

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 matériaux organique(LMO)
Laboratoire de recherche (3BS)

Mémoire EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE Master

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

Présenté par

BOUDJLIL Celia et AMARI Wennassa

Thème

MICROENCAPSULATION DES EXTRAITS DE THÉ

Soutenue le .. /07/2022

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade		
Mme BOULEKBACHE Lila	professeur	Université de Bejaia	Président
Mr REZGUI Farouk	professeur	Université de Bejaia	Examineur
Mme BEY Zakia	MAA	Université de Bejaia	Encadrant
Mme BOURICHE Sihem	docteur	Université de Bejaia	Encadrant

Année Universitaire : 2021/2022

REMERCIEMENT

Nous remercions le bon Dieu de nous avoir donné la volonté et la force pour élaborer ce travail.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à:

Notre promotrice Mme BEY et Melle BOURICHE, la Co-encadreur, qui nous a encadrés, guidés et orientés durant toute cette période de travail. Nous remercions vivement, les membres du jury qui ont accepté de valoriser ce travail. Nos tenons à remercier les techniciens de laboratoire de génie des procédés du bloc 11. On tient à exprimer notre gratitude à nos amis/es, nos collègues. Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants durant toutes nos années d'études. Toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de ce travail.

Dédicaces

Tout d'abord, je dédie ce modeste travail à :

Mes chers parents. Je tiens à leur faire part de ma reconnaissance de leurs sacrifices. Pour faire de moi la personne que je suis aujourd'hui.

Mes chères sœurs et frères je leurs souhaite beaucoup de réussite, de bonheur et de bonne santé.

Je les remercie de tout le soutien, et l'aide qu'ils m'ont apporté.

Je dédie ce mémoire également à ma binôme Célia pour la complicité, le partage et tout le vécu que nous avons enduré et surmonté ensemble.

A l'ensemble de mes enseignants, du primaire jusqu'à ce jour. A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

A mes adorables amis, mes camarades, et tous ceux qui ont vécu avec moi les instants les plus difficiles durant ce travail.

Wennassa

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Mon père en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et santé et prospérité.

Ma mère : qu'elle trouve ici l'hommage de ma gratitude, si grande qu'elle puisse être, ne sera à la hauteur de ses sacrifices et ses prières pour moi.

Mes chers frères et soeurs à qui souhaitent beaucoup de réussite et de bonheur.

Ma chère binôme Wennassa en témoignage de l'amitié qui nous unie.

A tous mes amis qui me sont chères, qu'ils trouvent ici l'expression de mes sentiments les plus dévoués et mes vœux les plus sincères. Que Dieu le tous puissant vous préserve tous et vous procure sagesse et sérénité.

Célia

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction général	1
----------------------------	---

Chapitre I : Le thé vert

I.1 : Historique.....	3
I.2 : Définition du thé vert.....	3
I.3 : Description botanique.....	4
I.4 : Classification botanique.....	5
I.5 : Production de thé vert dans le monde.....	5
I.6 : Fabrication et consommation du thé vert.....	6
I.6 : Les compositions chimiques de Thé vert.....	8
I.7 : Le stress oxydatif	9
I.8 : Système antioxydant.....	9
I.8.1 : Définition.....	9
I.8.2 : Classification des antioxydants.....	9
I.9 : Généralité sur les polyphénols	10
I.9.1 : Classification des poly phénols.....	10
I.9.1.1 : Poly phénols simples.....	10
I.9.1.2. poly phénols complexes.....	12
I.10 : Propriétés chimiques des poly phénols.....	13
I.10.1 :Nucléophilie.....	13
I.11 : Extraction et dosage des polyphénols.....	13

Chapitre II : la Microencapsulation

II.1 : Historique d'encapsulation.....	15
II.2 : Définition d'encapsulation.....	15
II.3 : Classification des microparticules.....	15
II.4 : Intérêts d'encapsulation.....	16

II.5 : Objectif d'encapsulation.....	17
II.6 : Domaines d'application d'encapsulation.....	17
II.6.1 : La micro encapsulation en industrie alimentaire.....	19
II.7 : Matériaux d'encapsulation.....	19
II.7.1 : Cas de la pectine et de la caséine.....	20
II.7.2 : La caséine.....	20
II.8 : Les émulsions.....	20
II.8.1 : Définition d'émulsion.....	21
II.8.2 : Différents types d'émulsion.....	21

Chapitre III : Matériels et méthodes

Partie1 : Etudes des activités biologiques

III.1 : Matière végétale.....	23
III.2 : Matériels et réactifs.....	23
III.3 : Mode opératoire	23
III.3.1 : Extraction des composés phénoliques	24
III.3.2 : Rendement des extractions.....	24
III.3.3 : Caractérisation qualitatives.....	24
III.3.4 : Analyse par HPLC	25
III.3.5 : Analyse par infrarouge.....	25
III.3.6 : Caractérisation quantitative.....	26
III.3.6.1 : Dosage des polyphénols.....	26
III.3.6.2 : Dosage des flavonoïdes.....	27
III.3.6.3: Dosage des tanins.....	27
III.3.6.4 : Dosage de chlorophylle (a, b) de lycopène et B carotène.....	28
III.3.7 : Etude de l'activité antioxydante	29
III. 3 .7 .1 : Activité antioxydante par le piégeage du radical DPPH.....	29
III. 3 .7 .2 : Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP).....	29

Partie2 : la microencapsulation

III.1 : Produits utilisés	32
III.1.1 : Polyacide lactique.....	32

III.1.1.2 : Alcool Polyvinylique (PVA).....	32
III.1.1.3 : Dichlorométhane (CH ₂ Cl ₂).....	33
III.2 : Mode opératoire.....	33
III.3 : Détermination de taux d'encapsulation	34
III.4 : Introduction sur les plans d'expérience.....	34
III.4.1 : Domaine expérimental des facteurs.....	35
III.4.2 : Plan d'expérience factoriel.....	35
III.5 : Techniques de caractérisation.....	36
III.5.1 : Spectroscopie UV- visible.....	36

Chapitre IV : Résultats et discussions

Partie 1 : Etude des activités biologiques

IV.1 : Rendement d'extraction.....	40
IV.1 : Caractérisations phytochimique.....	40
IV.1.3 : Dosage des poly phénols totaux	41
IV.1.4 : Teneur en flavonoïdes totaux.....	42
IV.1.5 : Dosage des tannins	43
IV. 2.1 : Test de piégeage du radical libre DPPH.....	43
IV.2.2 : Réduction du fer (FRAP).....	43
IV.2.3 : Chlorophylle.....	44
IV.3 : Dosage des composés phénoliques par HPLC (chromatographie liquide haute performance.....	45

Partie 2 : la microencapsulation

IV .4 : Détermination de taux d'encapsulation.....	48
IV.5 : Détermination du modèle pour le taux d'encapsulation.....	48
IV.5 .1 : Détermination des effets significatifs et des coefficients du modèle	49
IV.5 .2 : Validation du modèle.....	50
IV.5. 3 : Conditions optimales d'encapsulation de l'extrait de thé dans le PLA.....	51
IV.5. 3 : Conditions optimales d'encapsulation de l'extrait de thé dans le PLA.....	51

IV .5 .4 : Caractérisation par spectrophotométrie d'absorption IR	51
Conclusion	55
Perspectives	55
Références bibliographiques	55
Résumé	

Liste des figures

Figure.I.1. Les trois types de thé	3
Figure. I. 2. Feuilles et fleurs de théier	4
Figure .I. 3. Schémade la plante Camellia sinensis	4
Figure.I.4. Principaux pays producteurs	5
Figure.I.5. Principes étapes du traitement des feuilles de théières après récolte	6
Figure.I.6. La cueillette des feuilles du thé	7
Figure. I.7. Flétriissage duthé.....	7
Figure.I.8. Torréfaction du thé	7
Figure.I.9. Roulage du thé.....	7
Figure .I.10. Séchage manuel du thé	7
Figure.I.11. Exemple d'acide phénolique.	11
Figure .I.12. Structures chimiques de quelques flavonoïdes.....	12
Figure. II.1. Représentation schématique des microparticules	16
Figure. II.2. Représentation des différents types d'émulsion	21
Figure. II.3. Représentation d'une émulsion double directe.....	22
Figure. III.1. Etape de filtration du thé	24
Figure.III.2. Structurechimiqueet photo de PLA	32
Figure.III.3. Formule développée et photo de PVA.	33
Figure. III.4. Formule développéeet photode CH_2Cl_2	33
Figure.IV.1. Photo représente le thé (a), le thé broyé (b) et l'extrait sec (c).....	40
Figure. IV.2. Histogramme de teneur en chlorophylle dans l'extrait.....	44
Figure.IV.3. Chromatogrammes de l'HPLC de l'extrait de thé vert.....	46
Figure .IV.4. Droite d'ajustement entre les réponses expérimentales et les réponses prédites donnée par JMP7	50
Figure .IV.5. Profils pour les valeurs optimales prédites par JMP7.....	51
Figure IV.6: Spectre IR TF de PLApure.....	52
Figure IV.7: Spectre IR-TFde l'extrait de thé.....	53
Figure IV.8: spectre IR- TF de PLA – pure, l'extrait de thé et MPs – extrait	54

Liste des tableaux

Tableau I.1. Classification botanique de <i>Camellia sinensis</i>	5
Tableau I.2. Composition chimique de la feuille de thé, exprimée en pourcentage par rapport au poids sec de la drogue.....	8
Tableau I.3. Principales méthodes d'études des composées phénoliques	14
Tableau II.1. Application de la micro encapsulation.....	18
Tableau II.2. Exemples d'application de la micro encapsulation dans le domaine alimentaire.....	19
Tableau III.1. Ensemble du matériel et réactifs utilisés dans cette étude.....	23
Tableau III.2. Domaine expérimental des facteurs.....	35
Tableau III.3. Matrice du plan d'expérience factoriel pour la microencapsulation.....	36
Tableau IV.1. Rendements des extraits de thé vert de <i>Camellia sinensis</i>	40
Tableau IV.2. Résultats des tests phytochimiques réalisés sur la poudre de thé vert (<i>Camellia sinensis</i>).....	41
Tableau IV.3. Teneurs en polyphénols dans les extraits de <i>Camellia sinensis</i>	42
Tableau IV.4 Teneur en flavonoïdes dans les extraits de <i>Camellia sinensis</i>	42
Tableau IV.5. Teneur en tannins dans les extraits de <i>Camellia sinensis</i>	43
Tableau IV .6. Pourcentage de DPPH de thé vert (<i>camellia sinensis</i>).....	43
Tableau IV. 7. Pourcentages de l ion FRAP de thé vert (<i>camellia sinensis</i>).....	44
Tableau IV.8. Résultats de l'analyse HPLC des extraits du thé vert.....	46
Tableau IV.9. Matrice d'expérience avec résultat d'encapsulation.....	48
Tableau IV.10. Coefficients de régression linéaire et d'analyse de variances du modèle proposé pour le rendement d'encapsulation.....	49

Introduction

Le thé est la deuxième boisson la plus bu dans le monde après l'eau. De nombreux bénéfices du thé vert ont été constatés sur la santé de la peau, du cœur et le contrôle du poids. Les recherches actuellement menées autour de cette boisson tentent de prouver ses effets bénéfiques sur la santé et en particulier sur la prévention de certaines maladies: cancer, diabète, obésité, maladie cardio-vasculaire [1]. L'extrait de thé vert contient un cocktail des composés caractérisés par leur activité antioxydant et antibactérienne, parmi ces composés: les polyphénols.

Les polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'au moins un motif phénolique (cycle aromatique sur lequel viennent se greffer un ou plusieurs groupements OH). Une des particularités des polyphénols réside dans leur incroyable diversité, puisque l'on dénombre plus de 8000 composés phénoliques, dont 5000 pour la sous classe des flavonoïdes, particulièrement les catéchines [2]. On connaît quatre types de catéchine, la plus puissante étant l'épigallocatechine galate (EGCg), spécifique au thé vert [3]. Les composés phénoliques présentent une sensibilité vis-à-vis la lumière ce qui altère leur activité thérapeutique. Afin de remédier à ce problème, l'encapsulation des extraits du thé dans des polymères biodégradable semble être la meilleure stratégie.

Des travaux sur l'encapsulation des extraits de plantes ont déjà été réalisés. S.Ydjed et al, ont encapsulé l'extrait de caroube dans des microsphères de polycaprolactone [4]. S.A. Hussain a encapsulé un mélange de polyphénols issu de différentes plantes dans la gomme arabique et de la gélatine [5]. D'après nos connaissances, l'étude sur l'encapsulation de l'extrait du thé n'a pas été réalisée dans une matrice PLA, ainsi que l'optimisation des paramètres d'encapsulation pour le même système par les plans d'expérience.

Le polyacide lactique est un polymère biodégradable très utilisé dans les procédés de la microencapsulation pour plusieurs substances actives afin de les protéger des milieux environnant (Température, lumière ...etc.)[6].

Notre travail porte sur l'extraction et l'encapsulation des extraits du thé dans une matrice PLA par la méthode de double émulsion évaporation du solvant en utilisant la méthodologie des plans d'expériences.

Après une introduction générale, ce manuscrit est structuré de trois parties principales.

La première partie comprend quelques rappels et définitions sur le thé vert et les composés phénoliques, des notions de base sur la double émulsion.

La deuxième partie détaille le mode opératoire de l'extraction, de l'encapsulation des extraits par la méthode de double émulsion et la caractérisation des microparticules par IRTF et les dosages par UV visible.

La troisième partie de l'étude consiste à la présentation des résultats et leurs discussions.

Finalement, une conclusion générale et des perspectives seront présentés.

Chapitre I

Bibliographie sur le thé vert *camellia sinensis*

I.1 : Historique

L'histoire du thé, boisson obtenue par infusion des feuilles du *Camellia sinensis* (camellia chinois), remonte à 2737 avant J.C selon la légende chinoise la plus célèbre ; sous le règne de l'empereur Chen Nung [7]. Son origine se situe probablement au Yunnan chinois ; au nord de l'Inde dans les régions de l'Assam en s'étendant jusqu'au sud de la Chine [8]. Il est ainsi introduit au Japon et dans le monde Arabe à partir du IX^e siècle. Puis en Europe au XVII^e siècle par les commerçants Portugais et Hollandais. Le thé est la boisson la plus consommée dans le monde après l'eau [9].

I.2 : Définition du thé vert

Le thé est très peu calorique il prend toutes les couleurs et à chaque couleur correspond un type de thé bien particulier, le thé vert aurait une plus grande activité antioxydante que les autres thés [10].

Le thé vert est une boisson préparée avec des feuilles séchées de *Camellia sinensis*, Ce type de thé est très populaire en Chine et au Japon, où il est réputé avoir les propriétés thérapeutiques les plus efficaces. Le thé vert se répand de plus en plus en Occident, où traditionnellement on boit plutôt du thé noir. Il est aussi l'ingrédient de base du thé à la menthe. Il existe trois principales formes de thé "le thé vert", "le thé Oolong" et le "thé noir". Ils proviennent de la même plante mais sont traités différemment (**figure I.1**).



Figure I.1. Photographie des trois types de thé [10].

I.3 : Description botanique

Camellia sinensis est un arbuste à fleurs persistantes, appartenant à la famille des théaceae. 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 [11]. Il possède un système racinaire pivotant et une durée de vie moyenne de 50 ans [12]. Ses feuilles persistantes sont isolées, alterne et d'une couleur vert foncé brillant. Leur taille est de 5 à 14 cm de longueur sur 1,9 à 5 cm de largeur [13].



Figure. I. 2. photographie des feuilles et fleurs de théier [14].

Les fleurs de théier sont petites blanches à jaune claire, solitaires ou groupées [15]. Le fruit est une capsule loculicide, les graines sont assez peu nombreuses, souvent aplaties ou aillées [16]. Cette plante ayant besoin d'un climat chaud à humidité constante et abondante, pousse principalement dans les régions tropicales et subtropicales, le sol qui lui convient en mieux est acide [17].



Figure I. 3. Photographie du schéma de la plante *Camellia sinensis* [18].

I.4 : Classification botanique

La classification botanique du théier a beaucoup évolué depuis la première Description de la plante en 1753 par Carl Von Linné. À cette époque, ils existaient deux genres distincts: Thea; contenant les variétés de thé cultivées et Camellia; comprenant les variétés ornementales. En 1759, ils furent fusionnés sous le nom de Camellia à cause de leurs points communs [19]. Aujourd’hui, Le théier cultivé est donc nommé Camellia sinensis. Deux variétés peuvent être distinguées: C. sinensis var. sinensis var. sinensis et C. sinensis var. assamica [20].

Tableau I.1. Classification botanique de Camellia sinensis [21].

Règne	Plantea
Division	Magnoliphyta
Classe	Magnoliopida
Ordre	Theales
Famille	Theaceae
Genre	Camellia
Espèce	Camellia sinensis

I.5 : Production de thé vert dans le monde

Le thé est aujourd’hui produit dans de nombreux pays et principalement en Inde et en Chine. Voici par ordre d’importance, en pourcentage de la production mondiale les pays producteurs de thé : Inde (34%), Chine (19%), Sri Lanka (11%), Kenya (10%), Japon (6%), Bangladesh (5%), Indonésie (5%), Turquie (2%), Iran (1%), Argentine (1%), Malawi (1%), Taiwan (1%), Georgie (1%), Mozambique (1%) (**Figure .I.4**) [22].

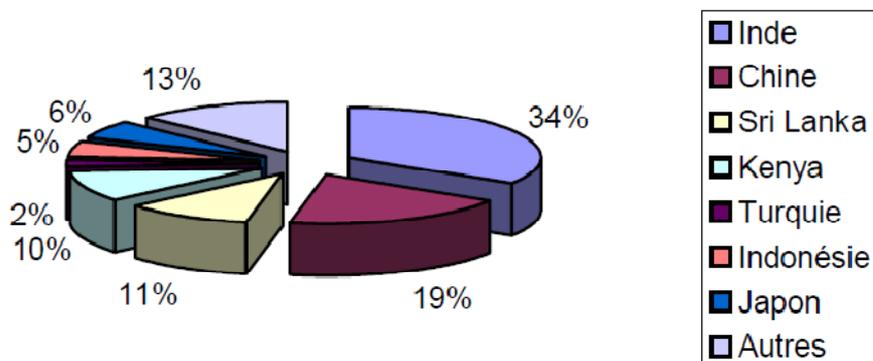


Figure .I.4 . Principaux pays producteurs [23].

I.6 : Fabrication et consommation du thé vert

Le thé est manufacturé de la feuille et du bourgeon du *Camellia Sinensis*, il existe trois catégories de thé dans le commerce : le thé vert (20% de la Production mondiale en 2005), le thé noir (78% de la production mondiale en 2005) et le thé semi fermentés ou oolong (2%) [24]. Ces trois catégories de thé se distinguent par leurs procédés de fabrication (**Figure I.5**) par leurs goûts et par leurs compositions chimiques [25].

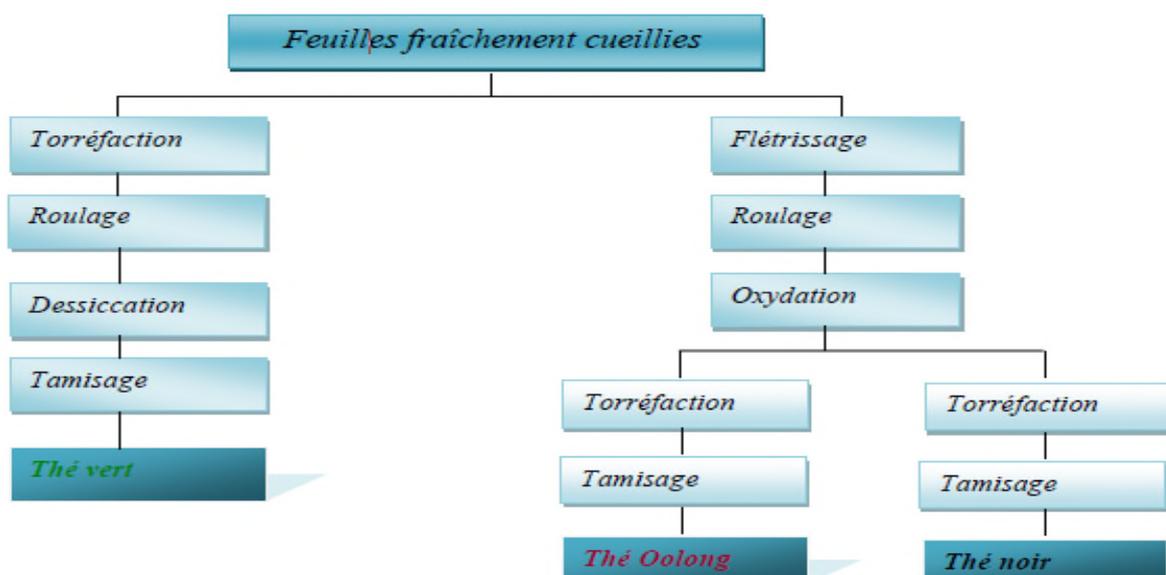


Figure. I.5. Les principes étapes du traitement des feuilles de théières après récolte [26].

La fabrication d'un thé vert se déroule en 5 étapes principales

- **La cueillette:** Les théés verts sont fabriqués à partir de jeunes pousses. En effet, selon le grade désiré, les cueilleuses doivent sélectionner le bourgeon seul ou le bourgeon accompagné, deux ou trois jeunes feuilles [27] (**Figure I.6**).
- **Le flétrissage:** Le but du Flétrissage est de réduire le plus rapidement la teneur en eau des feuilles afin de limiter les phénomènes d'oxydation [27] (**Figure. I.7**).
- **La torréfaction:** Cette étape, est sans doute la plus importante dans le processus de fabrication d'un thé vert. C'est-elle qui va décider de la couleur, de l'odeur et du goût du thé vert (**Figure.I.8**). En inactivant les enzymes présentes dans les feuilles fraîches, elle va définitivement arrêter l'oxydation enzymatique, préserver les précieux polyphénols et réduire voir éliminer la saveur végétale de la feuille fraîche et libérer les arômes [27].
- **Le roulage:** Comme pour le thé noir, cette étape peut être réalisée mécaniquement ou manuellement. Le plus souvent le façonnage en bâtonnets, perle ou torsade se fait à la main. La forme donnée à la feuille influera sur les notes de la liqueur : un roulage

léger donnera des notes douces, un roulage plus travaillé, des notes plus corsées [28] (Figure I.9).

- **Le séchage** : est l'ultime étape de la fabrication d'un thé vert. Il va assurer une parfaite conservation du thé et développer de nombreux composés aromatiques nouveaux [27] (figure I.10).



Figure .I.6. Photographie de la cueillette des feuilles du thé.

Figure .I.7. Photographie de

flétrissage du thé



Figure. I.8. Photographie de **Figure. I.9.** Photographie de roulage

Torréfaction du thé

Figure. I.10. photographie de séchage manuel du thé

I.6 : Les compositions chimiques de Thé vert

Au fur et à mesure que les feuilles deviennent matures, la teneur des constituants chimiques varie notamment les polyphénols, les bases puriques et les acides aminés [29]. Or, ces composés, principalement les polyphénols et les bases puriques, jouent un rôle essentiel dans l'activité pharmacologique du thé. Finalement, il faut distinguer la composition chimique de la feuille de thé fraîche de celle de l'infusé, obtenu à partir de feuilles de thé travaillées et sèches (**Tableau I.2.**). Il ne faut pas oublier que la saison, le climat et la variété influencent la composition chimique du thé [30].

Tableau I.2. Composition chimique de la feuille de thé, exprimée en pourcentage par rapport au poids sec de la drogue [31 ; 32 ; 33].

COMPOSÉS DE LA FEUILLE DE THÉ FRAÎCHE	POURCENTAGE DE LA MATIÈRE SÈCHE
Poly phénols	20% à 36%
Flavonols	25%
Acides phénols	3%
Bases puriques	/
Caféine	2% à 4%
Théophylline	0,02 à 0,04%
Théobromine	0,15 à 0,2%
Glucides	5%
Protéines	15%
Acides aminés	3 à 4%
Lipides	2 à 3%
Minéraux	3 à 5%
Cellulose	7%
Caroténoïdes	<0,1%
Chlorophylle	0,5%
Composés volatils	0,01 à 0,2%
Cendres	5%

I.7 : Le stress oxydatif

En conditions physiologiques, le dioxygène, élément indispensable à la vie, produit au niveau de la mitochondrie des espèces oxygénées réactives (EOR) particulièrement toxiques pour l'intégrité cellulaire. Ces EOR, dont font partie les radicaux libres, sont dotées de propriétés oxydantes qui les amènent à réagir, dans l'environnement où elles sont produites, avec toute une série de substrats biologiques (lipides, protéines, ADN, glucose,...). Longtemps considérés comme des agents toxiques responsables de dysfonctions et de mort cellulaires, il est actuellement admis que les EOR sont de véritables messagers secondaires impliqués dans l'expression et la régulation des fonctions de prolifération et de mort cellulaire. De plus, ils sont des médiateurs inflammatoires impliqués dans diverses pathologies neuro-dégénératives ou vasculaires telles que l'athérosclérose ou l'hypertension. Les cellules génèrent divers types d'EOR de réactivités différentes [34].

I.8. Système antioxydant

I.8.1. Définition

Un antioxydant est une substance qui, à faibles concentrations, retarde ou empêche l'oxydation réaction antioxydante [35]. En fait, les antioxydants font l'objectif 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 [36].

I.8.2. 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 [35].

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 [36].

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) [35].

I.9 : Présentation générale sur les polyphénols

Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Les polyphénols sont des métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la production [37,38]. L'expression de « composés phénoliques » est utilisée pour toutes substances chimiques possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles [39]. Un nombre considérable de ces composés sont formés de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un hétérocycle de type pyrane. Ces composés diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, par la nature de l'élément central et par la position, la nature et le nombre de molécules de sucre fixée.

I.9.1 : Classification des poly phénols

Les poly phénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones. Ces molécules sont généralement trouvées conjuguées aux sucres et les acides organiques [40]. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes [41].

I.9.1.1 : Poly phénols simple

➤ Acide phénolique

Ils appartiennent à deux groupes, les acides hydrox benzoïques et les acides hydrox cinnamiques.

➤ Les acides hydrox benzoïques

Ils sont les dérivés de l'acide benzoïque et on a une formule de base de type C_6-C_1 [42] dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique (**figure I.11.**).

➤ Les acides hydrox cinnamiques

Ils représentent une classe très importante dont la structure de base (C_6-C_3) dérivée de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base de la série hydrox cinnamique sont l'acide caféique et l'acide férulique (**Figure I.11.**)[43].

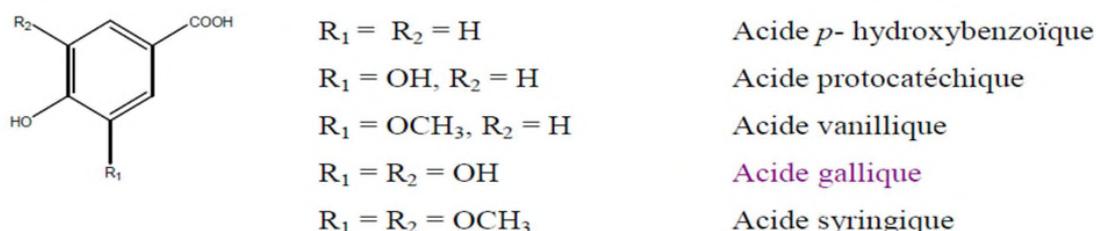


Figure I.11.Exemple d'acide phénolique [43].

➤ Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés poly phénoliques, presque toujours hydrosolubles et très répandus dans le règne végétal. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits, et parfois des feuilles. Le plus souvent, ils sont sous forme d'hétérosides ou de flavonoïdes [44].

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyranne, formant une structure C6-C3-C6 [42].

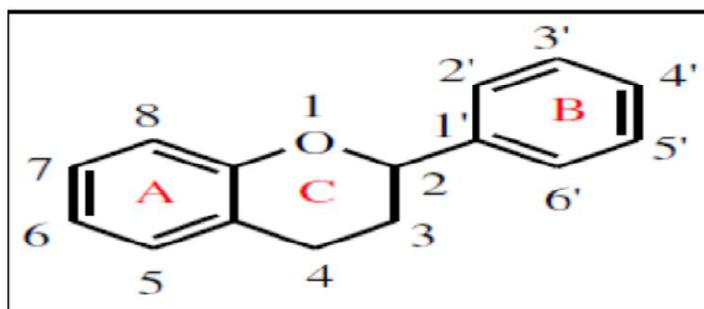


Figure I.12. Squelettes de base des flavonoïdes [42].

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées par domaine médical, où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-radicalaires, antiallergiques, anti-tumorales, mais aussi anti-inflammatoires et anticancéreuses [45]. La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques: Flavonols, flavones, Flavonols, flavanones, isoflavones et les anthocyanidines (**figure .I.12.**) [45].

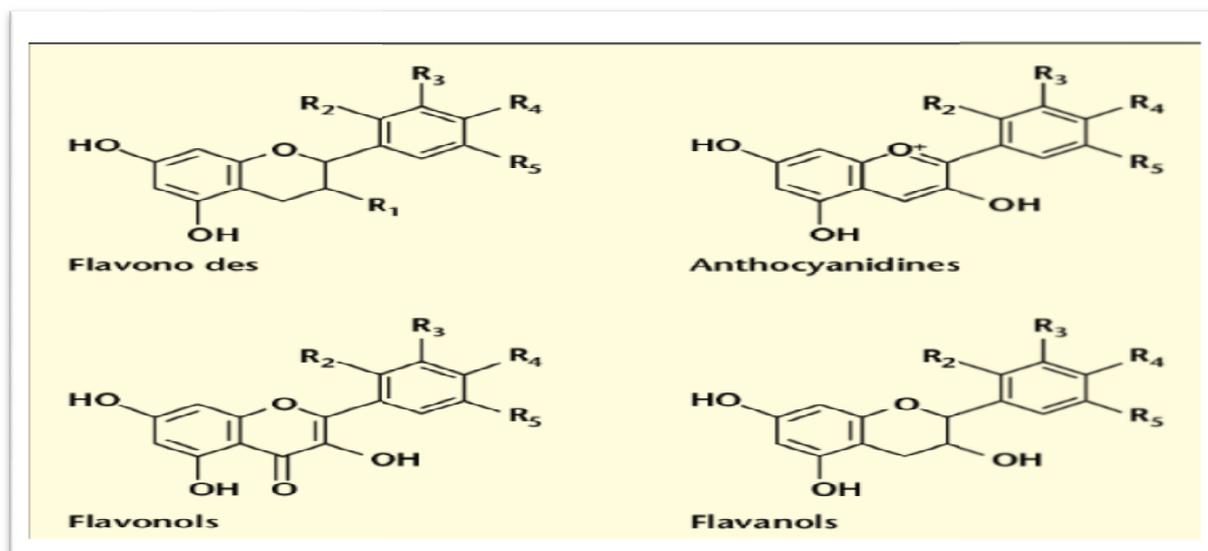


Figure I.12. Structures chimiques de quelques flavonoïdes [45].

➤ Alcools phénoliques

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique [42]. Le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) et l'hydroxytyrosol (3,4-dihydroxyphenylethanol) sont les deux principaux alcools phénoliques. On les trouve principalement dans l'huile d'olive et dans les vins rouges [46].

I.9.1.2. poly phénols complexe

➤ Les tanins

Les tanins sont un groupe de polyphénols à haut poids moléculaire et qui existent dans presque chaque partie de la plante : écorce, bois, feuilles et racines [47]. Ces composés sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments [48].

Les tanins naturels sont subdivisés selon leur structure chimique en deux groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés [49]. Les tanins condensés ou proanthocyanidines sont des dimères ou polymères de flavan-3-ols, le plus souvent la catéchine et les catéchols, comme profisetinidine, prorobinetinidine, procyanidine, prodelphinidine, petites fractions de sucres simples et d'autres polysaccharides [50]. Ces unités sont liées entre elles par une seule liaison (Interflavanique) carbone-carbone C4-C8 ou C4-C6 dans le type A des proanthocyanidines ou par une Liaison Interflavanique double (C4-C8 ou C4-C6) et (C2-O C7) dans le type B [51,52]. Tanins hydrolysables sont des oligos ou des polyesters d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable d'acide phénolique. Le sucre est généralement le glucose.

Soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés dans le cas des tanins éllagiques [52].

I.10 : Propriétés chimiques des poly phénols

Les propriétés chimiques des polyphénols sont essentiellement liées à celles des noyaux phénoliques, particulièrement des substituants à effet mésomère attracteur d'électrons (- M) et substituants à effet mésomère donneur (+M). La conjugaison d'une des deux paires libres de l'atome O avec le cycle traduit l'effet (+M) du groupe OH. Ce phénomène augmente la délocalisation électronique et produit une charge négative partielle sur les atomes C2, C4, C6.

L'effet (+M) peut être représenté par quatre formes mésomères [53].

De ces caractères de base découlent les différentes propriétés physico-chimiques suivantes :

I.10.1. Nucléophilie:

La nucléophilie des composés phénoliques est portée par l'atome d'oxygène et les atomes de carbone en ortho et para du groupement OH (suite à l'effet (+M)). Cette propriété est à l'origine des réactions de substituants électrophiles aromatique (alkylation, acylation, etc.) régi sélectives des positions ortho et para. Les substituants de type 1,3- dihydroxy (résorcinol) et 1, 3, 5-trihydroxy (phloroglucinol) permettent une accumulation de densité électronique sur les sommets C2, C4 et C6 (tous *ortho* ou *para* des groupements OH), accentuant ainsi le caractère nucléophile. Le cycle A des flavan ols possède deux centres C6 et C8 fortement nucléophiles car en *ortho* et en *para* de trois groupements OH ou OR à effet (+M). Le noyau A est également activé par le groupement carboné saturé en C4. Cette nucléophilie permet des réactions de substitutions électrophiles aromatiques qui peuvent par exemple intervenir lors de la production du thé noir [54].

I.11. Extraction et dosage des polyphénols:

L'extraction et le dosage des composées phénoliques se fait selon plusieurs méthodes les plus utilisées et employées sont résumés dans le tableau [55].

Tableau .I.3. Principales méthodes d'études des composées phénoliques [55].

	Technique	Principe
Extraction	Extraction par les solvants (macération)	Le contact entre le solvant (liquide) et la matière végétale (solide) a pour but de libérer les poly phénols présents dans les cellules par rupture des tissus végétaux et par diffusion [55].
	Séparation par chromatographie sur colonne	Elle consiste à absorber sur une résine du type C18 pour les poly phénols et flavonoïdes des extraits végétaux puis à éluer sélectivement les substances poly phénoliques au moyen d'éthanol ou méthanoaqueux [55].
	Extraction supercritique (SFE)	-Le CO2 supercritique, utilisé comme solvant d'extraction, du fait de sa faible viscosité lui confère une grande capacité de diffusion lui permettant d'avoir accès à des composées phénoliques liés à la paroi cellulaire et sa densité relativement élevée lui confère un pouvoir de solvation ce qui permet un meilleur taux d'extraction. -Procédé non dénaturant. -Temps d'extraction réduit [55].
Dosage		Dosage par spectrophotométrie
		Dosage par HPLC

Chapitre II

Bibliographie sur la microencapsulation

II.1 : Historique d'encapsulation

La première application industrielle de microparticules date des années 1950 quand Green et Schleicher ont encapsulé des particules de pigments dans des polymères naturels (protéine/gélatine et polysaccharide/gomme arabique) par coacervation complexe. Cette stratégie, aussi utilisée pour la production de papier "carbone", permet la duplication d'un texte ou d'une figure sous l'effet d'une faible pression en encapsulant des colorants [56].

Dans les années 1960, l'encapsulation de cristaux liquides par la gélatine et la gomme d'acacia pour la production de matériaux pour écrans thermosensibles a été décrite par des composés phénoliques [57]. Cette méthode d'encapsulation a permis le développement des écrans à cristaux liquides utilisés pour les structures aérospatiales.

Au cours des dernières années, la micro encapsulation s'est développée à l'échelle industrielle. Les microparticules ont des applications très variées, elles sont utilisées pour la production de textiles parfumés et de produits cosmétiques [58]. Pour la protection des récoltes agricoles [59] dans l'agroalimentaire pour donner de nouvelles propriétés aux aliments (encapsulation d'arômes, colorants, épices) [60] et dans le domaine de la médecine et de la pharmacie [61].

II.2 : Définition d'encapsulation

L'encapsulation est une technologie de conditionnement des substances solides, liquides ou gazeuses dans des capsules miniatures et scellées pouvant libérer leur contenu à des vitesses limitées sous l'impacte des conditions quasi -spécifiques. Une microcapsule est composée d'une membrane semi-perméable, sphérique, mince et solide entourant un noyau solide ou liquide, avec un diamètre qui varie de quelques microns à un millimètre [62].

II.3 : Classification des microparticules

Selon leur microstructure, Les microparticules obtenues par cette technique peuvent se présenter sous deux morphologies :

- Les microsphères qui sont des particules composées d'un réseau macromoléculaire ou lipidique continu formant une matrice dans laquelle se trouve finement dispersée la matière active.
- Les microcapsules qui sont des particules réservoirs constituées d'un cœur de matière active liquide ou solide, entourées d'une enveloppe solide continue de matériau enrobant [63].

Ces deux types de morphologie de microparticules sont représentés sur la (**Figure II.1**).

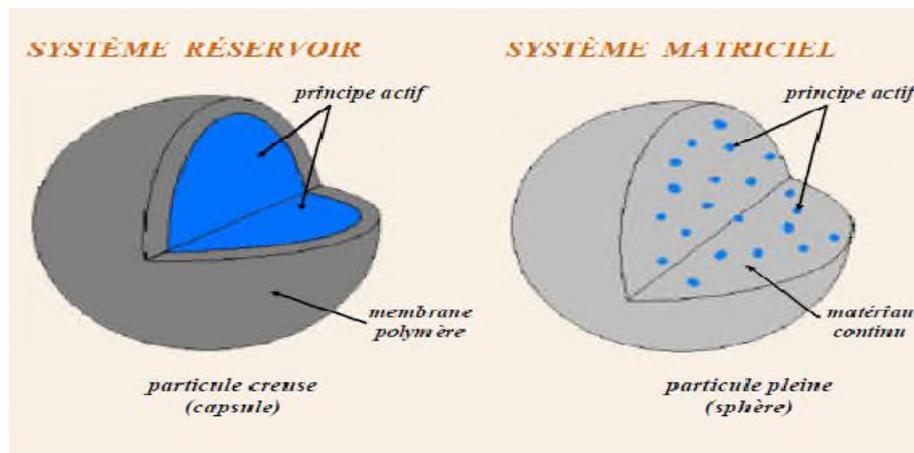


Figure II.1: Représentation schématique des microparticules

II.4 : Intérêts d'encapsulation

Les principaux intérêts d'encapsulation d'un matériau sont :

II.4.1 : Préserver la substance encapsulée

La micro encapsulation est un procédé de fabrication de particules fermées dans lesquelles le contenu a été enveloppé à l'intérieur d'un film. Elle permet non seulement d'éviter la pollution secondaire du contenu encapsulé, mais permet aussi une fonction d'isolation de matériaux fonctionnels sensibles à la lumière ou à l'oxygène d'un environnement extérieur.

II.4.2 : contrôler la libération de la substance encapsulée

La micro encapsulation permet le transfert de masse entre l'intérieur et l'extérieur d'une capsule via le contrôle des propriétés physiques et chimiques de la membrane. Normalement, il y a deux types de processus pour atteindre ce but : soit la diffusion à travers la membrane, soit l'éclatement de la membrane. Au niveau de la diffusion, le contrôle de la taille des pores de la membrane, l'épaisseur de la membrane, et le gradient de concentration des molécules spécifiques, permettent de contrôler la délivrance continue des principes encapsulés [64].

II.4.3 : Faciliter l'utilisation des produits de nature liquide

Cette technique permet de conditionner des produits liquides sous une forme solide. Ce processus facilite le transport des produits liquides, qui peuvent s'échapper ou s'évaporer du récipient. Pour chaque capsule, le dosage est contrôlé par le volume de la capsule. Les capsules pourront donc être apportées séparément selon le dosage dont on a besoin [65].

II.5 : Objectif d'encapsulation

L'objectif principal de l'encapsulation est d'établir une barrière entre la substance active et le milieu environnement. Cette technique permet de transférer des produits liquides en poudre pour résoudre les problèmes liés au stockage, à la consommation..., elle assure une libération contrôlée du principe actif.

II.6 : Domaines d'application d'encapsulation

On trouve désormais des applications de la micro encapsulation dans nombreux domaines industriels, cités dans le (**Tableau II.1.**) dans lequel sont également précisés des exemples de composés encapsulés.

Tableau II.1. Application de la micro encapsulation (D'après Finch et Bodmeier(2005) [66] Madene et al. (2006) [67]Vandamme et al. , (2007) [68]).

Domaine industriel	Exemples de composés encapsulés
Pharmacie et médical	Antibiotiques, contraceptifs, enzymes, vaccins, bactéries, vitamines, minéraux, antigènes, anticorps ...
Cosmétiques	Parfums, huiles essentielles, anti transparent, agents bronzants, crèmes solaires, colorants capillaires, baumes démêlants, mousses à raser ...
Alimentaire	Huiles essentielles, graisses, épices, arômes, vitamines, minéraux, colorants, enzymes, levures, micro organismes ...
Agriculture	Herbicides, insecticides, engrais, répulsifs, hormones végétales ...
Biotechnologie	Enzymes immobilisées, microorganisme, cellules vivantes, cellules artificielles, cultures tissulaires, composés nutritionnels ...
Chimie	Catalyseurs ,enzymes, additifs pour plastique, eau(plâtre et béton), inhibiteurs de corrosion , retardateurs d'incendie, colorants et pigments, agents UV protecteur, parfum, huiles essentielles, agents lubrifiants...
Détergents	Adoucissants, antistatiques, agents décolorants, agents moussants, silicones, cires, détachants ...
Textile	colorants, parfums, bactéricides, répulsifs d'insectes, retardateurs d'incendies, composés bioactifs cosmétique
Graphismes et impression	Colorants, pigments, parfums, révélateurs, cristaux liquides, toners, composés photosensible ...
Photographie	Halogénures d'argent, pigments colorants, composés photo polymérisables, révélateurs pour photographies couleurs, plastifiants ...
Electronique	Cristaux liquides, adhésifs, agents de séchage, antistatiques...

II.6.1 : La micro encapsulation en industrie alimentaire

Shahidi et Han [69] ont proposé des raisons pour l'application de la micro encapsulation en industrie alimentaire:

- Diminuer le pourcentage de transfert des composants vers l'environnement extérieur, tel les huiles essentielles, les arômes, ce qui participe à prolonger leur durée de conservation.
- Ciblage de l'activité ou de la libération des composés bioactifs.
- Contrôler la libération prolongée du Principe actif et/ou de composés bioactifs.
- Masquer et préserver le goût ou la flaveur des composés bioactifs incorporés dans les aliments.

Plusieurs travaux scientifiques ont été effectués, ainsi l'application de la micro encapsulation dans le domaine alimentaire.

Tableau II.2. Exemples d'application de la micro encapsulation dans le domaine alimentaire

Matériaux d'encapsulation	Matière active	Techniques d'encapsulation	Référence
Gomme Acacia /maltodextrines	Arome	Lyophilisation	[70].
Protéine de soja	Hydrolysate de caséine	Gélification	[71].
	Riboflavine	Atomisation	[72].
	Huile de poisson	Coacervation	[73].
Pectine	Huile de poisson	Atomisation	[74].
Amidon	Aromes	Gélification	[75].
		Atomisation	[76].
			[77].

II.7 : Matériaux d'encapsulation

Le système d'encapsulation joue un rôle essentiel sur l'efficacité et la stabilité des microparticules. Généralement, les critères de choix des matériaux enrobant sont basés sur leurs propriétés physico- chimiques (stabilité, humidité, pH, oxydation), thermiques et mécaniques. L'encapsulation permet de changer l'aspect du produit encapsulé : masquer le goût et l'odeur, modifier l'état de surface, la solubilité, la rhéologie ou l'état fondamental, comme par exemple la transformation des liquides ou des gaz en poudres fluides [78].

Parmi tous les matériaux, largement utilisés en micro encapsulation dans le domaine agro-alimentaire on trouve :

- Les polysaccharides, l'amidon et ses dérivés-amylase, amylopectine, dextrine, maltodextrines, poly dextrose, la cellulose et ses dérivés sont communément utilisés. L'enrobage des ingrédients alimentaires hydrosolubles dans les aliments acides.
- Les extraits de plantes-gomme Arabica, galactomananes et pectines, les extraits marins comme la carragenane et l'alginate sont également utilisés.
- Les protéines appropriées pour l'encapsulation sont la caséine et les protéines de lactosérum, la gélatine et le gluten.

II.7.1 : Cas de la pectine et de la caséine

Selon Cucheval [79] et Marcela [80] le complexe (pectine-caséine) peut être un bio polymère de choix pour la micro encapsulation en agroalimentaire vue sa biodégradabilité ainsi que son innocuité. La formation de ce complexe se fait grâce aux interactions ioniques entre le polysaccharide (la pectine) chargé positivement et la protéine (caséine) chargée négativement à un pH inférieur à son pH isoélectrique.

Les pectines sont des extraites des plantes (pépins des tomates, écorces d'agrumes et betteraves [81]. Elles représentent des structures variées. Leur structure primaire a été élucidée dans les années 1920. Les pectines sont des polymères composés de plusieurs chaînes d'acide galacturonique (AG), ramifiés en position α -(1-4) [82]. Elles sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire pour leurs propriétés gélifiantes dans des produits tels que les confitures et les gelées et pour leur capacité à stabiliser les produits laitiers acides.

II.7.2 : La caséine

Est un polypeptide complexe, résultat de la polycondensation de différents aminoacides, dont les principaux sont la leucine, la proline, l'acide glutamique et la sérine. Les caséines se caractérisent par leur faible solubilité à pH 4,6. Elles sont différenciées sur la base de la distribution des charges et de la sensibilité à la précipitation par le calcium. Elle correspond à une fraction micellaire qui représente près de 80% des protéines du lait [83].

II.8 : Les émulsions

Les émulsions font partie de notre vie quotidienne, soit sous la forme de produits consommables dans le domaine alimentaire, de la santé, l'hygiène, les cosmétiques...etc., soit comme un intermédiaire pour l'obtention d'autres produits tels que les polymères [84].

II.8.1 : Définition d'émulsion

Le terme émulsion définit comme un système hétérogène comprenant au moins un liquide immiscible dispersé dans un autre sous la forme de gouttelettes dont les diamètres sont supérieurs à $0,1 \mu\text{m}$. Un tel système se distingue par une stabilité minimale qui peut être augmentée par l'ajout d'additifs tels que des tensioactifs, permettant d'éviter la séparation des Phases. Les deux liquides ou phases formant l'émulsion sont appelées eau (E ou W) et huile (H ou O) [83].

II.8.2 : Différents types d'émulsion

Il est possible de décrire une émulsion suivant plusieurs paramètres : type, qualité de la dispersion, stabilité, rhéologie et éventuellement propriétés organoleptiques. Parmi les critères de classification les plus utilisées dans la littérature, le sens des émulsions et la solubilité de principe actif dans l'eau.

➤ Selon leur sens :

- Emulsion directe ou hydrophile ou bien huile dans l'eau (H/E) si la phase continue est la phase aqueuse.
- Emulsion indirecte ou lipophile ou bien eau dans huile (E/H) si la phase continue et la phase huileuse.

➤ Selon la solubilité du PA dans l'eau :

- Emulsion simple, eau dans huile (E/H) ou huile dans l'eau (H/E).
- Emulsion double ou complexe, eau dans huile dans eau (E/H/E).

Ces différents types d'émulsion sont représentés dans la figure (2).

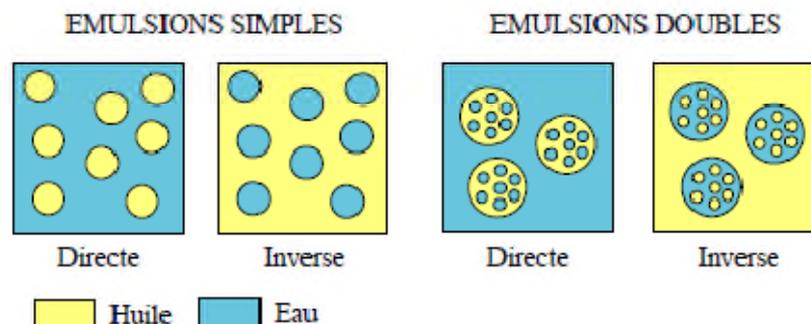


Figure II.2. Représentation des différents types d'émulsion.

➤ **Emulsions simples**

Les émulsions simples sont formées de gouttes liquides dispersées dans une phase continue. Ce type d'émulsion, direct ou inverse, est fixé au premier ordre par la solubilité Préférentielle du tensioactif dans l'une des phases, en accord avec la règle empirique de Bancroft: le recours à un tensioactif hydrosoluble permet de former une émulsion directe, alors qu'un tensioactif liposoluble favorise une émulsion inverse [84]. Cette méthode est la plus simple, elle s'effectue en préparant la phase dispersée par dissolution du PA et le polymère dans un solvant organique, puis en réalisant l'émulsification qui consiste à introduire la phase hydrophile dans la phase lipophile. Cette étape est suivie par l'évaporation du solvant organique qui produit la solidification des gouttelettes de la phase dispersée. A la fin les particules obtenues sont lavées pour éliminer le solvant résiduel, puis séchées et récupérées.

➤ **Emulsions doubles**

Les émulsions doubles sont des émulsions particulières, dans le sens où la phase dispersée est elle aussi une émulsion, leur spécificité directe vient du fait qu'elles constituent à la fois des films interfaciaux inverses (entre deux gouttes internes) et des films directs (entre deux globules), comme le désigne la (Figure .II.3.)

Généralement, les émulsions doubles directes font intervenir dans leur composition deux agents qui stabilise les films inverses. Grâce à cette structure particulière et leur facilité d'obtention, les émulsions doubles sont rapidement apparues comme un matériau idéal en tant que microréservoir, que ce soit dans le domaine de la cosmétique, de la pharmacie ou de l'industrie agroalimentaire.

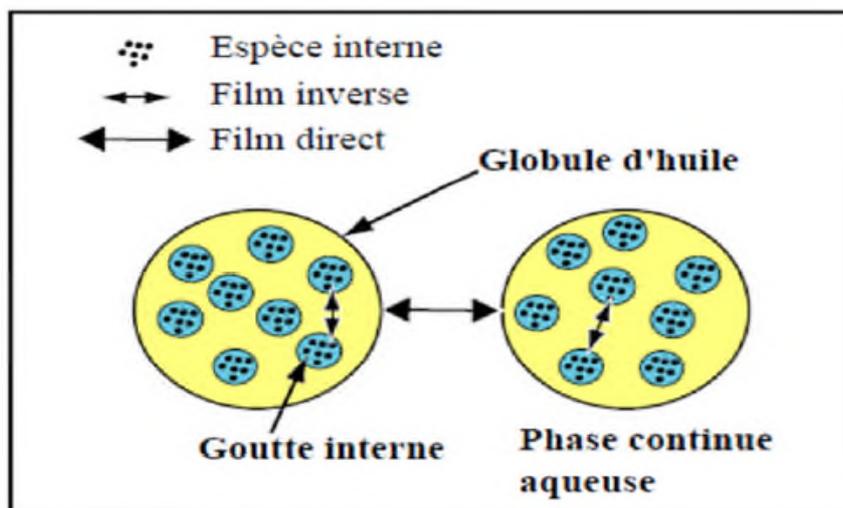


Figure II.3. Représentation d'une émulsion double directe.

CHAPITRE III

Matériels et méthodes

Partie 1 : Etude des activités biologiques**III.1 : Matière végétale**

La matière végétale utilisée au cours de cette étude est le thé vert (*Camellia sinensis*) commercial d'une marque El DIAF acheté à Bejaïa.

III.2 : Matériels et réactifs

Tableau III.1. Ensemble du matériel et réactifs utilisés dans cette étude.

Matériels	Réactifs
Balance analytique	Eau distillée
Bain marie	Acide sulfurique à 70 %
Spectrophotométrie UV – visible	La vanilline
Etuve	Acide chlorodrique
Verreries (tubes à essais, éprouvette, erlenmeyer, bécher, pipette graduée, entonnoirs, boîtes de pétri, micropipette)	Na ₂ CO ₃ , H ₃ PW ₁₂ O ₄₀ , H ₃ PMO ₁₂ O ₄₀ , K ₃ Fe(CN) ₆ , FeCl ₃ , AlCl ₃ , NaOH, HCl
	Ethanol
	DPPH
	Acide trichloracétique, tampon phosphate
	Poudre végétale, extrait sec
	Hexane, alcool, liqueur de Fehling
	Chloroforme

III.3 : Mode opératoire**III.3.1 : Extraction des composés phénoliques**

On broye le thé de 0,5 mm de diamètre et on chauffe 100 ml de l'eau distillé à 80°C. On pèse 20 g de poudre de thé puis on la mélange avec l'eau distillé chaude dans un bécher. Ensuite on fait l'agitation pendant 2 heures, filtre puis le sécher dans l'étuve pendant 2 jours (**Figure III.1**).



Figure III.1. Etape de filtration de thé.

III.3.2 : Rendement des extractions

Les extraits sont placés dans l'étuve ventilée réglée à 37°C pendant 2 jours jusqu'à l'obtention d'une matière sèche. Pour connaître la masse de d'extrait sec, nous avons pesé les contenants (bêcher) de ces derniers 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 %.

Pf : Poids final de l'extrait après séchage.

Pi : Poids initial avant séchage.

III.3.3 : Caractérisation qualitative

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.

➤ Flavonoïdes : Réaction à la cyanidine

1 ml de chaque extrait est ajouté à 100 µl de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition de la couleur rouge ou orange [85].

➤ **Tanins**

À 1 ml de l'extrait est ajouté 200 μ l de FeCl₃ 1 %. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu-noir Quinones libres [85].

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 quinones libres [86].

➤ **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 [87].

➤ **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 terpénoïdes [88].

➤ **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 quelques 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 100°C. L'apparition d'une coloration rouge brique indique la présence des réducteurs.

III. 3.4 : Analyse par HPLC :

L'analyse des composé phénolique a été réalisé avec une HPLC de type Dionix UltiMate3000. Les échantillons ont été filtrés à travers un filtre à membrane de 0,45 μ m et 20 μ L 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 1 ml/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 enregistrés 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. 3 .5 Analyse par infrarouge (IRTF) :

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est une technique non destructive. Son principe repose sur l'absorption de la lumière par la plupart des molécules dans la région de l'infrarouge de spectre électromagnétique et en convertissant cette absorption en vibration moléculaire qui est spécifique aux liaisons présentes dans la molécule. Le résultat est un spectre qui donne une "empreinte chimique" distinctive qui peut être utilisée pour visualiser et identifier des échantillons organiques [101].

En effet, chaque molécule absorbe la lumière infrarouge à des longueurs d'onde caractéristique de ses modes vibrationnelles. Une mesure du spectre infrarouge permet souvent d'identifier la composition moléculaire pour différents types d'échantillons solides, liquide ou viscoélastique.

III.3.6 : Caractérisation quantitative

III.3.6.1 : Dosage des poly phénols

- **Principe**

Le dosage des poly phénols dans les extraits étudiés (thé vert), est effectué selon la méthode de Follin Ciocalten [89]. Le réactif utilisé est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) 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 poly phénols présents dans les extraits.

- **Mode opératoire**

Dans des tubes à essais et à l'aide d'une micropipette, 200 μ L de chaque extrait dilué (1/100) est ajouté à 1mL du réactif Follin Ciocalten (dilué 1/10), puis agité pendant 1min. Après 8 min d'incubation à température ambiante, 1mL de carbonate de sodium 7,5%

(Na₂CO₃) sont additionnés au mélange. Puis les tubes sont maintenus à une température ambiante et à l'obscurité pendant 1 heure. L'absorbance est ensuite lue à $\lambda=765$ nm par un spectrophotomètre UV-Visible. La concentration en poly phénols 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/ 1 g de la matière sèche.

III.3.6.2 : Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'Aluminium [90] est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits. La méthode de dosage des flavonoïdes repose sur la capacité de ces composés à former des complexes chromogènes avec le chlorure d'aluminium (AlCl₃).

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'AlCl₃ (2%). Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance est lue à 430 nm 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 matière sèche.

III.3.6.3 : Dosage des tanins

Cette méthode à été décrite par Swan 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 [91].

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 .

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 avec une longueur d'onde égale à 500 nm.

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

$$C \text{ (mg EC /100g)} = \frac{Abs * MM * FD * 1000}{\epsilon L}$$

Abs : Absorbance à 350 nm

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

FD : facteur de dilution

L : trajet optique

ϵ : coefficient d'extinction molaire de la cyanidine ($\epsilon = 34700 \text{ L/mol.cm}$)

• **Détermination de la teneur en pigments liposolubles**

III. 3.6.4. Dosage de chlorophylle (a, b) de lycopène et B carotène :

Les colorants naturels ou pigments, dont la plupart sont d'origine végétale, forment une gamme très étendue de nuances (du jaune au bleu, en passant par le vert et même le noir) La chlorophylle, le lycopène et le B-carotène sont parmi les colorants les plus rencontrés et les plus utilisés dans les industries agroalimentaires. a des doses réglementées, ils sont bénéfiques pour la santé. Certains d'entre eux sont connus pour leur activités antioxydante, antimutagènes, voire anti carcinogènes [92].

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

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

$$\text{B-carotène (mg/100ml)} = 0,216 \times A_{663} - 1,220 \times A_{645} - 0,304 \times A_{605} + 0,452 \times A_{453}$$

$$\text{Lycopène (mg/100ml)} = -0,0458 \times A_{663} + 0,204 \times A_{645} - 0,304 \times A_{605} + 0,452 \times A_{453}$$

$$\text{Chlorophylle a (mg/100ml)} = 0,999 \times A_{663} - 0,0989 \times A_{645}$$

$$\text{Chlorophylle b (mg/100ml)} = -0,328 \times A_{663} + 1,77 \times A_{645}$$

III. 3 .7 . Etude de l'activité antioxydante

III.3.7.1 : Activité antioxydante par le piégeage du radical DPPH*

- **Principe**

L'évaluation du pouvoir antioxydant des différents extraits issue 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 en un composé jaune [93].

- **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 30 minutes et la lecture de l'absorbance est faite contre un blanc (Ethanol + Eau distillée) à 517 nm et le contrôle (DPPH* + Eau distillée) 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.3.7.2 : Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)

Cette méthode est basée sur l'aptitude des extraits à réduire le fer ferrique (Fe 3+) en fer ferreux (Fe 2+). le mécanisme est connu comme étant un indicateur de l'activité donatrice d'électrons, caractéristique de l'action antioxydante des poly phénols Elle consiste à mélanger 1ml de l'extrait à différentes concentrations avec 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M, ph 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$ à 1% (m/v)).le mélange obtenu est incubé à 50°C pendant 20 min , puis 25ml d'acide trichloracétique(CCl_3COOH) à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction . le mélange est centrifugé à 3000 g pendant 10 min à température ambiante. A 25 ml de surnageant sont

additionnés 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure de fer (FeCl_3) à 0,1%. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700nm [94].

Partie II : La micro encapsulation

Dans ce chapitre, nous allons présenter les matières premières utilisées, les protocoles et les techniques expérimentales mis en œuvre pour la réalisation de la partie pratique, comprenant le procédé d'encapsulation par plan d'expérience de Plon factoriel.

III.1 : Produits utilisés

III.1.1 : Polyacide lactique

L'acide lactique, monomère du PLA, est un acide carboxylique hydroxylé de formule $C_3H_6O_3$. L'atome de carbone 2 portant le groupe hydroxyle est asymétrique rendant la molécule d'acide lactique[95].

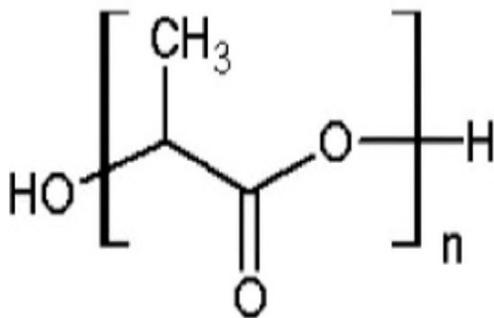


Figure III.2. Structure chimique[95]et photode PLA.

III.1.1.2 : Alcool Polyvinylique (PVA)

Le PVA se présente sous la forme de cristaux blancs. Sa formule chimique $(C_2H_4O)_n$. Il possède une excellente solubilité en eau (donner sa solubilité) et dans certaines limites, dans les alcools hydrosolubles tels que l'éthanol et méthanol, il est insoluble dans les solvants organiques [96].

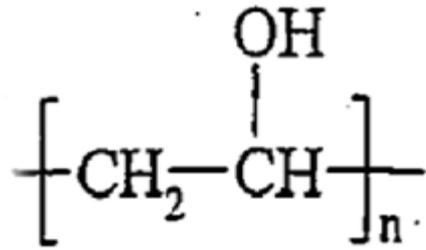


Figure III.3 Formule développée [96] et photo de PVA.

III.1.1.3 : Dichlorométhane (CH_2Cl_2)

Le dichlorométhane (CH_2Cl_2) est un composé chimique se présentant à température ambiante comme un liquide incolore et volatil émettant une odeur douceâtre relativement forte. Il est surtout utilisé comme solvant de composés organiques[97].

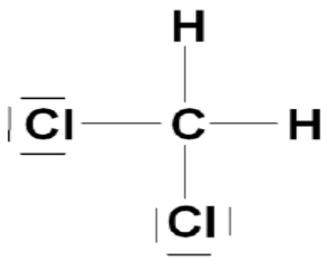


Figure III.4. Formule développée [97] et photo de CH_2Cl_2 .

III.2 : Mode opératoire

La micro encapsulation des extraits de thé dans le PLA a été réalisée par la méthode de double émulsion évaporation du solvant décrite dans la littérature avec quelques modifications [4]. Pour ce faire, 2 ml de l'extrait (E_1) est ajouté à 5 ml d'une solution de dichlorométhane à une concentration adéquate en PLA (H), une émulsion eau dans huile (E_1/H) est formée par agitation. Cette émulsion est introduite à la phase aqueuse contenant du PVA (E_2) sous forte agitation pour former une double émulsion ($E_1/H/E_2$). Le CH_2Cl_2 est ensuite évaporé sous agitation modérée (400 tr/min) à la température ambiante et sous pression atmosphérique

pendant une nuit. Les microparticules sont récupérées après centrifugation, puis lavées à l'eau distillée et séchées dans un dessiccateur.

Dans les conditions optimums, des microparticules ont été réalisées sans extrait (Blanc ou placebo).

III.3 : Détermination de taux d'encapsulation

Les taux d'encapsulation sont calculés par dosage indirect de la quantité de l'extrait sec non encapsulé présente dans le surnageant récupéré après centrifugation par la méthode décrite dans la littérature [98] à la longueur d'onde de 765 nm. Ils sont calculés par la relation suivante :

$$EE (\%) = \frac{C_0 - C_n}{C_0} \times 100 \dots\dots\dots \text{équation (1)}$$

Avec C_0 : Concentration initiale de l'extrait sec

C_n : Concentration des extraits en polyphénols non encapsulé

III.4 : Introduction sur les plans d'expérience

L'approche classique consiste à varier un seul paramètre du procédé d'encapsulation et peuvent mesurer son effet sur les propriétés des microparticules en maintenant tous les autres paramètres constants, le seul inconvénient de cette méthode c'est qu'elle est longue. Contrairement à la méthode classique, les plans d'expériences sont des méthodes statistiques faisant appel à des notions mathématiques. Il permet de détecter les interactions entre les facteurs, de déterminer les facteurs optimums dans la formulation d'un nouveau produit et de prédire par modélisation mathématique le comportement d'un procédé [99].

Les plans d'expériences sont appliqués à des études industrielles en recherche – développement dans de nombreux domaines vu qu'ils s'inscrivent dans une démarche générale d'amélioration de la qualité [100]. Le choix d'un plan d'expérience adéquat afin de répondre à une problématique bien précise se fait selon les informations recherchées.

III.4.1 : Domaine expérimental des facteurs

Le choix des facteurs est fondé sur des travaux antérieurs et appuyés par les résultats obtenus précédemment au laboratoire. Les facteurs susceptibles d'affecter le taux d'encapsulation d'extrait sec et le domaine expérimental sont donnés dans le tableau qui suit :

Tableau III.2. Domaine expérimental des facteurs

Facteurs	Niveaux		
	-1	0	+1
X1=concentration de polymère (mg)	200	250	300
X2= quantité d'extrait (mg)	70	100	130

III.4.2 : Plan d'expérience factoriel

Les résultats des taux d'encapsulation mesurée avec les différentes combinaisons des deux variables étudiées sont répertoriés dans le tableau 3, en suivant la matrice à 10 essais du plan d'expérience du plan factoriel à 2 facteurs et 3 niveaux.

Tableau III.3. Matrice du plan d'expérience factoriel pour la micro encapsulation.

Expérience	X1	X2
1	-1	-1
2	1	0
3	0	0
4	0	0
5	-1	0
6	1	1
7	-1	1
8	0	1
9	1	-1
10	0	-1

III.5. : Techniques de caractérisation

III.5.1: Spectroscopie UV-visible

La spectroscopie ultraviolet-visible ou spectrométrie ultraviolet-visible est une technique mettant en jeu les photons dont les longueurs d'onde sont dans le domaine de l'ultraviolet (100 nm - 400 nm), du visible (400 nm - 750 nm) ou du proche infrarouge (750 nm - 1 400 nm). Soumis à un rayonnement dans cette gamme de longueurs d'onde, les molécules, les ions ou les complexes sont susceptibles de subir une ou plusieurs transitions électroniques (s). Les substrats analysés sont le plus souvent en solution, mais peuvent également être en phase gazeuse et plus rarement à l'état solide. Le spectre électronique est la fonction qui relie l'intensité lumineuse absorbée par l'échantillon analysé en fonction de la longueur d'onde. Le spectre est le plus souvent présenté comme une fonction de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde. Il peut aussi être présenté comme le coefficient d'extinction molaire en fonction de la longueur d'onde. Cette technique est complémentaire de la spectroscopie de fluorescence qui mesure l'intensité lumineuse émise par un échantillon quand il est éclairé à une longueur d'onde où il absorbe. La fluorescence met en jeu des transitions depuis l'état excité jusqu'à l'état fondamental alors que la spectroscopie d'absorption traite des transitions entre état fondamental et état excité [101].

Chapitre IV

Résultats et discussions

Partie 1 : Etude des activités biologiques

IV.1 : Rendement d'extraction

L'extraction à partir des échantillons séchés et broyés est préparée par décoction dans l'eau distillée, les extraits ont été pesés pour déterminer le rendement. (Figure IV.1)

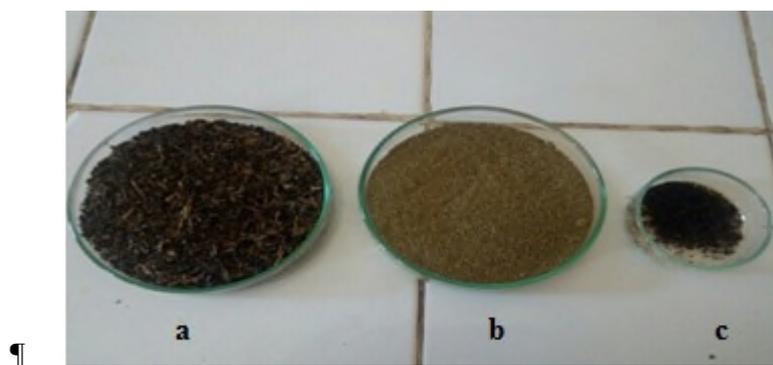


Figure IV.1. Photo représente le thé (a), le thé broyé (b) et l'extrait sec (c)

Tableau IV.1. Rendements des extraits de thé vert de *Camellia sinensis*.

Rendement %	Littérature %
25,38±1,3	35[102]

Nous avons remarqué que les résultats du rendement d'extraction de thé vert testé à 25,38 %. Le rendement d'extraction de *Camellia sinensis* obtenu par AMRANE (2021) [102] est de 35% qui est un résultat légèrement supérieure au résultat obtenu dans notre étude. Le rendement dépend probablement de l'espèce végétale étudiée et de son contenu en métabolites secondaires, la partie utilisée dans l'extraction, les conditions de récolte et d'entreposage, ainsi que la méthode d'extraction elle-même.

IV.1 : Caractérisations phytochimique

Les tests phytochimique nous ont permis de détecter la présence ou l'absence des groupes phénoliques (poly phénols totaux, flavonoïdes, tanins) existants dans les échantillons choisis, par des réactions de précipitation ou de coloration, avec utilisation de réactifs spécifiques. Les

résultats des tests photochimiques des extraits de poudre d'épices et thé vert sont représentés dans le **tableau IV.2**.

Tableau IV.2.Résultats des tests phytochimiques réalisés sur la poudre de *thé vert* (*Camellia sinensis*).

	Positive	Négative
Flavonoïde	+	
Tanins	+	
Saponosides	+ (L=1cm)	
Terpénoïdes	+	
Les glucosides	+	
Mucilages	+	
Irridoïdes		-
Composés réducteurs	+	
Quinons libres	+	

Présence (+) ou absence (-).

IV.1.3 : Dosage des poly phénols totaux

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux réalisés par la méthode basée sur le réactif de Folin-Ciocalten ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide gallique comme standard $y=1,235x + 0,027$ et $R^2=0,027$ Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g de MS). Les résultats obtenus sont représentés dans la **Tableau IV.3**. Les teneurs en polyphénols dans les extraits de *Camellia sinensis*.

Teneurs en polyphénols mg EAG/g de MS	Littérature mg EAG/mg deMS
490,8±1,52	402,9[103];31,6[104]

Les résultats montrent que le thé vert contient une teneur importante en composés phénoliques égale à 490,8 mg EAG /g de MS. Dans une étude similaire la teneur en

polyphénols totaux dans l'extrait de *Camellia sinensis* (402,9 mg EAG/g de MS) est supérieure à celle obtenue par QIONG L. et al. (2020) [103] qui est de 243 mg EAG/g de MS). De plus, BIZUAYEHU et al. (2016) [104] ont trouvé dans l'extrait de *Camellia sinensis* une teneur égale à 31,6 mg EAG/g de MS) qui est nettement inférieure aux trouvées dans la présente étude.

Ces différences de résultats peuvent être dues à la faible spécificité du réactif de « Folin Ciocalteu » qui est l'inconvénient principal de ce dosage colorimétrique. Il a été montré que le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et protéines. La teneur phénolique d'une plante dépend aussi d'un certain nombre de facteurs tels que, les conditions climatiques, le moment de la récolte, le solvant d'extraction, les conditions de stockage (SAIDI, 2019) [105].

IV .1.4 :Teneur en flavonoïdes totaux

Les résultats de la teneur en flavonoïdes totaux obtenus sont exprimés en termes d'équivalent de la quercétine à l'aide d'une courbe d'étalonnage dont, $y = 0,439x$ et $R^2 = 0,999$. Les résultats obtenus exprimés en microgramme équivalent de la quercétine par milligramme de matière sèche (mg EQ/g de MS) sont dans le **Tableau IV.4**.

Tableau IV.4 La teneur en flavonoïdes dans les extraits de *Camellia sinensis*.

La teneur en flavonoïde mg EQ/g de MS	Littérature mg EQ/g de MS
82,39±0,34	57,55±2,16[106]

La teneur de thé vert en flavonoïde égale à 82,39 (mg EQ/g de MS) respectivement comparé au thé vert pur égal 57,55 (mg EQ/g de MS) [106].

Les catéchines sont les principaux flavonoïdes des feuilles de thé, la teneur totale en catéchine était généralement comprise entre 92,4 mg/g à 165,4 mg/g (Shi, 2021), d'après les résultats de Carloni et al, 2013) [107] leur taux est de 1,94±0,57 mg/ml de thé en catéchine total. Cette différence est la résultante des différentes techniques d'extraction utilisées, ainsi qu'aux conditions totales de l'extraction à savoir, le type de solvant, la quantité du thé utilisée...etc.

IV.1.5 : Dosage des tannins

La teneur en tanins totaux est déterminée par la formation des ions Fe^{3+} . La teneur en tanins est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant de l'acide tannique comme standard $y=0,107x+0,027$ et $R^2= 0,996$. Les résultats obtenus (**Tableau TV.5**) sont exprimées en mgEqc/g de MS.

Tableau IV.5. La teneur en tannins dans les extraits de *Camellia sinensis*.

La teneur en tanins (mgEC/100 g MS)	Littérature
4,67±0,01	405,72(µg E.C/mg ES)[102]

Les résultats obtenus dans cette étude concernant la teneur en tannins est égal à 4,67±0,01mgEqc /g comparé aux résultats obtenus dans l'extrait *Camellia sinensis* qui est plus riche en tanins totaux de 405,72 (µg E.C. /mg ES)[102].

IV. 2.1 : Test de piégeage du radical libre DPPH

Les résultats de **Tableau IV .6** illustrent les pourcentages de l'activité antioxydante du thé vert (*camellia sinensis*).

Tableau IV .6. le pourcentage de DPPH de thé vert (*camellia sinensis*).

% de DPPH	Littérature
55,17±1,00	97,84±1,00 [106]

Les résultats obtenue par le test piégeage DPPH dans notre étude est de 55,17 %±1,00 qui est inférieur par comparaison avec le thé vert (*Camelliasinensis*) qui a une activité plus importante 97,84±1,00 [106].

IV.2.2 : Réduction du fer (FRAP)

Les résultats obtenus (**Tableau IV .7**) montrent que les extraits aqueux de thé vert ont un fort pouvoir réducteur par rapport aux autres extraits.

Tableau IV. 7. les pourcentages de l'ion FRAP de thé vert (*camellia sinensis*).

% pouvoir réducteur	Littérature
53,51±0,01	/

Le pouvoir réducteur des extraits des plantes étudiées est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme de donneurs d'électrons. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants[108].

IV.2.3 : Chlorophylle

Le dosage de la chlorophylle, de betacarotène et de lycopène a donné les résultats consignés dans l'histogramme suivant :

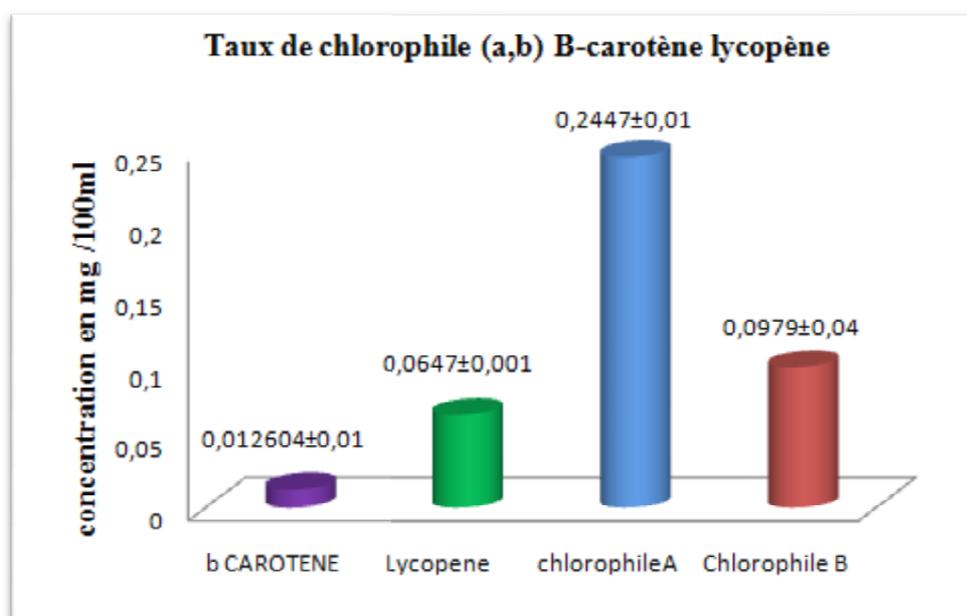


Figure IV .2 :Histogramme de teneur en chlorophylle dans l'extrait.

Les isomères de b-carotène ont été trouvés dans 15 thés commerciaux et les valeurs variaient de 2,5 mg à 92,2 mg par gramme thé sec. Différentes valeurs de b-carotènes ont été notées variant de 0 mg à 92,2 mg/g de plante sèche.

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). 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 photos 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 [109].

Le lycopène est un pigment rouge que l'on trouve dans les tomates. Il possède une forte propriété antioxydante, anti-inflammatoire qui aide à réduire les risques de maladies chroniques et systémiques et des propriétés anticancéreuses. 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)[110].

IV.3 : Dosage des composés phénoliques par HPLC (chromatographie liquide à haute performance)

Les chromatogrammes de l' HPLC des standards et d'extrait sont représentés ci –dessous.

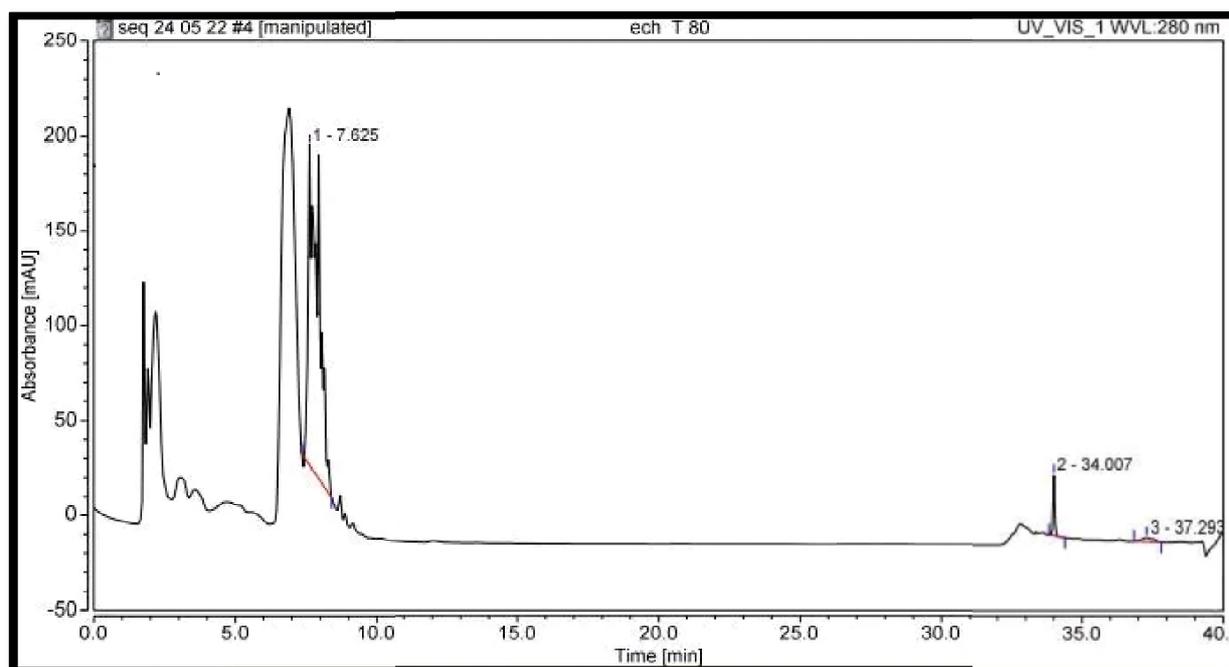


Figure IV.3 : Chromatogrammes de l'HPLC de l'extrait de thé vert.

Dans le but d'identifier les composés phénoliques des extraits de thé vert, nous avons réalisé une analyse par HPLC. Les résultats obtenus sont représentés dans le **Tableau IV.9**.

Tableau IV.8 : Les résultats de l'analyse HPLC des extraits du thé vert.

Nom de l'étalon	Présent	Absent	Temps de rétention
Acide caféique	+		7,62
Acide comarique		-	7,815

Les résultats montrent la présence de l'acide caféique dans l'extrait. Ces résultats nous constatons que l'extrait de thé vert est le plus riche en produits phénoliques (acide caféique). (Khan et al ; 2011) ont reporté la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes et des tanins dans de nombreuses plantes et qui sont d'une importance primordiale pour la santé des individus. En effet, O.I Oloyde, 2005 a reporté que les produits végétaux secondaires présents dans la pulpe de la papaye non mure tel que les saponines, sont connus pour être utilisés dans le traitement de l'insuffisance cardiaque et d'autres sont responsables des propriétés hypoglycémiantes tels

que les glycosides, les sels minéraux et les polysaccharides. Ces composés se sont avérés responsables de l'activité hypoglycémiant chez *Momordica charantica* également [111].

Partie 2 : La microencapsulation**IV.4 : Détermination le taux d'encapsulation**

La micro encapsulation de l'extrait de thé dans les microparticules de PLA a été réalisée par la méthode de double émulsion évaporation du solvant. Dans le but d'optimiser cette dernière, notre étude s'intéresse à l'effet de quelques paramètres expérimentaux à savoir la concentration du polymère X_1 et la quantité de l'extrait X_2 . Les essais sont menés conformément au plan factoriel complet et l'ensemble des résultats sont regroupés dans le tableau (IV.9) avec un taux d'encapsulation qui varie entre 89,42 % et 98,05 %.

Tableau IV.9. Matrice d'expérience avec résultat d'encapsulation

Numéro d'expérience	X1	X2	EE%
1	-1	-1	98,05
2	-1	0	90,32
3	0	0	93,71
4	0	0	94,72
5	-1	0	97
6	1	1	90,42
7	-1	1	95,95
8	0	1	91,49
9	1	-1	89,42
10	1	-1	95,66

IV.5 : Détermination du modèle pour le taux d'encapsulation

Le traitement des résultats expérimentaux a été effectué à l'aide du logiciel JMP7.

IV.5.1 : Détermination des effets significatifs et des coefficients du modèle

Les effets et les valeurs des coefficients de régression du modèle sont présentées dans le **Tableau IV.10**.

La signification des facteurs est déterminée suivant la valeur obtenue de la probabilité P, c'est la valeur la plus importante dans le tableau d'analyse de la variance. En effet, la valeur de la probabilité P inférieure à 0,05 indique que le coefficient du paramètre est significatif. On constate que les coefficients avec des valeurs élevées sont les facteurs les plus influençant [112].

Tableau IV.10. Coefficients de régression linéaire et d'analyse de variances du modèle proposé pour le taux d'encapsulation.

Termes de régression	Coefficients	P	Signification
X_1	-2,99	0,0007*	Significatif
X_2	-1,395	0,0113*	Significatif
$X_1 X_2$	1,5	0,0176*	Significatif
$X_1 X_1$	-0,7446	0,2127	non significatif
$X_2 X_2$	-0,8314	0,1743	non significatif

L'analyse du tableau (IV.10) permet de sélectionner les coefficients importants suivant :

Les effets de la concentration du polymère (X_1) la quantité de l'extrait (X_2) sont fortement significatifs, les valeurs de P sont 0,0007 et 0,0113 respectivement. L'effet de l'interaction entre la concentration du polymère et la quantité de l'extrait ($X_1 X_2$) est significatif avec une valeur de P égale à 0,00176. Les effets quadratiques de ($X_1 X_1$) ($X_2 X_2$) ne sont pas significatifs avec des valeurs de P égale à 0,2127 et 0,1743 respectivement; ceci montre l'absence

d'effets sur le rendement d'encapsulation. L'utilisation des coefficients de régression significatifs représentés dans le tableau (II,4) ci-dessus, on a abouti au modèle suivant

$$EE(\%) = 94.31 - 2,99X_1 - 1,395X_2 + 1,5X_1X_2 \dots \dots \dots \text{Equation IV.1}$$

Une valeur positive des coefficients de chacun des facteurs indique que la réponse augmente avec le facteur et une valeur négative montre la diminution de la réponse avec le facteur [113].

IV.5.2 : Validation du modèle

Pour confirmer la validation du modèle, un tracé des résultats mesurés et prédites obtenus par JMP7 est illustré dans figure suivante :

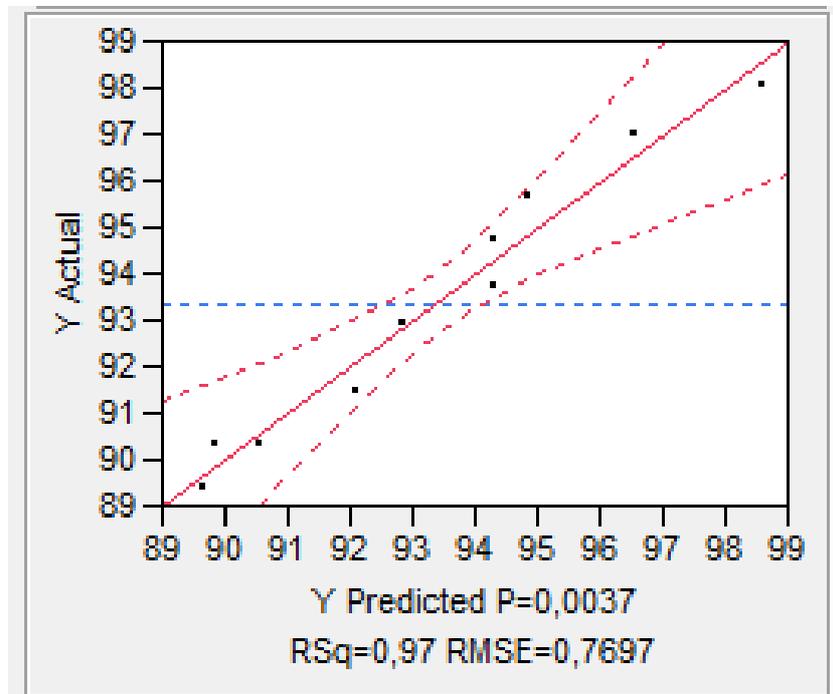


Figure IV.4. Droite d'ajustement entre les réponses expérimentales et les réponses prédites donnée par JMP7.

Le coefficient de régression (R^2) nous permet d'évaluer quantitativement la corrélation entre les réponses expérimentales et celles prédites par le modèle. La valeur R^2 calculée par l'équation (Equation IV.1) pour notre modèle est $R^2 = 0,97$. La valeur corrigée du coefficient de régression multiple R^2_{corr} calculée pour ce modèle est égale à 0,933. Les valeurs de R^2 et R^2_{corr} sont très proches de 1 ; ce qui explique une forte relation linéaire entre les réponses expérimentales et celles prédites par le modèle [114]. Ce résultat est confirmé par la représentation graphique (Figure IV.5) des réponses expérimentales et celles prédites par

le modèle (**Equation IV.1**), qui montre une bonne correspondance entre les valeurs expérimentales et prédites.

IV.5.3 : Conditions optimales d'encapsulation de l'extrait de thé dans le PLA

En utilisant un modèle mathématique pour décrire l'expérience, nous avons optimisé deux variables expérimentales pour une encapsulation maximale de l'extrait de thé dans le PLA. Les conditions optimales de l'encapsulation ont été obtenues par le logiciel JMP7 (**Figure IV.5**).

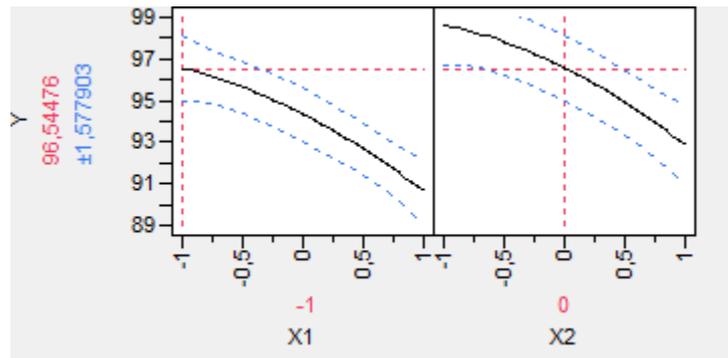


Figure IV.5. Profils pour les valeurs optimales prédites par JMP7

La figure indique que les conditions optimales pour d'encapsulation de l'extrait de thé dans le PLA étaient les suivantes :

- ❖ Concentration du polymère X1: -1
- ❖ Masse de l'extrait X2 : 0

Dans ces conditions, deux expériences ont été réalisées et le taux d'encapsulation trouvé est de 90 %, ce résultat est proche de celui prédit par le modèle ce qui confirme l'adéquation du modèle prévu.

IV.5.4: Caractérisation par spectrophotométrie d'absorption IR

La spectroscopie infrarouge est très utile pour examiner la présence de liaisons ou toute autres interactions chimiques susceptibles d'être établies dans une substance ou un mélange. Elle permet d'étudier l'impact que présente l'incorporation au départ de deux corps structurés différemment sur la structure résultante du produit obtenus après modification chimique.

Les spectres IRTF obtenu pour le PLA pure, l'extrait de thé, et les microparticules de PLA contenant les extrait du thé (MPs – extrait) sont est donné par les figures IV.6- IV.7 et IV.8 respectivement.

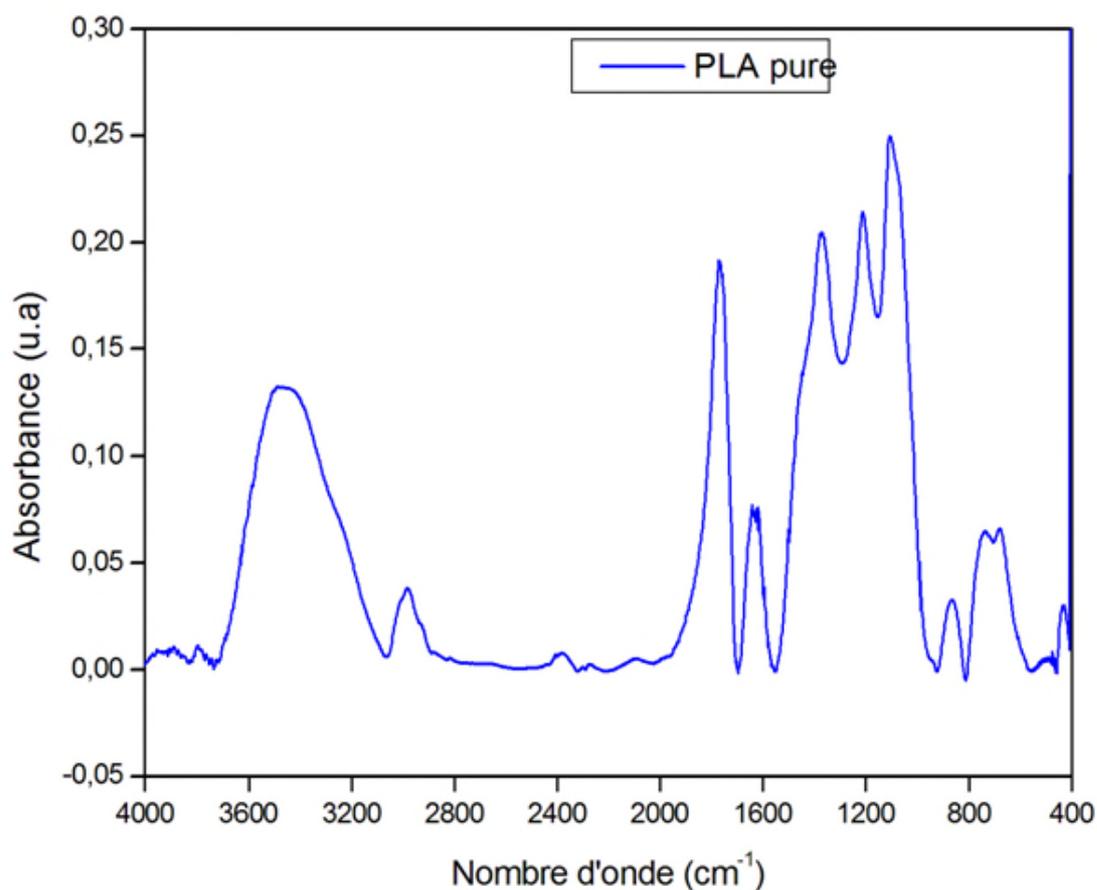


Figure IV.6: Spectre IR TF de PLA pure.

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

- Une bande d'absorption du groupement hydroxyde O-H dans la zone (3100 – 3700) à 3245 cm^{-1}
- Une bande d'absorption apparue dans la zone (1700 - 2000) à 1750 cm^{-1} correspond aux caractéristiques du groupement carbonyle C = O de la liaison ester. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés dans la littérature[6].

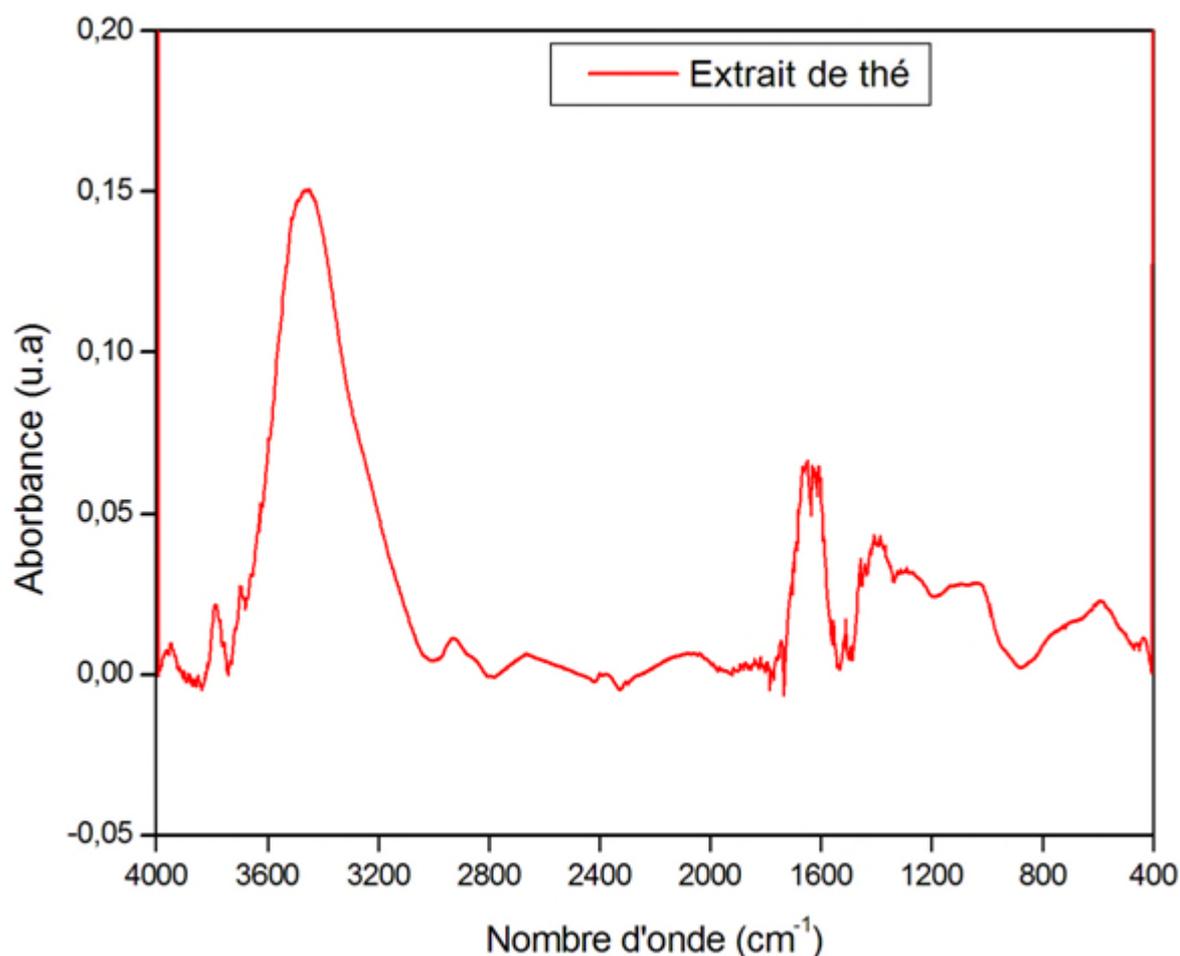


Figure IV.7: Spectre IR-TF de l'extrait de thé.

Le spectre IRTF représenté en figure **IV.7** permet de déterminer les bandes caractéristiques d'extrait de thé :

- La bande la plus importante est celle du groupement O-H caractéristique des polyphénols qui est apparu dans la zone (3100- 3700) à 3350 cm^{-1} .
- La bande d'absorption C-O est apparu dans la zone (1500 - 1700) à 1650 cm^{-1} .

La comparaison entre les spectres infrarouge de l'extrait pure, PLA pure et les microparticules de PLA contenant l'extrait (MPs-Extrait) sont présentés sur la figure **IV.8** :

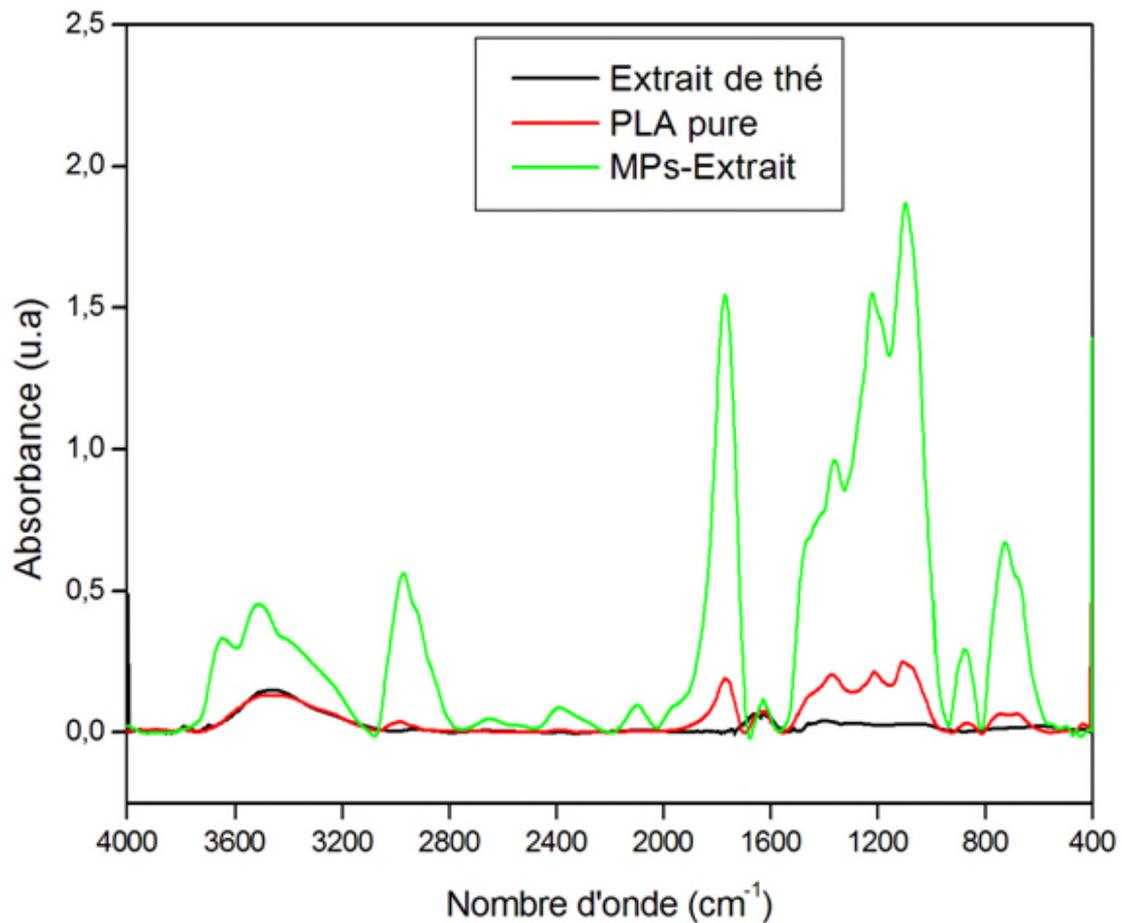


Figure IV.8: spectre IR- TF de PLA – pure, l'extrait de thé et MPs - extrait

On remarque que les bandes caractéristiques O-H de PLA pure et l'extrait de thé sont différentes de celles des MPs – extrait, ce qui confirme l'encapsulation.

Le spectre en vert représente les bandes caractéristiques de MPs – extrait.

- Une bande d'absorption C=O apparu dans la zone (1700 – 2000) à 1850 cm^{-1} .
- Une bande d'absorption O-H apparu dans la zone (3100 – 3700) à 3560.
- La bande la plus importante du groupement O-H signifie que le thé est riche en polyphénols.

Conclusion

Les objectifs de ce travail ont consisté en l'extraction et l'optimisation de l'encapsulation des polyphénols extraits de thé vert, une plante très utilisée dans le monde pour ses vertus et ses diverses activités thérapeutiques.

Dans un premier temps, nous sommes intéressées à l'extraction, la quantification ensuite à l'étude de l'activité antioxydante de thé vert.

Le rendement d'extraction des polyphénols de thé vert est égal à $25,38\% \pm 1,3$.

L'évaluation quantitative des polyphénols par la méthode Follin –Ciocalteu a révélé la présence de quantités considérables de polyphénols dans l'extrait de thé vert qui est de l'ordre de $490,82 \text{ mg} \cdot \text{EAG/g}$ de MS. La teneur en flavonoïdes qui a été déterminée à un taux de $82,39 \text{ mg EQ/g}$ de MS.

L'activité antioxydante évaluée par la méthode du pouvoir réducteur de Fer (FRAP) montre que l'extrait de thé vert possède un fort pouvoir réducteur. Sa teneur est égale à 53 eq trolox. La teneur de l'activité piégeage du radical DPPH est égale à 55 eq trolox. Donc on peut conclure que le thé vert a une activité antioxydante importante et riche en composés phénoliques.

L'analyse qualitative et quantitative par HPLC a montré la présence de deux acides : l'acide coumarique et caféique.

Dans un deuxième temps, l'objectif visé de ce travail est d'évaluer l'encapsulation des polyphénols dans le but de pallier leur instabilité et les protéger de l'oxydation. La microencapsulation par utilisation du plan d'optimisation factoriel complet nous a permis de déterminer les conditions optimales de la concentration de polymère et la quantité d'extrait. Le taux d'encapsulation obtenu dans les conditions optimales est de 90 %.

Perspectives :

- Il serait intéressant de caractériser les microparticules élaborées avec d'autres techniques de caractérisations comme la détermination de la taille des particules.
- Étude des activités des polyphénols encapsulés.

REFERENCES

- [1] Fenek, L., & Slioui, B. (2016). *La promotion du médicament générique en Algérie: un outil de régulation des dépenses de médicaments* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- [2] Boubekri, C. (2014). *Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider Biskra).
- [4] Ydjedd, S., Bouriche, S., López-Nicolás, R., Sánchez-Moya, T., Frontela-Saseta, C., Ros-Berruezo, G., ... & Kati, D. E. (2017). Effect of in vitro gastrointestinal digestion on encapsulated and nonencapsulated phenolic compounds of carob (*Ceratonia siliqua* L.) pulp extracts and their antioxidant capacity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(4), 827-835.
- [5] Hussain, S. A., Hameed, A., Nazir, Y., Naz, T., Wu, Y., Suleria, H. A. R., & Song, Y. (2018). Microencapsulation and the characterization of polyherbal formulation (PHF) rich in natural polyphenolic compounds. *Nutrients*, 10(7), 843.
- [6] Park, J. H., Ye, M., & Park, K. (2005). Biodegradable polymers for microencapsulation of drugs. *Molecules*, 10(1), 146-161.
- [7] Park, J. H., Ye, M., & Park, K. (2005). Biodegradable polymers for microencapsulation of drugs. *Molecules*, 10(1), 146-161.
- [8] Kriepps, M. (2009). *Le Thé: origine, actualité et potentialités* (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
- [10] Henning, S. M., Fajardo-Lira, C., Lee, H. W., Youssefian, A. A., Go, V. L., & Heber, D. (2003). Catechin content of 18 teas and a green tea extract supplement correlates with the antioxidant capacity. *Nutrition and cancer*, 45(2), 226-235.
- [9] Wachira, F., Tanaka, J., & Takeda, Y. (2001). Genetic variation and differentiation in tea (*Camellia sinensis*) germplasm revealed by RAPD and AFLP variation. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 76(5), 557-563.
- [11] Fillon L. 2014. Le thé et le syndrome métabolique.
- [12] Mazoyer M. 2002. Larousse agricole (Mlthilde Mjonel):617-618.
- [13] McKenna, D. J., Jones, K., Hughes, K., & Tyler, V. M. (2012). *Botanical medicines: the desk reference for major herbal supplements*. Routledge.
- [14] Chan EWC, Wong SK. 2015. Herbs and herbal teas with antioxidant properties comparable.

to or superior than those of *Camellia sinensis*. *International Journal of Pharmacognosy* 2:33-37.

[15] Zama, D., & Kabouche, S. Etude de la relation du thé vert. *Maladies cardiovasculaires et Stress oxydant*.

[16] Namita, P., Mukesh, R., & Vijay, K. J. (2012). *Camellia sinensis* (green tea): a review. *Global journal of pharmacology*, 6(2), 52-59.

[17] Okamura, K., Takanashi, A., Yamada, T., & Hiraishi, A. (2012, March). Ammonia-oxidizing activity and microbial community structure in acid tea (*Camellia sinensis*) orchard soil. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 352, No. 1, p. 012052). IOP Publishing.

[18] Okamura, K., Takanashi, A., Yamada, T., & Hiraishi, A. (2012, March). Ammonia-oxidizing activity and microbial community structure in acid tea (*Camellia sinensis*) orchard soil. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 352, No. 1, p. 012052). IOP Publishing.

[19] McKenna, D. J., Jones, K., Hughes, K., & Tyler, V. M. (2012). *Botanical medicines: the desk reference for major herbal supplements*. Routledge.

[20] Maillet, F. (2003). *Les vertus médicinales du thé (Camellia sinensis, Ternstroemiaceae): du mythe à la réalité* (Doctoral dissertation).

[21] Kabouche, S. Etude de la relation du thé vert. *Maladies cardiovasculaires et Stress oxydant*.

[22] Yi, S., Jumeau-Lafond, J., & Walsh, M. (1983). *Le livre de l'amateur de thé*. R. Laffont.

[23] site : www.r0.unctad.org consulter le 29-03-2015 à 16 :34 cité par Elise hameury IUP.SIAL-mars2004 projet marketing.

[24] CHELGHOUM, F. (2015). *Extraction de la catéchine à partir du thé vert et étude de son activité anti-oxydante* (Doctoral dissertation).

[25] Krieps M. (2009). *Le thé : origine, actualité et potentialités –Thèse d'exercice : pharmacie, Nancy, 213p.*

[26] Xerfi, secteur France 2002.cité par Elise hameury-IUP.SIAL-mars2004 projet marketing.

[27]NACER, I., & BOURAS, S. Thé vert, catéchines et santé.

[28] MICHENAUD, J. (2007). *Médecine générale* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE DE NANTES).

[29] AD, N., & ZEKRI, O. (2019). Caractérisation phytochimique et étude de quelques activités biologiques de deux plantes, *Capparis spinosa* et *Camellia sinensis*.

[30] Garel, E. (2006). *Sources et intérêt de la théanine présente dans le thé et ses préparations* (Doctoral dissertation).

- [31] BHIR, M., & GUENNOUNI, M. (2020). Effet insecticide des extraits des huiles essentielles de l'Eucalyptus globulus et Citrullus colocynthis sur la pyrale des dattes (*Ectomyelois ceratoniae* Zeller).
- [32] Manach, C., Azaïs-Braesco, V., Remesy, C., & Morand, C. (2000). Biodisponibilité des polyphénols du thé. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 35, 1S46-1S55.
- [33] Balentine, D. A., Wiseman, S. A., Bouwens, L. C., & Malvy, D. (2000). Chemistry of tea flavonoids. *Cahiers de Nutrition et de Diététique (France)*.
- [34] Laouini, S. E. (2014). *Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de Phoenix dactylifera L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf)* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider Biskra).
- [35] Laouini, S. E. (2014). *Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de Phoenix dactylifera L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf)* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider Biskra).
- [36] TAHAR, S. B., Mahfoud, H. M., & 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. *Hawliyat al- 'Ulūm wa- al- Tiknūlūjiyā*, 281(5389), 1-10.
- [37] Siti, H. N., Kamisah, Y., & Kamsiah, J. J. V. P. (2015). The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). *Vascular pharmacology*, 71, 40-56.
- [38] Akowuah, G. A., Ismail, Z., Norhayati, I., & Sadikun, A. (2005). The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food chemistry*, 93(2), 311-317.
- [39] Martin, S., & Andriantsitohaina, R. (2002, December). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. In *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie* (Vol. 51, No. 6, pp. 304-315). Elsevier Masson.
- [40] Bloor, S. J. (2001). Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. *Methods in enzymology*, 335, 3-14.
- [41] Martin, S., & Andriantsitohaina, R. (2002, December). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. In *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie* (Vol. 51, No. 6, pp. 304-315). Elsevier Masson.
- [42] AZIZA, A., & HAMIDA, B. (2018). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf (in vitro).
- [43] ACHAT, S., 2013. Poly phénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Thèse de Doctorat. Université de Bejaia, Université

d'Avignon et des pays Vaucluse.

[44] Achat, S. (2013, November). Polyphénols de l'alimentation: extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Avignon.

[45] BOUHADJERA, K. (2005). Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* R. Br. et *Aristida pungens* L. *Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen.*

[46] Khireddine, H. (2014). *Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie* (Doctoral dissertation).

[47] Galvan D'Alessandro, L. (2013). *Eco-procédés pour la récupération sélective d'antioxydants à partir d'Aronia melanocarpa et ses co-produits* (Doctoral dissertation, Lille 1).

[48] Galvan D'Alessandro, L. (2013). *Eco-procédés pour la récupération sélective d'antioxydants à partir d'Aronia melanocarpa et ses co-produits* (Doctoral dissertation, Lille 1).

[49] Ref'at, A. A., Takturi, H. R., & Al-Sayyed, H. (2008). Tannin contents of selected plants used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 4(3), 265-274.

[50] Celzard, A., Fierro, V., Amaral-Labat, G., Pizzi, A., & Torero, J. (2011). Flammability assessment of tannin-based cellular materials. *Polymer Degradation and Stability*, 96(4), 477-482.

[51] Hoong, Y. B., Pizzi, A., Tahir, P. M., & Pasch, H. (2010). Characterization of Acacia mangium polyflavonoid tannins by MALDI-TOF mass spectrometry and CP-MAS 13C NMR. *European Polymer Journal*, 46(6), 1268-1277.

[52] Khanbabae, K., & Van Ree, T. (2001). Tannins: classification and definition. *Natural product reports*, 18(6), 641-649.

[53] Derbel, S., & Ghedira, K. (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*, 3(1), 28-34.

[54] DAHMANI .S, 4 2013. Utilisation des extraits du café, du thé et la farine du caroubier pour l'obtention des nanoparticules de divers métaux. Mémoire du master. Université Abou Bekr Belkaid.

[55] Laouini, S. E. (2014). *Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de Phoenix dactylifera L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf)* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider Biskra).

- [56] Ferhat, M., Kadi, I., & Lahouaou, A. (2009). Recherche de substances bioactives de l'espèce *Centaurea microcarpa* Coss et Dur. *Le Diplôme des Etudes Supérieures en Biologie (DES)*. Université Mohamed Boudiaf-M'sila. Faculté des sciences et des sciences de l'ingénieur. Département de biologie.
- [57] SK, C., & Wane, P. P. (2013). Use of microencapsulation in textiles. *Indian Journal of Engineering*, 3(7), 37-40.
- [58] Castellano, J. A. (2005). *Liquid gold: the story of liquid crystal displays and the creation of an industry*. World Scientific.
- [59] El- Zawahry, M.M., El- Shami, S. et El- Mallah, M.H. 2007. Optimisation de process de séchage de la laine ayant un colorant réactif par microencapsulation dans des liposomes. Les pigments colorés, 74, 684- 691...
- [60] Bingham, G., Gunning, R.V., Gorman, K., Field, L.M. and Moores, G.D. 2007. Synergie temporelle par microencapsulation de piperonyl butoxide et α - cyperméthrin pour la résistance des insecticides contre les ravageurs de culture. *Pest Manag Sci*, 63, 276- 28.
- [61] Benita, S., Hoffman, A. and Donbrow, M. 1985. Microencapsulation de paracétamol utilisant la résine de polyacrylate, cinétique de libération du médicament et évaluation d'un modèle cinétique. *J Pharm Pharmacol*, 37, 391.
- [62] Sugamori, M. E., & Sefton, M. V. (1989). Microencapsulation of pancreatic islets in a water insoluble polyacrylate. *ASAIO transactions*, 35(4), 791-799.
- [63] Sugamori, M. E., & Sefton, M. V. (1989). Microencapsulation of pancreatic islets in a water insoluble polyacrylate. *ASAIO transactions*, 35(4), 791-799.
- [64] Richard, J., Benoit, J.P. 2000. Microencapsulation. *Techniques de l'ingénieur*, J 2210, 1-20.
- [65] Peiyuan, H. E. (2009). Conception et réalisation d'un système microfluidique pour la production de gouttes calibrées et leur encapsulation. *Université de technologie de Compiègne, Année*.
- [66] Shahidi, F. and Han, X.Q. 1993. In Poshadri, A. and Aparna, K. Microencapsulation Technology : A Review. Nutriplus. International Crops Research institute for semi-Arid Tropics, Hyderabad, Post Graduate & Research Centre, ANGR Agricultural University, Hyde.
- [67] Finch, C. A., & Bodmeier, R. (2000). Microencapsulation. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*.
- [68] Madene, A. 2006. Etude des transferts d'arômes encapsulés dans une matrice

alimentaire type Génoise. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine.

[69] Vandamme, T. F., Poncelet, D., & Subra-Paternault, P. (2007). *Microencapsulation: des sciences aux technologies*. Editions Tec & Doc.

[70] Ortiz, S. E. M., Mauri, A., Monterrey-Quintero, E. S., Trindade, M. A., Santana, A. S., & Favaro-Trindade, C. S. (2009). Production and properties of casein hydrolysate microencapsulated by spray drying with soybean protein isolate. *LWT-Food Science and Technology*, 42(5), 919-923.

[71] Fávaro-Trindade, C. S., Santana, A. D. S., Monterrey-Quintero, E. S., Trindade, M. A., & Netto, F. M. (2010). The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate. *Food hydrocolloids*, 24(4), 336-340.

[72] Gan, C. Y., Cheng, L. H., & Easa, A. M. (2008). Evaluation of microbial transglutaminase and ribose cross-linked soy protein isolate-based microcapsules containing fish oil. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(4), 563-569.

[73] Chen, L., & Subirade, M. (2009). Elaboration and characterization of soy/zein protein microspheres for controlled nutraceutical delivery. *Biomacromolecules*, 10(12), 3327-3334.

[74] Drusch, S. (2007). Sugar beet pectin: A novel emulsifying wall component for microencapsulation of lipophilic food ingredients by spray-drying. *Food Hydrocolloids*, 21(7), 1223-1228.

[75] AMOKRANE, R., & OUMAKHLOUF, H. Elaboration d'un aliment fonctionnel à la curcumine.

[76] Murúa-Pagola, B., Beristain-Guevara, C. I., & Martínez-Bustos, F. (2009). Preparation of starch derivatives using reactive extrusion and evaluation of modified starches as shell materials for encapsulation of flavoring agents by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 91(3), 380-386.

[77] Shaikh, J., Bhosale, R., & Singhal, R. (2006). Microencapsulation of black pepper oleoresin. *Food chemistry*, 94(1), 105-110.

[78] Lazko, J., Popineau, Y., & Legrand, J. (2004). Soy glycinin microcapsules by simple coacervation method. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 37(1-2), 1-8.

[79] Lydia, A., Alitouche, S., & Oukil, N. E. (2020). Procédés d'encapsulation appliqués en alimentaire.

[80] AMOKRANE, R., & OUMAKHLOUF, H. Elaboration d'un aliment fonctionnel à la curcumine.

- [81] Ridley, B.L., O'Neill, M.A., Mohen, D. 2001. Pectine : structure, biosynthèse et signalement relié aux oligogalacturonides. *Phytochemistry*, 57, 929-967. M.P. Rodriguez Rojas, 2007, « Emulsification en cuve agitée: rôle du Protocole opératoire ».
- [82] Thakur, B.R., Rakesh, K.S., Handa, K.H. 1997. Chimie et utilisations de la pectine : article de synthèse. *Articles de synthèse dans Sciences des aliments et Nutrition*, 37(1), 47-73 catastrophe », Thèse de Doctorat, Université de Los Andes Mérida .
- [83] Sounia, D. A. H. M. A. N. I., & Zineb, K. A. S. M. I. (2018). *Étude de la qualité physicochimique du lait cru dans certains points de vente de la région Djelfa* (Doctoral dissertation).
- [84] Rodriguez, M. P. (2007). *Emulsification en Cuve Agitée: Rôle du Protocole Opératoire sur l'Inversion de Phase Catastrophique* (Doctoral dissertation).
- [85] Boudendouna, A. H. (2010). *Méthodologie de la formulation d'une forme orale solide à libération prolongée* (Doctoral dissertation).
- [86] Kaur, H. P., Kaur, S., & Rana, S. (2015). Antibacterial activity and phytochemical profile of green tea, black tea and divya peya herbal tea. *Int J Pure App Biosci*, 3(3), 117-123.
- [87] Kumar, V. P., Chauhan, N. S., Padh, H., & Rajani, M. (2006). Search for antibacterial and antifungal agents from selected Indian medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 107(2), 182-188.
- [88] Kouadio, B. É. N. É., Djeneb, C. A. M. A. R. A., Yvette, F. N. B., Yao, K. A. N. G. A., Basile, Y. A., Cynthia, Y. Y., ... & Noël, Z. G. (2016). Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le Département de Transua, District du Zanzan (Côte d'Ivoire). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 27(2), 4230-4250.
- [89] Shabnum, S., Mushtaq, A., Farah, K., Muhammad, Z., Shazia, S., Mir, A. K., ... & Hina, F. (2011). Morpho-playnological and foliar epidermal anatomy of genus *Cenchrus* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(16), 3796-3802.
- [90] Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- [91] Ayoola, G. A., Ipav, S. S., Sofidiya, M. O., Adepoju-Bello, A. A., Coker, H. A., & Odugbemi, T. O. (2008). Phytochemical screening and free radical scavenging activities of the fruits and leaves of *Allanblackia floribunda* Oliv (Guttiferae). *International journal of health research*, 1(2), 87-93.

- [92] Omar M., & Atrooz I. ,(2013 Les effets de la Cuminum cyminum L. et Carum carvi L. Semence Extraits des droits de l'hémolyse des érythrocytes. Département des sciences Biologiques. Université Mut'ah, Jordanie. 235P.
- [93] Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- [94] Delmas, F. X., Minet, M., & Barbaste, C. (2007). *Le guide de dégustation de l'amateur de thé*. Chêne.
- [95] Namita P, Mukesh R. , & Vijay.K. J., (2012). Camellia Sinensis (Green Tea): A Review .Global Journal of Pharmacology, 6 (2): 52-59.
- [96] J.L. Wertz, 2011, « L'amidon et le PLA : deux biopolymères sur le marché », Document Val Biom – Gembloux Agro-Bio Tech, Document FARR-Wal – avec le soutien de la Région Wallonne.
- [97] Abzar, F., Rezgui, F., & Benamara, C. (2016). *Etude de l'influence des paramètres expérimentaux sur les caractéristiques des microparticules de PLA/Metformine* (Doctoral dissertation, Université Abderrahmane Mira-Bejaia).
- [98] S.Bouriche .M José Cazan – bernal, F Rezgui, AN Maria Rabasco Alvarez, M L gronzález- Rodriguez. Journal of dray delivery science and technology 51 (2019) 419 – 429.
- [99] Anderson-Cook, C. M., Borrer, C. M., & Montgomery, D. C. (2009). Response surface design evaluation and comparison. *Journal of Statistical Planning and Inference*, 139(2), 629-641.
- [100] Zhang, L., & Mao, S. (2017). Application of quality by design in the current drug development. *Asian journal of pharmaceutical sciences*, 12(1), 1-8.
- [101] Naima, A. M., Souad, K. B., & Hocine, I. F. O. U. R. A. H. Profil-type et déterminants de l'entrepreneuriat en milieu rural: enquête dans la wilaya de Bejaia.
- [102] Amrane, K., & Dib, L. (2021). *Etude de l'activité antioxydante et dosage des composés phénoliques des extraits d'épices et du thé vert* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- [103] Luo, Q., Zhang, J. R., Li, H. B., Wu, D. T., Geng, F., Corke, H., ... & Gan, R. Y. (2020). Green extraction of antioxidant polyphenols from green tea (*Camellia sinensis*). *Antioxidants*, 9(9), 785.
- [104] Bizuayehu, D., Atlabachew, M., & Ali, M. T. (2016). Determination of some selected secondary metabolites and their invitro antioxidant activity in commercially available Ethiopian tea (*Camellia sinensis*). *SpringerPlus*, 5(1), 1-9.

Résumé

Le présent travail porte sur l'étude de la micro encapsulation des extraits du thé vert dans du poly (acide lactique) en utilisant la méthode de double émulsion évaporation du solvant. La première partie, après l'étape de l'extraction des composés phénoliques, les activités biologiques et les dosages des polyphénols, flavonoïde, tanins ont été réalisées. Les résultats quantitatifs ont révélé la présence des quantités plus élevées des polyphénols par rapport aux autres dosages (flavonoïde, tanins) dans l'extrait de thé vert. L'étude de l'activité antioxydante de l'extrait de thé vert selon la méthode du piégeage du radical DPPH et PR a montré un pourcentage important dans l'extrait de thé (57,17% ; 53,51). L'analyse par HPLC a montré la présence des acides caféique et coumarique.

La deuxième partie est consacrée à l'optimisation des paramètres de l'encapsulation des polyphénols des extraits du thé vert dans la matrice de PLA par la méthode des plans factoriels. Des taux d'encapsulation importants ont été obtenus et la caractérisation par IRTF confirme leurs encapsulations. Le dosage des composés phénoliques montre l'amélioration de leur stabilité.

Mots clés : Thé, polyphénols, DPPH, encapsulation, PLA, double émulsion.

Abstract

The present work deals with the study of the microencapsulation of green tea extracts in poly (lactic acid) using the double emulsion solvent evaporation method. The first part, after the extraction step of phenolic compounds, biological activities and assays of polyphenols, flavonoid, tannins were performed. The quantitative results revealed the presence of higher quantities of polyphenols than the other compounds (flavonoid, tannins) in the green tea extract. The study of antioxidant activity of green tea extract by DPPH and PR radical scavenging method showed a significant percentage (57.17%; 53.51). HPLC analysis showed the presence of caffeic and coumaric acids.

The second part is devoted to the optimization of the parameters of the encapsulation of green tea extracts polyphenols in the PLA matrix by the factorial design method. Significant encapsulation efficiency were obtained and FTIR characterization confirms their encapsulations. Encapsulated phenolic compound shows the improvement of their stability.

Keywords: Tea, polyphenols, DPPH, encapsulation, PLA, double emulsion.

الملخص

يتناول العمل الحالي دراسة الكبسلة الدقيقة لمستخلصات الشاي الأخضر في بولي (حمض اللاكتيك) باستخدام طريقة المستحلب المزدوج لتبخير المذيبات. الجزء الأول، بعد خطوة استخلاص المركبات الفينولية، تم إجراء الأنشطة البيولوجية وفحوصات البوليفينول والفلافونويد والعفص. أظهرت النتائج الكمية وجود كميات أعلى من مادة البوليفينول مقارنة بالمقاييس الأخرى (الفلافونويد والعفص) في مستخلص الشاي الأخضر. أظهرت دراسة الفعالية المضادة للأكسدة طريقة الكسح الجذري نسبة معنوية في مستخلص الشاي PR و DPPH لمستخلص الشاي الأخضر باستخدام طريقة وجود أحماض الكافيين والكوماريك. HPLC (57.17% ؛ 53.51). أظهر تحليل

بواسطة PLA الجزء الثاني مخصص لتحسين معاملات تغليف البوليفينول لمستخلصات الشاي الأخضر في مصفوفة يؤكد تغليفها. يُظهر فحص المركبات FTIR طريقة التصميم العامل. تم الحصول على معدلات تغليف كبيرة وتوصيف الفينولية تحسناً في ثباتها.

الكلمات المفتاحية: مستحلب مزدوج، PLA، تغليف، DPPH شاي، بوليفينول،