

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE

N° :



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE

FILIERE : CHIMIE

OPTION : PHARMACEUTIQUE

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par: Benmabrouk Hadjira

Intitulé

**Etude phytochimique d'extrait aqueux d'une
plante médicinale "*Camellia sinensis*"**

Soutenu devant le jury composé de:

Bouthabet. K	Université de M'sila	Président
Benzeggouta Naïrouz	Université de M'sila	Rapporteur
Bouchlouche. k	Université de M'sila	Examineur

Année universitaire : 2017/ 2018

Remerciements

Je remercie mon Dieu qui m'a aidé de faire ce travail qui a été réalisé au sein du Département de Chimie de l'Université de M'sila.

J'adresse mes vifs remerciements à mon Encadreur Melle Benzeggouta Nairouz qui m'a guidé tout le long de mon projet.

J'adresse mes sincères remerciements au Jury qui a accepté de participer à la discussion de mon travail.

Je remercie aussi Le Chef de Département Mr. Benyahya et tous les enseignants et employés du Département de Chimie pour leur serviabilité, leur disponibilité et leurs conseils.

Sans oublier de mentionner mes amis, mes collègues.

Dédicace

Je tiens à dédier ce travail :

A mes chers parents.

A mes frères Abdelkader et Mounir.

A mes sœurs Zohra, Zakia, Houda et Sara.

A mes amies Imene, Amira, Mariem et Abou Amani.

A mes neveux et nièces Anter, Mouhamed, Ritaj, Lina, dhia'e,
Marieme, Djana, Tasnim, Aymen, loudjine et Bara'e.

Sommaire

Introduction.....	1
Partie bibliographique	
<i>Chapitre I : la plante étudiée "Camellia sinensis"</i>	
1. Description botanique.....	2
2. Systématique.....	2
3. Fabrication et consommation du thé	3
4. Thé, les constituants chimiques.....	5
5. Autres composants.....	9
6. Avantages pour la santé de la consommation de thé chez les êtres humains.....	9
6.1. Agit comme antioxydant.....	9
6.2. Lutte contre les formes variables de cancer.....	10
6.3. Corrige les troubles de la peau.....	10
6.4. L'activité antimicrobienne.....	10
6.5. L'activité antivirale.....	11
6.6. L'activité anti- inflammatoire et cytotoxique.....	11
7. L'évaluation des risques liés aux substances chimiques de thé.....	11
<i>Chapitre II : La chromatographie</i>	
1. GÉNÉRALITÉS SUR LA CHROMATOGRAPHIE.....	13
2. Historique.....	13
3. Principe.....	14
4. Classification des méthodes chromatographiques.....	14
5. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	15
6. Chromatographie liquide haute performance (HPLC).....	15
7. La chromatographie sur couche mince (CCM).....	16
7.1. Généralités.....	16
7.2. Définition.....	17
7.3. Principe de la technique.....	18

7.4. Préparation de plaque (CCM).....	19
7.5. Gel de silice.....	19
7.6. Principaux éléments utilisés de la CCM.....	21
7.7. La révélation.....	22
7.8. Rapport frontal.....	22
7.9. Application de la CCM.....	22

Partie II : Partie expérimentale

Matériel et Méthodes

1. Le matériel.....	24
2. Matériel végétal.....	24
3. Préparation l'extrait.....	24
4. Screening Phytochimique.....	25
a) Saponosides.....	25
b) Coumarine.....	25
c) Tanins (hydrolysables)	25
d) Proanthocyanidols (tanins condensés)	25
e) Flavonoïdes.....	25
f) Triterpènes et Stéroïdes.....	25
g) Anthocyanes.....	26
h) Amidon.....	26
i) Acides Organiques.....	26
j) Alcaloïdes.....	27
5. Indice de mousse.....	27
6. Les plaques CCM.....	28
7. Dosage des acides organiques.....	29
8. Dosage des molécules réductrices.....	29
9. L'expérience de la corrosion.....	30

Résultats et discussions

1. Screening phytochimique	31
2. Indice de mousse.....	33
3. Les plaques CCM.....	33

4. Dosage de molécules réductrices.....	35
5. L'expérience de la corrosion.....	36
6. Le spectre UV-Vis.....	37
Conclusion Générale.....	38

Liste des figures

Figure 1 : Théier.....	2
Figure 2 : la fleur de <i>Camellia sinensis</i>	3
Figure 3 : les feuilles de <i>Camellia sinensis</i>	3
Figure 4 : les 6 couleurs de thé.....	4
Figure 5: Les principales étapes du traitement des feuilles de théiers après récolte.....	5
Figure 6 : structure de Theanine.....	6
Figure 7 : structure de Flavan-3-ols.....	6
Figure 8 : structure de Flavones.....	6
Figure 9 : structure de Flavonols.....	6
Figure 10 : structure formule d'Epigallocatechin.....	6
Figure 11 : structure de Thearubigins.....	6
Figure 12 : structure formule de Caféine.....	7
Figure 13 : formules chimiques des quatre catéchines du thé.....	8
Figure 14 : Schéma de principe de la CG.....	15
Figure 15 : Schéma de principe de la HPLC.....	16
Figure 16 : principe d'adsorption.....	17
Figure 17 : représentation du gel de silice.....	19
Figure 18: Chromatographie sur couche mince.....	20
Figure 19: principe de la chromatographie sur couche mince.....	21
Figure 20: La migration du solvant.....	22
Figure 21 : le thé vert (<i>Camellia sinensis</i>)	24
Figure 22: les étapes pour préparer l'extrait de <i>Camellia sinensis</i>	25
Figure 23 : dépôt de l'échantillon.....	28
Figure 24 : Dosage des acides organiques pour <i>Camellia sinensis</i>	29
Figure 25: dosage oxydoréduction avec le (KMnO ₄) en milieu acide pour <i>Camellia Sinensis</i>	29
Figure 26 : testes de screening pour <i>Camellia sinensis</i>	32
Figure 27 : teste de l'indice de mousse pour <i>Camellia sinensis</i>	33
Figure 28 : test de la corrosion pour <i>Camellia sinensis</i>	36
Figure 29: Spectre d'absorption du <i>Camellia sinensis</i>	37

Liste des tableaux

Tableau 1: les tubes préparés pour test de l'indice de mousse	27
Tableau 2 : les systèmes préparés pour les plaques CCM	28
Tableau 3 : les tubes préparés pour l'expérience de la corrosion	30
Tableau 4 : Le screening phytochimique de la plante <i>Camellia sinensi</i>	31
Tableau 5: résultats des tests CCM	34
Tableau 6 : test de la corrosion pour <i>Camellia sinensis</i>	36

Liste des abréviations

ADN	acide désoxyribonucléique
A/H1N1	grippe de l'être humain
A/H3N2	Influenza A virus subtype H3N2
CLS	Chromatographie liquide-solide
CLG	Chromatographie liquide-gel CLG
CPG	Chromatographies en phase gazeuse CPG
EGCG	epigallocatechin
ECG	Epicatechin gallate
HIV	virus de l'immunodéficience humaine
HPLC	Chromatographie liquide haute performance HPLC
R _f	Rapport frontal
UV	ultraviolet

Introduction

Les plantes médicinales sont des végétaux connus pour leurs pouvoirs bénéfiques. En d'autres termes, les plantes médicinales sont utilisées pour prévenir, soigner ou soulager diverses maladies [1].

Le thé est le deuxième liquide le plus souvent bu sur terre après l'eau. Il est consommé socialement et habituellement par les gens depuis 3000 av J.C. Le thé était un remède médicinal, il est devenu boisson. Entré dans le monde de la poésie chinoise du VIII^e siècle en tant que divertissement de politesse, il fut anobli au XV^e siècle par le Japon, parmi ces propriétés il est un puissant antioxydant [2].

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les prooxydants et les antioxydants, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles [3]. Le rôle antioxydant du thé vert, est connu pour sa richesse en polyphénols et piègeurs de radicaux libres [4]. Les antioxydants arrêtent les radicaux libres et ralentissent par conséquent les maladies dégénératives. Le pouvoir antioxydant selon les niveaux d'activités des flavonoïdes et d'autres polyphénols dans le thé sont très différents. Les effets positifs sur le système immunitaire du thé sont dus aux quantités considérables de polyphénols qu'il contient. Quatre tasses de thé vert peuvent donner une valeur diététique recommandée des polyphénols. [5]

Dans ce travail, on va effectuer une étude phytochimique de l'extrait d'une plante très connue dans le monde qui est *Camellia sinensis* ou thé vert,

- ✓ Le premier chapitre présente une description générale de la plante utilisée et ses constituants chimiques.
- ✓ Dans le second chapitre on parle des méthodes chromatographiques
- ✓ Dans la partie expérimentale on a fait le screening phytochimique de l'extrait aqueux, une étude chromatographique, et une estimation de l'effet antioxydant.
- ✓ On a terminé par une conclusion générale.

Partie I :

Recherche bibliographique

Chapitre I :

La plante étudiée

Camellia sinensis

1. Description botanique

A l'état sauvage, le théier (*Camellia sinensis*) est un arbuste de cinq à dix mètres de haut, mais dans la plupart des plantations, il est taillé à environ 1,20 m pour faciliter la cueillette des feuilles. Les jeunes feuilles à l'extrémité des branches donnent les meilleurs thés, alors que les quatre ou cinq feuilles suivantes servent à la production courante. Les facteurs environnementaux comme le climat, le type de sol et l'altitude contribuent à la teneur en tanins (responsable de la couleur et de la saveur) et en théine (la caféine du thé) [7].



Figure 1 : Théier

2. Systématique

Règne :Plantae

Division :Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre :Theales

Famille :Theaceae

Genre :*Camellia*

Espèce : *sinensis*[6]



Figure 2 : la fleur de *Camellia sinensis*



Figure 3 : les feuilles de *Camellia sinensis*

3. Fabrication et consommation du thé

Le thé est manufacturé de la feuille et du bourgeon du *Camellia sinensis*, il existe trois catégories de thé dans le commerce : le thé vert (20% de la production mondiale en 2005), le thé noir (78% de la production mondiale en 2005) et le thé semi fermentés ou oolong (2%). Ces trois catégories de thé se distinguent par leurs procédés de fabrication par leurs goûts et par leurs compositions chimiques [8]. La production entre 2009 et 2010, à 31 464 tonnes, 2011 devrait enregistrer une augmentation de 10,6 % pour atteindre 35 000 tonnes une augmentation supplémentaire de 2,9 %, soit 36 000 tonnes en 2012[9].

Le thé vert est préparé à partir de feuilles non fermentées par rapport aux feuilles de thé oolong qui sont partiellement fermentées et de thé noir qui sont entièrement fermentés. Le thé vert est riche en variétés de produits chimiques bénéfiques avec des effets positifs maximum sur les êtres humains [10].

Le thé noir est obtenu en entreposant les jeunes feuilles de thé fraîche dans des pièces ventilées, afin qu'elles flétrissent. Ces feuilles deviennent alors souples, voire flasques ; elles sont roulées (phase malaxage), ce qui engendre l'exsudation d'une partie du contenu cellulaire. La destruction partielle du tissu de la feuille et la mise en contact des enzymes avec le suc cellulaire. Lors de la fermentation qui consiste l'étape suivante, les catéchines sont transformées par des oxydases en phlobaphènes et certains polyphénols en proanthocyanidines oligomères (théarubigènes), et les principes aromatique se développent simultanément, avec odeur : faiblement aromatique et saveur : astringente, amère [11].il y a autres catégories de thé, Blanc, Jaune, Bleu-Vert et Sombre(Figure 4).



Figure 4 : les six couleurs de thé

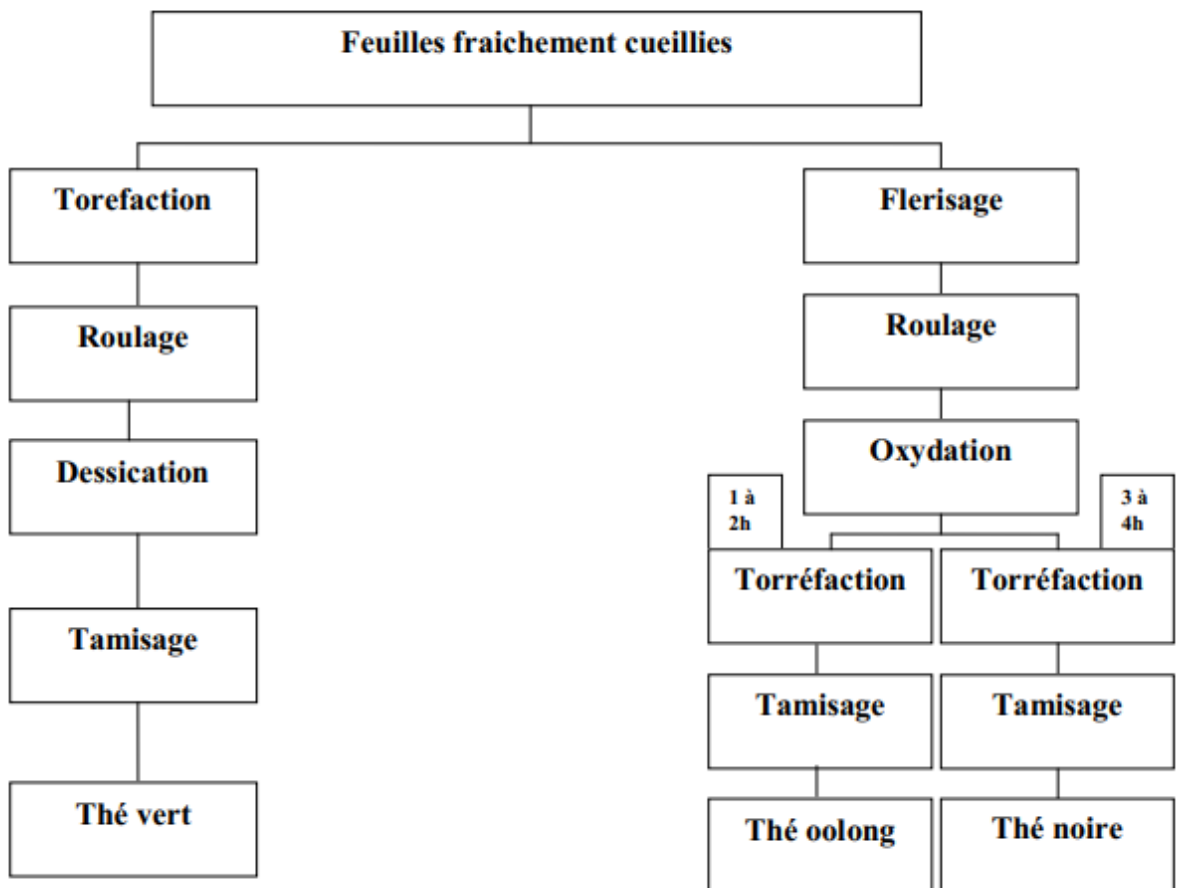
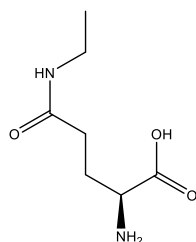


Figure 5: Les principales étapes du traitement des feuilles de théiers après récolte [12]

4. Thé, les constituants chimiques

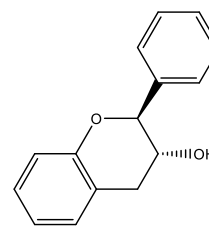
Le thé (*Camellia sinensis L.*), une plante à feuilles persistantes cultivée, est originaire de Chine, plus tard répandu en Inde et au Japon, puis en Europe et en Russie, arrivant dans le Nouveau Monde à la fin du 17^{ème} siècle. Le thé vert, le thé *oolong* et le thé noir sont tous fabriqués à partir de la même espèce végétale, *C. sinensis*L, mais différant par leur aspect, leur goût organoleptique, leur contenu chimique ainsi que leur saveur due à leur processus de fermentation respectif, les composants chimiques des feuilles de thé comprennent les polyphénols (catéchines et flavonoïdes), Les polyphénols constituent de 30 à 42% du poids sec.[13] Les principaux composés phénoliques du thé vert sont les flavonoïdes et plus particulièrement les catéchines du groupe des flavan-3-ols. [14]

Les alcaloïdes (caféine, théobromine, ophylline, etc.), les huiles volatiles, les polysaccharides, les acides aminés, les lipides, les vitamines (vitamine C), les éléments inorganiques. Cependant, les polyphénols sont principalement responsables des propriétés bénéfiques pour la santé du thé. Les flavonoïdes ont des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antiallergiques et des effets anti-microbiens. Le thé vert contient six composés de catéchine primaire, à savoir la catéchine, la gallocatéchine, l'épicatéchine, l'épigallocatéchine, le gallate d'épicatéchine et le gallate d'épigallocatéchine (EGCG). Il existe des hydrogènes hydroxylés actifs dans la structure moléculaire des polyphénols du thé vert qui peuvent mettre fin à la réaction en chaîne des radicaux libres excessifs qui, entraînent des changements pathologiques dans le corps humain. Le mécanisme anti-cancérogène comprend à la fois la fonction immunitaire cellulaire et l'inhibition de la croissance tumorale [15].



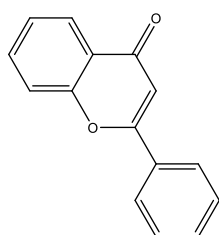
*N*⁵-ethyl-*L*-glutamine
 Chemical Formula: C₇H₁₄N₂O₃
 Exact Mass: 174.10
 Molecular Weight: 174.20
 m/z: 174.10 (100.0%), 175.10 (7.6%)
 Elemental Analysis: C, 48.26; H, 8.10; N, 16.08; O, 27.55

Figure 6 : structure de Theanine.



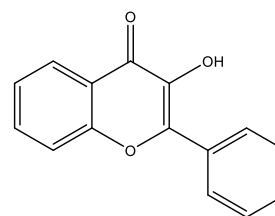
(2*S*,3*R*)-2-phenylchroman-3-ol
 Chemical Formula: C₁₅H₁₄O₂
 Exact Mass: 226.10
 Molecular Weight: 226.28
 m/z: 226.10 (100.0%), 227.10 (16.2%), 228.11 (1.2%)
 Elemental Analysis: C, 79.62; H, 6.24; O, 14.14

Figure 7 : structure de Flavan-3-ols.



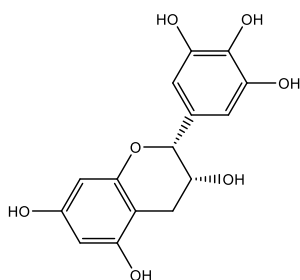
2-phenyl-4*H*-chromen-4-one
 Chemical Formula: C₁₅H₁₀O₂
 Exact Mass: 222.07
 Molecular Weight: 222.24
 m/z: 222.07 (100.0%), 223.07 (16.2%), 224.07 (1.2%)
 Elemental Analysis: C, 81.07; H, 4.54; O, 14.40

Figure 8 : structure de Flavones.



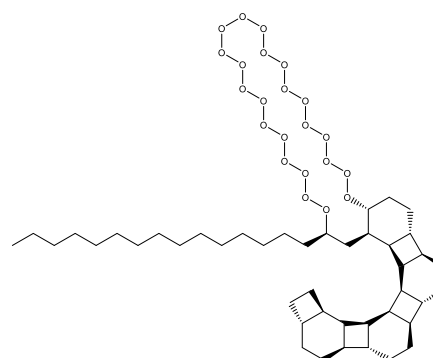
3-hydroxy-2-phenyl-4*H*-chromen-4-one
 Chemical Formula: C₁₅H₁₀O₃
 Exact Mass: 238.06
 Molecular Weight: 238.24
 m/z: 238.06 (100.0%), 239.07 (16.2%), 240.07 (1.2%)
 Elemental Analysis: C, 75.62; H, 4.23; O, 20.15

Figure 9 : structure de Flavonols



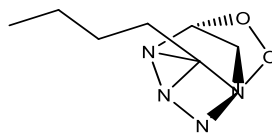
(2*R*,3*R*)-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl)chroman-3,5,7-triol
 Chemical Formula: C₁₅H₁₄O₇
 Exact Mass: 306.07
 Molecular Weight: 306.27
 m/z: 306.07 (100.0%), 307.08 (16.2%), 308.08 (1.4%), 308.08 (1.2%)
 Elemental Analysis: C, 58.83; H, 4.61; O, 36.57

Figure 10 : structure formule Epigallocatechin



(2*aR*,2*bR*,4*aR*,4*bR*,6*aR*,6*bR*,8*aR*,31*R*,32*aR*,32*bS*,32*cR*,32*dS*,32*eS*,32*fS*,32*gS*,32*hR*,34*aS*)-31-pentadecyloctacosahydrocyclobut[7",8"]biphenylene[1",2":3',4']cyclobut[1",2':7,8]biphenylene[2,1-10] [1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22]dicosoaxocyclohexacosine
 Chemical Formula: C₄₅H₇₀O₂₂
 Exact Mass: 938.44
 Molecular Weight: 939.01
 m/z: 938.44 (100.0%), 939.44 (46.5%), 940.44 (10.6%), 940.44 (4.5%), 941.44 (2.1%)
 Elemental Analysis: C, 55.00; H, 7.51; O, 37.48

Figure 11 : structure de Thearubigin.



(1*aR*,1*a'**S*,3*aR*)-2-butyltetrahydro-4,5-dioxo-1,3,5*a*,6-tetraaza-1,2,3-(epimethanetriyl)cyclobuta[*cd*]pentalene

Chemical Formula: C₈H₁₂N₄O₂

Exact Mass: 196.10

Molecular Weight: 196.21

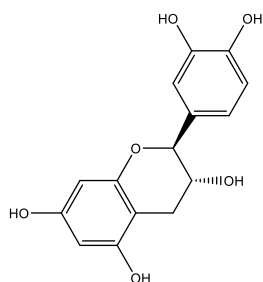
m/z: 196.10 (100.0%), 197.10

(8.7%), 197.09 (1.1%)

Elemental Analysis: C, 48.97;

H, 6.16; N, 28.56; O, 16.31

Figure 12 : structure formule de Caféine.



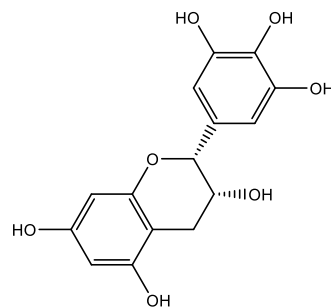
(2*S*,3*R*)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)chromane-3,5,7-triol

Chemical Formula: C₁₅H₁₄O₆
Exact Mass: 290.08

Molecular Weight: 290.27

m/z: 290.08 (100.0%), 291.08 (16.2%), 292.08 (1.2%), 292.09 (1.2%)

Elemental Analysis: C, 62.07; H, 4.86; O, 33.07



(2*R*,3*R*)-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl)chromane-3,5,7-triol

Chemical Formula: C₁₅H₁₄O₇

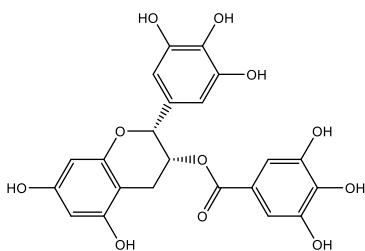
Exact Mass: 306.07

Molecular Weight: 306.27

m/z: 306.07 (100.0%), 307.08 (16.2%), 308.08 (1.4%), 308.08 (1.2%)

Elemental Analysis: C, 58.83; H, 4.61; O, 36.57

(+)-catechin



(2*R*,3*R*)-5,7-dihydroxy-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl)chroman-3-yl 3,4,5-trihydroxybenzoate

Chemical Formula: C₂₂H₁₈O₁₁

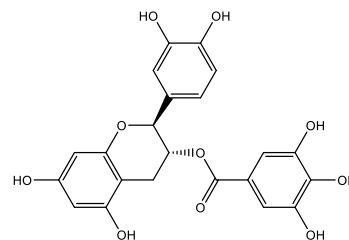
Exact Mass: 458.08

Molecular Weight: 458.38

m/z: 458.08 (100.0%), 459.09 (23.8%), 460.09 (2.7%), 460.09 (2.3%)

Elemental Analysis: C, 57.65; H, 3.96; O, 38.39

(-)-Epigallocatechin



(2*S*,3*R*)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxychroman-3-yl 3,4,5-trihydroxybenzoate

Chemical Formula: C₂₂H₁₈O₁₀

Exact Mass: 442.09

Molecular Weight: 442.38

m/z: 442.09 (100.0%), 443.09 (23.8%), 444.10 (2.7%), 444.09 (2.1%)

Elemental Analysis: C, 59.73; H, 4.10; O, 36.17

(-)-epigallocatechin gallate

(-)-Epicatechin gallate

Figure 13 : formules chimiques des quatre catéchines du thé.

5. Autres composants

La feuille de théier contient aussi d'autres constituants faiblement extraits lors de l'infusion: environ 25 à 30% de glucides, dont un 1/3 sont des fibres de cellulose [16], 4 à 16,5% des lipides [17]. 10 à 15% de matières minérales (potassium, calcium, phosphore, manganèse, cuivre, sodium et en grande quantité le fluor)[18].

6. Avantages pour la santé de la consommation de thé chez les êtres humains

Thé en général et le thé vert en particulier a longtemps été apprécié par les êtres humains à travers le monde pour ses propriétés médicinales. Un bon nombre d'études animales et cliniques suggèrent que les composants chimiques du thé jouent un rôle important dans la santé globale de l'homme [19].

L'American Médicale Association montre que le thé vert peut abaisser le taux de cholestérol, l'hypertension artérielle et réduire le risque d'AVC (accident vasculaire cérébral) surtout chez les hommes. L'Institut national du cancer rapporte qu'en raison des antioxydants très efficaces dans le thé vert, il peut prévenir différents types de cancer. Il y a beaucoup de valeurs thérapeutiques en thé vert, y compris, facilitant la digestion, la purification du sang, assurant la régularité, abaissant la température corporelle, renforçant les dents et les os, stimulant le système immunitaire, améliorant la fonction cardiaque, supprimant le vieillissement, empoisonnant les aliments, combattant le virus et abaissant la glycémie. Depuis des temps immémoriaux, le thé est considéré comme une boisson saine. 'LostProperty Of MedicinalHerbs', un livre ancien de la dynastie Chang de Chine a noté que bien que divers remèdes soient le remède de différentes maladies, «le thé vert est le remède à tous». Cette revue présente un aperçu des propriétés médicinales et des potentialités thérapeutiques du thé [15].

6.1. Agit comme antioxydant

Le thé vert est une source puissante d'antioxydants bénéfiques, comme ceux que l'on trouve dans les fruits et les légumes. Le thé est particulièrement riche en polyphénols, notamment les catéchines, les théaflavines et les thearubigines, qui contribuent aux bienfaits du thé sur la santé. Les études animales offrent une occasion unique d'évaluer la contribution des propriétés antioxydantes du thé et des polyphénols du thé aux effets physiologiques de l'administration du thé dans différents modèles de stress oxydatif [20].

6.2. Lutte contre les formes variables de cancer

Les principales boissons chaudes sont le thé (généralement le thé noir mais aussi le thé vert) contenant divers antioxydants et composés phénoliques, dont certains ont des propriétés anticancéreuses en laboratoire [15]. Plusieurs études basées sur la population confirment les effets protecteurs du cancer du thé [21]. Les polyphénols présents dans le thé étant des antioxydants puissants, peuvent jouer un rôle important dans la prévention du cancer en réduisant les dommages de l'ADN dans la cellule et activation du cancer menant à la malignité. Des études nutritionnelles effectuées dans les régions du Japon où le thé vert est particulièrement populaire ont révélé que l'incidence de cancers de l'estomac, du foie, du pancréas, du sein, du poumon, de l'œsophage et de la peau est plus faible chez les personnes qui consomment du thé vert. Le thé vert pourrait prévenir le cancer de quatre façons:

- 1) en neutralisant les agents cancérogènes;
- 2) en protégeant les cellules contre les mutations provoquées par les agents cancérogènes;
- 3) en protégeant l'organisme des dommages des radicaux libres;
- 4) en protégeant les cellules des dommages des radiations ionisantes [22].

6.3. Corrige les troubles de la peau

Le thé est utilisé comme remède maison ancestral pour les brûlures, les plaies et les enflures. Un cataplasme de thé vert soulage les démangeaisons et l'inflammation des piqûres d'insectes, tandis qu'une compresse dégage des saignements. Tanins et flavonoïdes de thé ont avec les propriétés antiseptiques. Les premiers ont également des effets anti-inflammatoires. Le thé vert a également certains avantages pour le corps s'il est utilisé à l'extérieur. Il peut être utilisé pour arrêter ou ralentir le saignement, et peut soulager les démangeaisons et les piqûres d'insectes. En outre, de nombreux produits de soins des cheveux et de la peau utilisent l'huile d'arbre à thé pour ajouter de la brillance et se régénérer [15]. La poudre de thé est utilisée comme cicatrisant dans la plaie ouverte, dans les affections oculaires [23].

6.4. L'activité antimicrobienne

Les propriétés antimicrobiennes du thé vert sont efficaces contre une variété de microbes, qui incluent *Helicobacter pylori* (malignité gastrique), *Staphylococcus aureus*, Streptocoques oraux (carie dentaire), *Mycobacterium tuberculosis* (tuberculose), bacille

cierge (intoxication alimentaire), *Escherichiacoli* (échec grave de diarrhée et de rein), de *Legionellapneumophila* (pneumonie), *Candida albicans* (candidiase), et *Chlamydiatrachomatis* (chlamydia). Ses propriétés antivirales sont efficaces contre HIV, grippe, Epstein-Barr, herpès, hépatite B et C, et T-cellule humaine type 1 lymphotropic de virus (Htlv-1 ; mène à la leucémie de T-cellule d'adulte). Puisque l'utilisation des drogues antivirales peut causer l'apparition des contraintes virales résistant à la drogue, l'adoption culturelle de la consommation verte de thé semble être un agent efficace potentiel d'anti-infection avec des conséquences négatives minimales [24]. Les extraits de *Camellia sinensis* ont démontrés des activités antimicrobiennes et de bonnes pénétrations et conservation de la peau. L'amélioration, particulièrement, des cheveux et préparations et perfectionnement de peau dans les produits cosmétiques [25].

6.5. L'activité antivirale

Les substances actives principales du le thé vert sont les composés polyphénoliques, les activités antivirales des polyphénols sont associés à de diverses étapes dans cycle de vie de virus de grippe. L'effet antiviral différentiel de la catéchine. Parmi les composés, les EGCG et les ECG étaient trouvé pour être inhibiteurs efficaces de croissance de virus de grippe, et ce effectués observés dans tous les sous-types de virus examinés, incluant Virus d'A/H1N1, d'A/H3N2 [26].

6.6. L'activité anti- inflammatoire et cytotoxique

Le thé vert possède des propriétés anti-inflammatoires, il a été étudié pour son rôle dans le traitement des maladies provoquées par une inflammation. Les dérivés de théaflavine ont été employés pour évaluer l'activité anti-inflammatoire. La plupart des composés dérivés de théaflavine ont une plus grande inhibition que EGCG, la catéchine principale composé dans le thé vert. quoique le thé vert ait une plus haute catéchine [27].

7. E'évaluation des risques liés aux substances chimiques de thé

Dans des extraits aqueux ou hydro alcooliques secs, l'absorption de poudre de thé par le biais de compléments alimentaires revient à absorber potentiellement tous les composés qui sont résorbables, y compris les plus lipophiles. Un nombre considérable d'études a été mené sur les extraits de thé vert. Il est extrêmement difficile de faire une synthèse de l'ensemble des résultats tant ils sont disparates, voire contradictoires, en raison d'approches

méthodologiques, très souvent différentes. Sur les modèles in vitro/in vivo, la toxicité hépatique peut être considérée comme assez faible mais plus marquée chez la souris que chez le rat. Les cas cliniques, signalés au dispositif de nutri-vigilance, imputés aux extraits de thé vert sont rares au regard du nombre de consommateurs de produits à base de thé vert. Il ne s'agit donc probablement pas d'une toxicité hépatique (hépatite virale, hépatite auto-immune, prise concomitante d'autres substances connues pour leur hépatotoxicité) liée à la présence d'une catéchine particulière ou de métabolites réactifs [28].

Chapitre II :

La

chromatographique

1. GÉNÉRALITÉS SUR LA CHROMATOGRAPHIE

La chromatographie est un procédé physico-chimique de séparation, au même titre que la distillation, la cristallisation ou l'extraction fractionnée, des constituants d'un mélange homogène liquide ou gazeux. Les applications de ce procédé sont donc potentiellement très nombreuses, d'autant plus que beaucoup de mélanges hétérogènes ou sous forme solide peuvent être mis en solution par emploi d'un solvant (celui-ci apparaissant comme un composé supplémentaire). Principes des méthodes chromatographiques [29].

2. Historique :

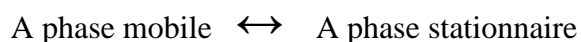
Les méthodes chromatographiques sont des méthodes de séparation mettant en jeu différents processus physicochimique. Historiquement l'application de ces techniques remonte à 1903, date à laquelle le botaniste russe M. Tswett a réalisé la séparation de pigments végétaux de la chlorophylle sur une colonne remplie de carbonate de calcium avec de l'éther de pétrole. La séparation du mélange en différentes bandes colorées a donné son nom à la méthode chromatographique.

Alors que cette première séparation était basée sur les différentes d'adsorptions des pigments, les méthodes chromatographiques actuelles mettent à profit différents phénomènes applicables à des substances colorées ou non. Des évaluations ont suivi la première expérience de Tswett. Citons parmi les plus importantes, l'application de :

- 1.** 1938 : la chromatographie sur couche mince (Ismailov et Sharaiber) ;
- 2.** 1939 : la chromatographie par échanges des ions (Samuelsos) ;
- 3.** 1941 : la chromatographie de partage liquide-liquide (Martin et Synge) ;
- 4.** 1952 : la chromatographie en phase gazeuse sur colonne remplies (James et Martin) ;
- 5.** 1959 : la chromatographie en phase colonne capillaires (Golay) ;
- 6.** 1962 : la chromatographie en phase supercritique (Klesper) ;
- 7.** 1968 : la chromatographie en phase liquide haute performance (Giddings et Kirkland) [30].

3. Principe :

Le principe repose sur l'équilibre de concentrations des composés présents entre deux phases en contact : la phase stationnaire et la phase mobile (gaz ou liquide) qui se déplace. La séparation est basée sur l'entraînement différentiel des constituants du mélange. Ces derniers parcourent la phase stationnaire avec des temps proportionnels à leurs propriétés intrinsèques (taille, structure, ...) ou à leur affinité avec la phase stationnaire (polarité, ...).



$$K = CS/CM$$

K : Coefficient de distribution CS : Concentration de l'analyse A dans la phase stationnaire

CM : Concentration de l'analyse A dans la phase mobile [31].

4. Classification des méthodes chromatographiques

a-Selon la nature des phases

La phase fixe (ou phase stationnaire) peut être soit un solide ayant des propriétés absorbantes, soit un liquide. La phase mobile est un liquide. On distingue ainsi :

La chromatographie liquide-solide (CLS)

La chromatographie liquide-gel (CLG)

La chromatographie sur phases greffées

b-Selon la nature des phénomènes mis en jeu dans la séparation. On distingue :

La chromatographie d'adsorption : la phase stationnaire est un solide adsorbant (CLS), généralement un gel de silice et la séparation est fondée sur les différences d'interactions spécifiques des solutés avec les sites actifs du solide.

La chromatographie de partage : elle met en œuvre des gels de silice greffés de molécules variées ou des polymères (gel). La séparation est fondée sur les différences de la solvation (au sens large) des solutés par la phase liquide qui imprègne les greffons ou les polymères.

La chromatographie d'échanges des ions : la phase stationnaire est un solide ayant des propriétés particulières que l'on appelle un « échanges des ions ». Ce solide généralement

poreux et comporte des groupements fonctionnels fixes ionisés ou ionisables. Les ions assurent l'électroneutralité de la structure sont mobiles et échangeables avec ceux de la phase mobile en contact avec l'échangeur. Les échangeurs d'ions les plus importants sont des hauts polymères ayant une structure de gel (CLG) et des silices échangées d'ion [32].

5. Chromatographies en phase gazeuse (CPG)

Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une colonne, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur ou gaz vecteur (phase mobile). Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules, Il n'y a pas d'interaction entre l'analyte et la phase mobile en CPG[33].

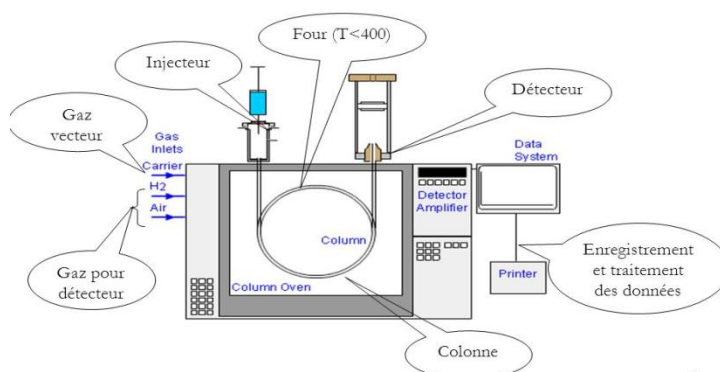


Figure 14 :Schéma de principe de la CG

6. Chromatographie liquide haute performance (HPLC)

Est une forme moderne des méthodes chromatographie dont les constitués sont rassemblés sous le vocable général de chromatographie liquide sur colonne, la différence est que la phase mobile est poussée sous haute pression. La HPLC en phase normal : les colonnes dont la phase stationnaire est polaire, la phase mobile est apolaire. Et en phase inverse : la phase stationnaire est apolaire et la phase mobile est polaire [34].

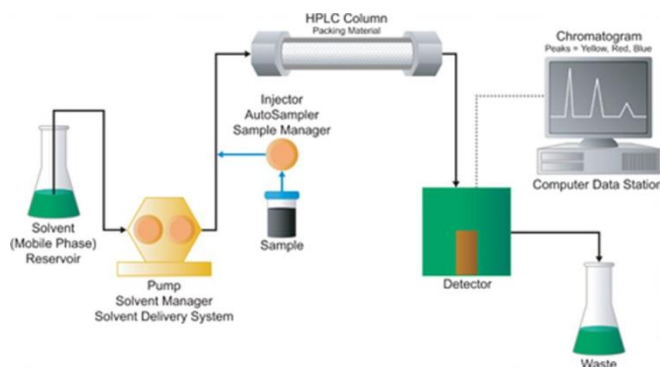


Figure 15 : Schéma de principe de la HPLC

7. La chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie est une technique de séparation très puissante, mais aussi considérablement complexe[3536], elle est utilisée aussi bien dans les services de recherches et le développement que dans le domaine de contrôle. Son champ d'activité couvre les organismes d'état et les industries de la chimie la biochimie, la pharmacie et la para- chimie (agrochimique, cosmétique, polymères) [36]. Les séparations par chromatographie mettent en œuvre des techniques basées sur des propriétés physiques générales des molécules. Ces propriétés sont :

- la tendance d'une molécule à se dissoudre dans un liquide (solubilité).
 - la tendance d'une molécule à se lier à un solide finement divisé (adsorption).
 - la tendance d'une molécule à passer à l'état vapeur ou à s'évaporer (volatilité)
- [37].

7.1. Généralités

La chromatographie d'adsorption comme une chromatographie **solide-liquide** car elle est basée sur une séparation des solutés au moyen de 2 forces opposées:

- La rétention par adsorption sur la phase stationnaire.
- L'entraînement par le courant de l'éluant sur la phase mobile.

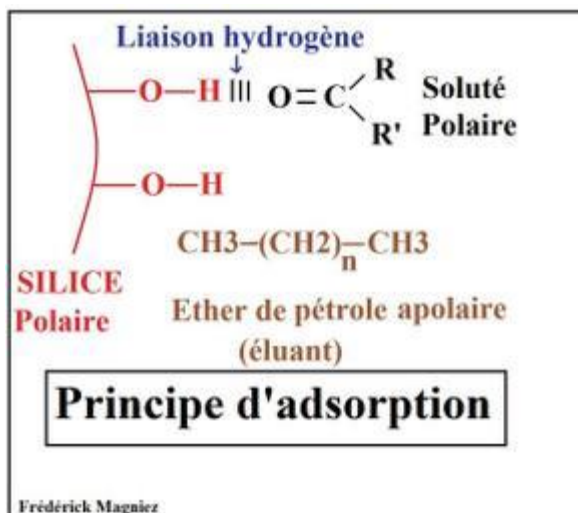


Figure 16 : principe d'adsorption.

L'adsorption est un phénomène de surface lié à la polarité des molécules. Lors du passage du soluté, des interactions polaires s'effectuent entre celui-ci et la silice tandis que l'éther de pétrole (apolaire) passe sans éluer la molécule du soluté. [35]

7.2. Définition

L'apparition de la chromatographie sur couche mince remonte à 1938 (Ismailor et Shraiber) [38]. La CCM (en anglais TLC pour Thin layer chromatography) est une méthode de choix pour suivre l'évolution d'un milieu réactionnel ou de tester la pureté de composés organiques, cette méthodes repose principalement sur des phénomène d'absorption : la phase mobile (est n'importe quel mélange de solvants de développement) qui progresse le long dans une phase stationnaire est constituée d'une poudre, il y a quatre substances les plus utilisées: gel de silice (acide silique), alumine (oxyde d'aluminium), kieselguhr (terre d'infusoire) et cellulose , fixée sur une plaque de verre ou une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrant à une vitesse qui dépend de leur et de celle du solvant [36-39].

7.3. Principe de la technique

La CCM est basée sur une interaction de type électrostatique / liaison hydrogène. Le principe du "qui se ressemble s'assemble", souvent rencontré en chimie permet encore d'expliquer ici la nature des phénomènes impliqués. Le principe de la Chromatographie sur Couche Mince (CCM ou TLC dans la terminologie anglo-saxonne) est, comme pour toutes les méthodes de chromatographie, un procédé de partage multi-étapes. Ce procédé nécessite :

- Un adsorbant (la phase stationnaire) adapté, déposé en une couche mince sur un support approprié (plaquette de verre, feuille de polyester ou d'aluminium).
- Un solvant ou un mélange de solvants (la phase mobile, ou éluant).
- Le mélange à séparer [40].

Le principe de la chromatographie sur couche mince est connu depuis plus de 100 ans [40,41]. Son réel essor en tant que méthode analytique a été pris il y a seulement 50 ans, grâce. Aujourd'hui la CCM a regagné du terrain en tant que méthode de séparation analytique, probablement grâce au perfectionnement de l'instrumentalisation et à l'automatisation de la technique de séparation [42]. Parallèlement, les domaines d'application de la CCM se sont largis grâce au développement de nouveaux adsorbants et supports. Aujourd'hui, MACHEREY-NAGEL propose une large palette de plaques, résultat de presque 50 ans de recherche et de développement.

Le succès de la CCM comme méthode de séparation micro-analytique ultra-efficace, repose sur de nombreuses propriétés :

- Possibilité d'analyser un grand nombre d'échantillons en très peu de temps.
- Sauvegarde de l'information de séparation à long terme (la plaque se conserve pour longtemps).
- Optimisation rapide et économique de la séparation par le changement facile des phases mobiles et stationnaires [42].

7.4. Préparation de plaques CCM :

Les couche minces ont été préparées avec de la cellulose Macherey-Nagel MN 300 HR (cellulose extra-pure) en délayant 15 g de poudre dans 90 ml d'eau bidistillée, pour 5 plaques 200 * 200 mm. Cette proportion donne des couches d'une épaisseur d'environ 0.25mm. Le mélange ainsi obtenu est homogénéisé à l'aide d'un mixer à une vitesse de 20.000 tours /min. la pâte est déposée sur les plaques, puis séchée horizontalement à l'étuve à 105° pendant 1 h [43].

7.5. Gel de silice :

Le terme « silice » est utilisé pour désigner le dioxyde de silicium sous toutes ses formes : cristalline, amorphe, hydratée, hydroxylée. En chromatographie on préfère le terme « gel de silice » qui désigne une silice hydroxylée et plus ou moins hydratée que l'on peut représenter schématiquement par :

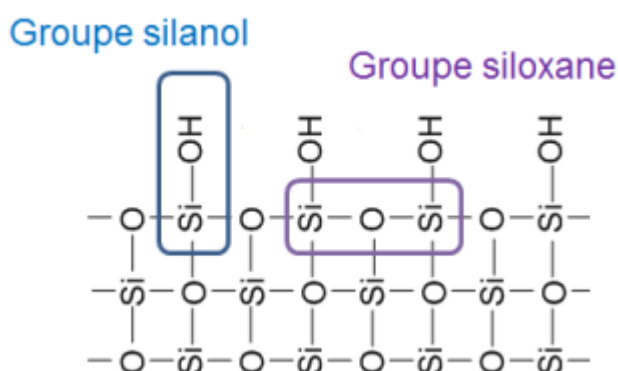
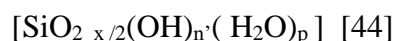


Figure 17: représentation du gel de silice.

7.6. Principaux éléments utilisés de la CCM :

Pour réaliser ce type d'analyse, il nous faut : [45]

- **une cuve chromatographique** : un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.
- **la phase stationnaire** : une couche d'environ 0,25 mm de gel de silice ou d'un autre adsorbant, fixée sur une plaque de verre, de plastique ou d'aluminium, à l'aide d'un liant comme le sulfate de calcium hydraté (plâtre de Paris), l'amidon ou un polymère organique.

Il est important de préciser que l'on n'emploie pas le même type de phase stationnaire pour tous les produits. Par exemple, la silice étant légèrement acide, les produits sensibles (acétals par exemple) pourraient se décomposer. On préfère alors l'emploi d'alumine neutre. Certaines plaques sont traitées par une substance fluorescente qui permet la révélation aux UV.

- **l'échantillon** : environ un microlitre de solution diluée (de 2 à 5 %) du mélange à analyser, déposé en un point repère situé au-dessus de la surface de l'éluant.
- **l'éluant (phase mobile)** : un solvant pur ou un mélange de solvants qui migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon.

Le principe de la chromatographie est schématisé sur la figure suivante :[46]

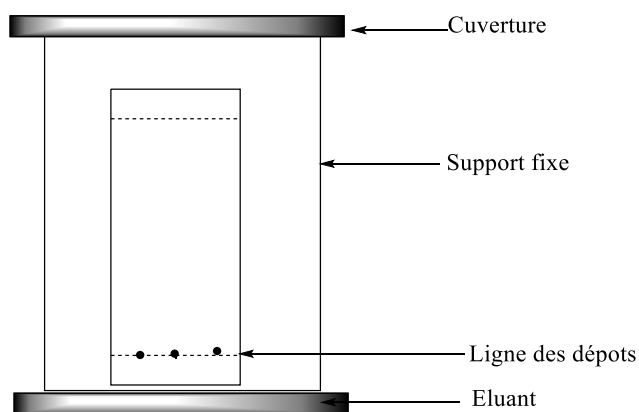
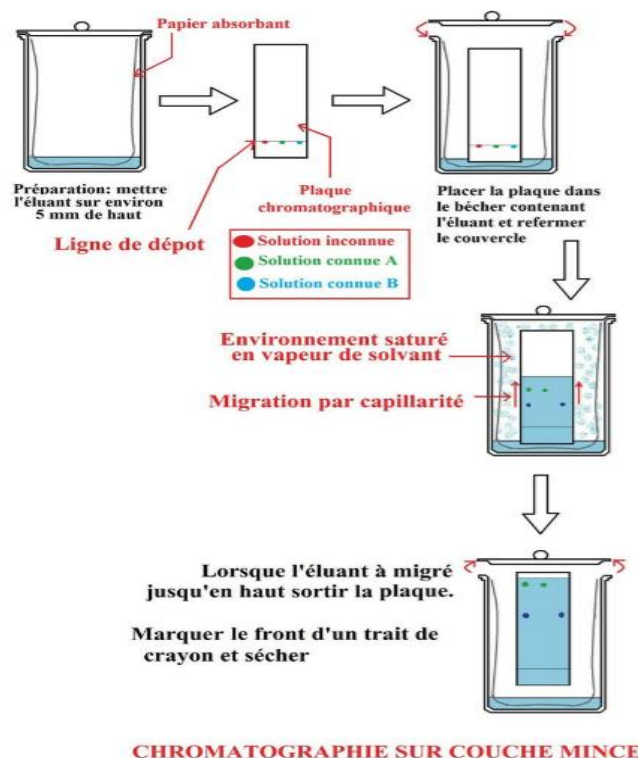


Figure 18 : Chromatographie sur couche mince.

--**Le dépôt** : L'application est une étape déterminante pour la qualité du résultat chromatographique et nécessite donc de la rigueur et des conditions opératoires bien définies. Elle peut se faire manuellement ou automatiquement [29].



Figur 19 : principe de la chromatographie sur couche mince.

7.7. la révélation:

La révélation s'effectue tout d'abord par des techniques non destructives :

- à l'aide d'une lampe UV, en traçant les contours des taches au crayon. Cela ne révèle que les produits absorbant la lumière UV à la longueur d'onde utilisée, 254 nm le plus souvent. Ceci exclut un grand nombre de molécules non aromatiques.
- Il existe un grand nombre de révélateurs colorés que l'on utilise en fonction de la nature de composés que l'on veut révéler comme le dichromate de potassium / acide sulfurique, l'acide phosphomolybdique, la solution de vanilline, le réactif de Dragendorff... [34]

7.8. Rapport frontal :

Pour l'évaluation qualitative, le paramètre le plus utilisé est le rapport au front R_f (distance parcourue de migration) ou encore sa valeur multipliée par 100, notée $h R_f$. la valeur de R_f définie par la relation :

$$R_f = \text{Hauteur de migration} / \text{Hauteur du front de solvant}$$

Les valeurs de R_f sont donc comprises entre 0 et 1 de préférence entre 0.1 et 0.8 ($h R_f$ entre 10 et 80). Un $R_f = 0.3$ est un bon rapport pour adapter la polarité de l'éluant de la CCM à une colonne[34].

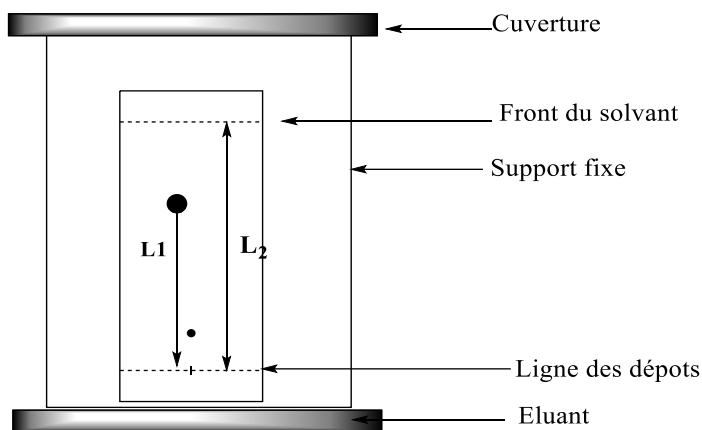


Figure 20 : La migration du solvant.

7.9. Application de la CCM :

- Utiliser pour l'isolement et la purification des composés obtenus après réaction par synthèse.
- Suivi de l'évolution d'une réaction chimique.
- Vérification de la pureté des produits de départ et des produits finaux.

La chromatographie sur couche mince est bien adaptée au contrôle des colorants d'origine naturelle. Elle permet tout d'abord aux fabricants de ces substances de suivre les processus de préparation et notamment de poursuivre l'alimentation des molécules colorantes voisines de celles qui les intéressent jusqu'à l'obtention d'un

produit suffisamment pur. Aux utilisateurs que sont les industriels de la pharmacie et de l'alimentation, elle procure les moyens de s'assurer de l'identité et de la qualité commerciale de leurs matières premières, ainsi que de contrôler la composition des produits préparés. Enfin, en cas de doute d'un produit alimentaire, elle permet l'expert de confirmer ou non la conformité à la composition annoncée [47].

Partie

Expérimentale

1. Le matériel:

Plaque chauffante

Plaques CCM

Les béchers

Les tubes à essai

Pipettes Pasteur

Butanol

Acide Acétique

Eau

Toluène

Acétate d'ethyle

Chloroforme

Méthanol

2. Matériel végétal:

Le matériel végétal utilisé au cours de cette étude est le thé vert (*Camellia sinensis*) commercialisé.



Figure 21 : le thé vert (*Camellia sinensis*)

3. Préparation l'extrait:

La décoction convient pour l'exaction de matière végétale dure ou très dure. On prépare la décoction selon un dosage suivant : 5g de la plante sèche et mis dans 125ml d'eau jusqu'à l'ébullition (100°C), filtrer le mélange et récupérer le filtrat. [48]



Figure 22 : les étapes pour préparer l'extrait de *Camellia sinensis*.

4. Screening Phytochimique:

Le screening phytochimiques en évidence la présence des familles de molécules actives, c'est une étude qualitative utilisée pour connaître la composition chimique globale des extraits [39].

a) Saponosides

Leur présence est déterminée par la présence ou non de mousse persistante. Deux millilitres de l'extrait sont mis dans un tube à essai fermé, ensuite bien agiter verticalement pendant 30sec et laisser reposer 15min [50].

b) Coumarine

Les tubes des extraits sont recouverts avec du papier imbibé de NaOH dilué et sont portés à ébullition. Toute fluorescence jaune témoigne de la présence de coumarines après examen sous UV [50].

c) Tanins (hydrolysables)

L'ajout de quelques gouttes de FeCl_3 1 % permet de détecter la présence ou non de tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques[51].

d) Proanthocyanidols (tanins condensés)

A 2 ml d'infusé sont additionnés 2 ml d'acide chlorhydrique concentré; le tout est laissé pendant cinq minutes dans un bain-marie bouillant; l'apparition d'une coloration rouge indique une réaction positive [52].

e) Flavonoïdes

Quelques gouttes d'HCl concentré en présence de trois ou quatre tournures de magnésium. Le changement de coloration est observé: virage au rouge (flavones), virage au rouge pourpre (flavonols), rouge violacée (flavanones et flavanols) [51].

f) Triterpènes et Stéroïdes

-Test de Salkowski: incliner le tube à 45° et ajouter 1 à 2ml de H₂SO₄, le changement de coloration est noté immédiatement. Agiter le mélange légèrement et noter le changement graduel de coloration : une coloration rouge indique la présence de stérols insaturés.

-Test de Libermann-Burschard: additionner trois gouttes d'anhydride acétique puis agiter légèrement. Ajouter une goutte de H₂SO₄ concentré. Le changement de coloration est observé pendant une heure: une coloration bleu-vert indique la présence de stéroïdes tandis que rouge-violet à rose dénote la présence de triterpènes[51].

g) Anthocyanes

Deux millilitres d'infusé sont ajoutés à 2 ml d'acide chlorhydrique 2 N. L'apparition d'une coloration rose-rouge qui vire au bleu-violacé par addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes [52].

h) Amidon

Quelques gouttes de l'iode (I₂) sont rajoutées à la décoction contenue dans un tube à essai, et on observe le changement de la couleur vers le bleu, ce qui indique la présence d'amidon [52].

i) Acides Organiques

Mettre quelques gouttes du phénol phthaléine dans un tube à essai contenant 2ml de la décoction; si la couleur ne change pas, l'extrait contient des acides organiques [51,52].

j) Alcaloïdes

Mettre quelques gouttes du réactif de Dragendorff dans un tube à essai contenant l'extrait; si la couleur change au marron foncé ça prouve l'existence des alcaloïdes [52].

5. Indice de mousse

On prépare l'extrait avec 1g de plante dans 100ml eau, puis on répartit l'extrait dans 10 tubes suivant le tableau 1, et on agite pendant 15 sec et on laisse reposer 15min, puis on mesure la hauteur de la mousse de tous les tubes. Le tube où la hauteur de la mousse est 1cm est pris pour le calcul de l'indice de mousse comme suit : $1000/a$, où a est le numéro du tube concerné[53].

Tableau 1: les tubes préparés pour test de l'indice de mousse

Tube	Extrait (ml)	Eau (ml)
1	1	9
2	2	8
3	3	7
4	4	6
5	5	5
6	6	4
7	7	3
8	8	2
9	9	1
10	10	0

6. Les plaques CCM

On a utilisé plusieurs types de mélange de solvants qui sont généralement employé dans la séparation des polyphénols.

Tableau 2 : les systèmes préparés pour les plaques CCM.

Les systèmes	(ml)
1	Acétate d'éthyle ; Méthanol ; Eau (100 ; 13.5 ; 10)
2	Butanol ; Acide Acétique ; Eau (40 ; 7 ; 32)
3	Acétate d'éthyle ; Méthanol ; Eau (10 ; 1 ; 1)
4	Chloroforme ; Méthanol ; Eau (5 ; 3 ; 2)
5	Toluène ; Acétate d'éthyle (95 ; 5)
6	Butanol ; Acide Acétique ; Eau (60 ; 15 ; 35)
7	Butanol ; Acide Acétique ; Eau (40 ; 10 ; 10)

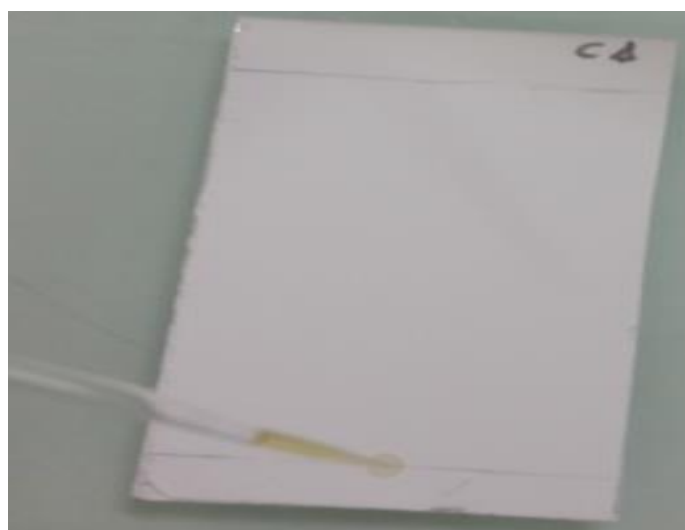


Figure 23 : dépôt de l'échantillon

7. Dosage des acides organiques

On réalise un dosage acido-basique, 1 ml de l'extrait avec 9 ml l'eau distillée dans un bécher avec quelque guttes de phénol phtaléine et dans la burette on met de la soude (NaOH à 0.1 mol/L). A l'équivalence on doit obtenir une couleur rose pâle qui signifie la fin du dosage, le volume du NaOH est mesurer.



Figure 24 : Dosage des acides organiques pour *Camellia sinensis*.

8. Dosage des molécules réductrices

On réalise un dosage oxydoréduction avec le permanganate de potassium (KMnO_4) en milieu acide, 1 ml de l'extrait et 9 ml d'eau, avec 20 ml de H_2SO_4 dans un bécher et le KMnO_4 (0.2N) dans la burette.

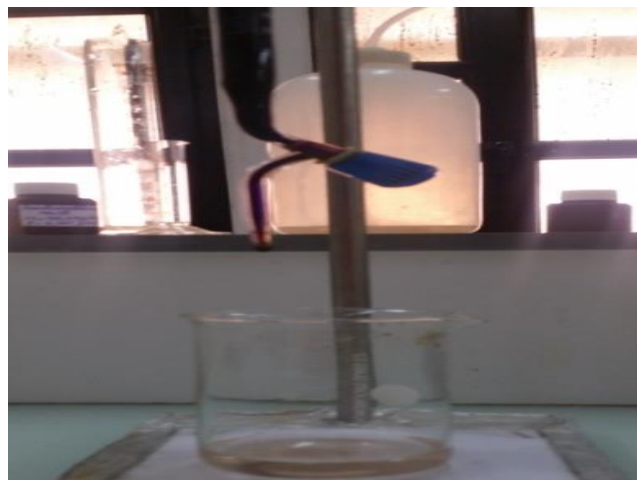


Figure 25 : dosage oxydoréduction avec le (KMnO_4) en milieu acide pour *Camellia Sinensis*.

9. L'expérience de la corrosion

C'est l'action d'un oxydant sur un métal, et nous allons voir l'effet de notre extrait qui contient des molécules anti-oxydantes s'il peut inhiber la corrosion (oxydation).

Clous de fer et d'aluminium et l'extrait de la plante *Camellia sinensis*.

L'expérience de la corrosion avec HCl :

On a réalisé les dilutions suivantes (HCl 1/30) :

Tableau 3 : les tubes préparés pour l'expérience de la corrosion

Tubes	1	2	3	4	5	6
Le mélange : Extrait+ HCl	5 ml de HCl	4 ml de HCl + 1 ml d'extrait	3 ml de HCl + 2 ml d'extrait	2 ml de HCl + 3 ml d'extrait	1 ml de HCl + 4 ml d'extrait	5 ml de l'extrait

*Résultats
et Discussion*

1. Screening phytochimique

Les résultats sont mentionnés dans le tableau ci- dessous :

Tableau 4 : Le screening phytochimique de la plante *Camellia sinensis* :

Substances chimiques	Teste	Résultats
Saponine	Agitation 15 s Repose 15 minutes	++ (1.6 cm)
Flavonoïde	H Cl- Mg	+
Anthocyanes	HCl et Na OH	-
Tanins	FeCl ₃	++
Coumarines	NaOH sous UV	+
Alcaloïdes	Dragandroff	+
Acide organique	Ph Ph	+ (8ml)
Amidon	Iode	+
Stérol	Acide Sulfurique	+-
Triterpènes/Stéroïdes	Acide Sulfurique et anhydride acétique	-

(+): présence, (-): absence, (±): faible, ND: Non Déterminé.



L'extrait pure



Coumarines(366nm)



Acide organique



Tanins



Alcaloïdes



Stérol



Flavonoïde



Amidon



Saponine



Anthocyanes



Triterpènes/Stéroïdes

Figure 26 : testes de screening pour *Camellia sinensis*.

2. Indice de mousse

Le tube qui contient la mousse mesurant 1cm est le n° 2, alors :

$$IM = 1000/2$$

$$IM = 500$$

Qui est une bonne quantité de mousse, par rapport à d'autres plantes.



Figure 27 : test de l'indice de mousse pour *Camellia sinensis*.

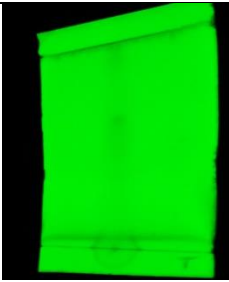

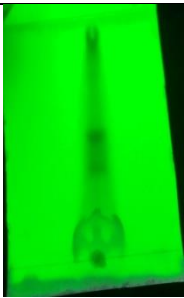

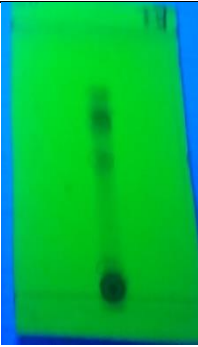
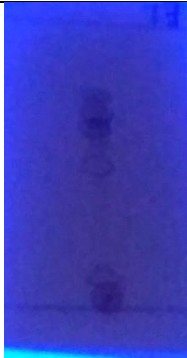


3. Les plaques CCM





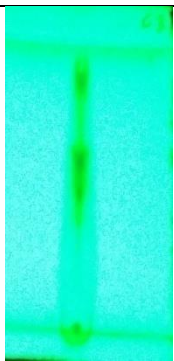

Selon les résultats obtenus certains systèmes ont donné une séparation des constituants de l'extrait alors que d'autres n'ont pas permis de séparer ces constituants. Les systèmes efficaces sont :

Butanol ; Acide Acétique ; Eau (40 ; 7 ; 32)

Acétate d'éthyle ; Méthanol ; Eau (10 ; 1 ; 1)

Tableau 5: résultats des testes CCM.

Systèmes	UV (KW366nm)	UV (LW254nm)
Acétate d'éthyle ; Méthanol ; Eau (100 ; 13.5 ; 10)		
Butanol ; Acide Acétique ; Eau (40 ; 7 ; 32)		
Acétate d'éthyle ; Méthanol ; Eau (10 ; 1 ; 1)		
Chloroforme ; Méthanol ; Eau (5 ; 3 ; 2)		

Toluène ; Acétate d'éthyle (95 ; 5)		
Butanol ; Acide Acétique ; Eau (60 ; 15 ; 35)		
Butanol ; Acide Acétique ; Eau (40 ; 10 ; 10)		

4. Dosage de molécules réductrices

A l'équivalence on a obtenu une coloration rose pâle qui signifie la fin du dosage et on a mesuré le volume du KMnO_4 qui est 5.9ml de l'extrait dilué, ce qui veut dire que le volume du KMnO_4 pour l'extrait brut est 59ml, et c'est une bonne quantité qui signifie une grande présence des molécules anti-oxydantes.

5. L'expérience de la corrosion

Après 48h les tubes qui contiennent l'HCl et l'extrait ont subi une corrosion mais le tube qui contient l'extrait seul il n'y a pas eu de corrosion, c'est-à-dire que l'extrait possède un effet antioxydant mais n'inhibe pas la corrosion d'un corrosif qui est l'HCl.

Tableau 6 : test de la corrosion pour *Camellia sinensis*.

	5 ml de l'HCl	4 ml de HCl + 1ml extrait	3 ml de HCl + 2ml extrait	2 ml de HCl + 3 ml extrait	1 ml de HCl + 4 ml extrait	5 ml de l'extrait
Premier jour	Couleur noir après 6 min	Couleur moins intense	Couleur moins intense	Aucun changement	Aucun changement	Aucun changement
24h	Couleur noir	Couleur noir	Couleur noir	Couleur moins intense	Couleur moins intense	Aucun changement
48h	Couleur noir	Couleur moins intense	Couleur moins intense	Couleur moins intense	Couleur moins intense	Aucun changement

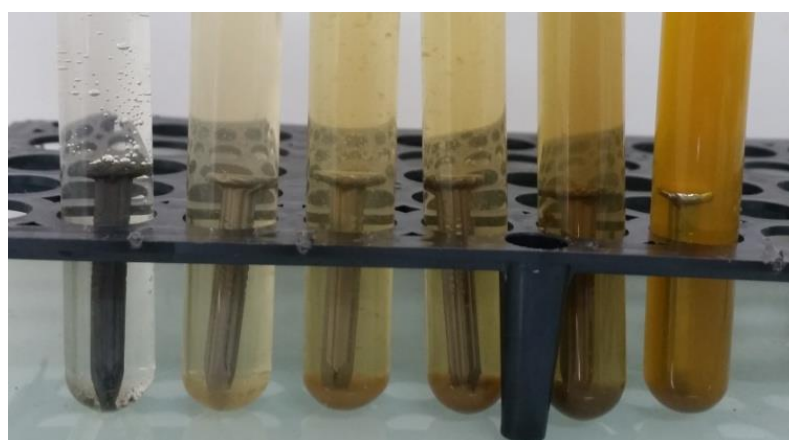


Figure 28: test de la corrosion pour *Camellia sinensis*.

6. Le spectre UV-Vis

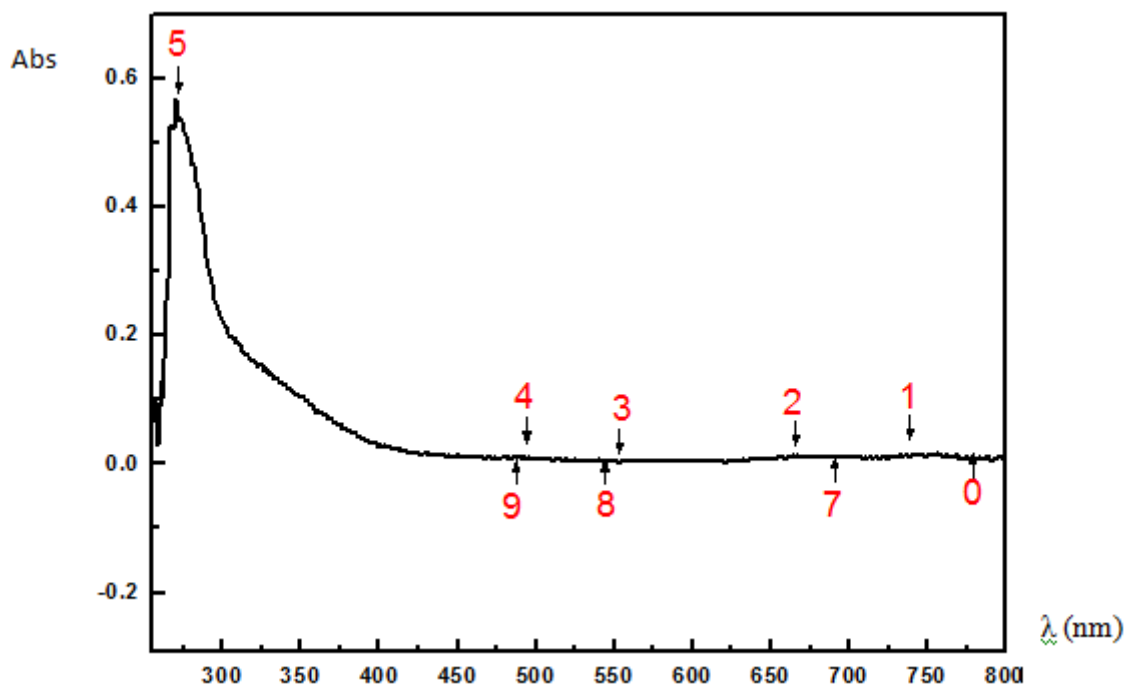


Figure 29 : Spectre d'absorption du *Camellia sinensis*

($\lambda = 270 \text{ nm}$, $A = 0.556$)

Le longueur d'onde maximale de l'extrait est $\lambda = 270 \text{ nm}$, cette valeur prouve encore que ce mélange contiennent des molécules phénoliques qui absorbent dans ce domaine. La spectroscopie UV-Visible est souvent utilisée pour identifier les composés phénoliques isolés, mais le spectre d'absorption des extraits des polyphénols totaux peut être utilisé pour identifier la présence des groupes prédominants des polyphénols [54].

Conclusion

Conclusion Générale

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche des molécules thérapeutiques ces dernières décennies.

L'étude du screening phytochimique, chromatographique et l'effet antioxydant et anticorrosif de la décoction de *Camellia sinensis* donné des résultats très intéressants.

Le screening phytochimique de la décoction du thé vert a montré une variété de métabolites: des flavonoïdes, des acides organiques, une grande quantité de tannins et saponines, des coumarines, des alcaloïdes. Le spectre d'absorption dans l'UV-vis prouve encore la présence des polyphénols.

Alors que l'étude chromatographique a permis de vérifier divers systèmes de séparation et de trouver que le mélange Butanol -Acide acétique-Eau et celui d'Acétate d'éthyle-Méthanol-Eau, a différents pourcentages, était les plus adéquats pour séparer les constituants qui sont surtout polaires.

L'étude de l'effet inhibiteur de l'extrait sur la corrosion des clous (qui est une oxydation) dans ces conditions de concentration est satisfaisant et on a pu montrer l'activité antioxydante de la décoction très connue dans la bibliographie.

Ces résultats sont encourageants mais nécessitent des études supplémentaires pour connaître la composition chimique exacte en utilisant des méthodes plus performantes comme l'HPLC et GC-MS. Ainsi que d'autres études pour bien estimer l'activité antioxydante et anticorrosive.

Les références

- [1]Wolfgang. Hansel,350 plantes médicinales, Delachaux et Niestle, Paris,2008,15.
- [2] kakuzo.Okakura, Le livre de Thé, Arbre d'Or, Corraillod(NE), Suisse, avril 2003, 4.
- [3]Anderyev. AY, Kushanareva YE, StarkowAA,Mitochondrial metabolism of reactiveoxygenspecies, Biochemistry (Mosc), 2005,200-214 V.
- [4]Alschulerl,Green Tea: Healing tonic, Am J Nat Med: 5, 1998, 28-31.
- [5]Yumen. Hilal, Morphology, Manufacturing Types Composition and Medicinal Properties of Tea (*Camellia sinensis*),journal of Basic and applied plant science ,l'évaluation de l'activitéantiradicalaire de thévert(*camelliasinensi*),30 June 2017,2574-3449 V
- [6]McKenna. DJ, Jones. K, Hughes. K .Botanical medicines: The Desk Reference for Major HerbalSupplements. 2ème Edition - Binghamton : The Haworth Press;2002,8: 597-656.
- [7]Pei-gen Xiao, Zhen-yuLi. TeaBioactivity and Therapeutic Potentiel. *CRC Press*, 2002,17-34.
- [8]Coves. S, Le thé : de la feuille à la tasse, Cahiers de Nutrition et de Diététique, ,2000 , 9-11.
- [9]Secteur du thé,AJWageningen,Centre Technique de Coopération,2012, 1-7.
- [10]Feng. Liua, 1, Yu Wang a, 1, Zhaotang Ding a, Lei Zhao a, Jun Xiao b, Linjun Wang c, Shibo Ding d,TranscriptomicAnalysis of FlowerDevelopment in Tea (*Camellia sinensis*(L.)), GENE 42119, 2017,1-37
- [11]M.wichtl, R.Anton, Plantes thérapeutiques, LAVOISIER ,Edition Tac & Doc, 2003, 601.
- [12]KriepsM,Le thé : origine, actualité et potentialités ,Thèse d'exercice : Pharmacie, Nancy, 2009, 213
- [13] Balentine. DA, Wiseman. SA, BouwensLCM, The chemistry of tea flavonoids, Crit. Rev. Food Sci. Nutr, 37, 1997, 693–704
- [14] Peterson. J, Dwyer. J, Bhagwat. S, Haytowitz. D, Holden. J,Eldridge. A.L., Beecher. G. Aladesanmi. J, 2005. Major flavonoids in dry tea. J. Food Compos. Anal. 18, 2005, 487-501.
- [15] A.B.Sharangi, Medical and therapeuticpotentialities of tea (*camellia sinensis*), Food Research International 42, 2009, 529–535.

- [16] Garel. ESources et intérêt de la théanine présente dans le thé et ses préparations ,Thèse : Pharmacie : Université de Rennes I,2006, 1-85.
- [17]Dewick. PM Medicinalnaturalproducts: abiosynthetic approach: John Wiley& Sons, 2002, 121-166.
- [18] Schmitter. MG, Université de Picardie Jules Verne les propriétés anticancéreuses des catéchines issues du thé vert. Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie, Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, 2016
- [19]Mossion. A, Étude de la composition minérale et organique des liqueurs de thé et de leurs caractéristiques organoleptiques: influence des paramètres physico-chimiques de l'eau.2007, 204.
- [20] Frei, B., &Higdon, J. V. Antioxidantactivity of teapolyphenols in vivo: Evidence from animal studies. Journal of Nutrition, 133(10),2003, 3275S–3284S
- [21]Kuzuhara T, Suganuma M, Fujiki H. 2008. Green teacatechin as a chemicalchaperone in cancer prevention.Cancer letters 260,2008, 12-20.
- [22] Laurence BOURDOULEIX, Les bienfaits du thé vert, sante-medecinele 14/02/2007, 3.
- [23] Jamal Bellakhdar,la Pharmacopée marocaine traditionnelle,Ibis press37,Paris,1997, 20.
- [24] Jennifer Tran, Green Tea: A Potential Alternative Anti-Infectious Agent Catechins and Viral Infections, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, USA , 2013. Vol.3, No.4, 198-202
- [25] Ays. Baldemir,Buse. Kose, Nilay. Ildız, Selen. İlgun,Sadi. Yusufbeyoglu, Vedat. Yilmazd and Ismail Ocsoy, Synthesis and characterization of green tea (Camellia sinensis (L)Kuntze) extract and its major components-basednanoflowers: a new strategy to enhanceantimicrobialactivity, RSC Adv., September 2017, 7, 44-303.
- [26]Jae-Min Song, Kwang-Hee Lee, Baik-Lin Seong, Antiviral effect of catechins in green tea on influenza virus, Antiviral Research68 ,2005, 66–74.
- [27]Shengmin.Sang,Joshua D. Lambert,Shiying.Tian, Jungil. Hong, Zhe. Hou,Jae-He.Ryu, Ruth E. Stark,c Robert T. Rosen,bMou-Tuan Huang,a Chung S. Yangaand Chi-Tang Hob ,Enzymaticsynthesis of teatheflavinderivatives and theiranti-inflammatory and cytotoxicactivities, Bioorganic&MedicinalChemistry12 ,2004,459– 467.
- [28] D. Lafon, Sélection d'avis ou rapports de l'Agence nationale de sécurité' sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) publiés en 2012, Elsevier Masson SAS;74.2013, 167-177

- [29] F. Roussac ,A.Roussac. Analyse Chimique Méthodes et techniques instrumentales. 8ème édition, DUNOD, 8e édition, Dunod, 2016, 5.
- [30] Gwenola. B, Jean - louis B, Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications, 3e édition, Lavoisier, Editions TEC & DOC, 2011,4.
- [31] F. Rouessac et A. Rouessac. Analyse Chimique. Méthodes et techniques instrumentales modernes, 6ème édition (Dunod),2004 , 40- 65
- [32] D.A. Skoog, D.M. West, F.J. Holler. Chimie analytique (De Boeck) Paris 1997, 513-514.
- [33]J. Merle d'Aubigne, C. Landault, G. Guiochon, Méthodes de préparation des colonnes capillaires utilisées en chromatographie en phase gazeuse, 1971, Volume 4, 309–326
- [34] M.Gullot, Pasini, P. fantucci, R. Ugo, R.D.Gillard,Encyclopediauniversalis corpus, 2002.
- [35]D.Monsuy,battioni,Biorganiquecatalysis, 1993, 365.
- [36]D. F. Shriver, P.W. atkins. Chimieinorganique, Paris, © De BoeckUniversité, 2001, V763, 221.
- [37]M.Ashraf ,K. Mahmood, A. Wajid, Synthesis, Characterization and Biological Activity of Schiff Bases. IPCBEE, 2011, 10, 1–7.
- [38]S. Dyagi; Y.Degani, In spatai, Thechemistry of the carbon nitrogen double bands,.IntensciencePublishers, London, 1970,V71.
- [39] M.colligaris, L.Rand,ACIO, ACTA, 35,1979, 2775.
- [40]K.Claude, W, Friedli, Chimie générale pour ingénieur, Presses Polytechniques et UniversitairesRomandes,November 20. 2002, Chapitre 5,V 701, 97.
- [41] Marie-Anne Van de Wiel, Inalci de Aguirre ‘Introduction à la chimie générale: Vol. 2 - Chimie minérale, bruxelles, © De Boeck&Larcier s.a.1988, 444-445.
- [42] H.Descimon, M.Barial,.Application de la Chromatographie sur couche mince de cellulose a separation des pterinesnatulelles, Journal of chromatography, le 1 avril 1966 , 391-397
- [43] E.Bourgauet, C.Auge, Les techniques de laboratoire, ellipses, juin 2008, 85
- [44] R.Rosset, M.Caude, A.Jardy, Chromatographies en phase liquide et supercritique , MASSON, 1991, 3.
- [45] D. Mchale, Adulteration of citrus oils, Med. Aromat. Plants--Ind. Profiles 26, 2002, 496-517
- [46][https://fr.wikipedia.org/wiki/Chromatographie sur couche mince](https://fr.wikipedia.org/wiki/Chromatographie_sur_couche_mince) 3/06/2018

- [47]Ch.B.Airaudov.CerriA.Gayte-SorbierJ.Andrianjafiniony,273-285CB, Airaudov,
Chromatographie sur couches minces de colorants naturels, *journal of chromatography A*.
1983, vol 261.
- [48]Chevallier A. Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse.2001, 293.
- [49]El-Olemy M.M., Al-Muhtadi F.J., Afifi A.A. ExperimentalPhytochemistry. A
LaboratoryManual. King SaudUniversityPress, Riyadh, SaudiArabia.1994
- [50] SiddiqueA , Sayed M, Mizanur R, Amazadhossain M, Abdrachid M ; phytochemical
screening and comparative antimicrobialpotential of differentextracts of
SteviarebaudiansBertoni ;*journal of Tropical Disease*,2014; 4 :220-280.
- [51] Sanhaji O, Faid M, EllyachiwouiM ; Etude de l'activité antifangique de divers extrait
de canelle ;*journal de Micrologai Médicale* ;2005 ; 15 :220-229.
- [52] Benzeggouta. N, Evaluation des effets biologiques des extraits aqueux de plantes
médicinales seules et combinées, Thèse de Doctorat en Sciences, Université de
Constantine.2014.
- [53]Denis MEISSNER,Quality control methods for medicinal plant materials,World
HealthOrganization,2011, 47.
- [54] Shahidi. F, Naczk. M, Phenolics in Food and Nutraceuticals, CRC Press. 2004, 500.

ملخص

قمنا بتحليل الكيمياء للمستخلص المائي (مغلي) الشاي الأخضر (*Camellia sinensis*) الذي يظهر وجود العديد من المركبات تتألف خصوصا من المركبات الصابونية والعفص، أيضا قمنا بتنفيذ طريقة الكروماتوجرافي لمعرفة أفضل نظام فصل. تقييم تأثير التآكل (الصدأ) المضادة للأكسدة هي مشجعة جدا لأنهم الحصول على كمية جيدة من المواد المضادة للأكسدة ولكن دون تثبيط على تآكل المسامير.

الكلمات المفتاحية: الشاي الأخضر ، المستخلص المائي ، التحليل الكيميائي النباتي ، وتأثير مضاد للأكسدة.

Résumé

L'extrait aqueux (décoction) de *Camellia sinensis* a été soumis a une analyse phytochimique qui a montre le plus une présence de plusieurs composées surtout les saponines et les tanins. On a effectué aussi méthode chromatographique pour connaitre le meilleur système de séparation. L'évaluation de l'effet anticorrosif et antioxydant est très satisfaisante puisqu'on a obtenu une bonne quantité de molécules antioxydantes mais sans effet inhibiteur sur la corrosion des clous.

Mots clés : *Camellia sinensis*, décoction, screening phytochimique, effet antioxydant.

Abstract

The aqueousextract (decoction) of *Camellia sinensis*wassubmittedunder phytochemical analysiswhichdemonstrate the presence of several components especially saponins and tannins. The chromatographic analysis was used to find the best system of separation. The anticorrosive and antioxidant effect were very satisfying since we obtained a good quantity of antioxidant molecules but without inhibition of corrosion.

Keywords: *Camelliasinensis*, phytochemical screening, decoction, antioxydant effect.