrimidiques de l'ADN. Non réparés, les lésions induites entraînent des modifications géniques et des mutations tout en conduisant à l'altération du message génétique et par conséquent au déclenchement du cancer et du vieillissement (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

## **I.6. Système antioxydant**

### **I.6.1. Définition**

Un antioxydant est une substance qui, à faibles concentrations, retarde ou empêche l'oxydation d'un substrat. La structure chimique de cette substance permet de comprendre le mécanisme de la réaction antioxydante. En fait, les antioxydants font l'objet de nombreux travaux car, en plus de leur utilisation comme conservateurs dans les produits alimentaires, ils interviennent dans le traitement de nombreuses maladies liés au stress oxydant (**Belhadj Tahar et al., 2015**).

### **I.6.2. Classification des antioxydants**

Les systèmes biologiques ont une variété d'antioxydants capables de contrôler les endommagements cellulaires et tissulaires provoqués par les ERO. En général, ces antioxydants sont classés en se basant sur leur nature biologique. Pour cela on peut distinguer deux grandes classes d'antioxydants : des antioxydants enzymatiques et d'autres non enzymatiques (**He et al., 2017**).

#### **I.6.2.1. Antioxydants enzymatiques**

Les enzymes antioxydants représentent une arme de défense majeure contre le stress oxydatif. Ils sont capables de s'adapter à l'évolution des niveaux d'oxydants afin de maintenir l'équilibre oxydant/antioxydant (**Siti et al., 2015**).

##### **a. Superoxyde dismutase (SOD)**

La SOD est l'enzyme de détoxification la plus importante et la plus puissante de la cellule. Elle est responsable de la réaction de dismutation de  $O_2 \bullet^-$  en  $H_2O_2$  catalysées par la suite par la catalase ou le GPx (**Santos-Sánchez et al., 2019**).

##### **b. Catalase (CAT)**

La catalase, enzyme antioxydant importante, assure la conversion directe d' $H_2O_2$  en oxygène et en eau et complétant ainsi le processus de détoxification initié par la SOD (**Guemmaz et al., 2018**). Elle se trouve principalement dans les peroxysomes et elle utilise le fer ou le manganèse comme cofacteur (**Santos-Sánchez et al., 2019**).

### c. Glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase agit en neutralisant l' $H_2O_2$  dans l'eau et les peroxydes lipidiques au niveau des mitochondries et parfois dans le cytosol à l'aide du glutathion (Pieme et al., 2017).

#### I.6.2.2. Antioxydants non enzymatiques

Lorsqu'un organisme est exposé à une concentration élevée des ERO, le système antioxydant enzymatique (endogène) est compromis et ne garantit pas une protection complète de l'organisme. Pour compenser ce déficit, le corps utilise des antioxydants non enzymatiques, qui peuvent être soit endogènes, tel que le glutathion, ou exogènes dont les plus importants sont les composés phénoliques (flavonoïdes), les vitamines (C et E) et certains minéraux (le sélénium et le zinc). (Magdalena Gornicka et al. ; 2019)

#### ❖ Vitamine C

L'acide ascorbique ou "vitamine C" est un antioxydant monosaccharide trouvé chez les animaux et les plantes. En revanche il ne peut pas être synthétisé chez l'homme (Lobo et al., 2010). Il existe physiologiquement sous la forme de l'anion ascorbate. La vitamine C donne des électrons à d'autres composés et empêche leur oxydation (Asima et al., 2014). C'est un agent réducteur et peut réduire et ainsi neutraliser les ROS tels que le peroxyde d'hydrogène (Lobo et al., 2010).

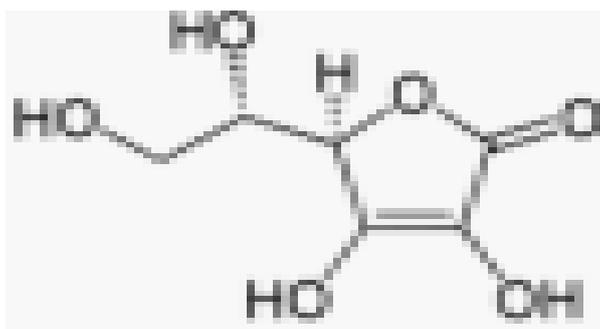


Figure 10: structure chimique de la vitamine C (Popova, 2019)

#### ❖ Vitamine E

Est un composé lipophile mono phénolique (Descamps et al., 2006) qui sont des vitamines liposolubles ayant des propriétés antioxydantes, piégeant les radicaux libres (Lobo et al., 2010) la vitamine E, comme la vitamine C, est très efficace du fait de sa faible proportion à être un donneur d'électrons. Elle agit principalement par le transfert direct d'atomes

d'hydrogène, elle joue un rôle important et abondant qui protège la membrane cellulaire de la peroxydation lipidique. (Pourrut, 2008)

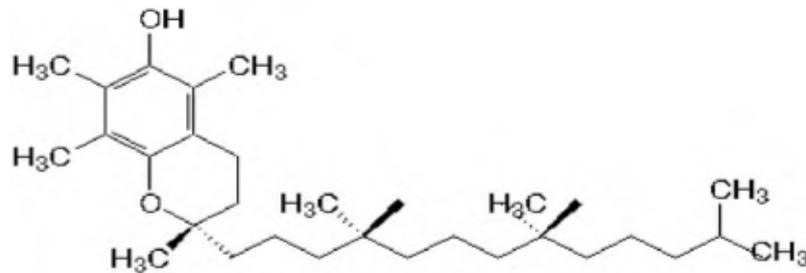


Figure 11 : Structure chimique de la vitamine E (Annahazi et al., 2007)

#### ❖ Les caroténoïdes

Les caroténoïdes, y compris la vitamine A, qui se trouve dans les aliments, est appelée caroténoïdes ou provitamine A. Fruits jaunes et oranges ainsi que légumes à feuilles vertes fournissent la plupart des caroténoïdes à notre alimentation. Alpha- et bêta-carotène, lycopène et cryptoxanthine sont les principaux caroténoïdes dans la nourriture ainsi que dans le corps). Ils peuvent réduire ou piéger les espèces réactives de l'oxygène et interférer avec des réactions radicalaires. Ils peuvent ainsi bloquer ou limiter la peroxydation lipidique (Moussa et al., 2019).

#### II.7. Antioxydants d'origine végétal :

A la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, les antioxydants sont utilisés pour plusieurs procédés industriels comme la prévention de la corrosion des métaux et ils sont également utilisés comme agent de conservation pour les aliments (Emad et al., 2017). Les plantes constituent des sources très importantes d'antioxydants naturels dont l'efficacité est plus reconnue aussi bien dans l'industrie agroalimentaire que pour la santé humaine, comme les tocophérols. (zeenat et al., 2018)

##### ➤ Tocophérols :

La grande stabilité des huiles végétales, dans les conditions d'oxydation, est due à la présence d'un taux élevé d'antioxydants naturels dont les plus importants sont les tocophérols qui se présentent sous quatre formes isométriques: alfa, bêta, sigma et gamma, Les tocophérols protègent contre l'oxydation naturelle des acides gras, en particulier les acides gras

polyinsaturés (AGPI). (zeenat et ses collaborateurs en 2018) ont signalé qu'une molécule de tocophérol peut protéger 103 à 106 molécules d'AGPI.

### II.7.1. Polyphénols naturels comme antioxydants

Les composés phénoliques sont considérés comme l'une des classes abondantes de produits phytochimique ayant des qualités et des fonctions de promotion de la santé. Parmi les propriétés biologiques importantes des polyphénols végétaux leur activité antioxydante a suscité un grand intérêt, un certain nombre d'étude ont montré que les polyphénols végétaux peuvent être utilisés comme antioxydants contre différentes maladies induites par le stress oxydatif, les polyphénols sont divisés en deux groupes principaux, les flavonoïdes et les non flavonoïdes. (Dimitrios et al., 2019)

#### II.7.1.1. Non flavonoïdes

Comprennent les acides phénoliques

##### a. Acides phénoliques :

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique ( Brune ton J. 2008.)

##### a.1. Acides hydroxycinnamiques

Dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure générale de base de type (C6-C3). Ces acides sont très communs aussi bien sous forme libre que sous forme combinée à l'état d'esters ou hétérosides Cette catégorie est abondante dans les végétaux et les aliments, notamment les épices, les fraises, certains fruits rouges et l'oignon dans lesquels les concentrations peuvent atteindre plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de fruits frais (Bravo L. 1998).

##### a.2. Acides hydroxybenzoïques

Sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure générale de base de type (C6-C1). Ces composés ont une distribution très large. Rarement libres, ils sont souvent estérifiés (Skerget M .et al.,2005) et peuvent également être amidifiés ou combinés avec des sucres (O-acylglucosides, Oarylglucosides) ou des polyols tels que l'acide quinique (Bruneton J. 2008).

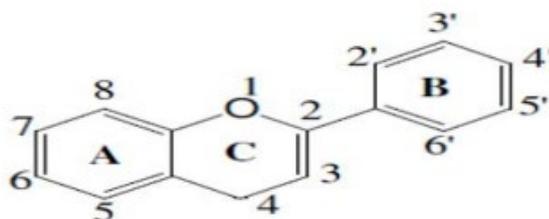
L'acide caféique est le principal représentant de cette catégorie. Il est présent dans de nombreux végétaux (graine de café, tomate, olive, pomme), en particulier dans les fruits.

Il représente 75 à 100% de la teneur totale en acides hydroxycinnamiques de la majorité des fruits, principalement sous forme d'ester de l'acide quinique (acide chlorogénique) ( **Manach C. et al 2004**) L'acide chlorogénique est présent en très forte concentration dans la pomme (430 mg/kg) (**Podsdek A. et al .,2000**) et dans le café, une seule tasse peut en contenir de 70 à 350 mg (**Manach C. et al 2004**)

### II.7.1.2. Les flavonoïdes

Sont les polyphénols les plus répandus dans les tissus végétaux, ils sont présents généralement dans les grains, la noix, les épices, les herbes aromatiques, les céréales (flavones apigénines, et lutéolines), et les agrumes : hespéridine et la nargine Les flavonoïdes contribuent à la teinte brillante des couleurs bleus écartes et oranges des feuilles, fleurs et fruits (**PANCHE et al., 2016**).

Les flavonoïdes se composent de 15 atomes de carbone et forment 3 cycles (C6-C3-C6) nommés A, B et C. La variation de structures des flavonoïdes résulte de l'ampleur et de la configuration des réactions d'hydroxylation, phyénylation, d'alcalisation et de glycosylation qui modifient les structures moléculaires de bases, ils sont généralement présents sous forme glycosylée dans la plante (**STALIKAS et al., 2007**).



**Figure 12 : Structure des flavonoïdes (Teplova et al.,2017)**

### II.7.1.2.1. Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont classés comme suit :

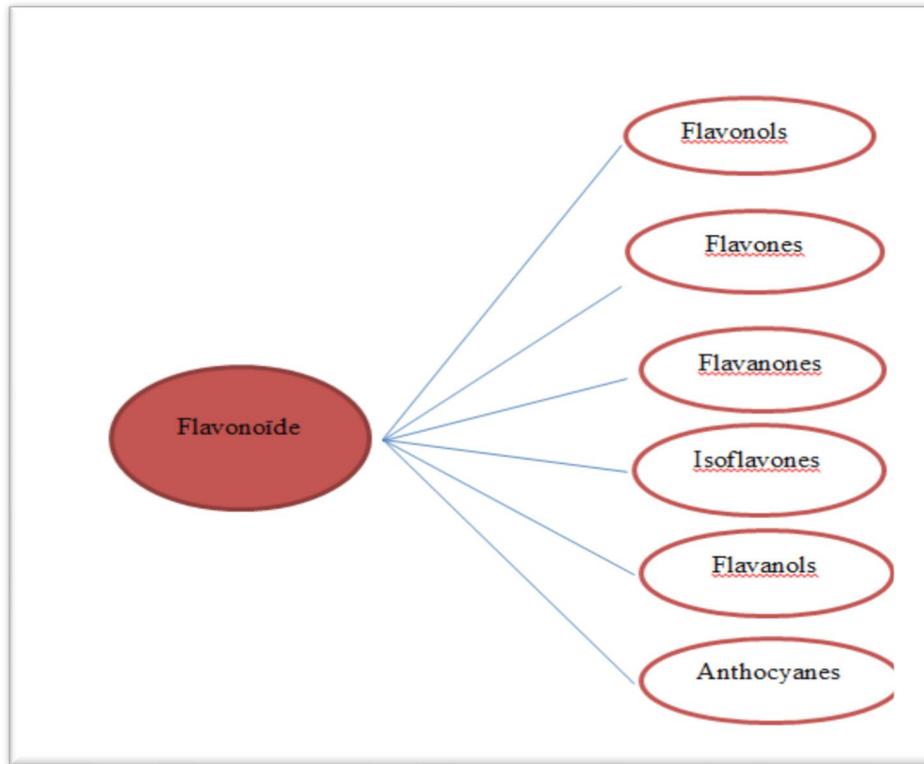


Figure 13 : Distribution des flavonoïdes présents dans les plantes (Katarzyna et al.,2017)

#### ✓ Flavonols

Les flavonols ont une double liaison entre C2 et C3, avec un groupe hydroxyle en position C3. Les flavanols sont la sous-classe de flavonoïdes la plus complexe, allant des simples monomères (catéchine et son isomère épicatechine) aux oligomères (procyanidines) et autres composés. (nikolina et al 2017)

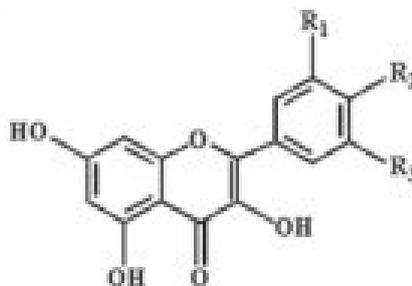


Figure 14: Structure chimique de flavonols ( Munawar et al.,2016)

## ✓ flavones

Les flavones ont une double liaison entre C2 et C3 et sont les flavonoïdes les moins communs. Les flavones se distinguent des flavonols par l'absence de OH en C3. Les flavones se trouvent essentiellement dans le céleri, le persil et quelques fines herbes. (CROZIER et al 2009)

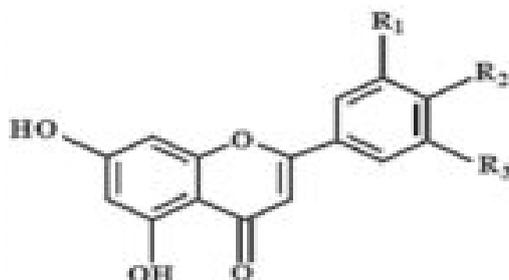


Figure 15 : Structure chimique de Flavones. (Munawar et al.,2016)

## ✓ Flavanones

Les flavanones sont associées à de nombreux avantages pour la santé en raison de leurs propriétés de piégeage des radicaux libres, ces composés provoquent le goût amer des jus et des écorces d'agrumes, ils sont également connus sous le nom de flavonoïdes. (panche et al .,2016)

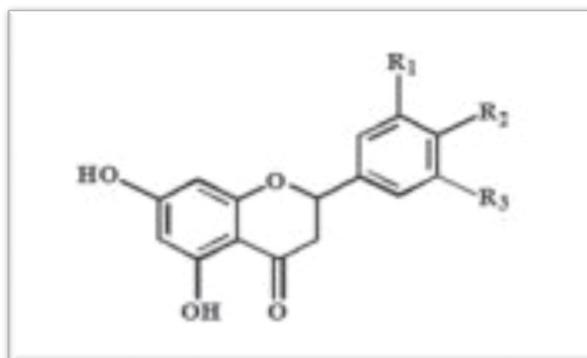


Figure 16 : Structure chimique des flavanones. (Munawar et al.,2016)

## ✓ Isoflavones

Les isoflavones diffèrent des autres flavonoïdes, par la liaison de l'anneau B à l'hétérocycle C à C3, et non pas à C2 (Crozier et al., 2009). Les isoflavones sont contenues presque exclusivement dans les légumineuses (D ARCHIVIO et al.,2007)

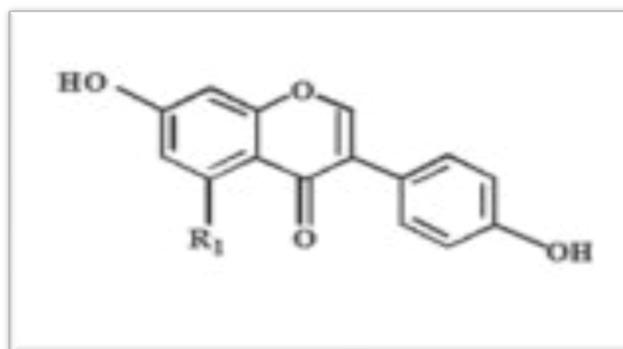


Figure 17 : Structure chimique de Isoflavones. (Munawar et al.,2016)

#### ✓ Les anthocyanes

Les anthocyanes sont des pigments hydrosolubles, responsables de la plupart des couleurs rouge, bleu et violet des fruits, légumes et fleurs (MAZZA et al., 2004). Les anthocyanes sont largement distribués dans l'alimentation humaine, ils se retrouvent dans le vin rouge, certaines variétés de céréales et certains légumes mais ils sont plus abondants dans les fruits. (D'ARCHIVIO et al., 2007)

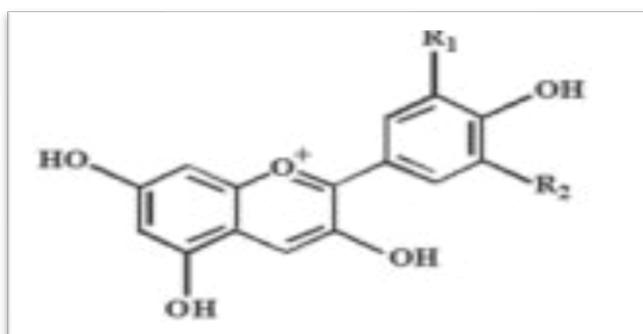
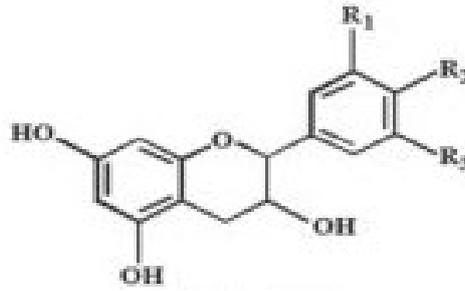


Figure 18 : Structure chimique d'anthocyanine. (Munawar et al.,2016)

#### ✓ flavanols

flavanols sont un sous-groupe de flavonoïdes avec un carbone C3 saturé dans l'hétérocycle C. Ils représentent la sous-classe de flavonoïdes la plus complexe allant des simples monomères (catéchine et épicatechine), aux polymères de proanthocyanidines qui sont connus aussi comme des tanins condensés (D'ARCHIVIO et al., 2007)



**Figure 19** : Structures chimique de Flavonols (Munawar et al.,2016)

### II.7.1.3.Tanins

Les tanins sont en quelque sorte des métabolites secondaires principalement disponibles les aliments et les boissons à base des plantes. Le nom « tanin » Proviend du processus industriel de « tannage du cuir » dans lequel les peaux d'animaux sont transformées en cuir par le biais d'un traitement en aval (AKhlash et al.,2019)

#### II.7.1.3.1. Classification des tanins

En raison de l'énorme diversité structurale des tanins, un système de classification systématique basé sur des caractéristiques structurales spécifique :

##### ➤ Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont généralement composés d'une molécule de noyau de polyol, généralement du glucose, mais d'autre molécules de noyau peuvent inclure le glucitol l'ammamélose et l'acide shikimique, dont le groupe hydroxyle des polyols de noyau a été estérifié avec l'acide gallique. (Naumann et al.,2017)

##### ➤ Tanins condensées

Les condensées ou les proanthocynidines, sont constituées d'oligomères ou de polymères de sous -unités flavan-3-ol (Naumann et al .,2017) .Ils sont connu lorsque le couplage des unités individuelles se fait par la position C-4 de la première unité liée à C-8 ou C-6 de la deuxième unité , qui peut avoir un modèle de substitution différente. Les tanins trouvés dans le vin rouge et blanc, leur importance pour la vinification dépendent de leur réaction spécifique aux protéines qui à son tour est directement liée à leur degré de polymérisation. (K Khanbanaee et al .,2001)

# **Chapitre III**

## **Matériels et**

### **Méthodes**

### III.1. Matière végétale

La matière végétale utilisée au cours de cette étude est le thé vert (*Camellia sinensis*) d'une marque DIAF acheté dans une supérette à Bejaïa Le 12 Avril 2022 à 09:00h.



(1)

(2)

(3)

Figure 20 : Thé vert

### III.2. Préparation des échantillons

Dans un bécher en verre, mettre 10 g de poudre de thé vert dans 100ml d'eau distillé, et laisser agiter pendant 2 heures, puis filtrer le mélange pour récupérer l'extrait liquide. (Figure 21).



(1)

(2)

(3)

(4)

Figure 21 : les différentes étapes de préparation des extraits de thé vert.

### III.3. Rendement des extractions

Les extraits sont placés dans l'étuve ventilée réglée à 40°C jusqu'à l'obtention d'une matière sèche. Pour connaître la masse de d'extrait sec, nous avons pesé les contenants (bêcher) avant et après l'opération de séchage.

Les résultats sont exprimés en (%) et déterminés en appliquant la formule suivante :

$$R \% = \frac{PF * 100}{PI}$$

**R** : Rendement de l'extraction en %.

**Pi** : Poids initial avant séchage.

**Pf** : Poids final de l'extrait après séchage.

### III.4. Analyse qualitative

#### III.4.1. Le screening phytochimique

L'étude photochimique qualitative permet de détecter les différentes familles chimiques présentes dans les feuilles de l'olivier sauvage par des réactions de coloration et précipitation.

- **Flavonoïdes : Réaction à la cyanidine**

1ml de chaque extrait est ajouté à 100ul de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition de la colleur rouge ou orange. (Sofowara, 1993)

- **Tanins**

A 1 ml de l'extrait est ajouté 200 ul de FeCL<sub>3</sub> 1%. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu-noir. (Van-Burden et Robinson ,1981).

- **Quinones libres**

Sur un volume de chacun de nos extraits, on ajoute quelques gouttes de NaOH 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des qui libres (Oloyde.OI.,2005)

- **Saponosides**

10 ml de l'extrait est agité pendant 15 secondes puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieur à 1 cm indique la présence de saponosides (N' **Guisan. K et al.,2009**). (Ou poudre + eau)

- **Terpénoïdes : Test de Slakowski**

5 ml de l'extrait est ajouté à 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'un anneau marron – rouge à l'interphase indique la présence des trapézoïdes (**Khan.AM. Et al.,2011**).

- **Identification des glucosides**

A 2g de poudre de feuilles, on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique, la formation d'une coloration rouge brique ensuite violette traduit la présence des glucosides.

- **Mucilages**

Introduire 1ml d'extrait dans un bécher puis ajouter 5 ml d'alcool absolu et laisser agir pendant 10 min. La réaction positive se traduit par l'apparition d'un précipité floconneux.

- **Irridoïdes**

A 2 ml D'extrait on ajoute quelque gouttes d'acide chlorhydrique, et on chauffe le mélange. Une coloration bleu est obtenue.

- **Composés réducteurs**

Introduire 1 ml d'extrait dans un tube à essai, ajouter 2 ml de liqueur de Fehling, incubé pendant 8 min dans un bain Marie à 100C°. L'apparition d'une coloration rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

### **III.4.2. Chromatographie Phase liquide Haute pression**

L'analyse des composés phénolique a été réalisé avec une HPLC de type Dionix UltiMate 3000. Les échantillons ont été filtrés à travers un filtre à membrane de 0,45µm et 20 µL de chaque échantillon ont été injectés pour l'analyse HPLC. La phase mobile était composée de 3 % acide formique (solvant A) et méthanol de qualité HPLC (solvant B) à un débit de 1ml/min. L'élution a été réalisée avec un gradient commençant à 20% B pour atteindre 60% B à 30 min, 100% B à 37 min et 20% B à 40 min. Les Chromatogrammes ont été enregistrées à 280 nm. Des composés phénoliques ont été identifiés en comparant les temps de rétention et les données spectrales avec celles des normes authentiques.

### III.4.3. La spectroscopie Infrarouge

La spectroscopie IRTF est une technique d'analyse qualitative et quantitative utilisée pour l'identification des groupements fonctionnels qui apparaissent sous forme de bande d'absorption. Elle consiste à soumettre la molécule au rayonnement IR. Les spectres IR du PLA, et de l'extrait aqueux de thé vert ont été enregistrée à l'aide d'un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier de modèle SHIMAZU FTIR-8400S, piloté par un ordinateur muni d'un logiciel de traitement avec une résolution de  $4\text{ cm}^{-1}$ , dans la région  $4000\text{ cm}^{-1}$  à  $400\text{ cm}^{-1}$ .

### III.5. Analyse quantitative

#### III.5.1. Dosage des polyphénols

- **Principe**

Le dosage des polyphénols dans les extraits étudiés (thé vert), est effectué selon la méthode de Follin Ciacalten (**Boizot et al., 2006**). Le réactif utilisé est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$ ) de couleur verte. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif, qui entraîne la formation d'un nouveau complexe d'oxydes métalliques de tungstène et de molybdène de couleur bleu. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

- **Mode opératoire**

Dans des tubes à essais et à l'aide d'une micropipette,  $200\mu\text{l}$  de chaque extrait (dilué 1/100) est ajouté à 1ml du réactif Follin-Ciacaltea (dilué 1/10), puis agité pendant 1min. Après 8 min d'incubation à température ambiante, 1ml de carbonate de sodium 7.5% ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) sont additionnés au mélange. Puis les tubes sont maintenus à une température ambiante et à l'obscurité pendant 1heure. L'absorbance est ensuite lue à  $\lambda=765\text{nm}$  par un spectrophotomètre UV-Visible. La concentration en polyphénols est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard. Les concentrations sont exprimées en mg Equivalent acide gallique/1g de la matière sèche.

### III.5.2. Dosage des tanins

Cette méthode a été décrite par Swain et Hillis (1959), elle implique la réaction de la vanilline préparée dans une solution d'acide sulfurique à 70% avec le noyau A de flavan-3-ols ou des flavan-3,4-diols pour former un produit de condensation rouge qui peut être mesuré par la spectrophotométrie à 500 nm .

La méthode de la vanilline a été utilisée pendant de nombreuses années comme méthode colorimétrique pour le dosage des tanins condensés en raison de sa sensibilité et de sa simplicité (Desphande et al., 1986).

Le protocole de dosage est le suivant : 1ml de chaque extrait (dilué 1/100), est ajouté à 2ml de la vanilline (1g/100ml d'acide sulfurique 70%). L'ensemble est mélangé, les tubes sont incubés pendant 20 min dans le bain marie à une température de 50 C°. La lecture est faite à l'aide d'un spectrophotomètre (Thermo) avec une longueur d'onde égale à 500 nm.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg Equivalent cyanidine par 100g de matière sèche (mgEC/100g de MS), en utilisant la formule suivante :

$$C(mgEC/100g) = \frac{(AbS * MM * FD * 1000)}{\varepsilon}$$

Abs : Absorbance à 530nm

MM : Masse molaire de la cyanidine (287.24g/mole)

FD : Facteur de Dilution (1/100)

$\varepsilon$  : Coefficient d'extinction molaire de la cyanidine ( $\varepsilon = 34700 \text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )

### III.5.3. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'Aluminium (Bahorum et al., 1996) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits. La méthode de dosage des flavonoïdes repose sur la capacité de ces composés à former des complexes chromogènes avec le chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>).

Le protocole de dosage est effectué comme suite : 1ml de chaque échantillon ou de standard quercétine (dilué dans l'éthanol), est ajouté à 1ml de la solution d'AlCl<sub>3</sub> (2%). Après 10min d'incubation, l'absorbance est lue à 430nm par un spectrophotomètre UV-Visible. Les concentrations des flavonoïdes des différents extraits sont déduites à partir de la courbe d'étalonnage, établie avec la quercétine, et sont exprimées en milligrammes équivalents quercétine par gramme de la matière sèche.

### III.5.4. Détermination de la teneur en pigments liposolubles

Les colorants ou « pigments » dont la plupart sont d'origine végétale forment une gamme très étendue (du jaune au bleu, en passant par le vert et même le noir). La chlorophylle, le lycopène et le  $\beta$ -carotène sont parmi les colorants les plus rencontrés et les plus utilisés dans les industries agroalimentaires. A des doses réglementées, ils ont des bénéfices pour la santé. Certains d'entre eux sont connus pour leurs activités antioxydantes, antimutagènes, voire anticarcinogènes (kamal et al., 2000; bouchet et al., 2005; ben mansour et latrach tlemcane, 2009)

Dans le but de quantifier leur teneur dans nos plantes, nous avons opté pour la méthode décrite par Barros et ses collaborateurs (2011). 150 mg de poudre végétale sont agitées vigoureusement après avoir ajouté 10 ml du mélange acétone-hexane (4/6.v/v) pendant 1 min puis filtrés. L'absorbance du filtrat est mesurée par la suite à différentes longueurs d'onde (453, 505, 645 et 663 nm)

La teneur en pigments est calculée suivant les équations indiquées ci-dessous et exprimée en mg/100g de matière végétale sèche.

$$\text{B-carotène (mg /100 g)} = 0.216 * A_{663} - 1.220 * A_{645} - 0.304 * A_{505} + 0.452 * A_{453}$$

$$\text{Lycopène (mg /100g)} = -0.458 * A_{663} + 0.204 * A_{645} - 0.304 * A_{505} + 0.452 * A_{453}$$

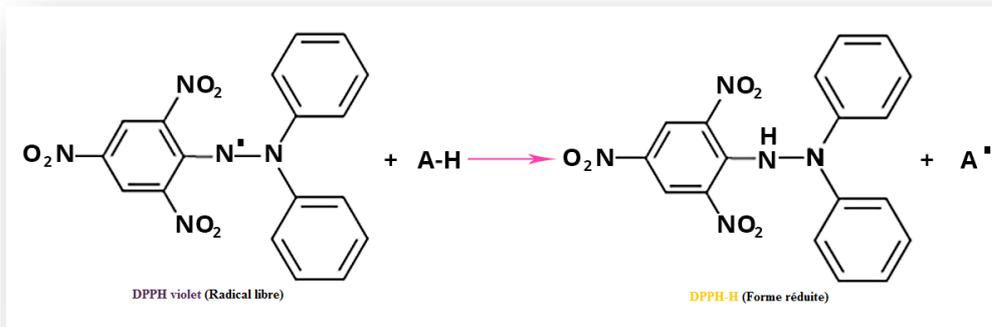
$$\text{Chlorophylle a (mg/100g)} = 0.999 * A_{663} - 0.0989 * A_{645}$$

$$\text{Chlorophylle b (mg/100g)} = 0.328 * A_{663} + 1.77 * A_{645}$$

### III.5.5 Activité anti-oxydante par la Réduction du radical DPPH \*

- **Principe**

L'évaluation du pouvoir antioxydant des différents extraits issus du thé vert (*Camellia sinensis* additionné avec quelques épices) est réalisée par le test DPPH qui est considéré comme un radical libre relativement stable. Le principe de cette méthode est basé sur la mesure du piégeage des radicaux libres de DPPH\* (1,1-diphényle-2-picrylhydrazyl) de couleur violette.



**Figure 22 :** Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH\* (*AnonymeVI*)

- **Mode opératoire**

Le protocole est le suivant : 1ml de chaque extraits est ajouté à 2ml de DPPH\* Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30min et la lecture de l'absorbance est faite contre un blanc à 517nm et le contrôle dont l'absorbance est mesuré dans les mêmes conditions que les extraits.

Les résultats du test DPPH\* sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) selon l'équation ci-dessous :

$$I\% = \left[ \frac{(\text{Abs Contrôle} - \text{Abs Extrait})}{\text{Abs Contrôle}} \right] \times 100$$

### III.5.6. Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)

Cette méthode est basée sur l'aptitude des extraits à réduire le fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>). Le mécanisme est connu comme étant un indicateur de l'activité donatrice d'électrons. Caractéristique de l'action antioxydante des polyphénols (**Yildirim et al ,2001**).

Elle consiste à mélange 1ml de l'extrait à différentes concentration avec 2.5 ml de tampon phosphate (0.2M, Ph 6.6) et 2.5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium (K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> à 1%(m/v). Le mélange obtenu est incubé à 50°C pendant 20 min, puis 2.5 ml d'acide trichloracétique (CCl<sub>3</sub>COOH) à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Le mélange est additionné 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de chlorure de fer (FeCl<sub>3</sub>) à 0.1%. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm (**Oyaizu,1986**).

L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testé. La concentration CE<sub>50</sub>, qui est définie comme étant la concentration effective à laquelle l'absorbance est égale à 0.5, est un indice utilisé pour

comparer et exprimer la puissance des capacités réductrices des substances bioactives. (Oyaizu,1986).

### III.6. Activité antibactérienne

#### III.6.1 Les souches testées

- **Choix des souches**

Les souches bactériennes choisies pour cette étude sont des bactéries pathogènes et impliquées fréquemment dans la contamination et l'altération des denrées alimentaires, nous avons sélectionné deux groupes de bactéries :

**Bactéries à Gram négatif (-) :** *Escherichia coli* (ATCC25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) et *Salmonella* .sp (souche hospitalier)

**Bactéries à Gram positif (+) :** *Staphylococcus aureus* résistant à la maticilline (SARM ATCC43300),

#### **Principe**

La méthode est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes. (Faucher et Avril, 2002).

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. (Michel, 2011).

#### **Mode opératoire**

##### ➤ **Préparation de l'inoculum**

A partir d'une culture pure des bactéries sur milieu d'isolement (gélose nutritive) ayant au maximum 24h, on racle à l'aide d'une pipette pasteur scellée quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Ensuite, on décharge la pipette pasteur dans 10 ml d'eau

physiologique stérile et on homogénéise la suspension bactérienne; son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland qui correspond à  $10^8$  UFC/ml, puis diluer pour obtenir un inoculum à  $10^6$  UFC/ml (Tyagi et Malik, 2011).

➤ **Préparation des boîtes de Pétri**

On fait couler aseptiquement le milieu de culture Agar de Muller Hinton (MH) en surfusion dans les boîtes de Pétri à raison de 20 ml par boîte puis laisser refroidir et solidifier sur la paillasse. Ensuite, tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, séchée de haut en bas, en stries serrées, répéter l'opération, deux fois en tournant la boîte de  $60^\circ$  à chaque fois (Guinoiseau, 2010).

➤ **Dépôt des disques**

Dans les conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques de papier wattman N°40 sont disposés sur l'agar,

➤ **Expression des résultats**

Après l'incubation des boîtes à  $37^\circ\text{C}$  pendant 24 heures, la lecture se fait par mesure de diamètre de la zone d'inhibition (un halo translucide autour du disque, identique à la gélose stérile) signifie l'absence de croissance bactérienne. Le diamètre de ces zones est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (y a compris le diamètre de disque de 6 mm). Les résultats de l'antibiogramme sont exprimés exclusivement à partir de la mesure du diamètre des halos d'inhibitions en mm (Baser et Buchbauer, 2010).

D'après (Ponce *et al.*, 2003). La sensibilité aux extraits (thé vert) est classée par le diamètre des halos d'inhibitions :

- Non sensible ou non résistante (-) pour les diamètres moins de 8 mm.
- Sensible (+) pour les diamètres de 8 à 14 mm.
- Très sensible (++) pour les diamètres de 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) pour les diamètres plus de 20 mm.

### III.7.Préparation des films Alimentaire

➤ **Préparation des films PLA pur et du PLA incorporé d'extrait de thé vert:** Les différentes étapes de préparation des films sont ; comme suit : 2 g de PLA *granulés* ont été

mises sous agitation magnétique dans une solution de chloroforme 20 ml pendant 2 à 3 h à température ambiante. Ensuite, la solution est séparée et on ajoute à une partie l'extrait à une proportion de 5% en continuant l'agitation pendant une heure ou plus. Les deux solutions sont versées dans des boîtes de Pétri et séchées à la température ambiante pendant 24 h pour permettre l'évaporation totale du solvant. Enfin, les films préparés sont démoulés.

Une caractérisation des films par Infra rouge est réalisée, et une évaluation de leur activité antibactérienne.

# **Chapitre IV**

## **Résultats et discussion**

#### IV.1.Rendement des extractions

Les résultats de rendement des extractions de thé vert représentés dans le tableau suivant :

**Tableau IV** : Rendement des extractions de thé vert

Echantillon	Rendement en %
Thé vert	13.066±0.907
Thé vert ( <b>Rezzagui. et al.,2009</b> )	1.5±0.05

Selon les résultats illustrés dans le tableau, le rendement de notre extrait de thé vert est de 13.066±0.907 % il est supérieur à celle de (**Rezzagui et al.,2009**) qui égale à 1.5±0.05% et ça revient à la source de (inde) et la méthode d'extraction (15g dans 1000L d'eau distillé)

Le rendement d'extraction dépend de plusieurs facteurs à savoir le temps, la température, le solvant d'extraction et la nature chimique de l'échantillon (**Su et al. 2005**).

#### IV.2.Etudes phytochimiques

L'étude phytochimique qualitative permet de détecter les différentes familles chimiques présentes dans les feuilles de thé vert par des réactions de coloration et de précipitation.

(1) : tanins, (2) : flavonoïdes, (3) : Irridoïde , (4) : composés réducteurs, (5) : Mucilage,(6) : Identification des glucosides , (7) : Saponosides ,(8) : terpenoïdes,(9) : Quinones libres

\*Après la réalisation des tests phytochimiques on observe que:

- ❖ **Les tanins** : Ce sont des composés polyphénoliques qui permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. La coloration verdâtre indiquée la présence des taux importants des tanins dans l'extrait du thé vert.
- ❖ **Les flavonoïdes** : L'apparition d'une coloration rouge indiquée que la richesse de l'extrait aqueux du *Camellia sinensis* des flavonoïdes
- ❖ **Les composés réducteurs** : L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des sucres réducteurs dans notre extrait.
- ❖ **Les terpenoïdes** : un terpénoïde est un produit naturel ou un composé apparenté structurellement dérivé de lisoprène. La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

- ❖ **Les saponosides** : sont des hétérosides à génie stéroïdique ou triterpénique dont les solutions aqueuses ont des propriétés tensioactives et aphrogènes, la formation d'une mousse d'hauteur supérieure à 1 cm indique que l'extrait de thé vert contient de saponines.
- ❖ **Identification des glucosides** : La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette traduit la présence des glucosides
- ❖ **Mucilages** : est une substance polysidique (composée de glucides) présente chez de nombreux végétaux, La réaction positive se traduit par l'apparition d'un précipité floconneux
- ❖ **Irridoïdes** : sont des composés bicycliques dans lesquels les variations structurales

Une coloration bleue est obtenue indique la présence de Irridoïdes.

- ❖ **Quinones libres** : L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres.

**Tableau V:** Tests photochimiques d'extrait aqueux de *Camellia sinensis*

Composé	Présence(+)/Absence(-)
Tanins	+
Flavonoïde	+
Irridoïdes	-
Composés réducteurs	+
Mucilage	+
Identification des glucosides	+
Saponosides	+
Terpénoïdes	+
Quinones libres	+

### IV.3. Analyses HPLC d'extrait Thé vert

Le profil chromatographique d'extraits Thé vert *analysés*

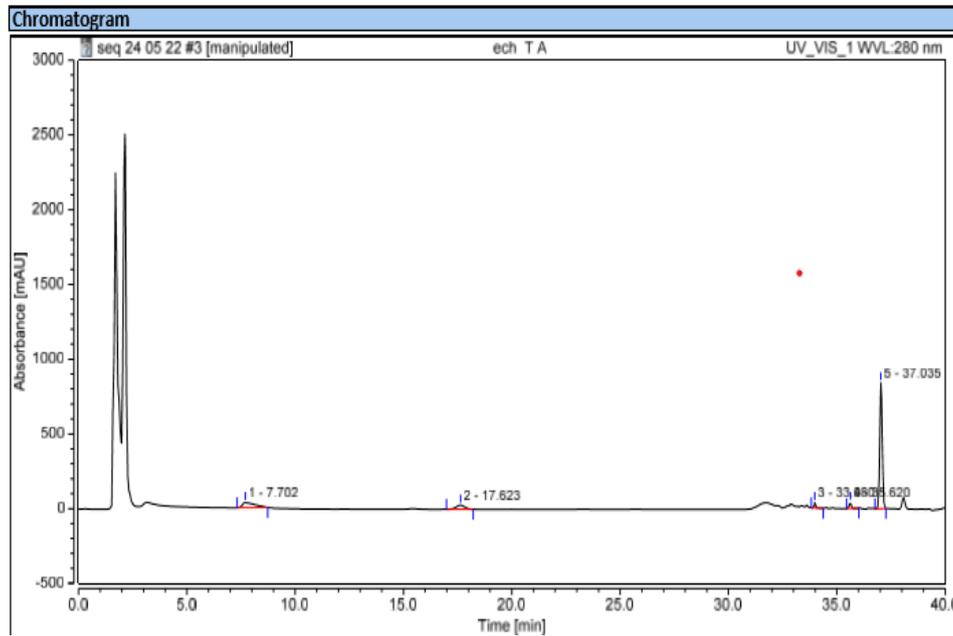


Figure 23 : Profil du chromatogramme de thé vert

Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount n.a.
1		7.702	23.429	35.016	15.11	3.56	n.a.
2		17.623	13.263	28.185	8.56	2.87	n.a.
3		33.980	2.375	36.275	1.53	3.69	n.a.
4		35.620	3.787	40.505	2.44	4.12	n.a.
5		37.035	112.173	842.819	72.36	85.76	n.a.
<b>Total:</b>			<b>155.026</b>	<b>982.800</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	

Tableau VI : des résultats HPLC :

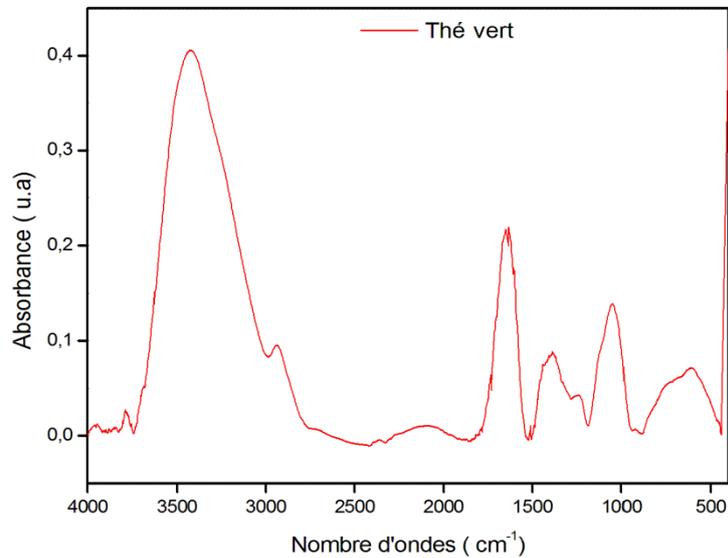
Les acides	Thé vert
Acide caffeique	+
Acide coumarique	+

(-) absences

(+) Présence

L'analyse par HPLC, Présente la présence de l'acide coumarique, Acide caffeique

#### IV.4. Analyse par spectroscopie infrarouge



**Figure 24:** Spectre infrarouge de thé vert

Le spectre IRTF représenté en figure 1 permet de déterminer les bandes caractéristiques d'extrait de thé .

- On remarque que la bande caractéristiques O-H de p polymère de thé et de thé vert est différente.
- 

#### IV.5. Teneur en polyphénols

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires les plus abondants dans les plantes avec plus de 8000 structures connues allant de composés simples tels que les acides phénoliques à des structures complexes telles que les tanins (**Dai et Mumper, 2010**). La teneur en polyphénols estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu pour extrait de thé vert à été rapportée en mg équivalent d'acide gallique/100ml d'extraits.

**Tableau VII : Teneurs en polyphénols pour thé vert**

Echantillon	Teneur en polyphénols (mg EAG/100ml)
Thé vert	884,738 ± 4,556
Thé vert ( <b>Barcirova,2010</b> )	54.012±0.096

Les teneurs en polyphénols des extraits the vert varient de 884,738 ± 4,556 mg EAG/100ml. Avec 54.012±0.096 mg EAG/100ml (**Brcirova,2010**) montrent que notre extrait est très riche en polyphénols. En effet la teneur phénolique une plante dépende d'un certain nombre de facteur à savoir les conditions climatiques, les pratiques culturelles, na maturité à la récolte et les conditions de stockage.

#### IV.6. Teneur en tanins

Les compositions chimiques de thé vert inclut des tanins, une famille chimique regroupant certains polyphénols ayant la propriété de condenser avec sucre ou une autre molécule à forte poids moléculaire. (**Bruneton Jean.,1999 ,Mossion Aurélie.,2007**)

Les tanins sont des substances d'origine organique que l'on trouve dans pratiquement tous les végétaux, et dans toutes leurs parties (écorces, racines, feuilles, etc.), caractérisées par leur astringence (sensation de dessèchement en bouche) (**Messai. ,2011**).

(**NGhedadba et al., 2015**) ont rapporté que l'extraction des tanins condensés dépend de leur nature chimique, du solvant utilisé et des conditions opératoires. Or, les teneurs en tanins condensés peuvent être variables aussi en raison de plusieurs facteurs tels que : la sensibilité des tanins à des plusieurs voies de dégradation (l'oxydation, la lumière...), le stade de maturité des fruits, les conditions culturales, climatiques, pédologiques ou le stress de prédation.

**Tableau VIII: Teneurs en tanins dans le thé vert.**

Echantillons	Teneure en tanins en(mgEQC/100ml)
Thé vert	66,55±0.67
Thé vert ( <b>Ghedadba et al .,2015</b> )	15.68±0.08

Les résultats obtenus sont exprimés en (mg EQC/100ml) d'extrait de thé vert.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que l'extrait de thé vert est plus riche en tanins avec une teneur égale à  $66,55 \pm 0.67$  (mg EQC/100ml), tandis que l'extrait de thé vert (**Ghedadba et al .,2015**) est moins riche avec une teneur en tanins de  $15.68 \pm 0.08$  (mgEQC/100ml). Et ça revient au mélange qui été maintenu au bain-marie a  $80C^\circ$  pendant 30 min contrairement à notre extrait qui été maintenu a  $50C^\circ$  pendant 20 min.

#### IV.7.Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été évaluée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$ . Ce dernier forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols. Les résultats ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage :  $y = 0,439X - 0,0004$ ,  $R^2 = 0,999$ . Les concentrations des extraits sont exprimées en mg équivalent de quercétine (EQ) par 100 ml d'extraits (mg EQ/100Ml).

**Tableau IX :** Teneurs en flavonoïdes pour thé vert

Echantillon	Teneur en flavonoïdes (mg EQ/100ml)
Thé vert	$750.312 \pm 4.419$
Thé vert ( <b>chandrima Das et al.,2019</b> )	$5.755 \pm 2.160$

Les flavonoïdes sont les polyphénols les plus abondants et le groupe le plus important auquel on attribue les effets antioxydant du thé. Les flavonoïdes se divisent plusieurs sous- familles chimique. (**sinija.,2008**)

Les résultats obtenus montrent la richesse de *Camellia sinensis* en flavonoïdes dont la teneur est  $750.312 \pm 4.419$  mg équivalents quercétine /100ml d'extrait .nos valeur sont largement supérieures a celle obtenu par **chandrima et al.,2019** correspondant à  $5.755 \pm 2.160$  (mg EQ/100ml) et cela revient à quantité d'extrait de thé vert prélevé, et l'origine de la plante *camillia senensis*.

Les flavonoïdes constituent généralement 2 à 3 % des feuilles de thé séchées et sont largement responsables de leur goût distinctif, de leur couleur et de leurs multiples bienfaits pour la santé. (**Shi et al,2021**).

## IV.8. Teneur en pigments liposolubles

### ❖ La chlorophylle a et b

La chlorophylle b se différencie de la chlorophylle a par la présence d'un groupe formyle à la place d'un groupe méthyle en position C (7) (Figure 1.4b.). Sa structure a été établie par corrélation chimique avec la chlorophylle a. La stéréochimie et l'alcool estérifiant des chlorophylles a et b (le phythol) sont identiques. La chlorophylle b est un pigment qui accompagne la chlorophylle a dans les prochlorophytes, les chlorophytes, les micromonadophytes et les plantes vertes. Ces dernières sont phylogénétiquement les plus évolués des organismes capables de photosynthèse.

La chlorophylle b n'est présente que dans les complexes jouant le rôle d'antennes qui captent l'énergie lumineuse, contrairement à la chlorophylle a qui est aussi impliquée dans les centres réactionnels. Ainsi, un rapport approximatif de 1a chlorophylle b pour 3 chlorophylles a peut généralement être mesuré dans les prochlorophytes, les algues vertes et les plantes vertes. Comme la chlorophylle b absorbe la lumière à des longueurs d'onde différentes de celles de la chlorophylle a. En effet, elle permet aux organismes qui la possèdent d'utiliser plus efficacement l'énergie lumineuse du soleil. Ceci justifie sa présence exclusive dans le système d'antenne.

La chlorophylle a n'a été détectée que chez certaines plantes tel que *E. arvensis* (9,7 mg/g), *M. officinalis* (15,7 mg/g). Contrairement à la chlorophylle b qui a été identifiée dans 21 plantes. La teneur en chlorophylle b variait de 2,3 mg/g à 75,2 mg/g (**Loranty et al.,2010**)

### ❖ Caroténoïdes (B\_carotène)

Les caroténoïdes sont des pigments lipophiles jaune orange- rouge d'origine végétale. Plus de 600 composés sont identifiés. Ils confèrent aux plantes et aliments végétaux, leur couleur rouge et orange qui apparaissent lorsque la chlorophylle disparaît. Ils sont exclusivement synthétisés par les plantes, mais peuvent s'accumuler chez certains animaux (**Djuric et al., 2001**).

Le  $\beta$ -carotène est la forme de carotène la plus répandue. C'est un précurseur de la vitamine A désigné comme « provitamine A »

Le carotène est un pigment présent dans des végétaux et qui leur donne une coloration rouge ou orangée. Dans les végétaux chlorophylliens, les carotènes ne servent pas directement à la

photosynthèse mais ils limitent les quantités d'espèces réactives de l'oxygène : ce sont des antioxydants

Les caroténoïdes dont (lutéine, lycopène et b-carotène) sont des pigments présents dans une large variété de légumes et de fruits .Des études *in vitro* et *in vivo* ont montré que les caroténoïdes peuvent inhiber la production d'espèces réactives de l'oxygène et empêchent ainsi la photo inactivation des protéines antioxydantes, la peroxydation des lipides, et les dommages à l'ADN .

En effet, plusieurs essais cliniques ont montré que le b-carotène peut diminuer l'intensité de l'érythème causé par la lumière du soleil. Donc ils constituent avec les polyphénols des photo protecteurs aux propriétés anti-photo cancérigènes qui présentent le potentiel d'améliorer la protection systémique non seulement contre les UV mais aussi contre les rayons de visible et de l'infrarouge (**Granger et al.,2020**).

#### ❖ Lycopène

Le lycopène est un pigment naturel, appartenant à la famille des caroténoïdes, synthétisé par les végétaux et les microorganismes, contrairement au  $\beta$  carotène. Le lycopène est le terpénecaroténoïdien le plus abondant dans le fruit de tomate (**Boumendjel et al., 2012**). Il doit son nom au nom latin de la tomate « *Solanum lycopersicum* », il donne de la couleur à certains aliments.

Le lycopène est un pigment rouge que l'on trouve dans les tomates .il possède une forte propriété antioxydante, anti-inflammatoires qui aident à réduire les risques de maladies chroniques et systémiques et des propriété anticancéreuse. La disponibilité du lycopène est élevée dans le corps humain par rapport aux autres caroténoïdes. Il protège de la peroxydation lipidique et de la neutralisation des radicaux hydroxyles. L'activité antioxydante du lycopène est due au mécanisme de l'activité de piégeage des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (**Mukundh V et al.,2021**)

**Tableau X** : Teneurs en pigments liposolubles pour

	$\beta$ -Carotène	Lycopène	chlorophylle a	chlorophylle b
Thé vert	0.043	3.61	8.847	13.909

#### IV.9. Piégeage de radical DPPH et le pouvoir réducteur

Le test du pouvoir réducteur met en évidence la capacité d'une molécule à réduire un oxydant en lui cédant un électron, permettant ainsi de bien apprécier l'activité antioxydante de l'extrait testé. De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme indicateur significatif de son pouvoir antioxydant (**Huang et al.,2002 ; Bourgou et al., 2007 ; Li et al., 2009**).

La méthode du DPPH<sup>·</sup> est basée sur la réduction d'une solution méthanolique de DPPH<sup>·</sup> en présence d'un antioxydant qui donne un proton.

La réduction du radical DPPH<sup>·</sup> s'accompagne par son passage de la couleur violette caractéristique de la solution de DPPH<sup>·</sup> à la couleur jaune (le diphényl-picrylhydrazine) (**Talbi et al.,2015**). L'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire des échantillons étudiés ; la capacité de réduction est alors déterminée par une diminution de l'absorbance induite par ces échantillons. (**Talbi et al.,2015**).

Le pourcentage d'inhibition du radical qui permet d'évaluer l'activité antioxydante, a été calculé à partir des valeurs obtenues par spectrophotomètre UV-visible à 517 nm

**Tableau XI** : Les résultats obtenus pour le test de DPPH et le pouvoir réducteur de Thé vert

Echantillon	Pouvoir réducteur (%)	DPPH*(%)
Thé vert	64.433	56.401

L'extrait de thé vert montre que l'activité anti-radicalaire (DPPH\*) un peut faible avec un pourcentage de 56.40% par rapport Au Pouvoir réducteur qui égale à 64.433 % .

#### IV.10.L'activité antibactérienne de thé vert

L'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *Came/lia sinensis* sur les différentes souches bactériennes testés. (**Annexe II**)

**Tableau XII** : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induite par les extraits du thé vert (mm).

Souches	<i>Escherichia Coli</i> (25922)	<i>S .aureus</i> (ATCC43300)	<i>Salmonelle.sp</i> (souche hospitalier)	<i>Pseudomonas.aeruginosa</i> (ATCC27853)
Thé vert	15±1	9	9.8±0.3	7±1
Thé vert (Ghedadba et al.,2015)	9.27±0.10	13.51±0.03	11±0.50	10±0.03

#### IV.10.1. *Escherichia Coli*(25922)

Est un bacille à Gram négatif appartenant à la famille des Enterobacteriaceae, est l'habitant commensal le plus répandu des voies gastro-intestinales des humains et des animaux à sang chaud, ainsi que l'un des agents pathogènes les plus importants. (Allocati et al,2013).

Les deux extraits de thé vert ont montré une activité inhibitrice envers la croissance de *Escherichia Coli* avec un diamètre d'inhibition égale à 15±1mm. Qui est supérieur a le thé vert de (Ghedadba et al.,2015) qui égale à 9.27±0.10mm par ce que ce dernier est chauffé 50c°.

D'après notre résultat, E. coli elle a le plus grand diamètre d'inhibition par rapport aux autres bactéries été révélée sensible vis-à-vis a l'extrait de Thé vert.

D'après Frazzini et al.,2022, il est bien nécessaire d'utiliser les concentrations les plus élevées afin de garantir un effet antimicrobien significatif contre la croissance de O138 E. coli. L'effet inhibiteur de la croissance était probablement limité en raison de la méthode d'extraction qui permettait d'obtenir un extrait brut sans étapes de purification ou de concentration (Frazzini et al.,2022)

#### IV.10.2. *Staphylococcus aureus* (ATCC : 43300)

Est une coque appartenant à la famille des *staphylococcacea*. En microscopie, il peut être isolé en paire ou en tétrade, mais le plus souvent il forme des amas ressemblant à des grappes. *S.aureus* est une bactérie immobile, non sporulante et aéro-anaérobie facultative, possédant à la fois une catalase et une coagulase positive (Beaudry, 2011 ; bernier, 2015 ; kara 2014).

Les deux extraits de thé vert ont montré une activité inhibitrice envers la croissance de *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition égale à 9mm. Qui est très faible par rapport à celle de (Ghedadba *et al.*, 2015) de diamètre  $13.51 \pm 0.03$  mm.

#### IV.10.3. Pour *Salmonelle. sp* (Souche hospitalière)

Les salmonella sont des bactéries mésophiles, ayant une température optimale de croissance de 35/37°C, cependant les Salmonelles peuvent se multiplier de 5°C à 45°C avec une croissance nettement retardée par les températures inférieures à 10°C (Robinson *et al* 2000)

L'extraits de thé vert ont montré une activité inhibitrice envers la croissance de salmonelle avec un diamètre d'inhibition égale à  $9.8 \pm 0.3$  mm est un peu faible par rapport à celle de (Ghedadba *et al.*, 2015) de diamètre  $11 \pm 0.50$  mm.

#### IV.10.4. *Pseudomonas.aeruginosa* (ATCC27853)

Est un microorganisme qui provoque des infections aiguës ou chroniques, parfois graves et mortelles. elle sévit particulièrement en milieu hospitalier et expose les patients présentant un faible système immunitaire. La résistance croissance de certaines souches de cette bactérie aux antibiotiques fait de ces infections un véritable problème de la santé.

L'extraits de thé vert ont montré une activité inhibitrice envers la croissance de *Pseudomonas.aeruginosa* avec un diamètre d'inhibition égale à  $7 \pm 1$  mm très faible à celle de (N.Ghedadba *et al.*, 2015) de diamètre  $10 \pm 0.03$  mm.

Les polyphénols inhibent la formation de biofilm bactérien par divers mécanismes, y compris par la réduction de la motilité bactérienne, adhérence à la surface, et en inhibant l'expression des facteurs de virulence associés avec un comportement pathogène.

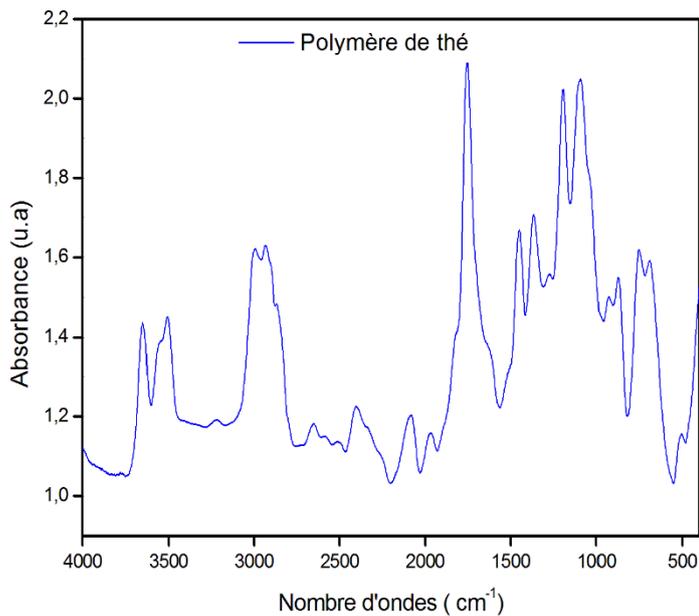
En outre, les polyphénols interagissent avec les membranes cellulaires des Gram positifs et les bactéries Gram-négatives pour perturber bicouches lipidiques, affectant la fluidité et en augmentant la perméabilité de la membrane, modifiant ainsi le transport des ions.

De plus, les polyphénols présentent des activités antibactériennes en inhibant l'ADN gyrase et bloquer la synthèse des acides nucléiques (Bael *et al.*, 2022).

#### IV.11. Emballage alimentaire de PLA

Après incorporation de l'extrait concentré à raison de 5% dans le PLA, nous l'avons soumis à une analyse par infra rouge et à l'évaluation de son activité antibactérienne.

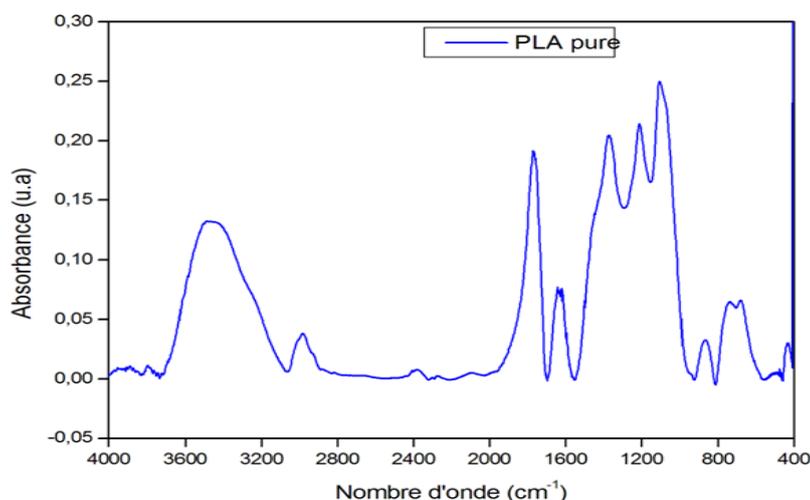
##### Résultats de l'analyse par IR :



**Figure 25:** Spectre infrarouge de polymère de thé

Le spectre IRTF représenté en figure 2 permet de déterminer les bandes caractéristiques polymère de thé :

- Une bande d'absorption C=O apparu dans la zone (1500 – 2000) à 1800 cm<sup>-1</sup>.
- Une bande d'absorption O-H de polymère de thé apparu dans la zone (3100 – 3700) à 3560 cm<sup>-1</sup>.
- Une bande d'absorption C=O apparu dans la zone (1500 – 2000) à 1800 cm<sup>-1</sup>



**Figure 26 :** Spectre infrarouge PLA pur

Le spectre IRTF représenté en **figure (6)** permet de déterminer les bandes caractéristiques du PLA. Le spectre révèle l’existence de groupements fonctionnels :

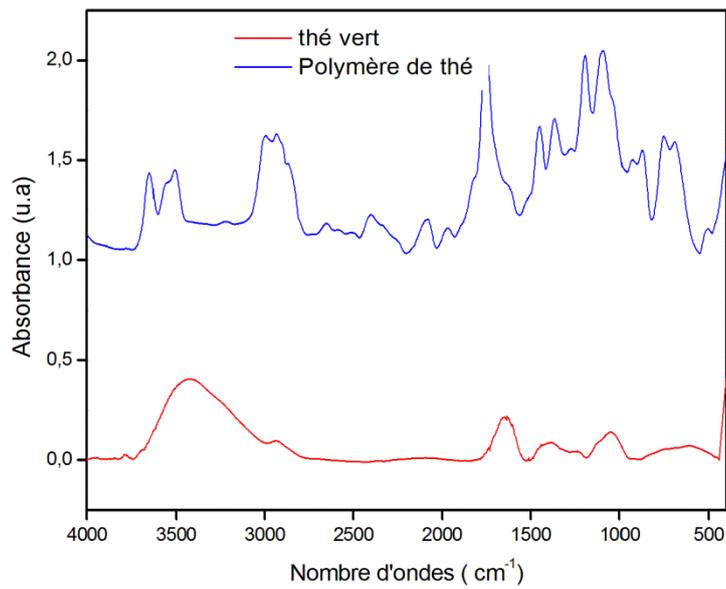
- Une bande d’absorption du groupement hydroxyde O-H dans la zone (3100 – 3700) à 3245  $\text{cm}^{-1}$
- Une bande d’absorption apparue dans la zone (1700 - 2000) à 1750  $\text{cm}^{-1}$  correspond aux caractéristiques du groupement C = O. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par **(Bouriche *et al*, 2019)** pour le PLA pure.

### Résultats de l’activité antibactérienne

**Tableau XIII :** Diamètres des zones d’inhibition d’emballage alimentaire de PLA.

Echantillon	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>Salmonelle</i>	<i>P.aeruginosa</i>
PLA+Thé	7.5	7	6	6
PLA	6	6	6	6

D’après les résultats qu’on a obtenue dans (PLA+ extrais) il a une petite différence entre les zones d’inhibition avec un faible diamètre entre 6 à 7.5mm. Et pour l’emballage à base de PLA n’a montré aucune activité antibactérienne.



**Figure 27:** Spectre infrarouge de thé vert et polymère plus extrait de thé .

La figure (7) représente les bandes caractéristiques de polymère de thé et thé vert.

On remarque que la bande caractéristiques O-H de polymère de thé et de thé vert est différente.

- La bande la plus importante du groupement O-H signifie que le thé est riche en polyphénols.



**Figure 28:** image photographique de PLA avec extrait et sans extrait

# **Conclusion**

## Conclusion

Dans ce travail, nous avons étudié le pouvoir antioxydant et antibactérien des extraits de thé vert pour pouvoir l'incorporer dans un emballage alimentaire.

Le dosage des composés phénoliques a savoir ; les polyphénols totaux, les flavonoïdes , et les tanins révèle que l'extrait de thé vert à une teneur importante de  $884.738 \pm 4.556$  mg EAG/100ml de  $750.312 \pm 4.419$  mg EQ/100ml et de  $66.55 \pm 0.67$  mg EQC/100ml d'extrait respectivement . L'analyse par HPLC, Présente la présence de l'acide coumarique , Acide caffeique et BHT dans le thé vert , et l'absence de BHA.et dans le résultat de IR il nous a identifié deux étalon H-O et C-O. et pour Les pigments liposolubles tels que, la chlorophylle a et b sont mise en évidence à des concentrations de  $8.847$  mg / 100ml d'extrait et de  $13.909$  mg/100 ml d'extrait de thé vert. Des teneurs respectives de ( $0.043$  mg/ 100 ml) et de ( $3.61$  mg /100 ml d'extrait) sont enregistrés pour le  $\beta$ -carotène et lycopène.

Le pouvoir antioxydant d'extrait de the vert a été déterminé par le test de piégeage du radical DPPH et de pouvoir réducteur. Les résultats obtenus, indiquent que la plus grande activité est obtenue avec l'extrait de Thé vert est en pouvoir réducteur (64.433%) suivie de la teneur de piégeage de DPPH (56.401%). Ces activités peuvent être attribuées à la richesse de thé vert en composés phénoliques.

L'activité antibactérienne d'extraits de thé vert à été évalué par la méthode de diffusion en milieu gélosé ou méthode des disques. D'après l'analyse des résultats obtenus, seulement la bactérie *Pseudomonas.gerugenos* (ATCC27853) qui a montré une faible sensibilité envers les extraits de thé vert de diamètre  $7 \pm 1$  mm. Les trois autres souches étudiées se sont révélées sensible avec des diamètres d'inhibition varaint de  $9 \pm 0.00$  à  $9,8 \pm 0,3$  mm pour *S.aureus*(ATTCC43300) et *Salmonelle .sp* .Par contre *Escherichia Coli* (ATTCC25922) est très sensible puisque le diamètre de son inhibition est de  $15 \pm 1$  mm.

Les résultats de l'activité antibactérienne montre une faibles sensibilité des souches vis-à-vis des films.

# **Références bibliographiques**

## A

**AKhlash p. Singh and sunil Kumar**, 2019 application of tannins in industry, doi ; 10.5772/intechopen.8594.

**Albadani R.N et Ibrahim D.A, 2014.** Evaluation of the Potential Nephroprotective and Antimicrobial Effect of *Camellia sinensis* Leaves versus *Hibiscus sabdariffa* (In Vivo and In Vitro Studies). *Advances in Pharmacological Sciences*, 5: 389-834.

**Anthony Loiseau** thèse doctorat, «Elaboration et caractérisation de Nanocomposites modèles Laponite / Polyoxyde d'éthylène», université du maine umr cnrs 6120 , (2009)

**Annahaazi A., Mracsko E., Sule Z., Karg E. Penke B., Bari F., Farkas E.,** Pre-treatment and post-treatment with  $\alpha$ -tocopherol attenuates hippocampal damage in experimental cerebral hypoperfusion .*European journal of pharmacology* 571(2007) 120-128.

**A.Okada, A. Usuki**, *Materials Science and Engineering*, 3,109, **1995**.

**Asima B., Chattopadhyay, R., Mitra, S., Crowe, S. E. 2014.** Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiological reviews*, 94(2), p 329-354.

## B

**Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunete, C., Dine, T., Vasseur, J., Gazin, J.C., Pinkas, M., Luycky, M., Gazin, M., 1996.** «Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations». *Arzneimittel-Forschung*, 46: 1086-1089 p.

**Bai, L. ; Takagi, S.; Ando, T.; Yoneyama, H.; Ito, K.; Mizugai, H.; Isogai, E.** Activité antimicrobienne de la catéchine de thé contre la voie orale canine les bactéries et les mécanismes fonctionnels. *J. Véter. Méd. Sci.* 2016, 78, 1439-1445.

**Baser K.H.C., Buchbauer G., 2010.** «Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications». *Ed, Taylor and Francis Group, LLC. United States of America.*

**Batabyal B., Kundu G.K.R., Biswas S., 2012.** «Methicillin Resistant Staphylococcus aureus: a brief review». *International research, journal of biological sciences*, 1, 65-71.

**Becker, K., Harmsen, D., Mellmann, A., Meier, C., Schumann, P., Peters, G., von Eiff, C., 2004.** « Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of Staphylococcus species». *Journal of Clinical Microbiology*, 42(11), 4988-4995.

**Belhadj Tahar S, Hadj-Mahammed M et Yousfi M, 2015.** Etude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques de l'Atriplex halimus L et de l'Haloxylon scoparium pomel du Sahara septentrional. *Anneles des sciences et Technologie*, 7(1): 35-42.

**Benslimane N., 2014.** Contribution à l'élaboration d'un plan de contrôle des emballages plastiques en contact avec les denrées alimentaires. Mémoire de master en science des aliments. Université Abou Bekr Belkaïd. Tlemcen. P8-10.

**Bioplastics for food packaging Eden Shlush a, Maya Davidovich-Pinhas a,b .,Trends Food Science & Technology 125 (2022) 66–80.**

**Boizot N., Charpentier J. P., 2006.** «Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier». p: 79- 82.

**Braicu C, Ladomery M.R, Chedea V.S, Irimie A et Berindan-Neagoe I, 2013.** The relationship between the structure and biological actions of green tea catechins. *Food Chemistry*, 34.

**Bruneton J. 2008.** Acides phénols. In : Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed : Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp 198-260.

**Bravo L. 1998.** polyphenols; dietary source, métabolisme, and nutritional significance. *Nutrition*, 56: 317-333.

## C

**Castro, J., Pregibon, T., Chumanov, K., Marcus, R.K. 2010.** Determination of Catechins and Caffeine in Proposed Green Tea Standard Reference Materials by Liquid ChromatographyParticle Beam/electron Ionization Mass Spectrometry (LC-PB/EIMS). *Talanta*. 82 : 1687–95.

**Chatterjee A, Saluja M, Agarwal G et Alam M, 2012.** Green tea: A boon for periodontal and general health. *J Indian Soc Periondonol*, 16(2) : 161-167.

**Cheryl A. Nickerson, Ph.D., 2001,** Arizona State University,

[http://www.nasa.gov/mission\\_pages/station/research/experiments/Microbe.html](http://www.nasa.gov/mission_pages/station/research/experiments/Microbe.html).

**CNE., 2011.** Prévention de gaspillage et des pertes des produits de grande consommation : le rôle clé de l'emballage. Siret n°41513678700025 APE : 913, Paris. P 5.

**CNUCED NU. 2016.** Thé Un profil de produit de base par INFOCOMM.

**Cooper R. 2012.** Green tea and theanine: health benefits. *International journal of food sciences and nutrition* 63(sup1):90-97.

**CROZIER, A., JAGANATH, I. B. & CLIFFORD, M. N. 2009.** Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural product reports*, 26, 1001-1043.

## D

**Dalmas F.X., Minet M.,** Le guide de dégustation de l'amateur de thé .les éditions du Chêne , Paris.,(2007)

**D ARCHIVIO, M., FILESI, C., DI BENEDETTO, R., GARGIULO, R., GIOVANNINI, C. & MASELLA, R. 2007.** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita*, 43, 348.

**Da Silva Pinto M. 2013.** Tea: A new perspective on health benefits. *Food Research International* 53(2):558-567.

**Delattre J, Beaudeau J.L et Bonnefont-Rousselot D, 2005.** Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène: Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologique. Edt Tec Doc. Paris: Lavoisier, 45-46.

**Descamps E., Gelé .P., Bordet R., Vamecq J., 2006.** Modulation pharmacologique du stress oxydatif. *Pharmacological control of oxidative stress*.20 (4), p107-117.

**Desphande ,Mosen k, Badoui.F , 1986** Le préparateur en pharmacie. Guide théorique et pratique (2ème Edition. Ed. Lavoisier Paris):374.

**Diaz ,J .,DO,T.K.T., Feuillâtre ,M ., Loffredo ,L.(2010).**Authentification phytochimique de l'espèce *camellia sinensis*(l.) kuntze par analyse hptlc. Francis Hadji-minaglou BotaniCert, Espace Jacques-Louis Lions, 4 Trav. Dupont, 06130 Grasse,01P.

**Dimitrios Stagos .,2019** ,Antioxidant Activity of Polyphenolic Plant Extracts, doi:10.3390/antiox9010.

**Dorgan JR,** Rheology of poly(lactic acid), dans "Poly(lactid acid): Synthesis, structures, properties, processing, and applications", ed.: Auras R, Lim LT, Selke SEM, Tsuji H, Wiley, 2010, 125-139.

## E

**El-desouky M.A, Mahmoud M.H, Riad B.Y, Taha Y.M, 2019.** Nephroprotective effect of green tea, rosmarinic acid and rosemary on n-diethylnitrosamine initiated and ferric nitrilotriacetate promoted acute renal toxicity in wistar rats. *Interdisciptionicol*, 12(2): 98-110.

**Emad M.Atta, Nawal H . Mohamed and Ahmed A. M. Abdelgawad.,2017,** ANTIOXIDATIONS : AN OVERVIEW ON THE NATURAL AND SYNTHETIQUE TUPES DOI/10.17628/ECB.2017.6.3656375.

## F

**Faucher J.L., Avril J.L., 2002.** «Bactériologie générale et médicale». *Tome 1, Ed, Ellipses, Paris.*

**Favier A, 2003.** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.

**Fillon L. 2014.** Le thé et le syndrome métabolique.

## G

**Gaboury ,M.(2014).**Le thé. Source: *Revue scientifique Free Radical Research (USA)*:01-03P.

**Garrido-Urbani S, Jaquet V, Beat A, Imhof et Beat A, 2014.** ERO, NADPH oxydases et vascularisation des tumeurs. Médecine/Sciences, 415-451.

**Ghedadba N, Hambaba L, Ayachi A, Aberkane M.C, Bousselfela H et Oueld-Mokhtar S.M, 2015.** Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de Marrubium deserti de Noé. Pharmacognosie, 13: 118-129.

**Grara N, Boucenna M, Atailia A, Berrebbah H et Djebbar M.R, 2012.** Stress oxydatif des poussières métalliques du complexe sidérurgique d'Annaba (Nord-Est algérien) chez l'escargot *Helix aspersa*. Copyright, 221-229.

**Guemmaz T, Zerargui F, Boumerfeg S, Arrar L, Aouachria S, Khennouf S, Charef N.E et Baghiani A.B, 2018.** Anti-hemolytic, Anti-lipid peroxidation, Antioxidant properties and Acute toxicity of *Xanthium strumarium* Leaves Extracts. Annual Research & Review in Biology, 24(3): 1-12.

**Guillouty, A., (2016).** Plantes médicinales et antioxydants. Université de Toulouse III Paul Sabatier, 95.

**Guinoiseau E., 2010 :** « Molécules, antibactérienne issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action ». Thèse de Doctorat, Univ. Corse ; Option : Biochimie-Biologie moléculaire ; France

**Gupta D et Kuma M, 2016.** Evaluation of in vitro antimicrobial potential and GC-MS analysis of *Camellia sinensis* and *Terminaliaarjuna*. Biotechnology Reports, 1-9.

## H

**Haleng F.J, Pincemail J, Defraigne J.O, Charlier C et Chapelle J.B, 2007.** Le stress oxydant. Med Liege, 628-638.

**He J.** Strengthen the cancer surveillance to promote cancer prevention and control in China. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2018;40:1e4. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2018.01.001>.

**Hocine .,Gorine. (2017).** Thème Évaluation de L'expositon au plomb et cadmium et impact sur quilques parametres du statut oxydant anti oxydant chez .les ouvriers exposrs aux fumees de soudage .62.

**Ho ,M.W.(2012).**Un composé du thé vert est utilisabledans un but de radioprotection.ISIS Santé Nucléaire:01-41P.

## J

**J.P. Euzéby, Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse., 2001, site web :**

<http://www.bacteriologie.net/generale/resistanceantibiotiques.html>.

## K

**Kaper, J. B., Nataro, J.P., Mobley, H. L. T., 2004.** «Pathogenic Escherichia coli». *Nat. Rev. Microbiol.* 2:123-140.

**Karamali Khanbabaee and Teunis van Ree, 2001,** Tannins: Classification and Definition DOI/10.1039/B1010611.

**Katarzyna Malgorzata Brodowska .,2017** ,Natural flavonoide:classification, potential role, and application of flavonoid analogues, DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.545778>.

**Khan, Rizwana Aleem Qureshi, Faizan Ullah, Syed Aneel Gilani, Asia Nosheen, Sumaira Sahreen, Muhammad Khan Laghari, Muhammad Yousif Laghari, Shafiq-Ur-Rehman<sup>1</sup>, Ishtiaq Hussain and Waheed Murad<sup>1</sup> ,2011:** Department of Plant Sciences, Kohat University of Science and Technology, Kohat, Pakistan. Department of Plant Sciences, Quaid-i-Azam University, Islamabad, Pakistan. Pakistan Museum of Natural History, Islamabad, Pakistan. Institute of Pharmacy, Sindh University, Jamshoro, Pakistan.

**Kao YH, Chang HH, Lee MJ, Chen CL., 2006.** «Tes obesity and diabetes». *Mol Nutr Food Res* ; 50(2) : 188-210.

**K.Dana,J.Scudla ,R.Puffr,A.Sikora,J.Baldrian,J .Kovarova,M.Slouf,F.Rypacek ,European Polymer Journal, 42,888,(2006).**

**Kluytmans, J., van Belkum, A., Verbrugh, H., 1997.** «Nasal carriage of Staphylococcus aureus : epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks». *Clinical Microbiology Reviews*, 10(3), 505-520

**Koechlin-Ramonatxo C, 2006.** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 165-177.

**Kuriyama S, Shimazu T, Ohmorik, 2006.** «Green tea consumption and mortality due to cardiovascular disease, cancer and all causes in in japan». *The Ohsaki Study ; JAMA ; 296(10) :1255-1265.*

**Kuzuhara T, Suganuma M, Fujiki H. 2008.** Green tea catechin as a chemical chaperone in cancer prevention. *Cancer letters 261(1):12-20.*

## L

**Lee, M.-J., Prabhu,S., Meng, X., Li, C., Yang, C.S. 2000.** An Improved Method for the Determination of Green and Black Tea Polyphenols in Biomatrices by High-Performance Liquid Chromatography with Coulometric Array Detection. *Analytical Biochemistry*. 279 : 164.96.

**LNE., 2013.** Exigences réglementaires européennes des matériaux et objets destinés au contact avec les aliments pour les emballages, articles culinaires, équipements de l'agroalimentaire et tout objet destiné au contact avec les aliments. *Laboratoire National de métrologie et d'Essais*. 29, Avenue Roger Hennequin 78197 TRAPPES cedex (France). P16.

## M

**Mahmood T, Akhtar N, Khan BA. 2010.** The morphology, characteristics, and medicinal properties of *Camellia sinensis* tea. *Journal of Medicinal Plants Research* 4(19):2028-2033.

**Magdalena Gornicka, Anna Ciecierska, Jadwiga Hamulka, Malgorzata E. Drywien, Joanna Frackiewicz, Krzysztof Gornicki, and Agata Wawrzyniak.**  $\alpha$ -Tocopherol Protects the Heart, Muscles, and Testes from Lipid Peroxidation in Growing Male Rats Subjected to Physical Efforts. *Oxidative Medicine and Cellular Volume* 2019, Article ID 8431057, 13 pages <https://doi.org/10.1155/2019/8431057>.

**Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. 2004.** Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79: 727-747.

**Mani Iyer Prasanth, Bhagavathi Sundaram Sivamaruthi , Chaiyavat Chaiyasut and Tewin Tencomnao,2019** AReview of the Role of Green Tea ( Camillia sinensis ) in Antiphotoaging, Stress Resistance , Neuroproyection , and Autophagy , Doi:10.3390/nu110204.

**Matschke V., Theiss C., Matschke J. (2019).** Oxidative stress: the lowest common denominator of multiple diseases.Neural Regen Res. 14 (2): 238-241.

**MAZZA, G., CACACE, J. E. & KAY, C. D. 2004.** Methods of analysis for anthocyanins in plants and biological fluids. Journal of AOAC international, 87, 129-145.

**Mohamed sharif swallah,He Sun ,1 Raifatou Affoh ,Hongling Fu, and Hansong Yu ,2020,** Antioxydant Potential Overviews of Secondary Metabolites , (polyphenols) in Fruit , <https://doi.org/10.1155/2020/9081686>.

**Morin M-P. 2015.** Les polyphénols du thé vert: des molécules à double action contre la maladie parodontale: Université Laval

**Moussa, Koechlin-Ramonatxo,C.(2006).**Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition clinique et métabolisme.

**Michel L., 2011.** «Documentation technique : Etude de la sensibilité aux antimicrobiens, Documentation technique extraite des notices techniques commerciales et de différentes publications», *Lycée des métiers du tertiaire, de la santé et du social – Luise Michel Grenoble*.

**M.Pluta,J.K.Jeszka, G.Boiteux,European Polymer Journal, 43,2819,(2007).**

Munawar Abbas, Farhan saeeda, mouhamed Afzaala,and hafiz Ansar Rasul Suleriac.,2016 Natural Polyphénols <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1220393>

## N

**Namita P, Mukesh R, Vijay KJ. 2012.** Camellia Sinensis (green tea): a review. Global Journal of Pharmacology 6(2):52-59

**Nakagawa, K., Ninomiya, M., Okubo, T. (1999).** Tea catechin supplementation increases antioxidant capacity and prevents phospholipid hydroperoxidation in plasma of humans. *J Agric Food Chem*;47(10): 73-3967P.

**Nakayama, M.ÿ; Shigemune, N.; Tsugukuni, T.; Jun, H.; Matsushita, T.; Mekada, Y. ; Kurahachi, M.; Miyamoto, T., 2012.** Mécanisme de l'effet antibactérien combiné de l'extrait de thé vert et du NaCl contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* O157:H7.

**Naumamn, Mukesh R., Vijay KJ., 2012.** «Camellia sinensis (green tea) : a review». *Global journal of pharmacology* 6 (2) : 52-59.

**Niki E. (2018).** Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress. *Free Radic Biol Med.* 124: 564

**Nikolina Mrduljas, greta and Tea Bilusic ., 2017,** Polyphenols: Food Sources and Health Benefits, <http://dx.doi.org/10.5772/intechpen.68862>.

## O

**Oloyede O. I, 2005:** « Chemical Profile of Unripe Pulp of *Carica papaya* ». *Pakistan Journal of Nutrition.*

**Oluranti Olufemi Idowu., 2017.** Green tea extract and reproduction , DOI:[http://dx.doi.org/10.18685/EJKR\(6\)1\\_EJMR-17-011](http://dx.doi.org/10.18685/EJKR(6)1_EJMR-17-011).

**Oyaizu, 1986:** Studies on product of browning reaction-Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition.* 44, (1986) 307-115.

## P

**Peng, L., Xiaohong, S., Xianggang, S., Jiastian L., Chuangxing Y. 2008.** An Improved HPLC

Method for Simultaneous Determination of Phenolic Compounds, Purine Alkaloids and

Theanine in Camellia Species. *Journal of Food Composition and Analysis*. 21 : 559–63

**Pieme C.A, Tatangmo J.A, Simo G, Biapa Nya P.C, Ama Moor V.J, Moukette B.M, Nzufu F.T, Njinkio Nono B.L et Sobngwi E, 2017.** Relationship between hyperglycemia, antioxidant capacity and some enzymatic and non-enzymatic antioxidants in African patient with type 2 diabetes. *BMC research notes*, 10(1): 141.

**Ponce A.G., Eritz R., Del Vall C., Roura S.I., 2003.** «Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard». *Lebensm.-Wiss. u. Technol.* 36: 679-684.

**Podsdek A., Wilska-Jeszka J., Anders B., Markowski J. 2000.** Compositional characterisation of some apple varieties. *European Food Research and Technology*. 210: 268-272.

**Panche, A. D. Diwan and S. R. Chandra.** Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science* (2016), vol. 5, e47, page 1 of 15 doi:10.1017/jns.2016.41.

**Popova AT .(2019).** The effect of heating on the vitamin C content of selected vegetables. *Word journal of Advanced Research and reviews*,3(3),27-32.

**Pourrut B., 2008.** Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. Thèse de doctorat. Université de Toulouse,p15.

## R

**Reygaert WC., 2017.** «An update on the health benefits of Green Tea». *Beverages* ; 3(6) : 1-14.

**Ribéreau-Gayon P., 1968.** «Les composés phénoliques des végétaux». *Ed. Dunod. Paris*, P: 173-201.

**Robinson R. K., Batt C. A., Patel P. D.(2000).** Encyclopedia of Food Microbiology.

**.Russo, T. A., J. R. Johnson, 2000.** «Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of Escherichia coli: ExPEC». *J. Infect. Dis.* 181:1753-4.

**Rybak M.J., Pharm D., LaPlante K.L., 2005.** «Community –Associated MethicillinResistant Staphylococcus aureus : a review». *Reviews of therapeutics, pharmacotherapy*, 25, 74-85.

## T

**Trinetta V, 2016.** Definition and Function of Food Packaging, Principal Scientiste, USA Elsevier Inc. p 2 K.

**Tu W., Wang H., Li S., Liu Q., Sha H. (2019).** The anti-Inflammatory and anti-oxidant mechanisms of the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway in chronic diseases. *Aging Disease.* 10(3): 637-648.

## S

**Sabu MC, Smitha K, Kuttan R., 2002 :** Anti-diabetic activity of green tea polyphenols and their role in reducing oxidative stress in experimental diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* ; 83: 109-116.

**Santo A et al .free radicals : from health to disease . reactive oxygen species 2(4):245\_263,2016;**Cell Med Press <http://dx.doi.org/10.20455/ros.2016.847>

**Santos-Sánchez N.F, Salas-Coronado R, Villanueva-Canongo C et Hernández-Carlos B, 2019.** Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism.

**Shalini , Koechlin-Ramonatxo,C.(2015).**Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme.*

**Sharangi, A.B., 2009.** «Medicinal and therapeutic potentialities of tea (camellia sinensis L.)- A review». *Food Research International* 42 : 529-535.

**Sharma ,E., Joshi, R.and Gulati,A.( 2018)** L-Theanine: an astounding sui generis integrant in tea .Food Chem.22242,601.

**Shi, C.; Zhang, X.; Guo, N.** Les activités antimicrobiennes et le mécanisme d'action de l'huile d'arbre à thé contre les bactéries d'origine alimentaire dans les aliment frais jus de concombre. Microb. Pathogène. 2018, 125, 262–271.

**Shumin, Y. ; Wang, W.; Bai, FL; Zhu, JL; Li, JR; Li, XP; Xu, YX; Soleil, T.ÿ; He, YT** Effet antimicrobien et mécanisme membranaire des polyphénols du thé contre *Serratia marcescens*. Monde J. Microbiol. Biotechnol. 2013, 30, 451–460. [Référence croisée]

**Sinija, V. R , Mishra ,H.N.(2008).** Green tea: Health benefits. Journal of Nutritional&Environmental Medicine. 17(4): 232–242P.

**Siti H.N, Kamisah Y et Kamsiah J, 2015.** The role of oxidative stress, antioxidant and vascular inflammation in cardiovascular disease. Vscular Pharmacologie, 71: 40-56.

**Sofowara AE (1993).** Medicinal plants and traditional medicine in Africa. Vol. 2. Spectrum Books Ltd, Ibadan, p. 288.

**Skerget M., Kotnik P., Hadolin B., Hras A.-R., Simonic M. et Knez Z. 2005.** Phenols, proanthocyanidines, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. Food Chemistry. 89: 191-198

**Stalikas, C.D.** Review: Extraction, Separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. J. Sep. Sci. 2007, 30, 3268–3295.

**Sungsanit, N. Kao, S. N. Bhattacharya, S. Pivsaart.** Physical and rheological properties of plasticized linear and branched PLA. Rheology Journal, 22, 187-195, 2010.

## V

**Van-Burden TP, Robinson T (1981).** The biochemistry of alkaloids, 2nd edn. Springer, Heidelberg, Newyork.

## W

**Wales, A.D., Pearson, G.R., Skuse, A.M., Roe, J.M., Hayes, C.M., Cookson, A.L. et Woodward, M.J. 2001.** Attaching and Effacing Lesions Caused by *Escherichia coli* O157:H7 in Experimentally Inoculated Neonatal Lambs. *J. Med. Microbiol.* 50: 752-8

**Wray C, et al., (2000).** *Salmonella in domestic animals.* Edition CABI publishing.

**Wu-Kuang, S., 2011.** «Taxonomic Revision of *Cinnamomum* (Lanraceae) in Borneo». *Blumea* 56, 241-264. Wallingford and Oxon, UK. p.463.

**Yildirim ,Namita P, Mukesh R .,2001** , *camellia sinensis* (Green Tea): areview *Global Journal of Pharmacology*, 6(2):52-59.

## Z

**Zeenat Aypub, Archana Mehta, Siddhartha Kumar Mishra, Laxmi Ahirwal., 2018,** *MEDICINAL PLANTS AS NATURAL ANTIOXIDANTS*, VOL.48,2017;ISSN 2229-7170.

### Sitographie :

1. Anonyme I : <https://teakruthi.com> /thé blanc, consulté le 02/09/2021 à 13h19min.
2. Anonyme II : <https://docteurbonnebouffe.com/thé-vert-bienfaits-mefaits> , consulté le 10/08/2021 à 01h02min.
3. Anonyme III : <https://www.palaisdesthes.com> /thé oolong, consulté le 02/09/2021 à 14h05min.
4. Anonyme IV : <https://radio.vinci-autoroutes.com/article/quel-the-noir-choisir--4601>, consulté le 10/08/2021 à 02h35min.
5. Anonyme V : <http://chimactiv.agroparistech.fr/fr/aliments/antioxydant-dpph/principe>, consulter le 06/08/2021 à 19h154min.

# **Annexes**

## Annex I

**Tableau I :** L'ensemble du Matériels et Réactifs utilisés dans cette étude .

Matériel	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Balance analytique(RADWAG</li><li>➤ Bain marie ( Memmert)</li><li>➤ SpectrophotomètreUV-Visible (Thermo)</li><li>➤ Etuve (Mettler)</li><li>➤ Autoclave</li><li>➤ Bec benzène</li><li>➤ Verreries (Tubes à essai, éprouvette, erlenmeyer, bécher, pipette graduée, entonnoirs, boîtes de pétries )</li><li>➤ Ecouillons, Pince, Anse de platine, Disque en papier</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Eau distillée</li><li>➤ Acide tannique</li><li>➤ Acide sulfurique à 70%</li><li>➤ La vanilline</li><li>➤ Acide gallique</li><li>➤ Le réactif de Follin</li><li>➤ Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></li><li>➤ Ethanol</li><li>➤ DPPH</li><li>➤ Trichlorure d'Aluminium AlCl<sub>3</sub></li><li>➤ La quercétine</li><li>➤ Le milieu de culture Muller Hinton</li><li>➤ Les bactéries</li><li>➤ Eau physiologique</li><li>➤ La gélose nutritive</li></ul>

## AnnexII



**Figure 01:**Résultats de Tests phytochimiques d'extrait aqueux de thé vert.

### Annex III : Courbe d'étalonnage

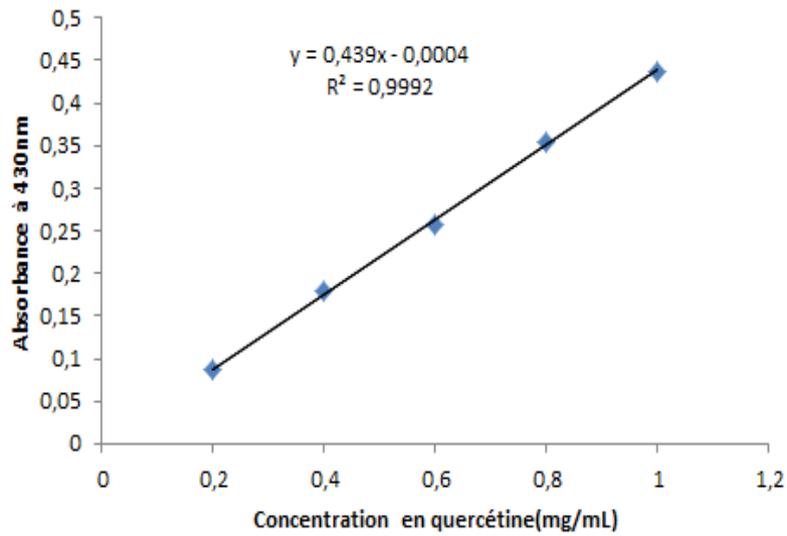


Figure 1 : Courbe étalon pour le dosage des flavonoïdes

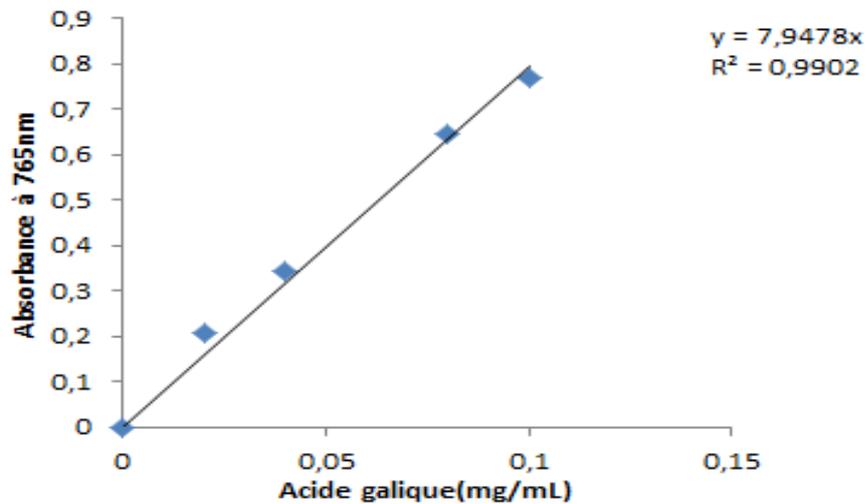
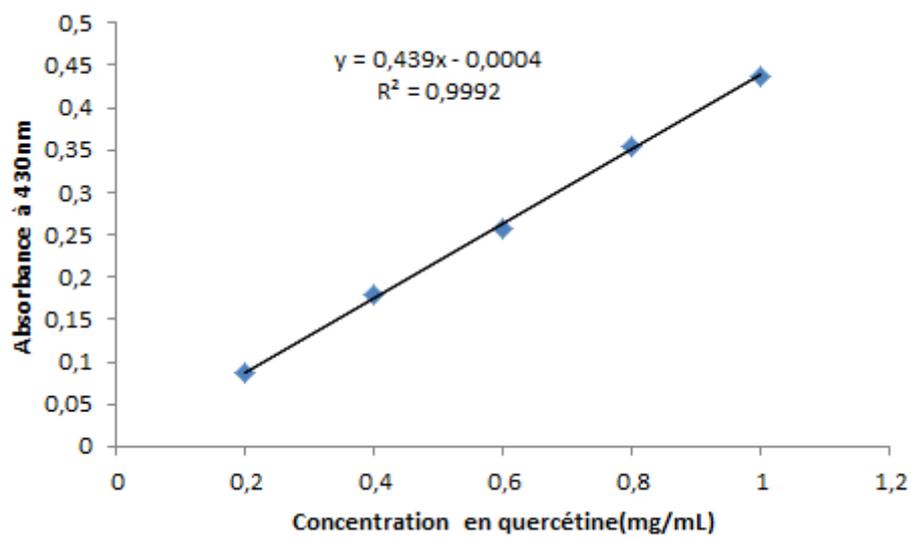


Figure 2 : Courbe étalon pour le dosage des polyphénols



**Figure 3 :** Courbe étalon pour le dosage des tanins

**Annex III : Image photographique de HPLC**



**Figure 1 :** image photographique d'appareil HPLC

#### Annexe IV :Image photographique de infrarouge



Figure1 : Infrarouge pour le thé vert.

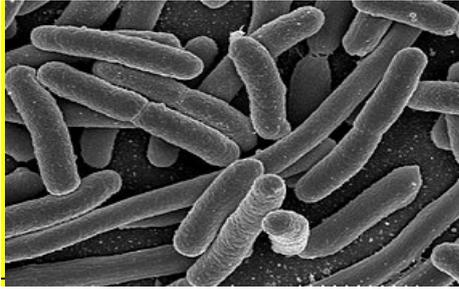


Figure 2 : image photographique infrarouge PLA.

**Annexe V : Activité antibactérienne**



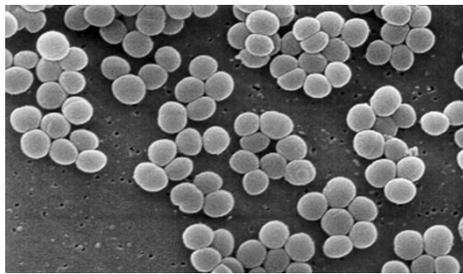
**Figure1** : images photographique de test entibactirienne.



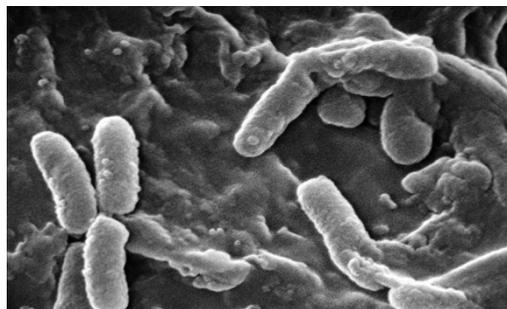
**Figure 2 :** *Escherichia coli* (Wales et AL.,2001)



**Figure 4:** *Salmonella Sp* (Wray et al., 2000).



**Figure 3 :** Souche de *Staphylococcus aureus* en  
microscopie électronique (Batabyal et al., 2012).



**Figure 5:** *Pseudomonas aeruginosa* vue au  
microscope électronique (Cheryle A . Nickerson., 2001)

