

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université A. M. OULHADJ - Bouira  
Faculté des Sciences et des Sciences Appliquées  
Département de Génie des Procédés



# Mémoire

Présenté par

Larfi Fatima  
Khiri Akila

Pour l'obtention du diplôme de

# MASTER

Filière: GENIE DES PROCEDES  
Spécialité : SCIENCES ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT

Optimisation des conditions d'extraction de  
polyphénols du thé vert utilisé comme agent  
antibactérien

Soutenu le 30 /09 / 2015

Devant le jury composé de :

Mme R. Guedouari	Maitre assistante B	UAMO, Bouira	Présidente
Mme L. Arbia	Maitre Assistante A	UAMO, Bouira	Promotrice
Mme S.Bettayeb	Maitre assistante B	UAMO, Bouira	Examinatrice



Louanges à Allah, seigneur de l'univers; Que les salutations d'Allah soient sur son messager qu'il a envoyé en qualité de miséricorde universelle, ainsi que sur ses compagnons et ses frères jusqu'à la résurrection.

Avant tout, nous remercions LE BON DIEU le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour terminer ce travail.

Nos remerciements et notre profonde gratitude s'adressent à :

Mme Leila Arbia, maitre assistante A à l'université Akli Mohand Oulhadj, Bouira, d'avoir encadré ce travail, pour son aide, ses conseils et sa patience.

Nous souhaitons également remercier les membres du jury qui ont accepté d'examiner ce travail.

Nous adressons aussi nos vifs remerciements à tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation tout au long de notre chemin d'étude.

Nous tenons à exprimer nos profondes reconnaissances aux responsables du laboratoire de Génie des procédés Mme Hamani Siham, et les collaborateurs: Mme Benakdi Farida, Mme Bouras Farida, Mme Kerffouf Naima, Bouchafa Shahrzade, Mr Hammadache Aziz et Mr Ammouche Ahmed.

Merci au tous les stagiaires qui m'ont aidé au cours de la réalisation de ce travail.

Nos remerciements vont également à tous qui ont participé de près ou de loin pour que nous arrivions à ce merveilleux instant.

Bonne lecture à ceux qui s'apprêtent à tourner ces pages.

# Dédicace

*Je remercie ALLAH de m'avoir illuminé le chemin de savoir et de m'avoir  
donné la foi et le courage pour arriver jusque-là.*

*Je dédie ce présent travail premièrement et avant tout aux deux êtres  
les plus chers sur cette terre, mes parents qui n'ont jamais  
cessé de me soutenir tout au long de mes études.*

*A mon chers frère AHMAD, pour son soutien inconditionnel, sa patience  
illimitée et ses encouragements incessants jusqu'à l'achèvement de ce travail.*

*A mes soeurs DJAMILA, RAZIKA, MESSAOUDA, TOUNS, et MALIKA  
et leur famille.*

*A mes frères HAKIM, MOUSSA, leurs épouses et leurs  
enfants ABD EL HAK et OMAR.*

*A mes chères LYNDA, SAMIRA, et HANNANE.*

*A mes adorables neveux Malak, Hiba, Silya, Hadil,  
Hadjer, Ritaj, Manal, Abir, Mariem, Rachida, Zineb, Chahinaz,  
Nouriman, Brahim, Mahdi et Mohamed..*

*A toute la famille KHIRI.*

*A mes amies Fatima, Nassima, Messaouda, Fadhila,  
Hayat, Karima, Lamia, Riham, Hadjira, Nassira, Naima, Djamila, Sara.*

*A ceux que j'aime du fond de cœur.*

**AKILA**

# Dédicace

A mon cher père Said, je lui dédie avec fierté ce mémoire qui représente le fruit de l'éducation et l'attention qu'il m'a tant réservé depuis l'enfance.

A ma chère mère que je ne remercierais jamais assez pour son aide, son encouragement, son soutien, ses sacrifices et sa patience pendant mes années d'études, que Allah lui accorde une longue vie.

A mes chères sœurs: Amina, Samia et Hassina, mes frères: Aissa et Mohamed

A mon adorable neveu LOAI et toute la famille LARFI et MELOUK.

A tous mes amis les plus proches qui m'ont apporté leur soutien pendant ces années, et avec lesquelles j'ai pu partager des moments de bonheur uniques:

Akila, Djamila .O, Messaoudda, Fadhila, Hayat, Karima, Djamila. G

, Naima, Hadjira, Fatma zohra, Sara et Lamia.

A mon environnement passé, immédiat et futur que le fruit de la patience soit le prix équivalent à l'effort fourni à une époque de la vie, malgré les moments de turbulence passés ensemble dans des accords et désaccords.

A la science qui me nourrit d'un esprit critique et autocritique en me rendant objectif plutôt que subjectif, pour qu'elle ne cesse de faire tourner engrainage afin que les générations se relaient sans cesse tourner engrainage afin que les générations se relaient sans cesse et que la lumière du savoir ne soit point éteint.

Enfin A mon très cher pays «Algérie», j'espère pouvoir être à la hauteur pour lui rendre tout ce qu'il m'a donné et plus. Inchalah

Fatima

## Table des matières

La liste des abréviations

La liste des figures

La liste des tableaux

Introduction.....01

## Partie bibliographique

### Chapitre I: Les plantes médicinales

I-1-Les plantes médicinales .....	03
I-2-Historique des plantes médicinales.....	03
I-3-Définition de la phytothérapie.....	03
I-4-Métabolites secondaires des végétaux .....	04
I-5-Utilisation de la médecine traditionnelle et alternative .....	06
I-6-La plante sélectionnée: Le thé vert .....	05
I-6-1-Description botanique et classification .....	06
I-6-1-1-Description botanique .....	06
I-6-1-2- Classification .....	07
I-6-2- La couleur de thé .....	07
I-6-3- Le milieu de culture .....	07
I-6-4- La récolte de Camellia Sinensis .....	08
I-6-5- La préparation du Thé .....	08
I-6-6- La fabrication du thé vert .....	08
I-6-7- Production et consommation du thé .....	10
I-6-8- Composition chimique du thé vert .....	11
I-6-8-1- Les composés phénoliques .....	12
I-6-8-2- Source de vitamines .....	12

I-6-8-3- La théine .....	13
I-6-8-4 Autres composants .....	13
I-6-9- Domaines d'utilisation du thé .....	13
I-6-10- Thé vert et santé .....	14
I-6-10-1- Maladies cardio-vasculaires .....	14
I-6-10-2- Maladies chroniques .....	14
I-6-10-3- Cancers .....	14
I-6-10-4- Troubles gastro-intestine .....	14
I-6-10-5- Premiers soins .....	14
I-6-11- Toxicité .....	15

## *Chapitre II: Polyphénols*

II-1 Présentation générale sur les polyphénols .....	16
II-2 Classification des polyphénols .....	17
II-2-1 Polyphénols simples .....	17
II-2-2 Polyphénols complexes .....	19
II-3 Biosynthèse des polyphénols .....	21
II-3-1 La voie de l'acide shikimique .....	21
II-3-2 La voie de l'acide malonique .....	21
II- 4 Propriétés chimiques des polyphénols .....	21
II-4-1 Nucléophile .....	21
II-4-2 Stress Oxydant .....	22
II-5 l'activité antioxydants des polyphénols .....	22
II-6 Activité antibactérienne des polyphénols .....	23
II-8 Localisation et rôle des polyphénols dans les plantes .....	23
II-9 Extraction et dosage des polyphénols .....	24

II-9-1 Paramètres influençant l'extraction .....	24
II-10 Polyphénols dans le thé vert .....	27
II-11 Propriétés thérapeutiques des polyphénols .....	27
II-11-1 polyphénols et cancer .....	27
II-11-2 Polyphénols et anti-inflammatoires .....	28
II-11-3 Polyphénols et maladies cardiovasculaires .....	28
II-12 Influence de l'environnement sur la synthèse des polyphénols .....	29

### *Chapitre III: Les bactéries pathogènes*

III-1-Notion de bactéries pathogènes .....	31
III-2-Genre Pseudomonas .....	31
III-2-1-Particularité du genre Pseudomonas .....	32
III-2-2-Habitat .....	32
III-2-3-Caractères biochimiques .....	32
III-2-4-Pouvoir pathogène .....	32
III-3-Genre Staphylococcus .....	33
III-3-1- Habitat de S. aureus .....	33
III-3-2-Pouvoir pathogène .....	33
III-4-Genre Escherichia coli .....	34
III-4-1-Pouvoir pathogène .....	34
III-5- Les antibiotiques .....	34
III-5-1-résistances des bactéries aux antibiotiques .....	35
III-5-1-1 Résistance des Pseudomonas .....	35
III-5-1-2- Résistance des staphylocoques .....	35
III-5-1-3- Résistance d'E. Coli .....	35
III-5-2-Les antibiotiques dans l'environnement .....	35
III-6-Les plantes comme alternatives aux antibiotiques .....	35



# Partie expérimentale

## Chapitre IV: Matériel et Méthodes

IV-1- Matériel végétal et biologique .....	37
IV-1-1- Matériel végétal .....	37
IV-1-2- Les microorganismes .....	37
IV-2- Analyses physico-chimiques de la plante <i>Camellia sinensis</i> .....	37
IV-2-1- Détermination de la teneur en eau .....	37
IV-2-2- Détermination du potentiel d'hydrogène pH .....	38
IV-2-3- Détermination de la teneur en cendre .....	38
IV-3- Détermination des composés chimiques de thé vert .....	38
IV-4- Extraction et dosage des polyphénols totaux .....	39
IV-4-1- Extraction par macération .....	39
IV-4-2- Dosage des polyphénols totaux .....	39
IV-4-2-1- Macération dans l'eau .....	40
IV-4-2-2- Macération dans le méthanol .....	40
IV-5- Etude de l'activité antibactérienne .....	40
IV-5-1- L'Aromatogramme ou méthode des disques .....	40
IV-5-1-1- Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI .....	42

## Chapitre V: Résultats et discussion

V-1- Analyses physico-chimiques de la plante de thé vert « <i>Camellia sinensis</i> » .....	43
V-2- Analyse par spectroscopie infrarouge .....	43
V-3- Extraction des polyphénols .....	44
V-3-1- Etude de l'extraction par l'eau .....	44
V-3-1-1- Effet du rapport matière végétale / eau .....	44



V-3-1-2-Effet du temps de macération et de la température sur la concentration des polyphénols .....	46
V-3-2-Etude de l'extraction par le méthanol .....	48
V-3-2-1-Effet du rapport matière végétale / méthanol sur la concentration finale des polyphénols .....	48
V-3-2-2-Effet du temps de macération et de la température sur la concentration finale des polyphénols .....	50
V-3-2-3-Effet de la concentration du solvant sur la concentration des polyphénols .....	52
V-4-Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait de thé .....	53
V-4-1-Dans l'extrait aqueux .....	53
V-4-1-1-Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	55
V-4-2- Dans l'extrait méthanolique .....	56
V-4-2-1- Détermination de CMI de l'extrait méthanolique .....	58
<b>Conclusion</b> .....	59

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

### **Résumé**

## *La liste des abréviations*

**PPt** : polyphénols totaux

**EGC** : épigallocatechine

**EGCG** : épigallocatechine gallate

**LDL** : Low Density Lipoproteins

**HDL** : High Density Lipoproteins

**EAG** : équivalent acide gallique

**CMI** : concentration minimal inhibitrice

**pH** :Potential d'hydrogène

**W<sub>mh</sub>** : taux humidité

**MO**: matière organique

**Cd** : teneur en cendre

**CTC**: Crushing-Tearing-Curling

**UVB** : phytoprotection

**OR** : radical oxyl

**RO** : Radical alkoxy EOR espèces oxygénées réactives

**COX** :Cyclooxygénase

**PPO** : polyphénols oxydases

**POD** : peroxydases

## La liste des figures

<b>Figure 1</b> : La plante de thé vert <i>Camellia sinensis</i> .....	06
<b>Figure 2</b> : Les feuilles de <i>Camellia sinensis</i> .....	06
<b>Figure 3</b> : La cueillette des feuilles du thé .....	09
<b>Figure 4</b> : Flétrissage du thé .....	09
<b>Figure 5</b> : Torréfaction du thé .....	09
<b>Figure 6</b> : Roulage du thé .....	09
<b>Figure 7</b> : Séchage manuel du thé .....	09
<b>Figure 8</b> : Usine de production de thé par le procédé de CTC .....	10
<b>Figure 9</b> : Exemple d'acide phénolique .....	17
<b>Figure 10</b> : Squelettes de base des flavonoïdes .....	18
<b>Figure 11</b> : Structures chimiques de quelques flavonoïdes .....	18
<b>Figure 12</b> : Structure d'une lignine .....	20
<b>Figure 13</b> : Structure chimique de stilbène .....	20
<b>Figure 14</b> : Photo de la bactérie du genre <i>Pseudomonas</i> observée sous microscope .....	31
<b>Figure 15</b> : Photo de la bactérie <i>Staphylococcus aureus</i> observée sous microscope .....	33
<b>Figure 16</b> : Photo de la bactérie <i>E.coli</i> observée sous microscope .....	34
<b>Figure 17</b> : Spectre infrarouge de la plante <i>Camellia sinensis</i> .....	43
<b>Figure 18</b> : Effet du rapport matière végétale / eau sur la concentration finale des polyphénols à 40°C .....	45
<b>Figure 19</b> : Effet du rapport matière végétale/ eau sur la concentration finale des polyphénols à 60°C .....	45
<b>Figure 20</b> : Effet du rapport matière végétale/ eau sur la concentration finale des polyphénols à 80°C .....	46
<b>Figure 21</b> : Effet du temps de macération sur la concentration finale des polyphénols aux différentes températures étudiées .....	46
<b>Figure 22</b> : Effet de la température sur la concentration finale des polyphénols .....	47
<b>Figure 23</b> : Effet du rapport matière végétale/ eau sur la concentration finale des polyphénols à 5°C .....	49
<b>Figure 24</b> : Effet du rapport matière végétale/ eau sur la concentration finale des polyphénols à 35°C .....	49

<b>Figure 25</b> : Effet du rapport matière végétale/ eau sur la concentration finale des polyphénols à 20°C .....	50
<b>Figure 26</b> : Effet du temps de macération sur la concentration finale des polyphénols aux différentes températures étudiées .....	51
<b>Figure 27</b> : Effet de la température sur la concentration finale des polyphénols .....	51
<b>Figure 28</b> : Effet de la concentration du méthanol sur la concentration des polyphénols .....	52

*La liste des tableaux*

<b>Tableau 1</b> : Importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle et complémentaire dans le monde en 2002 .....	05
<b>Tableau 2</b> : Classification de thé vert .....	07
<b>Tableau 3</b> : Production de thé en tonnes par pays en 2010.....	11
<b>Tableau 4</b> : Composition chimique de la feuille de thé, exprimée en pourcentage par rapport au poids sec de la drogue .....	12
<b>Tableau 5</b> : Principales méthodes d'études des composées phénoliques .....	24
<b>Tableau 6</b> : La méthode de détermination la concentration minimale inhibitrice .....	42
<b>Tableau 7</b> : Analyse physicochimiques de la plante <i>Camellia sinensis</i> .....	43
<b>Tableau 8</b> : Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de Thé vert à différentes températures .....	53
<b>Tableau 9</b> : Concentration des polyphénols dans l'extrait de Thé Vert (g/l EAG).....	55
<b>Tableau 10</b> : Concentration minimale inhibitrice en g/ml .....	55
<b>Tableau 11</b> : Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de Thé vert à différentes températures .....	56
<b>Tableau 12</b> : La teneur en polyphénols dans l'extrait méthanolique (50%) de Thé Vert (g/l EAG).....	57
<b>Tableau 13</b> : Concentration minimale inhibitrice de l'extrait méthanolique (50%) de thé vert .....	58

# INTRODUCTION

### **Introduction**

En raison des effets secondaires indésirables des substances médicamenteuses sur l'homme et l'environnement, le retour à guérir avec des ressources naturelles et vertes comme les plantes, qui se caractérisent par leur richesse en biomolécules, est devenue une nécessité.

Le recours aux plantes médicinales pour guérir a pris naissance depuis bien longtemps en médecine traditionnelle grecque, romaine, indienne, chinoise et arabo-musulman. Au niveau nationale et d'après une enquête réalisée dans le cadre d'une étude sur l'utilisation des plantes en médecine traditionnelle, 71 % des personnes interrogées utilisent les plantes médicinales et aromatiques pour se faire soigner. De nombreuses formes médicamenteuses à base des plantes ou de substances végétales ne cessent de croître à l'échelle mondiale [1].

Le thé vert, découvert par les Chinois il y a de cela environ 5000 ans, a longtemps été exclusivement considéré comme un remède. Ce n'est que bien plus tard qu'on commença à le boire pour le simple plaisir [2]. Le thé, obtenu par infusion des feuilles de théier ou *Camellia sinensis*, est après l'eau la boisson la plus consommée dans le monde entier.

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 [3]. 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 à l'heure actuelle plus de 8000 composés phénoliques, dont 5000 pour la sous classe des flavonoïdes, particulièrement les catéchines [4]. On connaît quatre types de catéchine, la plus puissante étant l'épigallocatechine galate (EGCg), spécifique au thé vert [5].

Dans le cadre de cette étude, le mémoire est organisé de la manière suivante:

Dans le premier chapitre, une revue des plantes médicinales et phytothérapie, et comme exemplaire une étude sur la plante de thé vert (*camellia sinensis*), sur leur classification, les procédés de la fabrication, la production et consommation mondiale, ainsi que la composition et l'usage traditionnelle et industrielle.



Le second concerne les polyphénols: classification, biosynthèse, activité antioxydants, activité antibactérienne et les propriétés thérapeutiques.

Dans le troisième chapitre sont présentés les bactéries pathogènes (*Pseudomonas aeruginosa* , *Staphylococcus aureus* , *Escherichia coli* ), résistances des bactéries aux antibiotique , les antibiotiques dans l'environnement et l'activité antimicrobienne des plantes.

Le quatrième chapitre est consacré aux méthodes appliquées dans ce travail et le matériel utilisé dans les différentes études (l'extraction par macération, Dosage de polyphénols, et l'activité antibactérienne).

Dans le cinquième chapitre nous avons présentés la discussion des résultats obtenus. Et enfin une conclusion.

# CHAPITRE I

## LES PLANTES MÉDICINALES

**I-1-Les plantes médicinales:**

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains [6].

**I-2-Historique des plantes médicinales:**

Dès son apparition, il y a 3 millions d'années seulement, l'homme a utilisé les plantes à d'autres fins que de la nourriture. Que la plante soit comestible ou toxique, qu'elle serve à tuer le gibier et l'ennemi ou à soigner, l'homme a découvert par une suite d'échecs et de réussites, l'utilisation des plantes pour son mieux-être. Cependant, l'homme n'a découvert les vertus bénéfiques des plantes que par une approche progressive, facilitée par l'organisation des rapports sociaux, en particulier à partir du néolithique qui voit l'essor de l'agriculture et la sédentarisation [7].

L'observation liée à l'expérience et la transmission des informations glanées au cours du temps font que certains hommes deviennent capables de poser un diagnostic, de retrouver la plante qui soigne et finalement de guérir le malade [7].

La trace d'utilisations médicinales très anciennes se trouve dans les civilisations grecques, romaines, indiennes, chinoises et arabo-musulmanes [1]. Les médicaments étaient d'origine végétale et étaient répartis dans chaque catégorie en herbes, arbres, fruits, graines et légumes. Plus tard, un supplément fut ajouté à l'ouvrage avec une liste d'autres remèdes minéraux et animaux [7]. A partir du 19<sup>ème</sup> siècle, les formes d'utilisation des plantes médicinales évoluent: l'on passe de l'usage thérapeutique de la plante ou de ses préparations, à celui des molécules actives qu'elle contient [8].

De nos jours, 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale [7]. A l'heure actuelle, la recherche de nouveaux médicaments d'origine naturelle passe par l'inventaire des plantes et l'examen systématique de leur activité biologique [9].

**I-3- Définition de la Phytothérapie:**

Une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe [10]. Les

préparations peuvent être obtenues par macération, infusion, décoction, ou sous forme de teinture, poudre totale, extraits, etc. [11].

**I-4-Métabolites secondaires végétaux:**

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces et, bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent [12]. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires [13].

L'activité de ces substances dépend principalement de leur nature chimique et de leur concentration. Ils jouent d'autres rôles importants, dans : l'odorat, la protection contre les insectes, les herbivores et les radiations ultra-violettes solaires. Plus de 200.000 structures de métabolites secondaires ont été identifiées [14].

**I-5-Utilisation de la médecine traditionnelle et alternative:**

Selon les estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 80 % de la population mondiale, surtout dans les pays en voie de développement, ont recours aux traitements traditionnels (Tableau 1) pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaires [15].

**Tableau 1: Importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle et complémentaire dans le monde en 2002 [15].**

<b>Pays ou région</b>	<b>Importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle</b>
<b>Afrique</b>	80 % de la population locale pour les soins primaires
<b>Australie</b>	49 % d'adultes
<b>Chine</b>	30 % à 50 % dans les systèmes de santé. Complètement intégrée dans les systèmes de santé. 95 % des hôpitaux ont des unités de médecine traditionnelle
<b>Inde</b>	Largement utilisée. 2860 hôpitaux ont des unités de médecine traditionnelle
<b>Indonésie</b>	40 % de la population totale
<b>Japon</b>	72 % des médecins pratiquent la médecine traditionnelle
<b>Thaïlande</b>	Intégrée dans 1120 centres hospitaliers
<b>Vietnam</b>	Complètement intégrée dans les systèmes de santé. 30 % de la population se soigne par cette médecine
<b>Pays occidentaux</b>	La médecine traditionnelle ou complémentaire n'est pas intégrée dans les systèmes de soins modernes France: 75 % de la population a recours à la médecine traditionnelle au moins une fois Allemagne: 77 % des cliniques pratiquent l'acupuncture Etats-Unis: de 29 % à 42 % de la population utilisent la médecine complémentaire

Les grands types d'usages des plantes aromatiques et médicinales utiles à l'homme peuvent être classées par principe usages. On peut citer : plantes pour tisanes, boissons hygiéniques et d'agrément, plantes à usages cosmétiques, plantes à usages aromatiques et condimentaires, plantes à usages alimentaires, plantes à parfum, plantes à usages industriels, plantes médicinales [7].

**I-6-La plante sélectionnée: Le thé vert**

**Figure1: La plante de thé vert *Camellia sinensis***

Le thé vert, découvert par les Chinois il y a de cela environ 5000 ans, a longtemps été exclusivement considéré comme un remède. On lui attribuait le pouvoir de détoxifier l'organisme, de délasser les membres et d'éclaircir l'esprit. Ce n'est que bien plus tard qu'on commença à le boire pour le simple plaisir [2]. Le thé contient plus de 4.000 produits chimiques dont certains sont bioactifs [16].

**I-6-1-Description botanique et classification:****I-6-1-1-Description botanique:**

Le théier, *Camellia sinensis*, est un petit arbre rameux, aux feuilles persistantes. A l'état sauvage et selon les variétés, il peut atteindre 5 à 15 m de hauteur. Il porte des fleurs blanche à sépales légèrement soudés à la base, à 5 pétales et à nombreuses étamines jaune clair (figure2) [3].

Le fruit est une petite capsule pluriloculaire arrondie: une coque dure qui renferme des graines rondes et brunes de 4 à 15 mm de diamètre [3]. Les graines peuvent être pressées pour donner une huile. Le théier le plus vieux du monde (1800 ans) se situe à Pu'er dans la province du Yunnan en Chine [16].



**Figure 2: Les feuilles de *camellia sinensis***

**I-6-1-2- Classification:****Tableau 2:** Classification de thé vert [16]

<b>Règne</b>	plantae
<b>Division</b>	magnoliophyta
<b>Classe</b>	magnoliopsida
<b>Ordre</b>	theales
<b>Famille</b>	Theaceae
<b>Genre</b>	<i>Camellia</i>
<b>Espèce</b>	<i>sinensis</i>

Deux variétés principales de *Camellia sinensis* sont à distinguer : *Camellia sinensis* var. *sinensis* ou Théier de Chine, cultivé essentiellement en Chine et au Japon pour la production de thé vert. La deuxième variété est *Camellia sinensis* var. *assamica* ou Théier d'Assam, cultivé et utilisé essentiellement pour la production de thé noir en Inde, à Ceylan (ou Sri Lanka), en Indonésie et en Afrique [17].

**I-6-2- La couleur de thé:**

Pour donner les différents types de thés, la feuille est travaillée de multiples façons et subit un certain nombre de transformations. La principale opération est la fermentation. C'est en maîtrisant cette réaction naturelle que le planteur donnera au thé sa couleur: Le thé vert est un thé non fermenté; le thé noir une feuille totalement oxydée; le thé blanc est pour sa part une spécialité chinoise, la feuille est légèrement oxydée afin de rester le plus proche possible de son état naturel, très semblable; le thé jaune est fin, complexe en arômes et léger en tanin, thé *oolong* (ou *wulong*, littéralement « dragon noir ») est un thé semi-oxydé [18].

Les feuilles de thé sont commercialisées sous trois formes principales : les thés verts, noirs, et semi fermentés ou *Oolong* [19]. Ces trois catégories de thé se distinguent par leurs procédés de fabrication, par leurs goûts et par leurs compositions chimiques [20].

**I-6-3- Le milieu de culture:**

Les théiers aiment les climats tempérés mais très humides, connaissant une pluviosité d'environ 2000 mm par an. Exigeant en outre un ensoleillement moyen de cinq heures par



jour, ils s'épanouissent donc avec bonheur dans les régions bénéficiant de journées ensoleillées suivies par des nuits pluvieuses. Ils apprécient les vents frais d'altitude et les sols meubles, profonds et, de préférence, acides. Les meilleurs crus naissent toujours à haute altitude [21]. La température doit être comprise entre 10 et 30 °C. Si celle-ci passe en dessous de -5 °C, le théier meurt [22].

**I-6-4- La récolte de *Camellia Sinensis*:**

Dans XVII<sup>e</sup> siècle, les colons britanniques ont commencé à cultiver le thé en Inde avec des graines (variété *sinensis*) en provenance de Chine. La découverte en 1823 d'un thé de haut arbre (variété *assamica*) de plus en plus à l'état sauvage dans l'Assam province a été suivie par bien d'autres découvertes de théiers sauvages qui poussent dans la région. Aujourd'hui, le thé est largement cultivé et consommé en thé vert ou noir et non seulement en chine mais à travers le monde. La superficieensemencée totalise environ 2,3 millions d'hectares 75% de la superficie totale plantée [16].

**I-6-5- La préparation du Thé:**

La préparation du thé est l'art de respecter la propriété du thé que l'on souhaite déguster, afin de ne pas en gâcher la saveur. La réussite d'une bonne préparation tient majoritairement au choix de la méthode, de l'eau et de sa température, ainsi que du temps d'infusion. Cela demande une certaine connaissance, sous risque de rater l'infusion [16].

En effet, Il faut utiliser une eau fraîche à pH neutre peu calcaire, filtrée ou faiblement minéralisée. La température de l'eau ne doit être jamais au-dessus de 95°C. [23], pour le thé vert la température d'infusion est entre 70°C et 85°C [17]. De plus, le temps d'infusion varie sensiblement selon les variétés, pour le thé vert est de 1 à 4 minutes [23].

**I-6-6- La fabrication d'un thé vert:**

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

- **La cueillette:** Les thés 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 [23]. (figure 3).
- **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 [23]. (figure 4).
- **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 [23]. (figure 5).

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 [23].

- **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 [3]. (figure 6).
- **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 [23]. (figure7).



**Figure3:**La cueillette des feuilles du thé. **Figure4:**létrissage du thé



**Figure 5:**torréfaction du thé      **Figure 6 :** roulage du thé      **Figure 7:**séchage manuel du thé

### **Le procédé CTC:**

Dès la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, les anglais ont cherché à mécaniser ces différentes étapes de fabrication du thé .En 1930, ils mettent au point et développe le procédé CTC (en anglais Crushing-Tearing-Curling) (figure 8).A la sortie du flétrissage, les feuilles sont hachées en tous petits morceaux puis roulées en petites boulettes très régulières et très agréées [3].

Ce procédé a révolutionné l'univers du thé noir, et aujourd'hui les grands pays producteurs de thé noir, à l'exception du Sri Lanka, produisent majoritairement du CTC [3].

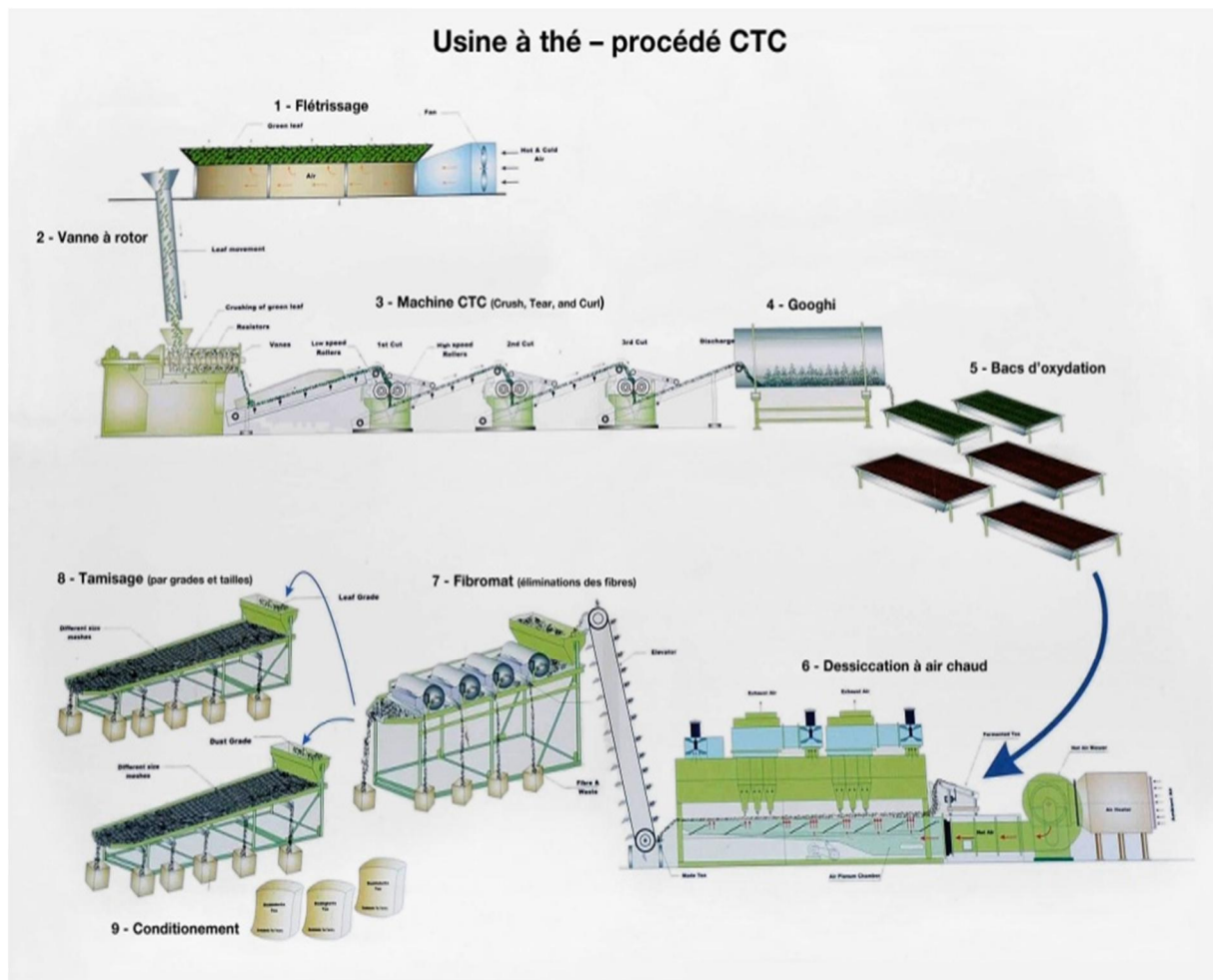


Figure 8: Usine de production de thé par le procédé de CTC

**I-6-7- Production et consommation du thé:**

Le théiers est actuellement cultivé dans 36 pays tropicaux et semi-tropicaux .La production mondiale de thé a atteint 4,1 millions de tonnes en 2010.La Chine reste le premier producteur mondial de thé [3].

Tableau 3 : Production de thé en tonnes par pays en 2010 [3]

Pays producteurs	Production en tonnes par an
Chine	1 186 000
Inde	950 000
Kenya	315 000
Sri Lanka	305 000
Indonésie	192 000
Turquie	191 000
Vietnam	150 000

Le monde consomme essentiellement du thé noir et du thé vert [3] :

- ✓ Le thé noir représente 65% de la production mondiale et 67% de la consommation. Sa production a progressé en 5,6% en 2010.
- ✓ Le thé vert quant à lui est davantage bu en Chine, au Japon et en Afrique du Nord, où il est à la base du thé à la menthe. Il connaît un engouement croissant dans les pays occidentaux. Sa production mondiale a augmenté de 1,9 % en 2010.

Actuellement, le thé est la boisson la plus consommée dans le monde après l'eau plate [22]. Il est consommé en raison de sa saveur, ses caractéristiques aromatiques et effets bénéfiques pour la santé [20]. Sa consommation mondiale totale a enregistré une progression de 5,6 en 2010, atteignant les 4 millions de tonnes. La Chine et l'Inde, les deux premiers pays producteurs dans le monde, sont également les plus grands consommateurs de thé avec des quantités respectives en 2010 de 1 060 000 et 828 890 tonnes [3].

#### **I-6-8- Composition chimique du thé vert:**

La feuille de thé ne contient pas moins de 350 constituants [16]. Leur composition qualitative et quantitative est dépendante du mode de fabrication, du type de culture et du type de cueillette [24].

**Tableau 4: Composition chimique de la feuille de thé, exprimée en pourcentage par rapport au poids sec de la drogue [17]**

Composition de la feuille de thé fraîche	Pourcentage de la matière sèche
<b>Polyphénols</b>	20% à 36% (44% [25])
<b>Flavonols</b>	25%
<b>Acides phénols</b>	3%
<b>Caféine</b>	2 à 4% ou plus
<b>Théophylline</b>	0.02 à 0.04%
<b>Glucides</b>	5% (40% [20])
<b>Protéines</b>	15%
<b>Acides aminés</b>	3 à 4%
<b>Lipides</b>	2 à 3%
<b>Minéraux</b>	3 à 5%
<b>Cellulose</b>	7%
<b>Caroténoïdes</b>	<0.1%
<b>Chlorophylle</b>	0.5%
<b>Composés volatils</b>	0.01 à 0.02%
<b>Cendres</b>	5%

#### **I-6-8-1- Les composés phénoliques:**

Le thé est particulièrement riche en composés phénoliques, puisque ceux-ci représentent le tiers de la matière sèche de la feuille [26]. Les polyphénols représentent **44 %** de l'extrait sec (en poids) de la feuille de thé et sont constitués par des flavonoïdes et des acides phénoliques. Les flavanols communément appelés catéchines sont les polyphénols quantitativement prédominants dans le thé vert (environ **27 %**) [25]. on distingue l'(-)-épicatéchine, l'(-)-épicatéchine-3-gallate, l'(-)-épigallocatechine et l'(-)-épigallocatechine-3-gallate (ou EGCG) [27]. Ce dernier est le polyphénol majeur du thé vert [25,27].

#### **I-6-8-2- Source de vitamines:**

Le thé est riche en vitamines du groupe B telles que thiamine (B1), riboflavine (B2), niacine (B3). La vitamine C se trouve aussi en quantité significative dans le thé vert. Enfin l'infusion de thé contient la vitamine P qui favorise la perméabilité capillaire et l'élasticité de la paroi des vaisseaux sanguins [16, 20,23].

**I-6-8-3 La théine:**

1 à 5 % de théine, la théine et la caféine sont une seule et même substance appelée triméthylxanthine. Dans le thé, l'action stimulante de la théine est significativement modifiée par la présence des polyphénols qui génèrent un effet prolongé et modéré [16,20]. L'analyse pharmaceutique met en évidence le phénomène d'effet retard et confirme la tradition populaire qui rapporte que le thé est moins excitant que le café [16].

**I-6-8-4 Autres composants:**

A l'état frais, le thé renferme 27% de matières sèches dont, en moyenne : 40% de glucides, 15 à 23 % de protides et 2 à 3% de lipide, de faible quantité de chlorophylles et de caroténoïdes. Ces substances sont faiblement extraites lors de l'infusion [20].

Les principaux minéraux du thé sont le potassium, le calcium, le phosphore, le manganèse, le cuivre, le sodium, le silicium, le zinc, le bore, le plomb, le chrome, le fer, le nickel, et le baryum. Le thé est, de plus, une source importante de fluor [24].

**I-6-9- Domaines d'utilisation du thé:**

L'industrie agroalimentaire est la source de débouché traditionnel du thé. Qu'il soit consommé, froid, chaud, en sachet ou en vrac, elle représente la majeure partie des ventes du thé au monde [20]. Pour les sodas, 30 % des sodas consommés au Japon contiennent du thé vert, contre 4 % dans le reste du monde [16].

De nombreux compléments alimentaires ou produits de parapharmacie, utilisés pour « drainer l'organisme » et « brûler les graisses », contiennent des extraits de *Camellia sinensis* en association avec des plantes aux propriétés complémentaires [17].

Des industriels tels que Signal s'intéressent aujourd'hui à la teneur en fluor du thé pour la prévention des caries et le renforcement de l'émail des dents [20].

De nombreux nouveaux produits font référence au potentiel antioxydant du thé vert, la présence de catéchines est également mentionnée dans certains cosmétiques, comme les masques du visage et les hydratants [16].

L'utilisation de l'extrait de thé vert pour la fabrication des nanoparticules des métaux comme les nanoparticules de zinc (Zn) et de l'argent (Ag) par un procédé doux et vert, basée sur l'utilisation des matières premières renouvelables comme le thé dans la production et l'utilisation des produits chimiques [19].



**I-6-10- Thé vert et santé:****I-6-10-1- Maladies cardio-vasculaires:**

Le thé vert, consommé régulièrement, peut aider à prévenir des affections cardio-vasculaires. Il agit positivement sur le taux de cholestérol total en faisant baisser le taux de cholestérol LDL (le mauvais) et augmenter le taux de cholestérol HDL (celui qui protège les artères) [2].

**I-6-10-2- Maladies chroniques:**

L'épigallocatechine gallate (EGCG) est la principale catéchine, un polyphénol que l'on trouve dans le thé vert. C'est un puissant antioxydant capable de neutraliser les espèces réactives oxygénées et les radicaux libres lourdement impliqués dans le vieillissement et les maladies chroniques dégénératives. La recherche a montré que l'EGCG pourrait avoir des effets bénéfiques dans le cas de nombreuses maladies, incluant le diabète, les maladies neurodégénératives ou l'excès de poids [28].

**I-6-10-3- Cancers:**

De nombreuses études épidémiologiques ont recherché si des populations asiatiques consommant quotidiennement du thé vert présentaient moins de cancers que les autres. Une revue de la littérature du groupe Cochrane mise à jour en 2009 a retenu 50 études épidémiologiques. Les auteurs concluent que les données disponibles ne permettent pas d'affirmer que le thé vert prévient des cancers, notamment du fait de l'inconstance des résultats [29].

**I-6-10-4- Troubles gastro-intestinaux:**

Contrairement au café, le thé vert n'irrite ni l'estomac ni l'intestin. Celui-ci peut s'avérer particulièrement utile en cas de diarrhées, de troubles gastriques, d'aigreurs et de manque d'appétit. L'action anti-inflammatoire et antibiotique des saponines et des flavonoïdes qu'il contient permet la résolution des inflammations dans la région gastro-intestinale [2].

De fait de sa teneur élevée en minéraux, le thé vert est très efficace pour compenser les pertes dues à la déshydratation. Son action alcalinisant permet en outre de réduire l'acidité gastrique. Enfin, les tanins stimulent l'appétit et favorisent la digestion [2].

**I-6-10-5- Premiers soins:**

Non seulement le thé vert est un excellent moyen de prévention contre différentes maladies, mais il peut aussi servir de traitement d'appoint pour un nombre de maux courants. Bien employé, il accélère souvent les processus de guérison et peut par conséquent compléter



avantageusement un traitement médicamenteux ou une thérapie manuelle [2].

**I-6-11- Toxicité:**

La consommation régulière du thé, sous forme d'infusion ou de décoction, comme c'est le cas dans les populations sahariennes, peut créer une intoxication chronique et le théisme qui se manifeste par de l'insomnie, de l'anorexie, de la perte de poids, de la constipation et des troubles nerveux [20].

Du fait de la forte teneur du thé en potassium, les personnes atteintes d'insuffisance rénale doivent réduire leur consommation [17].

Les préparations orales de thé sont destinées aux adultes et enfants de plus de 12 ans [17].

Par précaution, et en raison d'un manque d'études, celles-ci sont déconseillées chez les femmes enceintes [17].

CHAPITRE II  
POLYPHENOLS

**II-1 Présentation générale sur les polyphénols:**

Les **polyphénols**, dénommés aussi composés phénoliques [30], constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits [20].

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 [20]. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement [30].

Plus de 8000 structures ont été identifiées, allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins. Les polyphénols sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside[4].

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'élaboration de cycles aromatiques, la voie shikimate (également responsable de la synthèse des acides aminés Phe et Tyr) et la voie polyacétate, qui consiste en la condensation de molécules d'acétylcoenzyme A. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière[30].

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie), entre les plantes et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel [6].

D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales, alliées à leur difficulté de production. Chez l'homme, ces molécules traces jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effet antioxydant, effet protecteur contre l'apparition de certains cancers...) [6].

## II-2 Classification des polyphénols:

Les polyphénols 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 trouvés conjugués aux sucres et les acides organiques [31]. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes[30].

### II-2-1 Polyphénols simple:

#### II-2-1-1 Acide phénolique:

Ils appartiennent à deux groupes, les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques.

**Les acides hydroxybenzoïques:** Ils sont les dérivés de l'acide benzoïque et on une formule de base de type C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>[32], dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique [20] (figure11).

**Les acides hydroxycinnamiques:** Ils représentent une classe très importante dont la structure de base (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) dérivée de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base de la série hydroxycinnamique sont l'acide caféique et l'acide férulique (figure 9) [32].

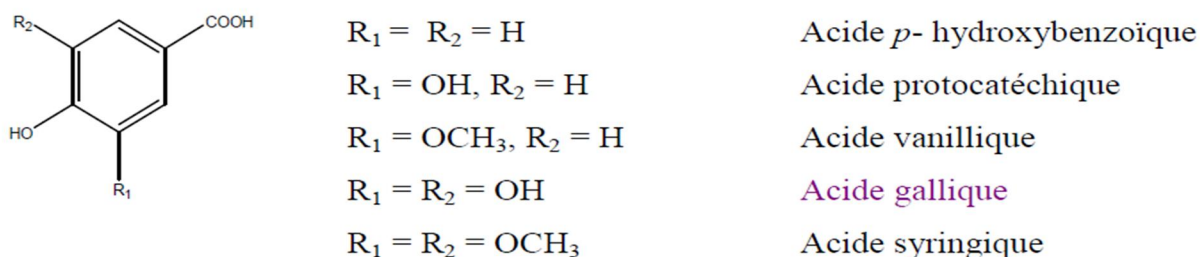


Figure 9: Exemple d'acide phénolique

#### II-2-1-2 Les flavonoïdes:

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques, 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 flavonosides [9].

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 pyrane, formant une structure C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> [30].

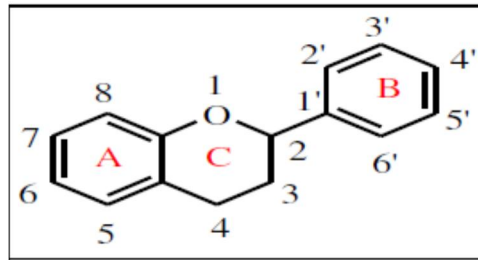


Figure 10: Squelettes de base des flavonoïdes

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 anti-cancéreuses [1].

La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques: flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et les anthocyanidines ou anthocyanols (figure 11) [1].

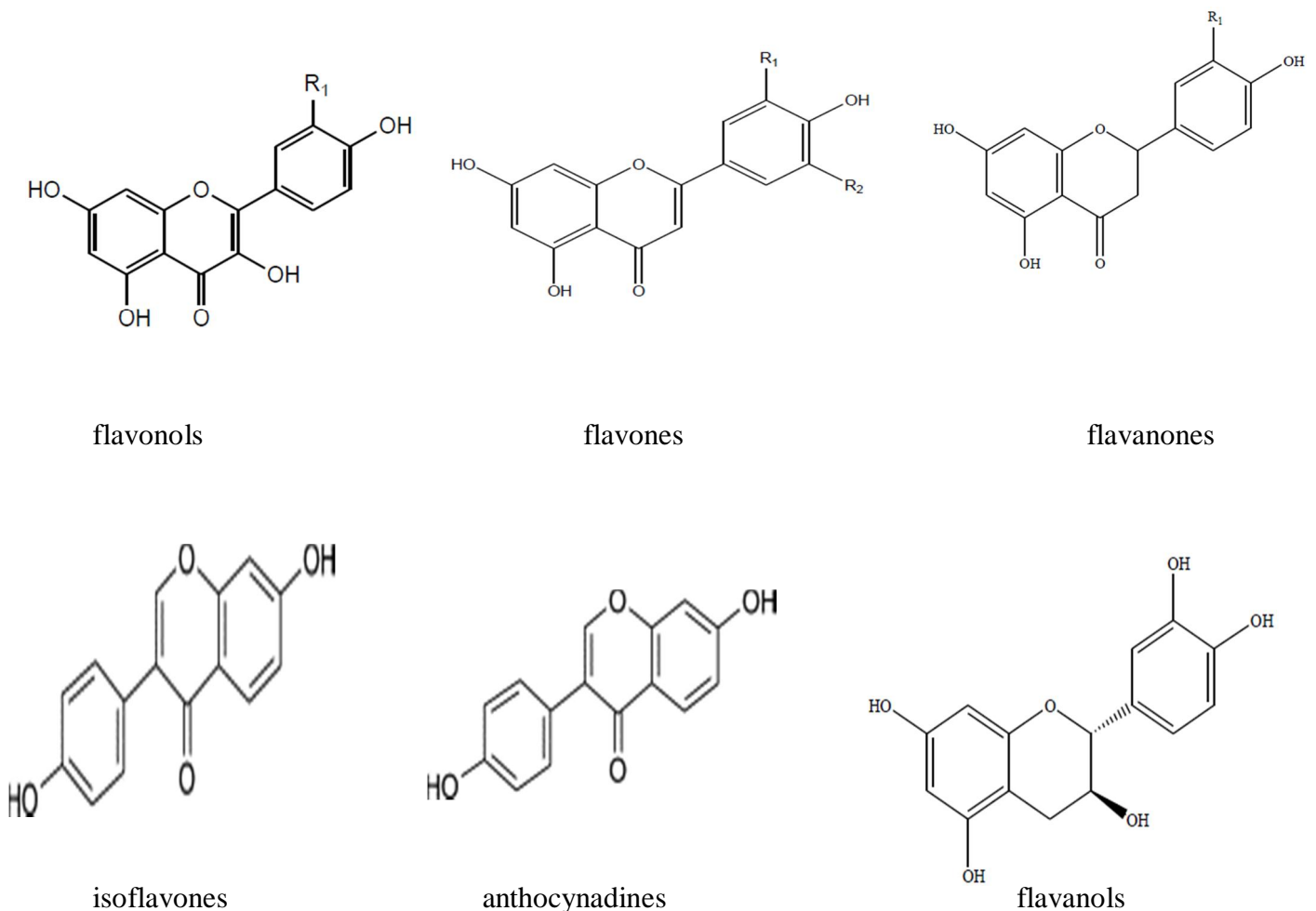


Figure 11: Structures chimiques de quelques flavonoïdes

**II-2-1-3 Alcools phénoliques:**

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique [30].

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 [33].

**II-2-2 polyphénols complexe:****II-2-2-1 Les tannins:**

Les tanins sont des substances d'origine organique que l'on trouve dans pratiquement tous les végétaux, et dans toutes leurs parties (écorces, racines, feuilles, etc.), caractérisées par leur astringence (sensation de dessèchement en bouche) [34].

Les tanins sont divisés en deux groupes :

*Tanins hydrolysables:* Ils sont divisés en deux sous-classes : les gallotannins et les ellagitannins). Leurs noms proviennent du fait que leur hydrolyse à haute température ou en présence de tannase produit respectivement de l'acide gallique et de l'acide ellagique. Les tanins hydrolysables possèdent un noyau polyol (dans la plupart des cas le D-glucopyranose mais le D-hamamelose, l'acide shikimique ou l'acide quinique existent également) dont les fonctions hydroxyles sont estérifiées par des unités d'acide gallique (galloyles) [35].

*Les tanins condensés:* Les tanins condensés, appelés proanthocyanidines ou procyanidines, sont des polyphénols de masse molaire moléculaire élevée. Ils résultent de la polymérisation auto oxydative ou enzymatique des unités de flavan-3-ol et/ou de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi proanthocyanidines de type B [36].

**II-2-2-2 Les lignine:**

La lignine est le polymère naturel le plus abondant dans le monde après la cellulose. Sa biosynthèse au sein de la matière végétale est assurée par un couplage de trois monomères alcools phénylpropane différents : les alcools coumarylique, coniferylique, et sinapylique[37].

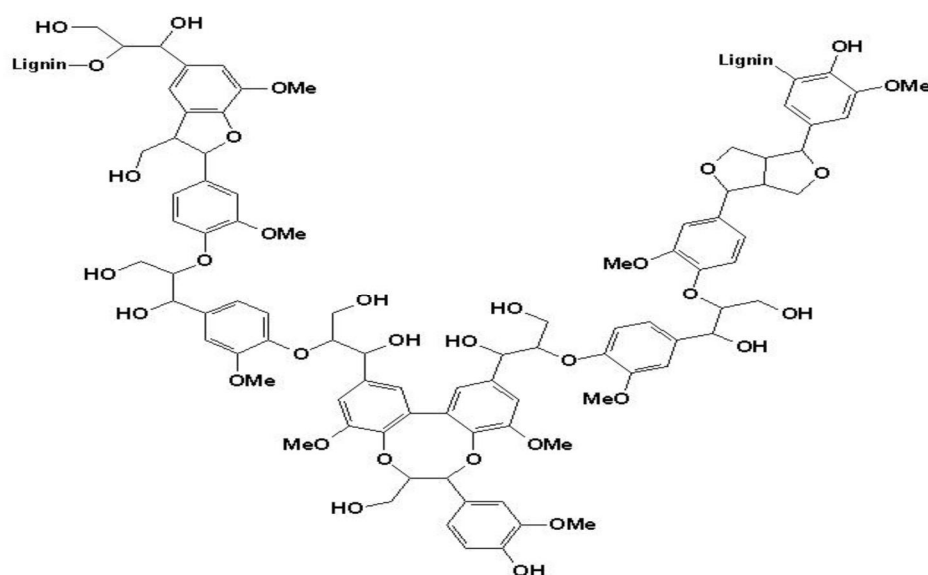


Figure 12: Structure d'une lignine

### II-2-2-3 Stilbènes C6-C2-C6:

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison formant un système conjugué. Ils sont de type C6-C2-C6 (Figure 16). Ces molécules existent sous leur forme aglycone comme le resvératrol (isomères *trans* et *cis*), qui est le principal stilbène chez la vigne, ou encore sous leur forme glycosylée (picéides), ou méthylée (ptérostilbènes). Le resvératrol peut également former des oligomères, tels que les viniférines [38].

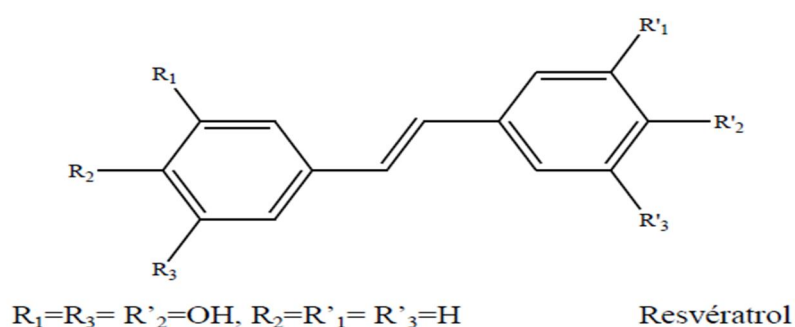


Figure 13 : Structure chimique de Stilbène



**II-3 Biosynthèse des polyphénols :**

La biosynthèse des polyphénols se fait par deux voies principales qui sont :

**II-3-1 La voie de l'acide shikimique :**

Dans cette voie, l'érythrose 4-phosphate et le phosphoénol pyruvate sont produits par les hydrates de carbone lors de leur dégradation par la voie des pentoses phosphate et la glycolyse, respectivement.

Ces derniers sont à l'origine des composés phénoliques C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> formant les tannins hydrolysables et de la chalcone qui est la molécule de base de tous les flavonoïdes et tannins condensés. Aussi, il est intéressant de préciser que la tyrosine et la phénylalanine dérivent de cette voie métabolique. En effet, ces deux acides aminés sont des intermédiaires métaboliques entre l'acide shikimique et l'acide cinnamique [39].

**II-3-2 La voie de l'acide malonique :**

La glycolyse et la  $\beta$ -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl CoA donnant le malonate.

C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase [39].

**II- 4-Propriétés chimiques des polyphénols:**

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 C<sub>2</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>6</sub>. L'effet (+M) peut être représenté par quatre formes mésomères [19].

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

**II-4-1 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 flavanols 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[40].

#### **II-4-2 Stress oxydant:**

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 [40].

#### **II-5- L'activité antioxydant:**

Les polyphénols peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène (anion super oxyde  $O_2^-$  radical hydroxyle (OH $\cdot$ ) pour produire des radicaux phénoxy stable. Ils peuvent aussi agir comme des antioxydants grâce à leur capacité à complexer les ions métalliques.

Malheureusement, certains polyphénols ont également une action pro-oxydante par transfert d'électrons à des ions métalliques. Les flavanols sont des antioxydants très puissants. La capacité antioxydant des dimères de type B liés en 4-6 semble supérieure à celle de ceux liés en 4-8; les dimères de type A sont par ailleurs moins antioxydants que les dimères de type B. Les gallates et glycosides de proanthocyanidines montrent une activité antioxydant moindre en milieu lipidique qu'en milieu aqueux [41].

**II-6 Activité antibactérienne de polyphénols:**

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection des souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes[42]. D'après la littérature, les composés phénoliques sont doués d'un effet inhibiteur sur la croissance bactérienne [43]. Les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire [42].

Beaucoup d'études ont été faites pour l'évaluation des propriétés antibactériennes, et antifongiques des polyphénols. A l'heure actuelle, cet effet est certain et démontré par de nombreuses recherches expérimentales [44]. Moroh *et al.*, 2008 [45], ont démontré l'effet antibactérien des extraits acétiques riches en alcaloïdes et en flavonoïdes de *Morinda morindoides*, sur 8 souches d'*Escherichia coli*, germes bactériens rencontrés généralement dans la diarrhée des nourissants, et des enfants jusqu'à l'âge de 5 ans. Yango *et al.*, 2004 [46], ont travaillé sur les extraits de manges contenant des polyphénols dont les huiles essentielles font les composés majeurs qui ont donné des effets bienfaisants chez des consommateurs volontaires (30 personnes), ayant des troubles gastro-intestinaux causés par des agents entéropathogènes : *Escherichia coli*, et *Staphylococcus aureus*.

**II-7 Localisation et rôle des polyphénols dans les plantes:**

A l'échelle de la cellule, les composés phénoliques sont principalement répartis dans deux compartiments : les vacuoles et la paroi. Dans les vacuoles, les polyphénols sont conjugués, avec des sucres ou des acides organiques, ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule. Au niveau de la paroi, on trouve surtout de la lignine et des flavonoïdes liés aux structures pariétales.

Les composés phénoliques sont synthétisés dans le cytosol. Une partie des enzymes impliquées dans la biosynthèse des phénylpropanoïdes est liée aux membranes du réticulum endoplasmique, où elles sont organisées en métabolons.

D'autres organites du cytoplasme, comme des vésicules golgiennes ou des chloroplastes, peuvent participer à la biosynthèse des composés phénoliques mais ce ne sont pas des lieux d'accumulation [47].

**II-8 Extraction et dosage des polyphénols:**

L'extraction et le dosage des composés phénoliques se fait selon plusieurs méthodes les plus utilisées et employées sont résumés dans le tableau [48].

**Tableau 5: Principales méthodes d'études des composés phénoliques**

	<b>Techniques :</b>	<b>Principe:</b>
Extraction	Extraction par les solvants (macération)	Le contact entre le solvant (liquide) et la matière végétale (solide) a pour but de libérer les polyphénols présents dans les cellules par rupture du tissu végétal et par diffusion.
	Extraction par chromatographie sur colonne	Elle consiste à absorber sur une résine du type C18 pour les polyphénols et flavonoïdes des extraits végétaux puis à éluer sélectivement les substances polyphénoliques au moyen d'éthanol ou méthanol aqueux.
	Extraction supercritiques (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 composés 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.
Dosage		Dosage par spectrophotométrie
		Dosage par HPLC

**II-8-1 Paramètres influençant d'extraction:**

L'extraction des composés phénoliques dépend du type de solvant, la nature et la préparation de matériel d'extraction, la structure chimique des composés phénolique, la température, le temps d'extraction, le rapport solide-liquide, et la méthode d'extraction utilisée.

***-Effet de la température :***

Il est difficile de cerner de façon simple l'influence de la température sur l'extraction [49]. Dans la plupart des cas, l'élévation de la température permet généralement l'accroissement de la solubilité et de la diffusivité du soluté et la diminution de la viscosité de la solution [50]. Et ceci pour quatre principales raisons :

- La chaleur facilite l'extraction en perméabilisant les parois cellulaires par dénaturation.
- La gamme des hautes températures usuelles, augmente la solubilité des matières à extraire.
- Enfin, elle diminue la viscosité des solvants d'extraction, ce qui facilite non seulement le passage du solvant à travers la masse de substrat solide, mais aussi les opérations ultérieures de séparation.

La limite supérieure de la température est imposée par le point d'ébullition du solvant, par les risques de :

- Dégradation thermique du soluté.
- Risques d'extraire des composés nuisibles [49].

***-Effet du temps d'extraction :***

Les quantités de substances extraites sont fonction du temps de séjour du matériel au sein du solvant (temps nécessaire à la pénétration du solvant à l'intérieur des vacuoles, dissolution du composé, etc.).

Généralement, une élévation de la température traduisant l'agitation moléculaire permet de diminuer les temps de contact et ce, sans diminution notable du rendement.

A titre indicatif, une méthode comme la macération dure environ 8 à 10 jours, par contre des méthodes comme la décoction ne nécessitent que des temps de contact rapides de l'ordre d'une dizaine de minutes [51].

***-Effet de l'agitation:***

L'agitation a un effet positif sur la diffusion moléculaire, puisqu'elle maintient les particules en suspension homogénéisant le milieu. Elle réduit également la résistance de transfert des solutés augmentant ainsi le coefficient de transfert [52].

***-Effet du rapport liquide/ solide:***

L'extraction des composés phénoliques s'améliore avec l'augmentation du ratio liquide/ solide, puisqu'il agit sur le gradient de concentration entre la matrice végétale et le solvant qui favorise le transfert de matière [52].

***-Effet du soluté:***

La nature et l'état physique du soluté ont une importance primordiale et déterminent le mécanisme de transfert de matière. Le soluté contenu dans ces corps est soit un solide, soit un liquide, stable ou non à la chaleur ou à l'atmosphère. Il est réparti uniformément en des teneurs variables dans le solide. Si le soluté est dispersé uniformément dans le solide, les parties superficielles sont dissoutes en laissant derrière elles un solide poreux. Le solvant doit ensuite pénétrer cette couche extérieure avant d'atteindre le soluté situé en profondeur. Le chemin du solvant est rendu de plus en plus difficile, traduisant ainsi une diminution de la vitesse superficielle [53].

Le soluté à extraire contenu dans le corps solide influence considérablement la vitesse d'extraction de par sa taille, sa localisation, sa répartition et ses liaisons dans la matière végétale avec d'autres composés.

La vitesse de diffusion est inversement proportionnelle à la taille des particules du soluté, elle diminue quand la taille de ces dernières augmente par exemple, les vitesses d'extraction des composants hydrosolubles sont dans l'ordre croissant suivant : acides acétiques > sucre > pectines [54].

Les substances à extraire, localisées à l'intérieur des cellules, se présentent sous forme libre alors que celles qui participent à la structure sont liées à d'autres composés. Leurs concentrations varient selon les conditions climatiques de croissance, les conditions de récoltes, l'état de maturité et le conditionnement, c'est pourquoi elles varient beaucoup d'un lot à l'autre et au sein d'un même lot [55,56].

***-Effet du solvant:***

Un solvant est, par définition, un fluide qui a le pouvoir de solubiliser d'autres substances menant à une solution homogène. Un solvant d'extraction est choisi par:

- ses propriétés physiques : densité, viscosité, point d'ébullition, chaleur spécifique, etc. Déterminant les conditions de l'épuisement, vitesse d'écoulement et de filtration, conditions de distillation et de concentration, pertes par volatilisation.

- la nature des principes à dissoudre,

- ses caractéristiques économiques et son prix de revient [57].

- Idéalement il doit être non toxique, stable, non réactif, non inflammable, inoffensif pour l'environnement et peu coûteux [55].
- Il doit pouvoir extraire les composés polaires et apolaires ou bien être sélectif [53].

**-Effet de taille des particules:**

Il est généralement admis que sous une forme broyée, la matière végétale présente une plus grande surface de contact avec le solvant, permettant ainsi d'accélérer la cinétique et d'améliorer le rendement [58]. La diffusion interne est aussi plus rapide dans le cas de particules fines. Cependant, les particules de taille très fine posent des problèmes technologiques comme par exemple , un tassement du lit de solides provoquant une diminution de la perméabilité du lit au solvant et l'établissement de courants préférentiels et d'endroits du lit où le solvant ne circule pas. Les particules très fines sont également plus difficiles à se séparer de l'extrait liquide après la fin de l'extraction [33].

**II-9- Les polyphénols dans le thé vert:**

L'infusé de thé est la boisson la plus consommée dans le monde après l'eau. Les feuilles de thé (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) contiennent des bases pures comme la caféine et la théophylline utilisées en thérapeutique, mais aussi des polyphénols aux potentialités intéressantes. Ce sont surtout des flavonols antioxydants qui agissent à l'encontre des effets du stress oxydatif en supprimant ou dénaturant les radicaux libres. Les enzymes antiradicalaires naturellement présentes chez l'Homme, comme les glutathion peroxydases ou les superoxydes dismutases, ne sont pas toujours suffisamment performantes [59].

Les feuilles de thé fraîches contiennent en règle générale 36 % de composés polyphénoliques[22].Le thé, grâce à ses polyphénols, a la capacité de prévenir l'apparition et l'aggravation de ces pathologies. L'étude de la composition chimique de la feuille de thé permet de comprendre pourquoi et comment sa consommation peut s'avérer bénéfique. Elle contient des polyphénols, notamment l'épigallocatechine-3-gallate (EGCG) en quantité importante. Longtemps une simple boisson d'agrément, le thé à l'heure actuelle doit être considéré comme une plante aux réelles vertus thérapeutiques [59].

**II-10- Propriétés thérapeutiques des polyphénols****II-10-1 Polyphénols et cancer:**

Les propriétés anticancéreuses des polyphénols ont été mises en évidence dans de nombreuses études *in vitro*, utilisant des cultures cellulaires cancéreuses ou des animaux prétraités par des réactifs chimiques carcinogènes. Cependant, les données disponibles sur les effets des polyphénols vis-à-vis des cancers chez l'homme sont plus disparates.

L'effet des polyphénols sur les lignées de cellules cancéreuses humaines est fréquemment protecteur et induit une réduction du nombre de tumeurs et de leur croissance. Plusieurs mécanismes d'action ont été identifiés activité oestrogénique ou antioestrogénique, effets

antiprolifératifs, induction de l'arrêt du cycle cellulaire ou de l'apoptose, prévention du stress oxydant, activité anti-inflammatoire, modification de la signalisation cellulaire.

Il a été montré qu'une administration orale d'acide ellagique réduisait l'expression du facteur de transcription NF- $\kappa$ B et des enzymes COX-2 et iNOS lors d'une carcinogénèse colique chimiquement induite chez le rat .En outre, la génistéine limite la croissance des tumeurs sensibles aux hormones par ses propriétés oestrogéniques expliquant ainsi en partie les effets protecteurs des isoflavones observés dans les modèles de cancers mammaires et prostatiques[30].

### **II-10-2 Polyphénols et maladies cardiovasculaires:**

Diverses études épidémiologiques ont montré qu'il existe une corrélation inverse entre la consommation d'aliments riches en polyphénols et le risque de développement des maladies cardiovasculaires. Au niveau des artères, ces molécules préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) évitant ainsi l'athérosclérose (épaississement des artères qui contribue à réduire le flux sanguins et peut conduire à l'asphyxie des tissus irrigués). Les polyphénols inhibent aussi l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose, qui induit l'occlusion des artères. Ainsi en prévenant l'athérosclérose et les risques de thrombose, ces composés limitent les risques d'infarctus du myocarde. Selon des études épidémiologiques, un plus grand apport de flavonoïdes tirés des fruits et des légumes s'associe à une diminution du risque d'apparition de maladie cardiovasculaire. Les mécanismes expliquant cette observation ne sont pas clairs, mais d'après les données probantes, les flavonoïdes exerceraient leurs effets par la diminution des facteurs de risque cardiovasculaire. D'après de récentes données probantes, certains polyphénols sous forme purifiée, y compris le resvératrol, la berbérine et la naringénine, ont des effets bénéfiques sur la dyslipidémie chez les modèles humains ou animaux. Un traitement à la naringénine atténuait l'athérosclérose en corrigeant la dyslipidémie [4].

### **II-10-3 Polyphénols anti-inflammatoires:**

L'inflammation est la réponse principale de l'organisme à une agression et est précisément régulée afin de limiter les atteintes possibles des structures de l'organisme. Cependant, une régulation inappropriée de ce phénomène peut conduire à un état inflammatoire chronique et la plupart des pathologies chroniques possèdent une composante inflammatoire. C'est le cas de l'obésité, des maladies cardiovasculaires et du cancer [60].



Au cours de l'inflammation, des produits bactériens déclenchent la production d'une grande quantité d'oxyde nitrique (NO) dans les macrophages et d'autres cellules sous l'action d'oxyde nitrique synthase inducteur (iNOS), bien que la libération de (NO) est très importante pour maintenir la dilatation des vaisseaux sanguins (vasodilatation) mais des fortes concentrations peuvent conduire aux dommages oxydatifs car une fois que le NO est formé il se peut qu'il va réagir avec l'anion superoxyde conduisant à la formation de peroxy-nitrite qui provoque l'endommagement des macromolécules cellulaires. Cependant une production en excès de NO durant une inflammation chronique résulte au développement du cancer.

De nombreuses études semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires d'autres flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine .

Les flavones et les flavonols sous forme glycosylée ou libre comme la quercétine, kaempférol, myricétine ont une activité inhibitrice de COX (Cyclooxygénase) [6].

### **II-11 Influence de l'environnement sur la synthèse des polyphénols:**

Les composés phénoliques interviennent dans de nombreux phénomènes pour permettre à la plante de s'adapter à son milieu.

#### **a) Lumière:**

La lumière agit de façon quantitative et qualitative et est corrélée à une augmentation des teneurs en composés phénoliques et plus particulièrement de flavonoïdes dans les tissus. L'activité de certaines enzymes de la voie de biosynthèse des polyphénols est stimulée par la lumière, c'est le cas, entre autres, de la PAL, de la C4H et de la CHS [47].

#### **b) Température :**

La température peut modifier les teneurs en polyphénols chez les fruits pendant la phase de croissance, mais également après la récolte, Pour certains les plantes, un stress thermique semblerait apparaître à partir de 35°C, causant l'accumulation de composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les acides hydroxycinnamiques.

En effet, un stress thermique provoqué par des températures froides (4°C) ou élevées entraîne une augmentation des activités PAL et CHS qui a pour conséquence d'augmenter les teneurs en composés phénoliques. En outre, l'oxydation des composés phénoliques par les polyphénols oxydases (PPO) et peroxydases (POD) est inhibée, ce qui maximise l'accumulation des polyphénols [47].

CHAPITRE III  
LES BACTÉRIES PATHOGÈNES

**III-1-Notion de bactéries pathogènes:**

Un pathogène est un membre des espèces microbiennes où la virulence détermine la tendance nuisible de la souche pathogène. Les bactéries pathogènes possèdent des propriétés génétiques distinctes que leurs apportent significativement une capacité plus grande pour entrer en compétition avec d'autres bactéries afin de préserver leur avantage à l'intérieur d'un hôte spécifique [61].

**III-2-Genre *Pseudomonas*:**

Figure 14: Photo de la bactérie du genre *Pseudomonas* observée sous microscope

Le genre *Pseudomonas* appartient au phylum des *Proteobacteria*, classe des *Gammaproteobacteria*, famille des *Pseudomonaceae*, ordre des *Pseudomonales*. Ce sont des bactéries ubiquistes. Les différentes espèces de *Pseudomonas* sont divisées en cinq groupes selon leur ARNr. Le sous-groupe des *Pseudomonas fluorescents*, appartenant au premier groupe génomique, est certainement le plus étudié. Les espèces appartenant à ce groupe sont: *Pseudomonas aeruginosa*, espèce pathogène pour l'homme, *P. syringae*, espèce phytopathogène et *P. fluorescens*, *P. putida*, et *P. chlororaphis* (= *Pseudomonas aerofaciens*) rassemblent des espèces saprophytes [62]. *Pseudomonas aeruginosa*, autrement connue sous le nom de bacille pyocyanique [63].

Ces bactéries sont des bacilles à Gram négatif [62]. Les températures cardinales aux quelles les espèces se multiplient varient de 4° à 42°C [64].

**III-2-1-Particularité du genre *Pseudomonas*:**

Il est capable d'utiliser de nombreux substrats carbonés comme seule source de carbone et d'énergie : glucose, acide lactique, acide acétique, arginine, mannitol, citrate, malonate [65].

**III-2-2-Habitat:**

Ces bactéries occupent des niches écologiques variées, mais se retrouvent plus particulièrement dans les milieux humides tels que les eaux douces, les eaux de mer et les eaux thermales. Elles se retrouvent en plus petite quantité dans les eaux riches en matières organiques. Elles sont considérées comme une flore commensale chez l'homme ou l'animal. Certaines jouent un rôle pathogène dont *Pseudomonas syringae* chez les plantes et *Pseudomonas aeruginosa* chez l'homme et l'animal [66].

**III-2-3-Caractères biochimiques:**

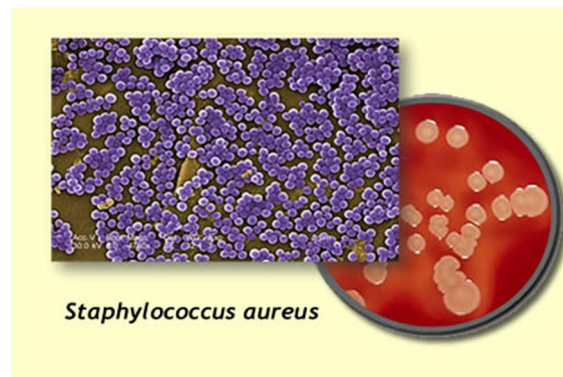
Elles sont caractérisées par la diversité des substrats hydrocarbonés utilisés comme source de carbone et d'énergie. *Pseudomonas aeruginosa* dégage une odeur aromatique caractéristique de seringa due à la production d'ortho-amino-acétophénone, intermédiaire du métabolisme du tryptophane et non liée à la production de pigment, il hydrolyse aussi la gélatine et lécithine[66].

**III-2-4-Pouvoir pathogène:**

*P. aeruginosa* peut être responsable de nombreux processus néfastes liés à sa capacité à coloniser les surfaces sous forme de biofilm .Ainsi, cette bactérie est impliquée dans les phénomènes de corrosions microbiennes, de contamination et dégradation de différents hydrocarbures, créant des masses gélatineuses sombres parfois appelées à tort "algues". C'est par ailleurs un pathogène opportuniste capable d'infecter un large spectre d'hôtes : hommes, animaux, plantes pyocyanique [63].

Au cours de la dernière décennie, les infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* ont été rapportées partout dans le monde, avec une émergence rapide et croissante de souches multi résistantes, la plupart du temps dans des unités de soins intensifs. Une enquête méditerranéenne de prévalence en 2010 attribue à *P. aeruginosa* la responsabilité de 9,2 % de l'ensemble des infections nosocomiales [67].

*P. aeruginosa* est l'exemple type de la bactérie pathogène opportuniste. Les malades particulièrement sensibles sont les nourrissons, les personnes âgées, les sujets atteints d'affections graves, chroniques, métaboliques (diabète) mais surtout hématologiques ou cancéreuses. Chez les brûlés, cette infection est l'une des causes majeures de mortalité [66].

**III-3-Genre *Staphylococcus*:**

**Figure 15: Photo de la bactérie *Staphylococcus aureus* observée sous microscope**

Les Staphylocoques sont des Cocci à Gram positif classiquement disposés en amas [68]. Ce sont les bactéries du genre *Staphylococcus* appartenant à la famille de *Micrococosease*. Trois espèces sont individualisées, il s'agit de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidendrums* et *Staphylococcus saprophyticus* [69].

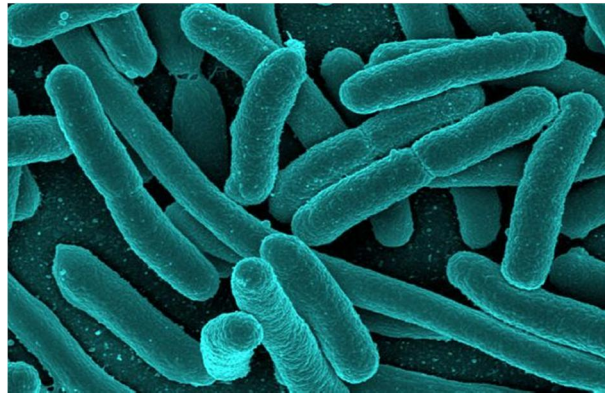
La plupart des souches de *S. aureus* élaborent un pigment qui donne une couleur jaune-orangé aux colonies, d'où le nom de staphylocoque doré [70].

**III-3-1- Habitat de *S. aureus*:**

Le réservoir naturel des staphylocoques est l'homme et les animaux à sang chaud. Cependant, éliminées dans le milieu extérieur, ces bactéries très résistantes sont fréquemment retrouvées dans l'environnement [68].

**III-3-2-Pouvoir pathogène:**

*Staphylococcus aureus* est à l'origine de toxi-infection alimentaires car c'est une bactérie toxigène, elle produit entre autres des toxines thermorésistantes dans les aliments comme le lait cru de chèvre [71].

**III-4-Genre *Escherichia coli*:**

**Figure 16: Photo de la bactérie *E.coli* observée sous microscope**

Le genre *Escherichia* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Les genres appartenant à cette famille, tels que *Salmonella* ou encore *Shigella*, sont des bacilles à Gram négatif, aéroanaérobies facultatifs qui peuvent fermenter les nitrates et qui ne possèdent pas d'oxydase. Le genre *Escherichia* regroupe cinq espèces : *E. blattae*, *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* et *E. vulneris*. Chaque espèce d'*Escherichia* possède des caractéristiques biochimiques spécifiques, permettant de les différencier [72].

*E. coli* se trouve couramment dans le tube digestif de l'être humain et des animaux à sang chaud [73]. Elle est la première espèce bactérienne commensale intestinale anaérobie facultative décrite. Elle a également joué un rôle important dans le développement de la biologie moléculaire, servant comme premier organisme modèle pour la compréhension des aspects fondamentaux de la régulation génétique [74].

**III-4-1-Pouvoir pathogène:**

*E. coli* est la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires, elle peut provoquer des diarrhées par des mécanismes très divers ainsi que diverses infections communautaires ou nosocomiales [71].

**III-5- Les antibiotiques:**

L'élimination des microorganismes pathogènes fait appel à des substances dites : antibiotiques. Ces derniers sont synthétisés par des microorganismes (le plus souvent des champignons). Ils ont la capacité soit de détruire les bactéries (effet bactéricide), ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) [75].

On dit qu'une souche bactérienne est résistante à un antibiotique lorsqu'une modification de son capital génétique lui permet de tolérer une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que la concentration qu'il est possible d'obtenir in vivo à la suite d'un traitement [76].

**III-5-1-Résistances des bactéries aux antibiotiques:****III-5-1-1 Résistance des *Pseudomonas*:**

Les *Pseudomonas* sont des bactéries qui cumulent de nombreux mécanismes de résistance aux antibiotiques, imposant une analyse régulière de leur activité. Ils sont impliqués dans plusieurs cas d'infections nosocomiales, notamment dans les unités de soins intensifs. En effet, les *Pseudomonas* possèdent des éléments génétiques susceptibles d'acquérir ou de perdre des gènes de résistance aux antibiotiques, décrits sous le nom d'intégrons [77].

**III-5-1-2- Résistance des *staphylocoques*:**

Les staphylocoques ont élaboré au cours du temps plusieurs mécanismes de défense pour lutter contre les antibiotiques qui sont utilisés pour les éradiquer. Les mécanismes impliqués comprennent la synthèse d'enzymes inactivatrices, la modification de la cible des antibiotiques, des systèmes d'efflux qui diminuent la concentration de l'antibiotique dans la bactérie [76].

**III-5-1-3- Résistance d'*E. Coli* :**

*E. coli* est naturellement sensible à l'ensemble des aminopénicillines et des céphalosporines. Le mécanisme essentiel de la résistance aux bêtalactamines est de nature enzymatique par production de bêtalactamase [78].

**III-5-2-Les antibiotiques dans l'environnement:**

La très large et même trop large utilisation des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire est à l'origine de leur introduction dans l'environnement. Or de nombreux antibiotiques comme la doxycycline, l'oxytétracycline, ou la lévofloxacine sont excrétés de l'organisme sous forme inchangée et peuvent donc rester actifs et présenter des risques pour l'environnement. L'évaluation des risques doit porter sur leurs effets toxiques ou allergisants lorsqu'ils se trouvent à l'état de traces au sein de mélanges complexes de polluants dans les eaux d'égouts et les eaux superficielles et sur la vérification qu'ils ne peuvent franchir les étapes de potabilisation [79].

**III-6-Les plantes comme alternatives aux antibiotiques:**

Grâce à leur richesse en métabolites secondaires, les plantes sont utilisées comme additif dans l'alimentation des ruminants, dans le but de trouver des alternatives aux antibiotiques ionophores pour l'amélioration des fermentations dans le rumen. Plusieurs études ont montré l'efficacité de ces plantes, tels que le programme de l'Union Européenne « Rumen-up »



destiné à la recherche et l'identification des plantes riches en molécules actives à effet bénéfique sur la fermentation ruminale [80].

Les plantes ont de nombreuses façons de générer des composés antimicrobiens pour les protéger contre les pathogènes. Les surfaces végétales externes sont souvent protégées par des biopolymères tel que les cires, les esters d'acides gras comme la subérine et la cutine. En outre, les tissus externes peuvent être riches en composés phénoliques, alcaloïdes, terpénoïdes et d'autres composés qui inhibent le développement de champignons et de bactéries [73].

Les flavane-3-ols, les flavonols et les tannins ont reçu plus d'attention due à leur large spectre et forte activité antimicrobienne par rapport aux autres polyphénols, à leur capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne telle que l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes ainsi qu'à leur capacité d'établir une synergie avec certains antibiotiques[81].

En outre, la morine-3-O-lyxoside, morine-3-O-arabinoside et la quercétine-3-O-arabinoside possèdent une action bactériostatique sur les bactéries pathogènes contaminant les denrées alimentaires y compris *Bacillus stearothermophilus*, *Brochothrix thermosphacta*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella enteric*, *Staphylococcus aureus* et *Vibrio cholera*. Les flavonones ayant un groupement de sucre ont aussi montré une activité antimicrobienne, tandis que certaines flavonolignanes n'ont montré aucune activité inhibitrice envers les microorganismes [81].

CHAPITRE IV  
MATÉRIELS MÉTHODES

**IV-1- Matériel végétal et biologique:****IV-1-1- Matériel végétal:**

La plante utilisée dans ce travail est *Camellia sinensis*. C'est la plante du thé vert commerciale chinois de type TCHICO, de la qualité 9371AAA exporté par Sarl FRINDA, importé par NISRIN.

**IV-1-2-Les microorganismes:**

Les microorganismes *E. coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC25923, *Staphylococcus aureus* ATCC27853 ont été récupérées de laboratoire des aérobies de l'Institut Pasteur d'Alger.

**IV-2- Analyses physico-chimiques de la plante *Camellia sinensis*:****IV-2-1-Détermination de la teneur en eau:**

La teneur en eau est déterminée pour un échantillon de 1g introduit dans l'étuve 105°C jusqu'à l'obtention d'une masse constante [82].

***Mode opératoire:***

- Peser la capsule vide.
- Peser dans la capsule 1g d'échantillon et l'introduire dans l'étuve à 105°C.
- Retirer la capsule de l'étuve, la placer dans le dessiccateur et après refroidissement on la pèse.
- L'opération est répétée jusqu'à obtention d'une masse constante.

La teneur en eau par rapport à la masse humide est calculée par la formule suivante:

$$W_{mh} = (m_i - m_f) / m_i \times 100$$

**Où:**

$W_{mh}$  : masse, en gramme, humide

$m_i$ : masse, en gramme, initiale

$m_f$ : masse, en gramme, finale (après dessiccation).

Le pourcentage de la matière sèche est déterminé par la relation suivante:

$$\text{Matière sèche (\%)} = 100 \% - W_{mh}$$

**IV-2 -2-Détermination du potentiel d'hydrogène pH:**

- Peser 1g de thé vert dans 10 ml d'eau distillée (ED) ;
- Après 10 min, plonger l'électrode dans la solution de thé vert et la lecture se fait directement sur le pH mètre.

**IV-2-3-Détermination de la teneur en cendre:**

Cette méthode est basée sur la destruction totale de toutes les particules charbonneuses et la pesée de la matière minérale restante [47].

- La poudre de (1 g) est mise dans une capsule ( $M_1$ ) qui est placée dans un four 500°C pendant trois heures jusqu'à obtention d'une couleur grise, claire ou blanchâtre.
- Après refroidissement, peser la capsule ( $M_2$ ).

On exprime la matière organique par la formule suivante:

$$\text{MO \%} = (M_1 - M_2 / P) \times 100$$

La teneur en cendre (cd) est calculée comme suit:

$$\text{Cd (\%)} = 100 - \text{MO\%}$$

Où:

**MO:** matière organique en %

**$M_1$ :** masse de la capsule + prise d'essai

**$M_2$ :** masse de la capsule + cendres

**P:** masse de la prise d'essai

**IV-3-Détermination des composés chimiques de thé vert:**

La composition chimique de thé vert est déterminée par l'appareil de spectroscopie infrarouge.

**Principe:**

Prendre une quantité de thé vert sous forme de poudre et l'analyser dans l'appareil de l'infrarouge.

La spectroscopie IR est utilisée en générale pour identifier les groupement fonctionnels d'une molécules, cette méthode est très employée dans les laboratoires de chimie, de manière plus simple et routinier sachant que le domaine de fréquence le plus couramment utilisé s'entend de 4000cm<sup>-1</sup> à 6000cm<sup>-1</sup> [83]. Lorsque l'énergie (la longueur d'onde) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistre une diminution de l'intensité réfléchié ou transmise. Le domaine

infrarouge entre 4000 cm<sup>-1</sup> et 400 cm<sup>-1</sup> correspond au domaine d'énergie de vibrations des molécules [84].

#### **IV-4-Extraction et dosage des polyphénols totaux:**

##### **IV-4-1-Extraction par macération:**

###### **Principe:**

La méthode d'extraction utilisée pour les composés phénoliques est la macération. L'objectif de l'extraction est de libérer les substances phénoliques présentes dans les structures vacuolaires par rupture du tissu végétal et par diffusion. Ces derniers sont extraits par extraction solide-liquide en utilisant l'eau et le méthanol comme solvants, mais d'autres solvants peuvent être utilisés tels que l'éthanol, acétonitrile, l'acétone et l'acétate d'éthyle.

La teneur en polyphénols est changée avec les conditions d'extraction: le temps de macération, la température, le ratio matière végétale/solvant et la concentration de solvant.

##### **IV-4-2-Dosage des polyphénols totaux:**

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de thé a été effectué par spectrophotométrie UV (model T80+zuzi) selon la méthode du réactif de Folin - Ciocalteu. Ce dosage est fondé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin - Ciocalteu consiste en une solution jaune acide (Ac) contenant un complexe polymérique d'ions (hétéro polyacides). En milieu alcalin, le réactif de Folin - Ciocalteu oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéro polyacides d'où la formation d'un complexe bleu [47].

###### **Principe:**

Les techniques de spectroscopie UV visible sont des méthodes simples et rapides qui fournissent des informations sur la nature chimique, les propriétés physico structurales, et les caractéristiques optiques des composés. C'est une méthode quantitative et qualitative de grande utilité pour les analyses chimiques. Dans les composés, chaque fonction absorbe à une longueur d'onde bien déterminée. Ceci permet de caractériser les molécules [83].

##### **IV-4-2-1-Macération dans l'eau:**

###### **Mode opératoire:**

- Peser de 1 jusqu'à 6g de la matière végétale, ensuite macérer dans une fiole jaugée de 100 ml d'eau distillée.
- Chauffer les solutions à différentes températures: 40°C, 60°C et 80°C

- Chaque 10 min prélever 0.2 ml de l'extrait aqueux dans des tubes à essai jusqu'à 50min pour le dosage.
- Ajouter 1 ml du réactif de Folin- Ciocalteu
- Ajouter 20 ml de la solution de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  à 4.25% (4.25g dans 100 ml)
- L'ensemble est incubé dans un bain marie à une température  $70\text{C}^\circ$  pendant 20min.
- La lecture est effectuée contre un blanc sans extrait à l'aide d'un spectrophotomètre UV (model T80+zuzi) à 760nm.

**Expression des résultats:**

Le taux de polyphénols totaux dans nos extraits a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = ax + b$ ) établie avec des concentrations précises d'acides gallique Comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon.

**La courbe d'étalonnage:**

-A partir d'une solution mère aqueuse préparée de l'acide gallique de concentration massique 50mg/1. Des solutions filles sont ainsi préparées de concentrations allant de 40 mg/1 jusqu'a 10 mg/1.

-A l'aide d'une pipette, 0.2ml de chaque solution est introduite dans des tubes à essais.

-Suivre le même principe de dosage de polyphénols totaux.

-Le blanc est la même solution, en remplaçant la solution d'acide gallique par l'eau distillée.

**IV-4-2-2- Macération dans le méthanol:****Mode opératoire:**

Deux concentrations de méthanols ont été préparées, 11% et 50%. La macération a été réalisée dans ces deux solutions aux températures suivantes:  $5^\circ\text{C}$ ,  $20^\circ\text{C}$  et  $35^\circ\text{C}$ .

**IV-5- Etude de l'activité antibactérienne:**

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait de thé est réalisée par la méthode des disques.

**IV-5-1-L'Aromatogramme ou méthode des disques:**

L'étude du pouvoir antibactérien par cette technique est identique à celui de l'antibiogramme. La seule différence c'est le remplacement des antibiotiques par des extraits aromatiques.

**➤ Préparation de l'inoculum:**

\*A partir d'une culture pure des bactéries à tester sur milieu d'isolement (ayant au maximum 24h), racler à l'aide d'une pipette Pasteur scellée, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

\*Décharger la pipette pasteur dans un bouillon nutritif BHIB (Brain Heart Infusion Broth).

\*Incuber 24 h à 37 °C

\*Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland ou à une DO de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm.

\*Ajuster l'inoculum, soit en ajoutant de la culture s'il est trop faible ou l'eau physiologique stérile, s'il est trop fort.

➤ **L'ensemencement:**

\*Le milieu de culture utilisé est Muller – Hinton, qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.

\*Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (il évite la contamination du manipulateur et de la paillasse).

\*L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.

\*Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.

\*Tourner la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.

\* Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

\*Les disques de 9mm imbibés de chaque extrait sont disposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen.

\*Incuber les boîtes à pétri qui contiennent les disques imbibés de l'extrait de thé vert dans l'étuve pendant 18 à 24 heures à 37°C.

\* L'inhibition de la souche indicatrice se traduit par la formation de zones claires autour des disques dont le diamètre est mesuré à partir du centre de disque en mm.

\*Un témoin a été réalisé en ensemençant une boîte de pétri contenant le milieu convenable pour la croissance de germes à tester.

\*Noter le développement ou l'inhibition de germe à diverses concentrations de l'extrait

\*La concentration de l'extrait qui crée une zone d'inhibition est suivie par un test pour la détermination de la CMI.

**IV-5-1-1-Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI:**

La CMI est définie comme la plus faible concentration d'une gamme de dilution d'antibiotique de demi en demi, qui entraîne une inhibition de toute croissance bactérienne visible.

**Méthode utilisée:**

- \*La solution mère (SM) est celle qui enregistre un effet antibactérien
- \*Dans un tube contenant 1ml de l'eau distillé, on ajoute 1 ml de la solution mère notée: T1
- \* Prélever 1ml de T1 dans T2, et lui ajouter 1ml d'eau.
- \*Continuer la dilution jusqu'à T5
- \* Couler la gélose dans des boites de Pétri et laisser refroidir.
- \*Des souches jeunes sont ensuiteensemencées en stries et incubées
- \*Les boites témoins ont été préparées de la même manière que la méthode précédente.
- \* L'activité antibactérienne est appréciée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm) formées autour des disques.

**Tableau 6 : La méthode de détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI**

Hémolyse n°	SM	T1	T2	T3	T4	T5
Eau distillée (ml)		1	1	1	1	1
Solution du thé vert à 6g/100ml	1	1				
Volume à redistribuer du tube précédent (ml)			1	1	1	1
[extrait végétal] g/100ml	6	3	1.5	0.75	0.375	0.1875
inoculum	<i>Staphylococcus ou Pseudomonas</i>					



CHAPITRE V  
RÉSULTATS ET DISCUSSION

**V-1- Analyse physico-chimique de la plante de thé vert «Camellia sinensis» :**

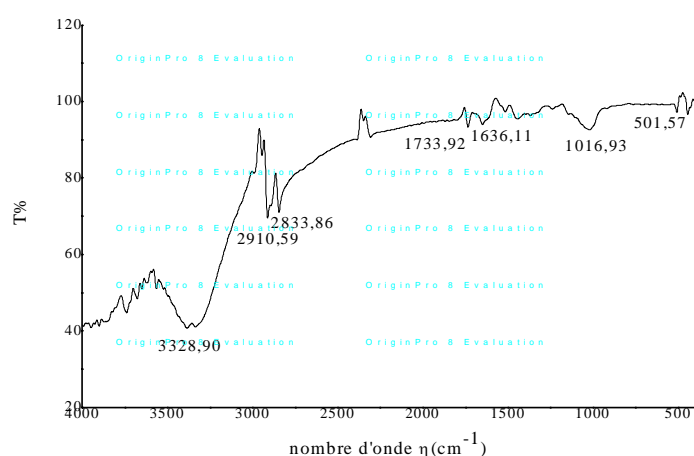
Les analyses physicochimiques de la plante *Camellia sinensis* sont basées sur la détermination des teneurs en: matière sèche, matière minérale, matière organique, la valeur de pH et l'analyse de la spectroscopie infrarouge. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau(6).

**Tableau 7 : Analyse physicochimiques de la plante *Camellia sinensis***

<b>Matière sèche</b>	96.22%
<b>Matière minérale</b>	5.71%
<b>Matière organique</b>	94.29%
<b>Humidité</b>	3.77%
<b>pH</b>	5.61

Les résultats du tableau ci-dessus montrent que la plante *Camellia sinensis* a une teneur en matière sèche de 96.22% et un taux d'humidité de 3.77%. Le Thé Vert présente une teneur élevée en matière organique (94%) et une teneur faible en matière minérale (5%). En effet, la teneur en MS peut être expliquée par le stade de développement des plantes lors de la collecte. Également, le taux d'humidité des plantes est lié au climat et de leur habitat [14].

Quant au pH, le thé vert présente un pH acide de 5.61. Ces résultats sont en accord avec l'étude menée par Mossion (2007) [22]. Cette acidité est due à la présence des composés organiques, notamment les catéchines contenus dans les feuilles de thé qui se comportent comme des acides faibles plus ou moins dissociés [22].

**V-2- Analyse par spectroscopie infrarouge:****Figure17: Spectre infrarouge de la plante *Camellia sinensis***

Les données de la spectroscopie infrarouge sont illustrées dans la figure ci-dessus: cette figure montre que la poudre de thé vert présente une large zone d'absorption entre 3500 et 500  $\text{cm}^{-1}$  qui correspondent aux vibrations suivants: Une bande d'absorption vers 3328,90  $\text{cm}^{-1}$  qui détermine la présence des composés phénolique ou alcools (O-H). Une bande vers 2910,59  $\text{cm}^{-1}$  montrant la présence des Alcanes. Egalement, le spectre indique la présence d'une bande des Aldéhydes ou cétones vers 2833,86  $\text{cm}^{-1}$ , une bande des amines N-H vers 1016 et une bande de pont disulfure vers 501,57  $\text{cm}^{-1}$ .

En effet, les travaux de Kubo.I et *al.* , 1992 ont montré que le thé est composé comme linalool, nerolidol, des catéchines qui ont des fonctions alcools [85].

### **V-3-Extraction des polyphénols:**

L'objectif de cette partie du travail est d'étudier les effets de différents paramètres opératoires sur l'extraction de polyphénols par macération du thé vert dans l'eau et dans le méthanol à 11 et 50%. Le choix de ces deux solvants est basé sur l'avantage de l'eau à préserver l'environnement et de consommer les polyphénols par un moyen facile. Pour le méthanol, le but est de comparer les résultats à ceux obtenus par l'eau.

Les paramètres appliqués sur l'extrait aqueux sont : la température (40°C, 60°C, et 80°C), le temps de macération (10, 20, 30, 40 et 50 minutes), et le ratio matière végétale / solvant (g/ml). Les concentrations étudiées sont (1, 2, 3, 4, 5 et 6g /100ml).Les paramètres appliquée sur l'extrait méthanolique sont: La température (5°C,20°C et 35°C),le temps de macération (10, 20, 30, 40 et 50 minutes),les concentrations de la matière végétale (1, 2, 3, 4, 5 et 6g/100ml), et la teneur de solvant (11%,50% de méthanol) .Les effets des paramètres étudiées sont évalués en termes de concentration des polyphénols.

#### **V-3-1-Etude de l'extraction par l'eau:**

##### **V-3-1-1-Effet du rapport matière végétale / eau:**

L'impact du rapport matière végétale / eau sur l'extraction des polyphénols de thé vert est mesuré avec les rapports 1/100, 2/100, 3/100, 4/100, 5/100 et 6/100 et aux températures de 40°C, 60°C et 80°C. Les résultats obtenus se présentent sur la figure 20. Nous remarquons que le rapport matière végétale/eau a un effet positif sur l'extraction [86] pour les trois températures étudiées dont les plus grandes concentrations sont obtenues avec 6/100 de la matière végétale. Ces concentrations sont: 47.457 g/l, 85.514g/l et 97.457 pour 40°C, 60°C et 80°C, respectivement.

Ces résultats sont compatibles avec le principe de transfert de la matière, où la force de transmission durant ce transfert est le gradient de la concentration de soluté entre le solide et le liquide. Cette force devient importante lorsque le rapport solide/liquide utilisé est plus élevé[86].

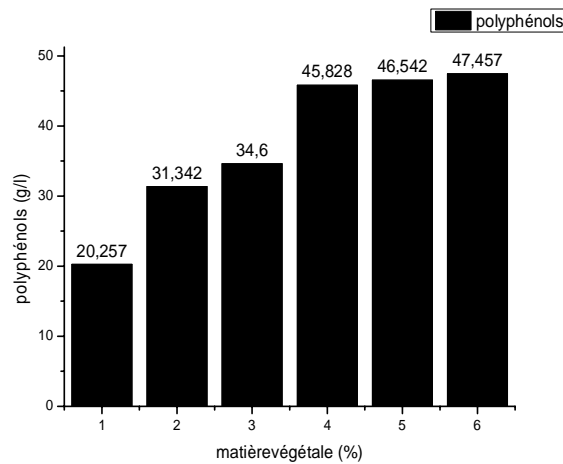


Figure 18: Effet du rapport matière végétale / eau sur la concentration finale des polyphénols à 40°C

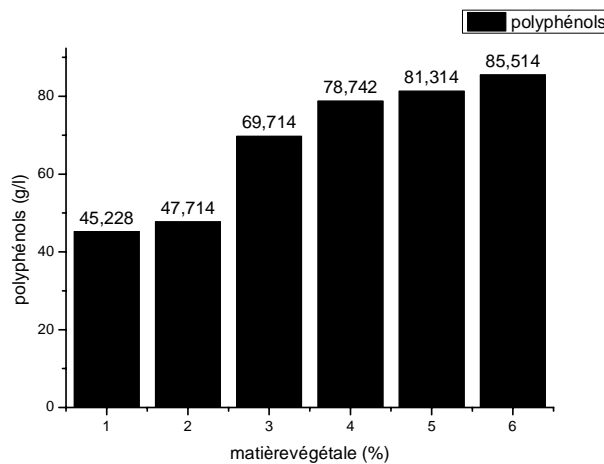
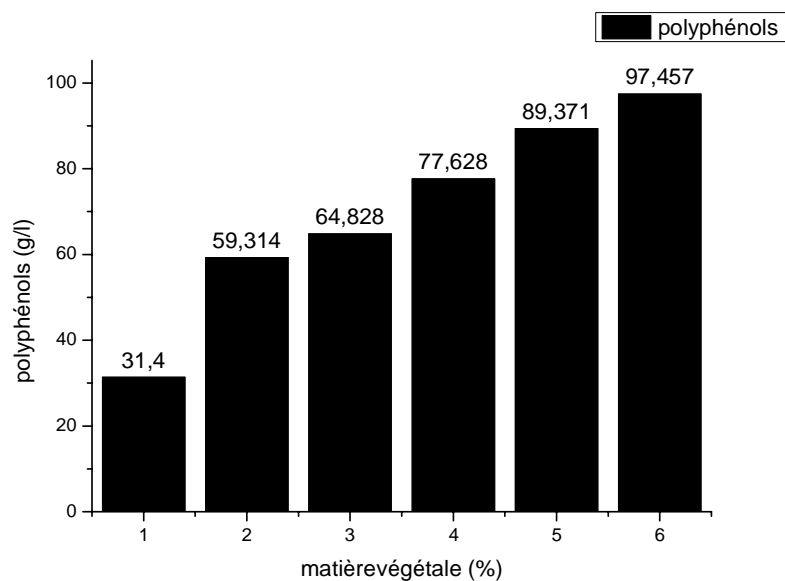


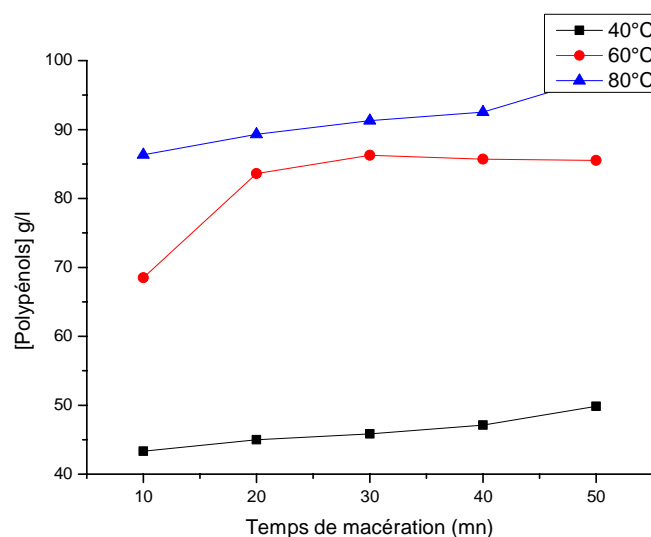
Figure 19: Effet du rapport matière végétale/ eau sur la concentration finale des polyphénols à 60°C



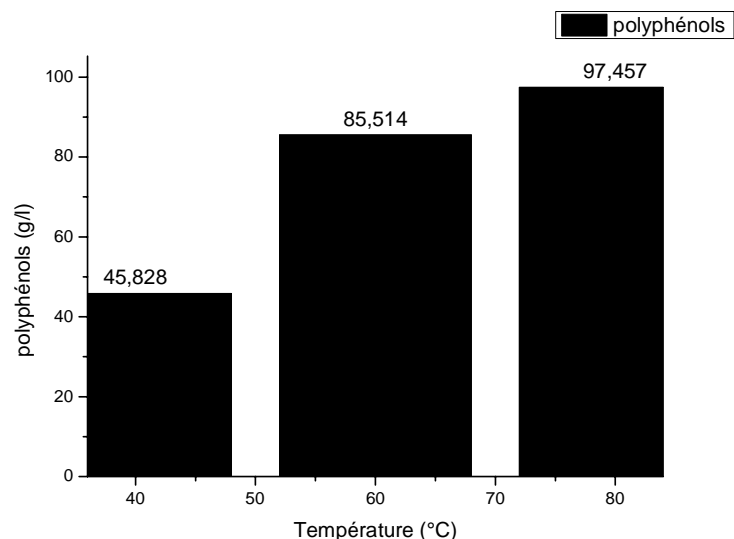
**Figure 20: Effet du rapport matière végétale/ eau sur la concentration finale des polyphénols à 80°C**

### V-3-1-2-Effet de temps de macération et de la température sur la concentration des polyphénols:

Le temps et la température d'extraction sont des paramètres importants pour optimiser les conditions d'extraction afin de minimiser le coût énergétique de procédé [33]. Les cinétiques d'extraction à l'eau des polyphénols de thé vert en fonction du temps de macération et l'effet de la température sur la concentration des polyphénols sont présentées sur les figures 23



**Figure 21: Effet du temps de macération sur la concentration finale des polyphénols aux différentes températures étudiées**



**Figure 22: Effet de la température sur la concentration finale des polyphénols**

Nous constatons que l'évolution de la teneur en PPT et en fonction de temps est importante entre 10 min et 25 min, alors qu'elle est presque constante à partir de 30 min. La prolongation du temps d'extraction des PPT n'est pas nécessaire car à partir de 30 mn, la concentration optimale des polyphénols est atteinte. Egalement, nous remarquons que la température a un effet significatif sur l'extraction. L'augmentation de la température fait accroître la teneur en polyphénols. La meilleure teneur en ppt enregistrée est 97.457 g/l après 50 minutes de macération à 80°C.

Généralement la température a un effet positif sur l'extraction des composés phénoliques [87]. L'effet positif de la température pourrait être expliqué par la plus grande solubilité des polyphénols dans le solvant, une diffusivité plus élevée des molécules extraites et l'amélioration du transfert de matière à des températures plus élevées. Une augmentation de la température d'extraction pourrait aussi modifier la structure de la matrice végétale, et par conséquent de faciliter le processus d'extraction [33]. Elle doit être limitée pour éviter les risques d'extraction des composés nuisibles et la dégradation thermique du soluté [50].

En effet, l'eau est souvent utilisée comme solvant pour l'extraction de biomolécules à partir de sources végétales. Sa polarité permet de dissoudre beaucoup de composés phénoliques antioxydants polaires.

Concernant la température de l'eau, les mécanismes expliquant le phénomène n'ont été étudiés que plus tard. L'augmentation de la température de l'eau favoriserait sa pénétration dans la feuille mais aussi la dissociation des complexes à faible mobilité ou encore défavoriserait l'adsorption sur la feuille [21].

L'ensemble des études concernant le thé a montré que l'influence de la composition physicochimique de l'eau a été étudiée pour l'extraction de la caféine et de la théaflavine mais les conclusions obtenues lors de ces études sont contradictoires. De plus, peu d'informations sont disponibles quant à l'effet de la composition de l'eau sur l'extraction de la matière minérale et des polyphénols totaux ainsi que les mécanismes responsables de la modification des qualités organoleptiques [21]. La composition chimique de l'eau peut influencer la vitesse, ou la durée d'extraction ainsi que la concentration finale à l'équilibre [21].

Outre la taille des particules, les propriétés d'adsorption de gaz comme N<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O (g) ont permis également de caractériser les possibilités d'échanges aux interfaces entre les feuilles de thé et l'eau durant l'infusion[21].

### **V-3-2-Etude de l'extraction par le méthanol:**

Dans cette partie de notre étude, nous avons utilisé le méthanol comme solvant d'extraction à deux concentrations 11% et 50% dans l'eau distillée. Cette expérimentation a été réalisée dans le but d'étudier l'effet des paramètres suivants: L'effet du méthanol, l'effet du rapport matière végétale / solvant, l'effet du temps de macération et l'effet de la température. Le choix du méthanol est basé sur son avantage de bien conserver les catéchines du thé.

#### **V-3-2-1-Effet du rapport matière végétale / méthanol sur la concentration finale des polyphénols:**

Les différentes concentrations utilisées sont: 1, 2, 3, 4, 5 et 6g/100ml de la matière végétale par rapport au solvant (50% et 11% de méthanol) aux différentes températures (5°C, 20°C et 35°C). Les résultats sont illustrés sur les figures 25.

Nous constatons d'après les figures ci-dessous que la concentration des polyphénols augmente proportionnellement avec l'augmentation de la quantité du végétale dans le solvant. La meilleure valeur est obtenue avec 6g/100ml de la matière végétale qui est de 85.428g/l.

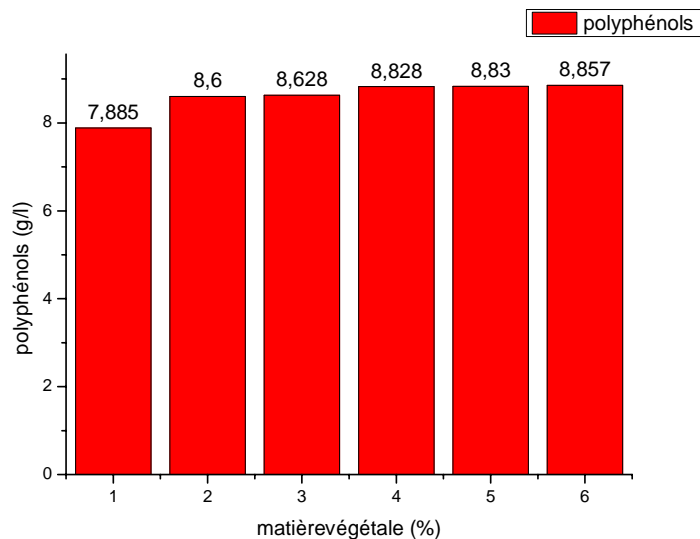


Figure 23: Effet du rapport matière végétale/ eau sur la concentration finale des polyphénols à 5°C

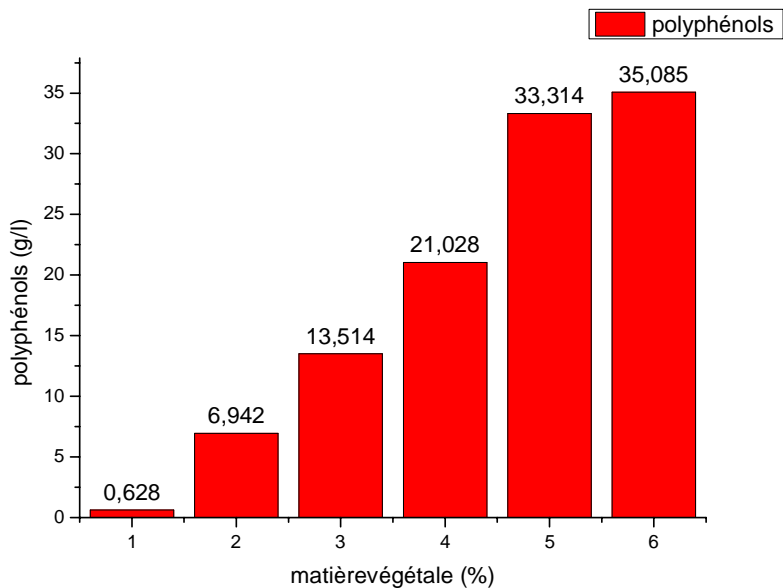
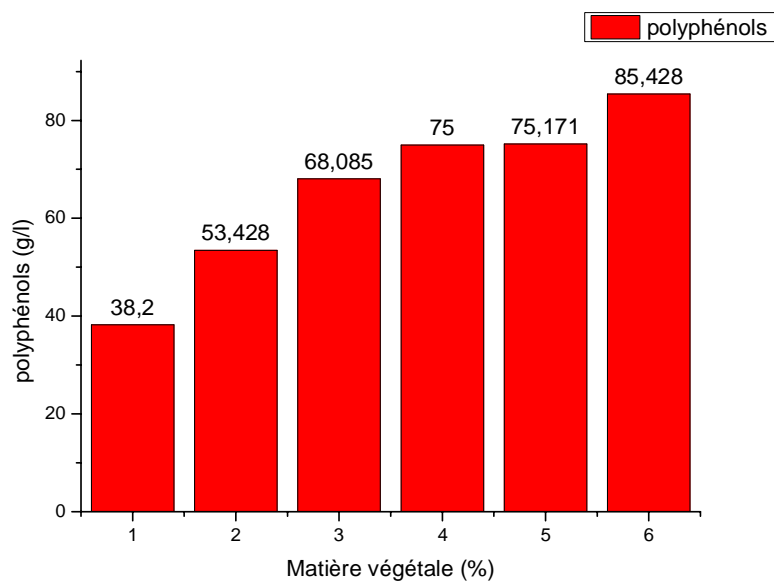


Figure 24: Effet du rapport matière végétale/ eau sur la concentration finale des polyphénols à 20°C





**Figure 25: Effet du rapport matière végétale/ eau sur la concentration finale des polyphénols à 35°C**

#### **V-3-2-2-Effet du temps de macération et de la température sur la concentration finale des polyphénols:**

Analyse des paramètres temps de macération et température est étudiée avec les valeurs suivantes: 10mn, 20mn, 30, 40mn et 50mn aux 5°C, 20°C et 35 °C. Les résultats des deux figures ci-dessous montrent que le paramètre temps influe sur la concentration des polyphénols jusqu' à 40mn. Au-delà de cette valeur, la concentration des polyphénols diminue. Ceci est dû probablement à la dépolymérisation des molécules phénoliques par la présence de méthanol.

Egalement, l'effet de la température apparut intéressant car nous remarquons un important accroissement de la concentration des polyphénols en augmentant la température. Les valeurs optimales de cette partie sont: 91.171 g/l de polyphénols obtenus avec 6g/100ml de la matière végétale après 40 minutes de macération à 35°C.

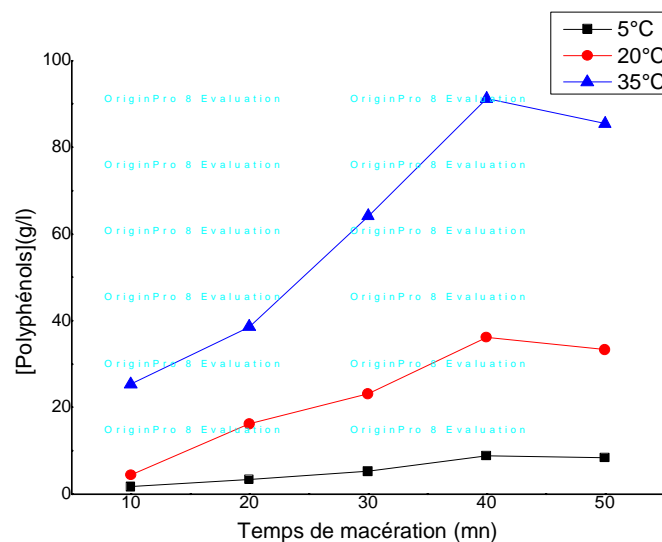


Figure 26: Effet du temps de macération sur la concentration finale des polyphénols aux différentes températures étudiées

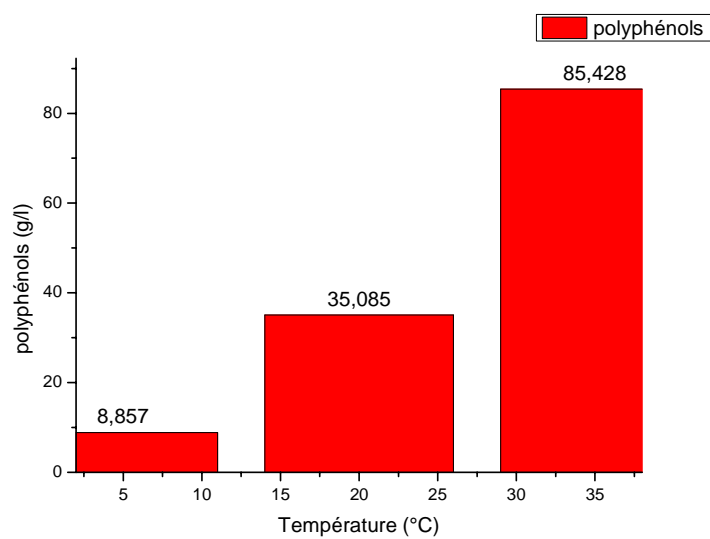
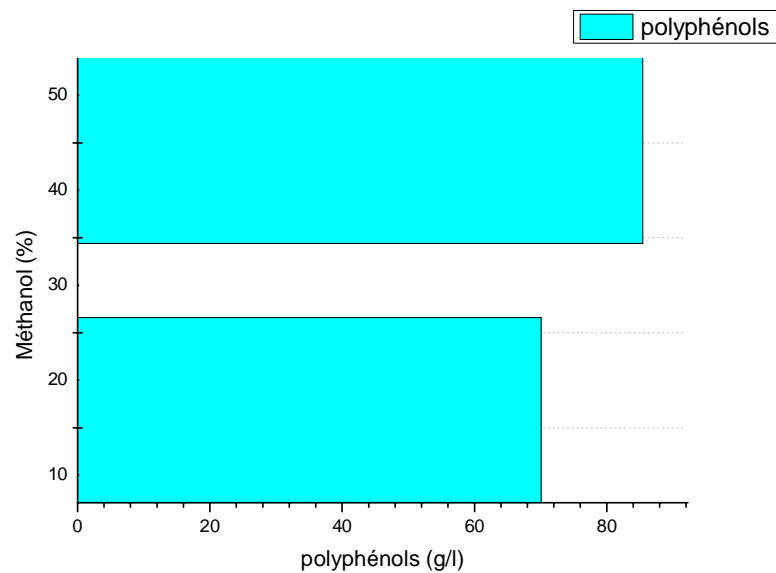


Figure 27: Effet de la température sur la concentration finale des polyphénols

**V-3-2-3-L'effet de la concentration du solvant sur la concentration des polyphénols:**

Deux concentrations de méthanols ont été testées (11% et 50%) pour étudier son influence. La figure 30 illustre que la concentration des polyphénols évolue avec l'augmentation de la concentration du solvant dont les teneurs obtenues sont: 85,428 g/l et 70,057 g/l pour 50% et 11%, respectivement.



**Figure 28: Effet de la concentration du méthanol sur la concentration des polyphénols**

## V-4-Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait de thé:

## V-4-2- Dans l'extrait aqueux:

**Tableau 8: Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de Thé vert à différentes températures**

Température du solvant	Les souches bactériennes testées	Le rapport matière végétale / eau (g / ml)				
		0.02	0.04	0.06	0.08	0.10
40°C	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-
60°C	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	+
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-
80°C	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	+	+	+
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-

+: présence de l'effet antibactérien

-: Absence de l'effet antibactérien

Les résultats obtenus dans cette expérience montrent que l'extrait aqueux de thé vert n'a pas d'effet visible sur toutes les bactéries à cause de leur résistance.

Un effet antibactérien remarquable de l'extrait aqueux de Thé vert à **60°C** et à une concentration de 0,1 g/ml contre *Pseudomonas aeruginosa* (gram -) avec un diamètre de la zone d'inhibition de 10 mm ( $9 < \varnothing < 14$  mm), ce qui confirme que cette bactérie est sensible aux polyphénols de thé vert.

On enregistre à **80°C**, un effet antibactérien de l'extrait de thé vert à partir de la concentration 0,06 g/l jusqu'à 0,1g/l pour *P. aeruginosa* avec des diamètres d'inhibition qui se situent entre [16mm-20mm], la bactérie est qualifiée sensible ( $15 < \varnothing < 19$  mm). Concernant les extraits de Thé vert obtenus à **40°C**, on note aucune activité antibactérienne.

D'autre part, la bactérie *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* sont résistantes à l'extrait de Thé vert.

En effet, l'activité antibactérienne de l'extrait de thé est due à la présence des polyphénols. Cela est confirmé par d'autres travaux de recherches qui ont attribué l'activité antibactérienne à la présence des polyphénols.

Ruy et *al.*, ont déjà montré en 1982, que l'addition de poudre de thé vert dans un milieu d'agar, inhibait la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*, de différentes Salmonelles, de *Vibrio cholera*, de *Shigella dysenteria*, de *Klebsiella pneumoniae*, de *Proteus mirabilis*, de *Pseudomonas aeruginosa*, et d'autres bactéries, sans agir sur *Escherichia coli* [17].

Les catéchines du thé ont un effet bactéricide, majeur pour les bactéries Gram positives. Ces molécules s'insèrent entre les phospholipides de la paroi, peu dense chez ces dernières, provoquant la fuite du contenu bactérien et permettant l'entrée des catéchines [17].

Les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses, probablement dues à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité. Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes [81].

Cependant, un important facteur qui régit l'activité antimicrobienne des polyphénols est leur poids moléculaire, les monomères sont trop petits pour établir assez de pont hydrogènes tandis que les polymères de haut poids moléculaire sont trop grands pour traverser la paroi bactérienne, le poids moléculaire idéal serait donc celui des oligomères [88].

Les flavane-3-ols, les flavonols et les tannins ont reçu plus d'attention du à leur large spectre et forte activité antimicrobienne par rapport aux autres polyphénols, à leur capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne telle que l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes ainsi qu'à leur capacité d'établir une synergie avec certains antibiotiques. Les flavonones ayant un groupement de sucre ont aussi montré une activité antimicrobienne, tandis que certaines flavonolignanes n'ont montré aucune activité inhibitrice envers les microorganismes [81].

**Tableau 9: Concentration des polyphénols dans l'extrait de Thé Vert (g/l EAG).**

	Température	Concentration du thé vert		
		0.06 (g/ml)	0.08 (g/ml)	0.10 (g/ml)
Concentration des polyphénols (g/l EAG)	60°C	-	-	97,971
	80°C	97,457	101,134	104,114

#### V-4-2-1-Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI):

La concentration minimale inhibitrice est calculée par la méthode des dilutions. Les résultats se présentent sur le tableau 10.

**Tableau10: Concentration minimale inhibitrice en g/ml**

Température	CMI (g/ml)	Diamètre d'inhibition (mm)
60°C	0.0034	9
80°C	0.0018	9

Selon le tableau, nous constatons que la concentration minimale inhibitrice contre *P. aeruginosa* est de 0.0034 g/ml à 60°C (pour 11g de matière végétale) et 0.0018 g/ml à 80°C (pour 6g de matière végétale) avec des diamètres de la zone d'inhibition de 9 mm.

Nous remarquons également, que la température a un effet sur l'efficacité des polyphénols à inhiber la croissance bactérienne.

#### V-4-3-Dans l'extrait méthanolique:

**Tableau 11: Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de Thé vert à différentes températures**

Température	Souches	Concentration de méthanol(%)	Rapport matière végétale/méthanol (g/ml)				
			0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
5°C	<i>E. coli</i>	11%	-	-	-	-	-
		50%	-	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i>	11%	-	-	-	-	-
		50%	-	-	-	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	11%	-	-	-	-	-
		50%	-	-	-	-	-
20°	<i>E. coli</i>	11%	-	-	-	-	-
		50%	-	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i>	11%	-	-	-	-	-
		50%	-	-	+	+	+
	<i>P. aeruginosa</i>	11%	-	-	-	-	-
		50%	-	-	+	+	+
35°	<i>E. coli</i>	11%	-	-	-	-	-
		50%	-	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i>	11%	-	-	-	-	-
		50%	-	-	+	+	+
	<i>P. aeruginosa</i>	11%	-	-	-	-	-
		50%	-	-	+	+	+

Nous remarquons que la souche *E. coli* est résistante à l'extrait de thé vert dans toutes les conditions d'extraction (la concentration croissante de la matière végétale, la température, et la concentration de méthanol).

À 5°C, on ne note aucune activité antibactérienne avec les différentes souches bactériennes utilisées.

À 20°C, les résultats ci-dessus montrent que l'augmentation de la température favorise l'activité inhibitrice de l'extrait de thé contre les bactéries *P. aeruginosa* et *S. aureus*. Les teneurs efficaces du rapport de la matière végétale/solvant sont: 0.06 g/ml à 0.1g/ml pour 50% de méthanol et les diamètres d'inhibition sont 10-14mm pour *P. aeruginosa* et 13-15mm pour *S. aureus*.

À 35°C, on constate que la sensibilité de *S. aureus* est clair à 50% à partir de 0.06 g/ml jusqu'à 0.1 g/ml avec des diamètres d'inhibition varient de 13 jusqu'à 18mm.

**Tableau 12: La teneur en polyphénols dans l'extrait méthanolique (50%) de Thé Vert (g/l EAG)**

	Les souches bactériennes	Température	Concentration du thé vert		
			0.06(g/ml)	0.08(g/ml)	0.1(g/ml)
Concentration des polyphénols (g/l EAG)	<i>P. aeruginosa</i>	20°C	35,085	51,742	48,485
		35°C	91,171	103,771	104 ,828
	<i>S. aureus</i>	20°C	35,085	51,742	48,485
		35°C	91,171	103,771	104 ,828



## V-5-3-1- Détermination de CMI de l'extrait méthanolique:

Les valeurs des CMI pour chacune des souches testées figurent dans le tableau suivant:

**Tableau 13: Concentration minimale inhibitrice de l'extrait méthanolique (50%) du thé vert**

Souche utilisée	Température (°C)	CMI (g/ml)	Diamètre (mm)
<i>P. aeruginosa</i>	20°	0.06	14
	35°	0.0075	8
<i>S. aureus</i>	20°	0.0018	8
	35°	0.055	8

La lecture de tableau montre que les valeurs de CMI enregistrées contre la souche *P. aeruginosa* sont de 0.06 g/ml et 0.0075 g/ml à 20°C et 35°C (pour 6g de matière végétale), respectivement. Pour *S. aureus*. Ces valeurs sont 0.0018g/ml à 20°C (pour 6g de matière végétale) et 0.055g/ml à 35°C (pour 11 g de matière végétale).

Il semble que 20°C est la température optimale pour favoriser l'activité inhibitrice de la croissance bactérienne des deux souches bactériennes.

Ce résultat nous permet de conclure que la température de 20°C et une concentration de 50% de méthanol sont les meilleures conditions de l'activité antibactérienne.

L'ensemble des résultats montrent que l'effet antibactérien des polyphénols du thé vert est meilleur avec l'extrait méthanolique car l'intervalle d'action sur les souches a été élargi. La température optimale est de 20°C avec un pourcentage de 50% de méthanol.

Mais si nous comparons ces résultats avec ceux de l'extrait aqueux, nous pouvons conclure que l'extraction aqueuse est aussi intéressante. Les conditions optimales sont: 0.0018g/ml de thé vert macérée dans l'eau à 80°C inhibent la croissance de *P. aeruginosa*.

## CONCLUSION

### Conclusion

L'environnement était toujours la source principale qui répond aux exigences essentielles de l'homme comme la nourriture, la boisson et la médication. En utilisant les plantes répandues il a été capable de guérir les malades. Le thé et ses préparations sont traditionnellement utilisés à l'officine pour soulager la fatigue passagers, délecter l'âme, fortifier la volonté et la vue.

Aujourd'hui, le thé est la boisson la plus bue dans le monde après l'eau. Il est obtenu par l'infusion dans l'eau des feuilles du théier, *Camellia sinensis*. Selon le degré d'oxydation, on distingue : le thé vert, *oolong*, et noir. Une meilleure connaissance des constituants du thé et de leur propriétés, en particulier celles des polyphénols (principalement les catéchines), permettra de comprendre leurs effets sur l'organisme. Les chercheurs actuellement menés autour de cette plante tentent de prouver ses effets bénéfiques sur la santé et en particulier sur la prévention de certaines maladies : cancer, maladies cardio-vasculaire ...

Cette étude a permis de mieux comprendre l'influence des paramètres physico-chimiques sur l'extraction des polyphénols totaux contenus dans le thé vert. La relation entre ces bioactifs et les propriétés antibactérienne a été mise en évidence.

Les résultats obtenus montrent que dans les extraits aqueux et méthanolique le temps et la température d'extraction sont des paramètres importants pour optimiser les conditions d'extraction afin de minimiser le coût énergétique de procédé. Nous remarquons que le rapport matière végétale/eau a un effet positif sur l'extraction, plus le rapport est élevé plus la teneur en polyphénols est importante. Les résultats de notre étude indiquent clairement que le meilleur solvant pour l'extraction des polyphénols de thé vert est l'eau.

Les extraits aqueux et méthanolique de thé vert ont exercés des effets inhibiteurs de la croissance bactérienne envers *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* très significatifs par rapport au genre *Escherichia.coli* qui résiste leur activité. Les catéchines du thé ont un effet bactéricide, majeur pour les bactéries Gram positives .L'ensemble des résultats révèlent que l'effet antibactérien des polyphénols de thé vert est meilleur avec l'extrait méthanolique.

En plus de ses effets bénéfiques sur la santé, le thé vert peut également être utilisé à divers domaines comme l'agroalimentaire, la cosmétologie et la fabrication de nano-métaux.

D'autres paramètres qui ne sont pas étudiés dans ce travail et qui ont une influence sur le rendement d'extraction, peuvent servir de perspectives pour optimiser au mieux l'extraction en vue de son utilisation à l'échelle industrielle. D'autres critères peuvent être ajoutés en plus du teneur en PP totaux, tels que les différentes familles de PP. un procédé peut remplacer la méthode d'extraction par solvant est l'extraction assistée par micro-onde qui est une procédé verte permet de réduire considérablement les temps d'extraction sans l'utilisation ni de solvant ni d'eau.

On peut donc conclure que la boisson millénaire qu'est le thé vert, présente un intérêt certain pour le maintien de notre état de santé. Il est très répondeu et ne porte pas des effets nocifs sur l'environnement donc il peut alterner certains antibiotiques, mais cela par une consommation modérée afin d'éviter le théisme.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] **KHIREDDINE .H, 2014.** *Comprimés des poudres de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie* .Mémoire de magister. Université M'hamed Bougera de Boumerdes
- [2] **A. SCHWARZ, R. SCHWEPPE, 2006.** *Thé vert Elixir de vie pour le corps et l'esprit.* Edition Vigot, Paris. France. 25, 68, 73,74P.
- [3] **BERNAUD .C, 2004.** *Consommation de thé et de médicaments: que doit savoir le pharmacien à l'officine?* .Thèse De Doctorat .Université de Nantes.
- [4] **BOUBEKRI .CH, 2014.** *Etude de l'activité antioxydant des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques.* Thèse de Doctorat. Université Mohamed khider de Biskra.
- [5] **SCALBERT. A, 2008.** *Les catéchines et la santé : état des connaissances.* Paris.8P
- [6] **ZEGHAD. N ,2009.** *Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne.* Mémoire de magister. Université Mentouri de Constantine
- [7] **ADOSSIDES. A, 2003.** *La filière Plantes Aromatiques & Médicinales.* Projet "Assistance au Recensement Agricole. FAO.
- [8] **PELT. J-M, 1979.** *Renouveau des plantes médicinales.* Reproduits du Courrier de l'Unesco. Edition française : Djamel Benstaali, 10P.
- [9] **BOUHADJERA. K, 2005.** *Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes oudneya africana r.br. Et aristida pungens l.* Thèse De Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid.
- [10] **CHABRIER. J-Y, 2010.** *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie.* Thèse de Doctorat .Université Henri Poincare - Nancy 1.
- [11] **MOHAMMEDI, Z. 2013.** *Etude Phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud-ouest de l'Algérie* .Thèse de Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid.
- [12] **KRIEF. S ,2003.** *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées.* Thèse de Doctorat. Muséum National d'Histoire Naturelle - MNHN Paris, France.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- [13] **ARRIF. S, 2009.***Etude des métabolites secondaires de deux scrophulariacées du genre Verbascum: V. ballii et V. dentifolium.* Thèse de Doctorat. Université El Hadj Lakhdar-Batna.
- [14] **KHENAKA, K. 2011.***Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogènes ruminale chez l'ovin.* Mémoire de magister .Université Mentouri de Constantine.
- [15] **NAWEL. H. 2011.***Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime « high fat » chez la souris C57BL/6J.*Thèse de Doctorat. Université Mentouri de Canstantine.
- [16] **KABOUCHE .S ,2010.** *Etude de la relation du thé vert. Maladies cardiovasculaires et Stress oxydant.* Mémoire de magister .Université Mentouri – Constantine
- [17] **KRIEPS .M, 2009 .***Le the : Origine, Actualité Et Potentialités.* Thèse De Doctorat, Université Henri Poincare - Nancy 1.
- [18] **LE MAGAZINE DU MIEUX-VIVRE N°147, 2014.** *Thés et infusions Saveurs, vertus et vie!* 8, 9,10 P.
- [19] **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.
- [20] **NKHILI .EZ, 2009.** *Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant.* Thèse De Doctorat. Université Cadi Ayyad – Marrakech, Université D'Avignon Et Des Pays De Vaucluse- Montpellier
- [21] **K, DONEL.C, MELCHIOR-DURAND. STEPHANE, STELLA. A, 1999.** *Abécédaire du thé.* Edition du Club F Loisir. Paris.26, 40 P.
- [22] **MOSSION. A, 2007.***Étude de la composition minérale et organique des liqueurs de thé et de leurs caractéristiques organoleptiques : Influence des paramètres physico-chimiques de l'eau.* Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique De Toulouse, France.
- [23] **NACER. A, BOURAS .SARAH, 2014.** *Thé vert, catéchines et santé.* Projet de fin d'étude .Université Kasdi Merbah de Ouerguela .
- [24] **BENARABA .R, 2007.** *Insulinorésistance et stress oxydant dans le syndrome métabolique : étude expérimentale des effets protecteurs de micro constituants nutritionnels (Polyphénols du thé, de la cannelle et chrome III).*Thèse de Doctorat. Université Joseph Fourier – Grenoble1.
- [25] **CLAUZURE .C, 2007 .***Méta-analyses des effets chimio protecteurs de la curcumine et du thé vert sur la cancérogenèse colorectale chez les rongeurs.* Thèse de Doctorat. Université Paul-Sabatier de Toulouse.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- [26] **NAMITA. P, MUKESH .R, VIJAY.K J, 2012.** *Camellia Sinensis (Green Tea): A Review* .Global Journal of Pharmacology 6 (2): 52-59.
- [27] **NKHILI .EZ, TOMAO. V, EL HAJJI. H, EL BOUSTANI. ES, CHEMAT . F AND DANGLES. O, 2009.** *Microwave-assisted water extraction of green tea polyphenols*. Phytochemical Analysis. Université Cadi Ayyad, Morocco.
- [28] **MAGAZINE NUTRA NEWS SCIENCE, NUTRITION, PREVENTION ET SANTE, 2008** .*L'épigallocatechine gallate (EGCG)), un très puissant antioxydant aux multiples effets bénéfiques*. 14 P.
- [29] **HUET .M, FLEURENTIN. J.CURCUMA, 2013.** *Thé vert et chardon-marie : quelle stratégie adopter en prévention du cancer ou en complément des traitements ? Société Française d'Ethnopharmacologie*. Hegel Vol. 3 N° 4
- [30] **ACHAT. S, 2013** .*Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques*. Thèse de Doctorat. Université de Béjaia, Université d'Avignon et des pays Vaucluse.
- [31] **BENHAMMOU. N, 2012.** *Activité antioxydant des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien*. Thèse de Doctorat .Université Aboubakr Belkaid de Tlemcen
- [32] **KEBBAB. R, 2014.***Etudes du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des margines d'olives de la variété Chamla: Evaluation de l'activité avant et après déglycosylation*. Mémoire de magister. Université Mouloud Mammeri de Tizi -Ouzou
- [33] **D'ALESSANDRO .LG,2013.***Eco-procédés pour la récupération sélective d'antioxydant à partir d'Aronia melanocarpa et ses co-produits*. Thèse de Doctorat .Université Lille 1.
- [34] **MESSAI .L, 2011.** *Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est Algérien (ARTEMISIA HERBA ALBA)*.Thèse de Doctorat. Université Mentouri de Constantine.
- [35] **MALIK. G, 2009.** *Vers la Synthèse Totale d'Ellagitannins C-arylglucosidiques Une Approche Biomimétique Visant la Vescaline*. Thèse de Doctorat. Université Bordeaux 1.
- [36] **KONE. D, 2009.** *Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes - extraction, identification d'alcaloïdes -caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydant*. Thèse de Doctorat. Université de Bamako.
- [37] **DALMES .G-H, 2011.***Structure et application d'élaboration des résines époxy*. Thèse de Doctorat .Université de Toulouse.
- [38] **KHATER. F, 2011.** *Identification et validation fonctionnelle de nouveaux gènes potentiellement impliqués dans la biosynthèse des composés phénoliques*. Thèse de Doctorat. Centre International d'Etudes Supérieures en Sciences Agronomiques Sup AGRO, Montpellier.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- [39] **AKROUM.S, 2011.** *Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels.* Thèse de Doctorat. Université Mentouri de Constantine.
- [40] **LAOUINI.S-E, 2014.** *Etude phytochimique et activité biologique d'extrait des feuilles de Phoenix dactylifera L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf).* Thèse de Doctorat. Université Mohamed Khider de Biskra
- [41] **COLLIN.S, CROUZET .J, 2011.** *Polyphénols et procédés : Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire.* Edition TEC et DOC.50P
- [42] **HARRAR. A-EN ,2012.** *Activités antioxydant et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus alaternus L.* Mémoire de magister. Université de Ferhat Abbas de Sétif.
- [43] **MADI .A, 2010.** *Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques* Mémoire de magister. Université Mentouri Constantine.
- [44] **KEDDAR .M.** *Compositions chimique activité antibactériennes, antioxydants des huiles essentielles de quelque Daucus.* Mémoire de master. Université Aboubaker Belkaied
- [45] **MOROH .J, BAHI . C, DJE. K, LOUKOU .Y.G, GUEDE-GUINA .F ,2008 .** *Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de Morinda morindoides (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance in-vitro des souches d'Escherichia coli.* Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 77: 44 –61.
- [46] **YANGO .K, OUMAR .K, ABDOUL. K.L, VESA .H ,2004.** *Etude chimique et de l'activité antibactérienne des distillats de quelques variétés de mangue de Guinée.* Comptes rendus chimie, 7 (10-11): 1095-1100.
- [47] **HIRECHE. M, 2013.** *Dosage des polyphénols de la tomate « agora » et étude de leur pouvoir antioxydant .* Mémoire de master. Université Hassiba Ben Bouali de Chleff.
- [48] **FERHAT.M, 2009.** *Recherche de substances bio-actives de centaurea microcarpa coss et dur.* Diplôme étude supérieur de biochimie .Mémoire pour obtenir le Diplôme des Etudes Supérieures en Biologie (DES). Université Mohamed Boudiaf - M'SILA
- [49] **BEN AMOR.B, 2014.** *Maitrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs ; texturation par détente instantanée contrôlée.* Thèse de Doctorat. Université de la Rochelle, France.
- [50] **LEYBROS. J, FRÉMEAUX. P.** *Extraction Solide-Liquide Aspects Théoriques.* Technique d'Ingénieur J 2780.
- [51] **HAMSI. N, 2013.** *Contribution à l'étude de l'optimisation de l'extraction solide-liquide des lipides par Soxhlet du caroubier (Ceratonia siliqua) de la région de Tlemcen.* Thèse de Doctorat. Université Abou Bakkr Belkaid de Tlemcen.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

[52] **RAJHA.H-N, 2015.** *Optimisation des méthodes d'extraction des composés phénoliques des raisins libanais et de leurs coproduits.* Thèse de Doctorat. Université Saint-Joseph.

[53] **BOUSBIA .N, 2011.** *Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires.* Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'Alger.

[54] **DJABOUN, S.** *Influence d'hexane acidifié sur l'extraction d'huile grignon d'olive assistée par micro-ondes .*Mémoire de magister. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

[55] **POIROT.R, 2007.** *Méthodologie pour le passage en continu d'extraction de soluté à partir de matière végétale.* Thèse de Doctorat .Institut National Polytechnique de Toulouse.

[56] **TINAMRI. M, LAGMI. I, 2014.***Optimisation des conditions d'extraction des polysaccharides issus d'Astragalus gombo bunge (Fabaceae) récolté au Sahara septentrional Est algérien.* Mémoire de magister. Université Kasdi Merbah d'Ouargla.

[57] **CUONG NGUYEN.V, 2010.***Maîtrise de l'aptitude technologique des oléagineux par modification structurelle ; applications aux opérations d'extraction et de transestérification in-situ.* Thèse de Doctorat.Université de Rochelle.

[58] **BONNAILLIE .C, SALACS .M, VASSILIOVA. E, SAYKOVA. I, 2012.** *Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (Arachis hypogaea L).*Revue de génie industriel 2012, 7, 35-45.Polytech Lille, France. Université Paul Sabatier, Toulouse, France. Université de Technologie Chimique et de Métallurgie, Sofia, Bulgarie.

[59] **www.Polyphénols dans le thé vert \_ Dr. Schweikart.htm.com**

[60] **LENOIR. L, 2011.***Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat .*Thèse de Doctorat .Université Blaise Pascal.

[61] **MEZAACHE. S, 1997.***Etude des propriétés suppressives d'une souche de Pseudomonas isolée de la rhizosphère de la pomme de terre sur la croissance de deux bactéries champignons phytopathogène.* Thèse de magister. Université Abou Bakr Belkaïd – Tlemcen.

[62] **RABHI .N, 2011.** *Isolement de Pseudomonas spp. Fluorescents d'un sol salé. Effet d'osmoprotecteurs naturels.* Mémoire de magister.Université Ferhat Abbas-Sétif

[63] **KHALILZADEH. P, 2009.** *Formation de Biofilm à Pseudomonas aeruginosa: évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing.* Thèse de Doctorat. Université de Toulouse.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- [64] **MEZAACHE.S, 2012.***Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de Pseudomonas isolées de la rhizosphère de la pomme de terre.* Thèse de Doctorat. Université Ferhat Abbas de Sétif.
- [65] **CHOUDER.N, 2006.***Contribution à l'étude des flores intestinales des pellets conventionnelle sains.* Mémoire de magister. Université Mentouri de Constantine.
- [66] **MEDBOUA .Ch, 2011.***Caractérisation des phénotypes de résistance aux-lactamines à large spectre des bacilles à Gram négatif isolés au niveau du laboratoire central mère et enfants du CHU Beni-Messous d'Alger.* Mémoire de magister. Université Abderrahmane MIRA de Béjaïa.
- [67] **SEFRAOUI.I, 2015.***Etude de la résistance aux antibiotiques de Pseudomonas aeruginosa au niveau de différents hôpitaux de l'ouest algérien.* Thèse de Doctorat. Université Abou Bakr Belkaïd de Tlemcen.
- [68] **FIQUT.A, 2009.** *Le staphylocoque doré (Staphylococcus aureus) un état des lieux.* Mémoire CIFV. Université Victor Segalen Bordeaux 2 –école du Val-de-Grace
- [69] **BUDJU LOBO.I, 2010.***Analyse bactériologique des saucissons vendus dans les alimentations de la ville de Kisangani dans la commune Makiso.* Travail de fin d'étude. Université de Kisangani, France.
- [70] **DAVIDO.B, 2010.** *Etude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées communautaires à staphylocoque doré.* Thèse de Doctorat. Université Denis Diderot.
- [71] **MAMI. A, 2013.** *Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes impliqués dans les toxi-infections alimentaires en Algérie.*Thèse de Doctorat. Université d'Oran.
- [72] **MONTET.M-P, 2009.** *Contamination des aliments par les Escherichia coli producteurs de Shiga-toxines (STEC) en France, et importance de l'acido-résistance des souches.* Thèse de Doctorat. Ecole Pratique des Hautes Etudes, France.
- [73] **ABEDINI, A.2013.** *Evaluation biologique et photochimique des substances naturelles d'Hyptis atrorubens Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes.* Thèse de Doctorat .Université Lille de France.
- [74] **DUFOUR .D, 2008.** *Recherche et caractérisation de déterminants génétiques permettant l'adaptation d'une souche d'Escherichia coli à la mamelle bovine.* Thèse de Doctorat .Ecole Nationale Supérieur d'Agronomie et des Industries Alimentaires, France.
- [75] **BOUDJOUREF .M, 2011.** *Etude de l'activité antioxydant et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L .*Mémoire de magister .Université Ferhat Abbas de Sétif.
- [76] **GHERNAOUT-BENCHOUK.S, 2013.** *Prévalence du portage nasal de staphylococcus aureus : son rôle dans l'infection du site opératoire .*Thèses de Doctorat .Université Aboubeker Belkaid-Tlemcen.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- [77] **UAJJAR.N, ATTARASSI.B, ELHALOUI. NE, BADO.C.A, 2006.** *Multi résistance aux antibiotiques de Pseudomonas aeruginosa, P. fluorescens et Staphylococcus aureus et survie sur divers tissus hospitalier.* Bull.Soc.Bordeaux, 145,61-76.
- [78] **TASSOUKET .S, 2014.***Sensibilité aux antibiotiques d'Escherichia coli isolés d'infections urinaires communautaires à l'institut pasteur de Casablanca.*Thèse de Doctorat. Université Mohamed V, Rabat,Morocco.
- [79] **HAGUENOER.J et all, 2008.** *Médicaments et environnement.* Rapport de l'académie nationale de pharmacie, France.
- [80] **KHENAKA, K. 2011.** *Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogènes ruminale chez l'ovin.* Mémoire de magister .Université Mentouri de Constantine.
- [81] **BENBRINIS.S, 2012.** *Evaluation des activités antioxydant et antibactérienne des extraits de Santolina chamaecyparissus.* Mémoire de magister. Université Ferhat Abbas-Sétif.
- [82] **NOUI.Y, 2007.***Caractérisation physico-chimique comparative des deux principaux tissus constitutifs de lma pulpe de datte Mech-Degla.* Mémoire de magister. Université M'hamed Bougera de Boumerdes.
- [83] **MADJOUR. S, 2008.** *Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée rosmarinus officinalis.* Mémoire de master. Université Med Khider de Biskra.
- [84] **BOUANAKA .F ,2008 .***Spectroscopie d'émission optique (SEO) par analyseur optique multicanaux d'un plasma basse pression .*Mémoire de magister. Université Mentouri de Constantine.
- [85] **KUBO.I, MUROI .H , HIMEJIMA .M, 1992.***Antimicrobial activity of green tea flavor components and their combination effects.* J. Agric. Food chem. 40, 245-248.
- [86] **TELLI. A, MAHBOUB . N, BOUDJENEH. S, SIBOUKEUR O. E. K.et MOULTI-MATI. F, 2010.***Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de dattes lyophilisées (phoenix dactylifera l) Variete ghars.* Annales des Sciences et Technologie, Vol. 2, N° 2.Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- [87] **BUCIC-KOJIC A , PLANINIC M, TOMAS.S, BILIC.M,VELIC .D,2006 .***Study of solide liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds.*Jornal of food engineerig, 81:236-242. University of Osijek. Croatia.
- [88] **KAROU. D, DICKO.M, SIMPORÉ.J, YAMEOGO. S, SANON .S, TRAORÉ. A, 2005.** *Activités antioxydant et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso .*Université de Ouagadougou.

**ملخص : تحسين شروط استخراج مادة البوليفينول المستخدمة كعامل مضاد للبكتيريا**

يهدف هذا العمل إلى تحسين ظروف استخراج مادة البوليفينول، وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا في المستخلص المائي (مس، ما) ومستخلص الميثانول (مس، مي) لكاميليا سينسيس، التي تعتبر إحدى العلاجات التقليدية المستخدمة حول العالم. وقد قمنا بدراسة أهم المعايير المؤثرة على التركيز النهائي للبوليفينول في المستخلص المائي ومستخلص الميثانول. المعايير المدروسة هي : درجة الحرارة، مدة النقع، انسيبة مادة نباتية /مذيب، وتركيز المذيب تم تسجيل تراكييز عالية لمادة البوليفينول في الشروط التالية : بنسيبة 6% من المادة النباتية، و في درجة الحرارة 80 درجة مئوية، ولمدة 50 دقيقة والتي قيمت ب 97.457 غ (م ح غ) /ل في المستخلص المائي بنسيبة 50% من الميثانول، 6% من المادة النباتية وبعد 40 دقيقة، وعند درجة الحرارة 35 درجة مئوية، نسيبة البوليفينول الكلية قدرت ب 91.171 غ (م ح غ) /ل. تبين النتائج بأن إستخلاص البوليفينول من كاميليا سينسيس في الماء أحسن منه في الميثانول.

الاختبارات المضادة للبكتيريا أجريت على السلالات الممرضة التالية، اشيريشيا كولي ATCC 25922 ، ستافيلوكوكيس أوروس ATCC 27853 ، و بسودومونيس أرجيونوزا ATCC 27853. اختبارات التحسس تمت في وسط صلب باستخدام طريقة القرص. تم تسجيل نشاط قوي للبوليفينول في المستخلص المائي ضد بسودومونيس أرجيونوزا (قطر الكبح =20مم). النشاط المضاد للبكتيريا لهذا المستخلص أثبت بطريقة تحديد التركيز الأدنى للكبح. لكن على العكس في المستخلص الميثانولي سجل نشاط مضاد نحو نوعين من البكتيريا بسودومونيس أرجيونوز و ستافيلوكوكيس أوروس (أقطار الكبح على التوالي 15مم و18مم).

**الكلمات المفتاحية :** كاميليا سينسيس ، تحسين شروط استخراج مادة البوليفينول ، المضاد للبكتيريا

**Résumé: Optimisation des conditions d'extraction de polyphénols utilisé comme agent antibactérien.**

Ce travail est conduit à optimiser des conditions d'extraction des polyphénols et d'évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux (E.Aq) et l'extrait méthanolique (E.Met) de *Camellia sinensis*, une plante médicinale de la pharmacopée traditionnelle dans le monde. L'influence des principaux paramètres opératoires sur la concentration finale des polyphénols a été étudiée sur l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique. Les paramètres étudiés sont: la température, le temps de macération, le ratio matière végétale / solvant (g/ml) et la teneur en solvant. Des concentrations en polyphénols totaux élevées ont été obtenues dans les conditions suivantes : 6% de matière végétal à 80°C durant 50min, la teneur en polyphénols a été évaluée à 97,457g EAG /l pour l'extrait aqueux . Pour 50 % méthanol, 6% de matière végétal durant 40min à 35°C, la teneur en polyphénols totaux a été évaluée 91,171g EAG /l. L'extraction de polyphénols totaux à partir de *Camellia sinensis* avec l'eau est meilleure que le méthanol.

Les tests antibactériens ont été réalisés sur les souches pathogènes suivantes (*E. coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC25923, *Staphylococcus aureus* ATCC27853). Les tests de susceptibilité ont été effectués sur milieu solide en utilisant la méthode de disque. Cependant, une forte activité de l'extrait aqueux de polyphénols vis-à-vis de *P.aeruginosa* (diamètre d'inhibition =20mm).l'activité antibactérienne de ces extraits est confirmée par la méthode de CMI (concentration minimal inhibitrice). Par contre, dans l'extrait méthanolique un effet remarquable envers *P.aeruginosa* et *S. aureus* (diamètres d'inhibition de15mm et de 18mm, respectivement).

**Mot clés:** *Camellia sinensis*, optimisation des conditions d'extraction des polyphénols, activité antibactérienne.

**Abstract: Optimizing the conditions of extraction of polyphenols used as an antibacterial agent.**

This work is conducted to optimize the extraction conditions polyphenols and evaluate the antibacterial activity of the aqueous (Aq. E) and methanol (Met. E) extracts of *Camellia sinensis*, a medicinal plant in the traditional medicines of the world. The influence of the main process parameters on the final concentration of polyphenols was studied on the aqueous extract and the methanol extract. The studied parameters are: temperature, soaking time, the plant ratio material / solvent (g / ml) and the solvent content. High concentrations of total polyphenols were obtained under the following conditions: 6% of plant material at 80 ° C for 50min, the polyphenol content was evaluated at 97,457g EAG / l for the aqueous extract .For 50% methanol, 6% vegetable material during 40min at 35 ° C, the total polyphenol content was evaluated EAG 91,171g / l. The extraction of total polyphenols from *Camellia sinensis* with water is better than methanol.

The antibacterial tests were performed on the following pathogenic strains: *E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923, and *Staphylococcus aureus* ATCC 27853. Susceptibility tests were performed on solid medium using the disk method. However, a strong activity of aqueous polyphenols extract towards *P.aeruginosa* (diameter inhibition = 20mm) .The antibacterial activity of these extracts was confirmed by the method of MIC (Minimum Inhibitory Concentration). However in the methanol extract a remarkable effect against *P. aeruginosa* and *S. aureus* (inhibition diameters of 15 and 18mm, respectively).

**Key words:** *Camellia sinensis*, optimizing the conditions of extraction of polyphenols, antibacterial activity.