



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

**Université des Frères Mentouri Constantine 1**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie 1**  
**Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences biologiques

Spécialité: Biochimie appliquée

## **Investigation chimique, phytochimique et biologique du café et du marc de café**

**Présenté et soutenu par :**

**AISSANI Oumnia**

**DEROUICHE Oumeima**

**Le : 10/07/2019**

**Devant le jury :**

**Président**

**Mr. ARHAB Rabah**

**Pr. Université Oum El Bouaghi**

**Encadreur :**

**M<sup>me</sup> AMOKRANE Serine**

**Maitre de recherche B, C.R.Bt**

**Co-encadreur**

**Mr. ENSOUICI Chawki**

**Maitre de recherche B, C.R.Bt**

**Examineur :**

**M<sup>elle</sup> : ABDELAZIZ Wided**

**MCB, Université Mentouri 1**

## **Remerciement**

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.*

*Ce travail a été réalisé au Centre de Recherche en Biotechnologie (C.R.Bt), Constantine, Algérie.*

*Nous tenons à remercier notre encadreur Mm : **Serine Amokrane**, ses conciles et son aide durant toute la période du travail.*

*Merci également au **Dr C. bensouici** directeur de laboratoire de biochimie au Centre de Recherche en Biotechnologie.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury Monsieur le président **Pr ARHAB rabah** et **Dr ABEDELAZIZ wided** pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail Et de l'enrichir par leurs propositions.*

*Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*



## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes chers parents, ma mère et mon père*

*Pour leur amour, leur soutien, leur encouragement et leur  
patience durant toute la période Précédente de ma vie*

*À mes frères*

*À ma sœur*

*À toute la famille AISSANI de près ou de loin*

*À mes amies et mes collègues d'étude*

*Merci beaucoup*

**AISSANI OUMNIA**



## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à ma mère Warda, qui a œuvré pour ma réussite, mon soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle. Mon père El-Hadi, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi. Mes chères frères Seif, Hocine et Ahcene, que j'aime beaucoup pour leur présence et votre aide et ton soutien moral. Mes tantes ; Mes grandes mères ; A la mémoire de mes grands-pères allah yarhamhoum ; Mes amis proches et mes collègues d'études.*

**OUMEIMA DEROUICHE**

# TABLE DES MATIERES

|                            |   |
|----------------------------|---|
| Introduction générale..... | 1 |
|----------------------------|---|

## Première partie : Revue Bibliographique

### Chapitre I : Le café et le marc du café

|  |    |
|--|----|
| 1. Le café.....  | 3  |
| 1.1. Définition.....   | 3  |
| 1.2. Propriétés physiques.....                                     | 4  |
| 1.3. Propriétés chimiques.....                                     | 4  |
| 1.4. Propriétés biologiques.....                                   | 7  |
| 1.4.1. Le café et les antioxydants.....                            | 7  |
| 1.4.2. Le café et l'activité anti-inflammatoire.....               | 7  |
| 1.4.3. Le café et l'activité antimicrobienne.....                  | 7  |
| 1.4.4. Le café et le diabète.....                                  | 7  |
| 1.4.5. Le café et la santé cérébrale.....                          | 8  |
| 1.4.6. Le café et les maladies cardio-vasculaires.....             | 8  |
| 1.4.7. Le café et le cancer.....                                   | 8  |
| 2. Le marc du café.....  | 8  |
| 2.1. Définition.....   | 8  |
| 2.2. Propriétés physiques.....                                     | 8  |
| 2.3. Propriétés chimiques.....                                     | 9  |
| 2.4. Domaines de valorisation du marc de café.....                 | 11 |
| 2.4.1. Energie et production de biocarburants.....                 | 11 |
| 2.4.2. Agriculture et génération des composts.....                 | 12 |
| 2.4.3. Applications cosmétiques, médicales et pharmaceutiques..... | 13 |

### Chapitre II : Les principaux composés secondaires isolés du café

|                                       |    |
|---------------------------------------|----|
| 1. Généralités.....                   | 14 |
| 2. Les composés phénoliques.....      | 14 |
| 2.1. Les flavonoïdes.....             | 15 |
| 2.2. Les tannins.....                 | 15 |
| 2.2.1. Les tannins hydrolysables..... | 16 |
| 2.2.2. Les tannins condensés.....     | 16 |
| 3. Les alcaloïdes.....                | 17 |
| 4. Les terpénoïdes.....               | 18 |

### Chapitre III : Les Activités biologiques polyphénols

|   |    |
|---|----|
| 1. Les activités antioxydantes.....   | 19 |
| 1.1. Généralité sur les antioxydants.....   | 19 |
| 1.2. L'activité antioxydante.....   | 19 |
| 1.3. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....                                  | 19 |
| 1.3.1. Le test du 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH).....                                 | 20 |
| 1.3.2. La décoloration ABTS, acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)..... | 20 |
| 1.3.3. Le test utilisant le pouvoir réducteur des ions cupriques (CUPRAC).....              | 21 |

|  |    |
|--|----|
| <b>2. Les activités enzymatiques</b> .....   | 22 |
| 2.1. L'activité anti cholinestérase.....   | 22 |
| 2.1.1. Généralité sur la maladie d'Alzheimer.....                                    | 22 |
| 2.1.2 Les cholinestérases.....   | 22 |
| 2.1.3. Méthode de mesure de l'inhibition.....  | 21 |
| 2.2. L'activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase..... | 23 |
| 2.2.1. Généralités sur le diabète .....  | 23 |
| 2.2.1.1. Diabète type 1.....   | 23 |
| 2.2.1.2. Diabète type 2.....   | 23 |
| 2.2.2. Cibles thérapeutiques pour le traitement du diabète.....                      | 24 |

## **Deuxième partie : Matériel et Méthodes**

|   |    |
|---|----|
| <b>1. Enquête préliminaire</b> .....  | 25 |
| <b>5. Echantillonnage</b> .....   | 25 |
| 2.1. Préparation du café.....   | 26 |
| 2.2. Préparation du marc de café.....   | 26 |
| <b>3. Analyse comparée de la composition physico-chimique du café et du marc de café</b> .....                        | 27 |
| 3.1. Détermination de la teneur en eau .....  | 27 |
| 3.2. Détermination de la teneur en cendres et en matière organique .....  | 27 |
| 3.3. Détermination de la teneur en matière grasse (MG).....   | 28 |
| 3.4. Détermination de la teneur en protéines .....  | 30 |
| 3.5. Détermination de la teneur en sucres totaux .....  | 31 |
| 3.6. Détermination du PH .....  | 32 |
| <b>4. Analyses phytochimiques du café et du marc de café</b> .....  | 32 |
| 4.1. Préparation de l'extrait brut du marc de café par macération (solide-liquide).....                               | 32 |
| 4.2. Préparation de l'extrait brut du café torréfié par sonication.....   | 33 |
| 4.3. Analyses colorimétriques des extraits bruts par spectrophotométrie UV-visible.....                               | 34 |
| 4.3.1. Détermination de la teneur en phénols totaux (PT).....   | 35 |
| 4.3.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux (FT).....   | 35 |
| 4.3.3. Détermination de la teneur en tanins condensés (TC) .....  | 36 |
| 4.4. Analyse chromatographique des extraits par HPLC.....   | 36 |
| 4.5. Préparation des huiles grasses du café et du marc par Soxhlet.....   | 38 |
| <b>5. Evaluation des activités biologiques des extraits bruts/ des huiles grasses</b> .....                           | 39 |
| <b>5.1. Determiation du potentiel antioxydant des échantillons</b> .....  | 39 |
| 5.1.1. Activité du piégeage du radical 2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH).....                                     | 39 |
| 5.1.2. Activité du piégeage du radical 2,2'-azinobis-(3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS <sup>+</sup> )..... | 39 |
| 5.1.3. Le pouvoir réducteur des ions cupriques (CUPRAC) .....   | 40 |
| <b>5.2. Determiation du potentiel enzymatique des échantillons</b> .....  | 39 |
| 5.2.1- L'activité anticholinestérase et antibutyrylestérase.....  | 39 |
| 5.2.2. L'activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase.....  | 41 |
| 5.2.3- L'activité inhibitrice de l' $\alpha$ -glycosidase.....  | 42 |
| <b>5.3. Determiation du potentiel antimicrobien des échantillons</b> .....  | 42 |
| 5.3.1. L'activité antifongique.....   | 42 |
| 5.3.2. l'activité antibactérienne.....  | 44 |
| <b>6. Analyse statistique</b> .....   | 44 |

## Troisième partie : Résultats et Discussion

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. Analyses physico-chimiques des échantillons.....</b>   | <b>45</b> |
| 1.1. Teneur en eau (taux d'humidité).....  | 45        |
| 1.2. Teneur en minéraux .....  | 46        |
| 1.3. Teneurs en matières grasses.....  | 46        |
| 1.4. Teneurs en protéine.....  | 47        |
| 1.5. Teneurs en sucres.....  | 48        |
| 1.5. Le PH.....  | 48        |
| <b>2. Analyses phytochimiques des échantillons.....</b>  | <b>49</b> |
| 2.1. Rendement d'extraction du café et du marc de café.....  | 49        |
| 2.2. Rendement d'extraction des huiles par soxhlet.....  | 49        |
| <b>3. Analyses colorimétriques par spectrophotométrie (UV-Visible).....</b>                          | <b>50</b> |
| 3.1. Détermination de la teneur en phénols totaux (PT).....  | 50        |
| 3.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux (FT).....                                      | 51        |
| 3.3. Détermination de la teneur en tanin condensé (TC).....  | 51        |
| <b>4. Analyse chromatographique par HPLC.....</b>  | <b>52</b> |
| <b>5. Evaluation du potentiel antioxydant des échantillons.....</b>                                  | <b>56</b> |
| 5.1. L'activité du piégeage du radical libre DPPH <sup>•</sup> (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)..... | 56        |
| 5.2. L'activité du piégeage du radical-cation ABTS <sup>•+</sup> (scavenging activity).....          | 58        |
| 5.3. L'activité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC).....                                   | 60        |
| <b>6. Evaluation du potentiel enzymatique des échantillons.....</b>                                  | <b>62</b> |
| 6.1. L'activité anti-cholinestérase et anti-butyryléstérase des échantillons.....                    | 63        |
| 6.2. L'activité anti-amylase et anti-glucosidase.....  | 64        |
| <b>7. Evaluation du potentiel antimicrobien des échantillons.....</b>                                | <b>67</b> |
| 7.1. L'activité antibactérienne.....   | 67        |
| 7.2. L'activité antifongique.....  | 68        |
| <b>Conclusion générale.....</b>  | <b>72</b> |

### Références bibliographiques

Annexe 01

Annexe 02

Résumé

Abstract

ملخص

# LISTE DES FIGURES

---

|                  |  |    |
|------------------|--|----|
| <b>Figure 01</b> | Le café torréfié .....   | 3  |
| <b>Figure 02</b> | Les grains de café <b>Arabica</b> (gauche) et <b>Robusta</b> (droite).....   | 3  |
| <b>Figure 03</b> | La couleur de café selon le degré de torréfaction.....                       | 4  |
| <b>Figure 04</b> | La structure poreuse dans les grains de café torréfiés .....                 | 4  |
| <b>Figure 05</b> | Structure des acides chlorogéniques (CGA).....                               | 5  |
| <b>Figure 06</b> | Structure de la caféine.....   | 6  |
| <b>Figure 07</b> | Marc de café .....   | 9  |
| <b>Figure 08</b> | Grain de marc de café prise par microscopie électronique à balayage.....     | 9  |
| <b>Figure 09</b> | production de bioéthanol, biodiesel et biochar à partir de marc de café..... | 12 |
| <b>Figure 10</b> | L'utilisation du marc de café comme fertilisant.....                         | 12 |
| <b>Figure 11</b> | L'utilisation du marc de café dans une crème hydratante.....                 | 13 |
| <b>Figure 12</b> | Les différentes classes des composés phénoliques.....                        | 14 |
| <b>Figure 13</b> | Structure de base des flavonoïdes.....                                       | 15 |
| <b>Figure 14</b> | Principales classes des flavonoïdes.....                                     | 16 |
| <b>Figure 15</b> | Structure générale de tanins hydrolysable.....                               | 17 |
| <b>Figure 16</b> | Structure générale de tanins condensés.....                                  | 17 |
| <b>Figure 17</b> | Structure de la trigonelline.....  | 18 |
| <b>Figure 18</b> | Structure du cafestol et du kahweol.....                                     | 18 |
| <b>Figure 19</b> | La forme réduite DPPH et la forme radical DPPH.....                          | 20 |
| <b>Figure 20</b> | La forme réduite ABTS et la forme radical ABTS •+.....                       | 21 |
| <b>Figure 21</b> | Réaction de CUPRAC par une molécule antioxydante.....                        | 21 |
| <b>Figure 22</b> | Mécanisme chimiques de la méthode d'Ellman.....                              | 23 |
| <b>Figure 23</b> | Préparation du café .....  | 25 |
| <b>Figure 24</b> | Préparation du marc de café.....   | 26 |
| <b>Figure 25</b> | Détermination de la matière sèche.....                                       | 27 |
| <b>Figure 26</b> | Détermination de la matière organique.....                                   | 28 |
| <b>Figure 27</b> | Détermination de la matière grasse.....                                      | 29 |
| <b>Figure 28</b> | Les différentes étapes de la détermination de la teneur en protéines.....    | 31 |
| <b>Figure 29</b> | Détermination du PH.....   | 32 |



|                  |  |           |
|------------------|--|-----------|
| <b>Figure 30</b> | Le procédé d'extraction par macération (liquide-solide). .....   | <b>33</b> |
| <b>Figure 31</b> | Le procédé d'extraction par sonication.....  | <b>34</b> |
| <b>Figure 32</b> | Le lecteur de microplaque.....   | <b>36</b> |
| <b>Figure 33</b> | La chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....   | <b>37</b> |
| <b>Figure 34</b> | Extraction de l'huile grasse du café et du marc par Soxhlet.....   | <b>38</b> |
| <b>Figure 35</b> | Etapes de manipulation de l'activité antifongique des échantillons .....   | <b>43</b> |
| <b>Figure 36</b> | Rendement d'extraction du café et du marc de café par sonication et macération.....  | <b>49</b> |
| <b>Figure 37</b> | Teneurs en polyphénols ( $\mu\text{g GAE/ml}$ ), en flavonoïdes ( $\mu\text{g QE/ml}$ ) et en tanins ( $\mu\text{g cat/ml}$ ) du café et du marc de..... | <b>50</b> |
| <b>Figure 38</b> | Profil chromatographique des composés phénoliques <b>du marc de café</b> à une longueur d'onde 280nm.....  | <b>54</b> |
| <b>Figure 39</b> | Profil chromatographique des composés phénoliques <b>du café torréfié</b> à une longueur d'onde 280nm.....   | <b>55</b> |
| <b>Figure 40</b> | Profil de l'activité scavenging du radical DPPH $\cdot$ des échantillons et des standards à différentes concentrations.....                              | <b>57</b> |
| <b>Figure 41</b> | IC <sub>50</sub> pour l'activité antiradicalaire DPPH $\cdot$ des échantillons et des standards exprimés en $\mu\text{g/ml}$ ( $p \leq 0.001$ ).....     | <b>58</b> |
| <b>Figure 42</b> | Profil de l'activité antiradicalaire ABTS $^{+\cdot}$ des échantillons et des standards différents concentrations.....                                   | <b>59</b> |
| <b>Figure 43</b> | IC <sub>50</sub> pour l'activité antiradicalaire ABTS $^{+\cdot}$ des échantillons et des standards exprimée en $\mu\text{g/ml}$ ( $p \leq 0.001$ )..... | <b>60</b> |
| <b>Figure 44</b> | Activité Cuprac des différents échantillons et des standards à différentes concentrations. ....  | <b>61</b> |
| <b>Figure 45</b> | A <sub>0.50</sub> pour l'activité antioxydante Cuprac des échantillons et des standards exprimée en $\mu\text{g/ml}$ ( $p \leq 0.001$ ).....             | <b>62</b> |
| <b>Figure 46</b> | résultats négatif de l'activité anti-Alzheimer des échantillons (huiles/extraits) .....  | <b>63</b> |
| <b>Figure 47</b> | L'activité de l' $\alpha$ -glucosidase des échantillons et du standard.....  | <b>65</b> |
| <b>Figure 48</b> | L'activité de l' $\alpha$ -amylase des échantillons et du standard.....  | <b>66</b> |
| <b>Figure 49</b> | Résultats négatifs de l'activité antibactérienne des quatre échantillons.....  | <b>68</b> |
| <b>Figure 50</b> | Résultats de l'activité antifongique ( <b>A</b> : témoin négatif ; <b>B</b> : témoin positif).....   | <b>69</b> |

# LISTE DES TABLEAUX

---

|                   |  |           |
|-------------------|--|-----------|
| <b>Tableau 01</b> | Quelques composés chimiques du café torréfié et café vert.....   | <b>05</b> |
| <b>Tableau 02</b> | Les principaux composés du marc de café .....  | <b>10</b> |
| <b>Tableau 03</b> | Programme (temps, débit et gradient de solvants) de l'CLHP pour l'analyse qualitative des extraits....   | <b>37</b> |
| <b>Tableau 04</b> | Le pH, le taux d'humidité et les teneurs en minéraux, en protéines, en sucres totaux et en matières grasses du café et du marc de café (% MS)..... | <b>45</b> |
| <b>Tableau 05</b> | Pourcentage d'inhibition de la croissance de <i>Fusarium oxysporum</i> en présence de différents échantillons .....                                | <b>68</b> |

# LISTE DES ABRÉVIATIONS

---

|                        |  |
|------------------------|--|
| <b>A<sub>0.5</sub></b> | Concentration à A=0,5.                               |
| <b>ABTS</b>            | 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). |
| <b>ACHE</b>            | Acétylcholine estérase.                              |
| <b>BCHE</b>            | Butyrylcholine estérase                              |
| <b>BHA</b>             | Butyl-hydroxy-anisole                                |
| <b>BHT</b>             | Butyl-hydroxy-toluène.                               |
| <b>C</b>               | Café   |
| <b>CUPRAC</b>          | Cupric Reducing Antioxidant Capacity                 |
| <b>DMSO</b>            | Dimethyl Sulfoxyde.                                  |
| <b>DPPH</b>            | 2,2-Di-Phényl-1 -Picryl-Hydrazyl                     |
| <b>DTNB</b>            | 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid.                  |
| <b>FT</b>              | Flavonoïdes totaux.                                  |
| <b>HCl</b>             | Hydrochloric acid.                                   |
| <b>HC</b>              | Huile de café  |
| <b>HM</b>              | Huile du marc de café                                |
| <b>HPLC</b>            | High pressure liquid chromatography                  |
| <b>IC<sub>50</sub></b> | Concentration d'inhibition à 50%.                    |
| <b>MC</b>              | Marc de café   |
| <b>MAT</b>             | Matière azoté total.                                 |
| <b>MeOH</b>            | Méthanol   |
| <b>MG</b>              | Matière grasse                                       |
| <b>MM</b>              | Matière minérale                                     |
| <b>MO</b>              | Matière organique                                    |
| <b>MS</b>              | Matière sèche  |
| <b>PT</b>              | phénol totaux.                                       |
| <b>TC</b>              | Tannins condensé                                     |

## **Introduction**

Aujourd'hui le café est devenu une richesse économique majeure et présente la première denrée agricole échangée en volume, et la deuxième matière première commercialisée dans le monde après le pétrole. Sa production mondiale annuelle est en augmentation continue et elle dépasse 8 millions de tonnes par ans. Près de 50% du café produit dans le monde est destiné à la préparation du café moulu, ce qui génère par sa consommation des quantités importantes d'un résidu solide qu'on appelle le marc de café. Au cours des dernières décennies, la prise de conscience croissante de la nécessité de réduire les déchets, en vue de protéger l'environnement, a stimulé la recherche de méthodes de valorisation du marc de café en usage directe en compostage ou pour la production d'énergie sous forme d'agropellets par combustion. De surcroît, le marc de café peut être utilisé pour en extraire les composés phénoliques. Ce qui suggère la possibilité de son utilisation comme source naturelle d'antioxydants pour l'industrie cosmétique et pharmaceutique (Hadoudi et *al*, 2014).

Les effets bénéfiques du café sur la santé sont généralement attribués à son activité antioxydante élevée (la capacité d'inhiber le processus d'oxydation). De nombreuses publications fournissent une comparaison de l'activité antioxydante dans des boissons populaires telles que le café, le thé et le cacao. L'activité antioxydante du café est liée aux acides chlorogénique, férulique, caféique et n-coumarique qu'il contient (Yashin et *al*, 2013).

Une activité antibactérienne du café contre des espèces à Gram positif et à Gram négatif a été rapportée. L'arabica et le robusta présentent tous les deux une efficacité similaire à cet égard. Le café le plus actif est le café légèrement torréfié (Nebesny et Budryn, 2003).

Le café torréfié contient de nombreux antioxydants tels que les composés phénoliques, la caféine, la trigonelline et les produits de réaction de Maillard. De plus, la caféine et la trigonelline présentent des activités antiradicalaires *in vitro* et *in vivo*. Des études antérieures ont porté sur les effets du degré de torréfaction du café sur sa capacité antioxydante. Récemment, une plus grande attention a été accordée au recyclage de marc du café pour le développement des produits plus sains (Choi et Koh, 2017).

Le café contient de 10 à 15% de lipides, principalement de l'huile de café. Les lipides sont situés dans l'endosperme du grain de café. L'huile de café est composée principalement de triacylglycérols (75%) et d'acides gras (18%), une composition similaire à celle des huiles végétales alimentaires. Les propriétés interfaciales et tensioactives de l'huile de café sont bien connues (M. Deotale, 2011).

Le marc de café est un produit de brassage du café et génère environ 25 millions de tonnes métriques chaque année. Le marc du café contient divers composés organiques tels que l'huile, les acides gras, la lignocellulose et les polysaccharides. L'huile de marc du café n'est pas comestible et peut être utilisée comme matière première pour la production de biodiesel. (Mueanmas et *al*,2018).

Notre problématique est scindée en deux volets ; le premier est basé sur la détermination de la composition chimique et phytochimique du café torréfié et du marc de café à leurs états bruts. Leurs contenus quantitatifs en composés cellulaires (protéines, minéraux, sucres et lipides), en composés phénoliques (flavonoïdes et tanins) sont renforcés par une analyse chromatographique qualitative par HPLC.

Le deuxième volet est focalisé sur la détermination *in vitro* du potentiel antioxydant, enzymatique et antimicrobien des extraits bruts et des huiles gras du café et de son marc obtenu par extraction solide-liquide et par hydrodistillation, respectivement. Trois principaux tests, en l'occurrence, le DPPH, l'ABTS et le CUPRAC sont réalisés afin de déterminer le pouvoir de nos échantillons à réduire et/ou à neutraliser les radicaux libres dans les milieux biologiques. Nos échantillons ont été, ainsi analysés en matière de leur aptitude antidiabétique et anti-Alzheimer via la détermination de l'activité des enzymes directement impliqués dans les deux pathologies, à savoir, l' $\alpha$ -Amylase et l' $\alpha$ -Glucosidase pour la première et l'acétylcholinestérase et le butylcholinestérase pour la deuxième. Le potentiel antimicrobien des échantillons est parallèlement entrepris à travers l'étude de leur effet sur deux communautés microbiennes, à savoir les bactéries et les mycètes avec une multitude de souches de différents types.

D'une manière générale, ce mémoire est subdivisé en trois grandes parties : une partie théorique qui englobe l'ensemble des informations indispensables pour la compréhension du sujet. Une deuxième récapitule les méthodes référencées utilisées pour la détermination des différents paramètres. Les différents résultats obtenus sont présentés et discutés séparément dans une troisième partie. L'absence des travaux menés sur le café et le marc du café algériens offre à notre recherche initiative une originalité et une valeur ajoutée avec des avantages socio-économiques et environnementaux appréciables.

## Chapitre I : Le café et le marc du café

### 1. Le café

#### 1.1. Définition

Le café est l'une des boissons les plus populaires consommées dans le monde et le produit alimentaire le plus important d'un point de vue économique. Le traitement du café peut être divisé en deux étapes : la première, dans lesquels les fruits du café sont décortiqués et mis à sécher, le produit résultant étant les grains de café vert, principal produit du commerce international du café, et la deuxième, qui comprend la production de café torréfié et soluble (Massey, 2016).



**Figure 01:** Le café torréfié (Lembart, 2015)

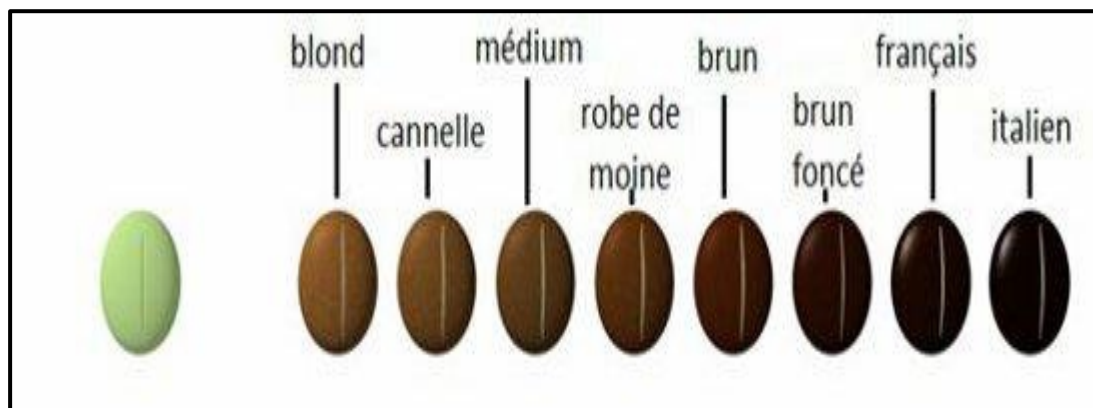
Les grains de café proviennent du fruit du caféier que l'on appelle cerise. Chaque cerise qui passe de la couleur verte à la couleur rouge à maturité contient deux grains de café vert. Arbuste appartenant à la famille des rubiacées, le caféier se décline en deux variétés principales : le « *Coffea Arabica* » qui donne le célèbre Arabica, connu pour sa saveur douce, fine et parfumée, et le « *Coffea Canephora* » qui donne le Robusta, plus corsé et amer (Bernard, 2019).



**Figure 02 :** Les grains de café **Arabica** 'gauche' et **Robusta** 'droite' ( Razumova, 2015).

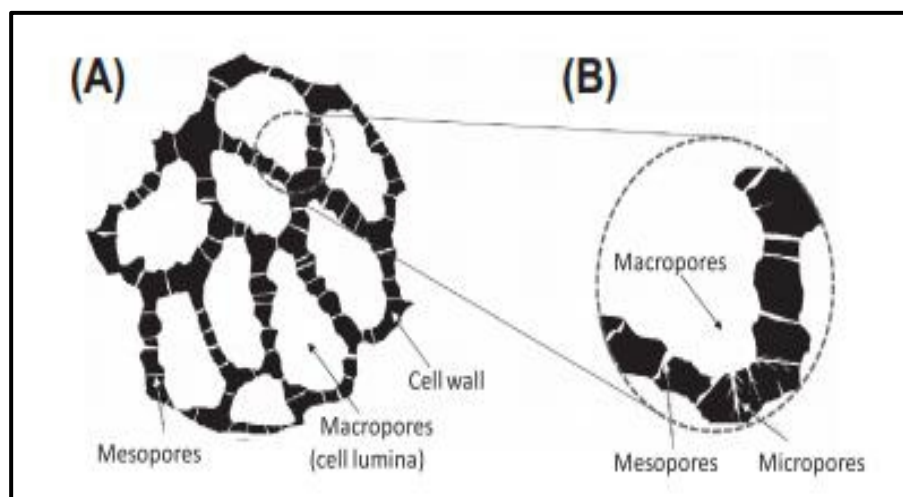
## 1.2. Propriétés physiques

La torréfaction des grains de café fait en sorte que leur couleur change progressivement du gris vert au brun, au brun foncé et au noir, en fonction du degré de torréfaction. Dans les opérations de torréfaction à petite échelle, la couleur des grains est évaluée visuellement par échantillonnage périodique (Xiuju et Loong-Tak, 2015).



**Figure 03** : La couleur de café selon le degré de torréfaction (l'Abbé 2011).

La formation de CO<sub>2</sub> et d'autres substances volatiles lors de la torréfaction entraîne une augmentation de la pression interne des grains. Par conséquent, la torréfaction a induit des modifications structurelles dans les grains de café, telles que l'augmentation du volume et de la porosité et la diminution de la densité (Xiuju et Loong-Tak, 2015).



**Figure 04** : La structure poreuse dans les grains de café torréfiés (Xiuju et Loong-Tak, 2015).

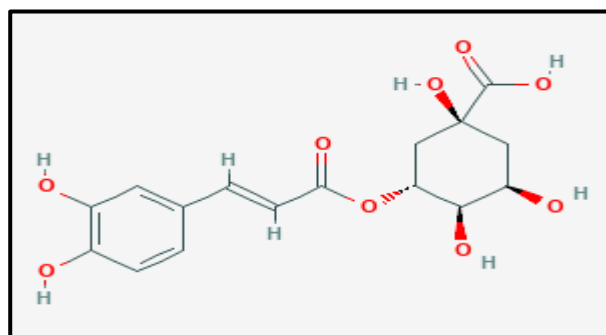
## 1.3. Propriétés chimiques

Les constituants chimique du café vert et torréfié sont résumés dans le tableau 01.

**Tableau 01:** Quelques composés chimiques du café torréfié et café vert

| Component                | Arabica |         | Robusta   |         |
|--------------------------|---------|---------|-----------|---------|
|                          | Green   | Roasted | Green     | Roasted |
| <b>Polysaccharides</b>   | 43-45   | 38      | 46.9-48.3 | 42      |
| <b>Sucrose</b>           | 6.2-8.4 | -       | 0.9-4.8   | -       |
| <b>Lipids</b>            | 15-18   | 17      | 8-12      | 11      |
| <b>Protein</b>           | 8.5-12  | 7.5     | 8.5-12    | 7.5     |
| <b>Amino acids</b>       | 0.2-0.8 | -       | 0.2-0.8   | -       |
| <b>Aliphatic acids</b>   | 2-2.9   | 1.6     | 1.3-2.2   | 1.6     |
| <b>Chlorogenic acids</b> | 6.7-9.2 | 2.5     | 7.1-12.1  | 3.8     |
| <b>Caffeine</b>          | 0.8-1.4 | 1.3     | 1.7-2.4   | 2.4     |
| <b>Trigonelline</b>      | 0.6-1.2 | 1.0     | 0.3-0.9   | 0.7     |
| <b>Minerals</b>          | 3-5.4   | 4.5     | 3-5.4     | 4.7     |
| <b>Volatile aroma</b>    | Traces  | 0.1     | Traces    | 0.1     |
| <b>Water</b>             | 8-12    | 0-5     | 8-12      | 0-5     |
| <b>Melanoidins</b>       | -       | 23      | -         | 23      |

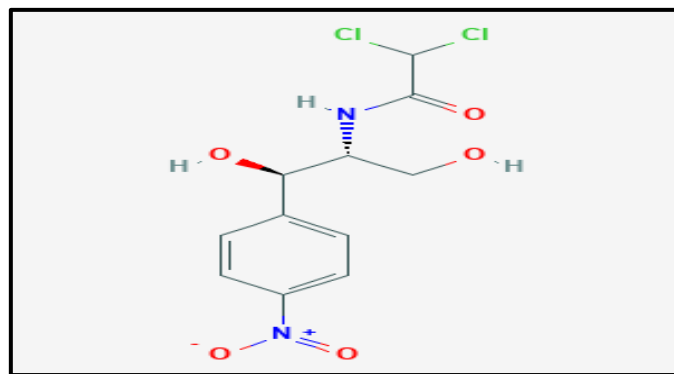
Ils sont composés principalement des **acides chlorogéniques (ACG)** qui sont des esters phénoliques de l'acide quinique et des acides transcinnamiques (principalement les acides caféique, férulique et p-coumarique dans les grains de café vert), dont les acides caféoylquiniques constituent la fraction de ACG la plus abondante, représentant environ 80% et 76% de la ACG totale des grains verts arabica et robusta, respectivement (Xiuju et Loong-Tak, 2015).

**Figure 05 :** Structure des acides chlorogéniques (CGA).



**La caféine** constitue ainsi un composant majeur du café, elle est un dérivé de la purine qui est une poudre blanche sans odeur avec un goût amer et une faible solubilité dans l'eau (21,6 g / L). La caféine se trouve dans une grande variété de plantes, généralement en faible quantité, et semble jouer un rôle protecteur chez ces plantes.

La teneur en caféine varie selon le type de grain de café testé. On rapporte que les grains d'arabica contiennent de 10 à 12 mg de caféine / g de café. Les grains de robusta contiennent de 19 à 21 mg de caféine / g de café ( Benjamin et *al.*, 2017).



**Figure 06:** Structure de la caféine.

A côté de la caféine, les autres fractions azotées du café comprennent les protéines et les acides aminés libres. **Les protéines** représentent environ 8,5 à 12% (base sèche) des grains de café vert. Les protéines de café vert sont principalement des protéines de stockage 11S et contiennent une quantité à peu près égale de fractions solubles dans l'eau et insolubles dans l'eau. Les protéines solubles dans l'eau sont principalement constituées de globulines (85%) et d'albumines (15%) (Xiuju et Loong-Tak, 2015) .

Les grains de café contiennent entre 8% et 18% (base sèche) **graisse** selon la variété et l'espèce. Le robusta vert a généralement une teneur en lipides inférieure à celle de l'arabica. Environ 75% de l'huile de café est sous forme de triglycérides, les acides linoléique et palmitique étant les principaux acides gras (Xiuju et Loong-Tak, 2015) .

**Les polysaccharides** constituent environ la moitié de la matière sèche du grain brut et sont le principal matériau de construction de la paroi des cellules. La fraction soluble de polysaccharides contribue aux caractéristiques organoleptiques du café infusé, comme le crémeux (viscosité), sensation en bouche, rétention des composés aromatiques et stabilité de la mousse dans les machines expresso (Xiuju et Loong-Tak, 2015) .

## 1.4. Propriétés biologiques

### 1.4.1. *le café et les antioxydants*

Une étude a montré que la caféine et ses métabolites, la 1-méthylxanthine et le 1-méthylurate, protégeaient contre l'oxydation des lipoprotéines de basse densité, par leur activité antioxydante. la 1-méthylxanthine et le 1-méthylurate, seraient de puissants antioxydants *in vitro* et *in vivo*. Il a été découvert que les acides chlorogéniques et l'acide caféique inhibaient l'oxydation de l'acide linoléique (Benjamin et al., 2017). Ces auteurs ont également signalé que l'acide 3,5-dicaffeoylquinique était un antioxydant plus puissant que les acides caféiques .

### 1.4.2. *Le café et l'activité antiinflammatoire*

Les acides chlorogéniques régulent négativement l'IL-8, produisant un effet anti-inflammatoire pour le TNF- $\alpha$  et l'inflammation induite par le peroxyde *in vitro*. Les composés phénoliques, tels que les acides chlorogéniques, réduisent l'activité de la cyclooxygénase et diminuent ainsi la production de prostaglandines et de leucotriènes (Benjamin et al., 2017).

### 1.4.3. *le café et l'activité antimicrobienne*

L'activité antimicrobienne d'un extrait de caféier Arabica régulier et décaféiné a été évaluée par rapport à trois bactéries différentes à Gram positif et deux bactéries à Gram négatif. L'extrait de café ordinaire a montré un effet bactériostatique significatif contre *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* lors de courtes expositions et est devenu bactéricide après une exposition prolongée (Runti et al., 2014).

### 1.4.4. *Le café et le diabète*

Les acides chlorogéniques jouent également un rôle dans le métabolisme du glucose, ils ont entraîné une réduction du pic de glucose plasmatique dans un test de tolérance au glucose oral. Ils pourraient servir à réduire la glycémie globale en plusieurs mécanismes. Un tel mécanisme implique l'augmentation de l'absorption de glucose dans le muscle squelettique via l'activation de la voie AMPK. De plus, l'acide chlorogénique inhibe deux enzymes clés, l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase, liées au diabète de type 2, ce qui est également proposé comme l'un des mécanismes par lequel le café ou les sous-produits du café induisent la glycémie dans le sang suggère que les acides chlorogéniques peuvent réduire le débit de glucose hépatique (Benjamin et al., 2017).

#### **1.4.5. Le café et la santé cérébrale**

Il a été démontré que la caféine avait des effets bénéfiques significatifs sur les patients atteints de la maladie de Parkinson, entraînant une amélioration de l'activité motrice. Ces effets ont été médiés par les effets neuroprotecteurs et la neuro-restauration par les protéines tropicales (TGF- $\beta$ , facteur neurotrophe dérivé des cellules gliales, neuturine et protéines morphogéniques osseuses). De plus, la caféine semble être utile dans la prévention de la maladie d'Alzheimer et le renversement de ses symptômes par inhibition et diminution de la formation de plaques de  $\beta$ -amyloïde (Benjamin et al., 2017).

#### **1.4.6. Le café et les maladies cardio-vasculaires**

Dans l'étude publiée par la revue *Annals of Internal Medicine*, menée aux États-Unis sur plus de 185.000 adultes, les auteurs ont constaté un lien entre une plus grande consommation de café et un risque plus faible de mortalité résultant d'une maladie cardio-vasculaire, telle qu'un infarctus ou un arrêt cardiaque (Aurélien, 2017).

#### **1.4.7. Le café et le cancer**

Des chercheurs d'Harvard affirment que boire 4 tasses ou plus de café par jour est lié à une réduction de risque de 25% de développer un cancer de l'endomètre. Boire entre 2 et 3 tasses par jour réduit ce risque de 7%. De même, en 2013, l'Association américaine de gastro-entérologie soulignait que 3 tasses de café par jour réduisent de moitié le risque de développer un cancer du foie (Aurélien, 2017).

## **2. Le marc du café**

### **2.1. Définition**

Le marc de café est le résidu insoluble après la déshydratation, la mouture et l'infusion des grains de café. Il existe deux sources : celles générées par l'industrie du café soluble représentent environ 50% de la récolte mondiale de café chaque année, et celles générées par les cafés et le public, représentant les 50% restants (Cruz et al., 2016).

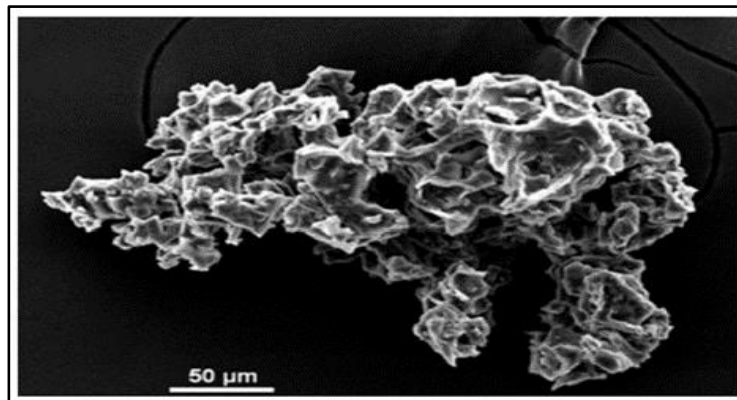
### **2.2. Propriétés physiques**

En ce qui concerne la morphologie des grains de 200  $\mu$ m pour le marc de café commercial. Cependant, ce diamètre augmente avec le taux d'humidité. En effet, lorsque le marc de café devient de plus en plus humide, l'adhésion entre les grains augmente et ces derniers forment des agglomérats de plus grande taille.



**Figure 07 :** Marc de café (Aurore, 2019)

En ce qui concerne leur porosité, les grains de marc de café ne possèdent pas de micropores. En général, la porosité est de 0,63, peu importe le taux d'humidité et la taille des pores, est d'environ 10  $\mu\text{m}$ . (Chen et *al*, 2103) Toutefois, cette porosité peut être augmentée si nécessaire en diminuant la cristallinité du marc de café en dégradant sa matrice cellulose-lignine (Ballesteros et *al*, 2010).



**Figure 08:** Grain de marc de café prise par microscopie électronique à balayage  
(Chen et autres, 2013)

### 2.3. Propriétés chimique

La composition du marc de café est essentiellement faite de polysaccharides, de lipides, de protéines, de polyphénols et de minéraux (Zamora et *al*, 2015). Le tableau 01 présente des composés retrouvés dans le marc de café.

Le marc de café est reconnu comme une source importante de matières **lignocellulosiques**. Le glucane (cellulose), les hémicelluloses et la lignine sont les principaux composants de la biomasse lignocellulosique. La teneur en lignine est faible dans les grains de café, environ

5 % cependant, après la production de café soluble, le marc de café s'enrichit en teneur de lignine. (Massey,2016) (tableau 02)

**Tableau 02** : Les principaux composés du marc de café

( Limousy et *al*, 2013; Musatto et *al*, 2011b)

| Elements           | Quantités                   |
|--------------------|-----------------------------|
| <b>Glucides</b>    | 45.3                        |
| <b>Lipids</b>      | 9.3-16.2                    |
| <b>Protéines</b>   | 14                          |
| <b>Minéraux</b>    | 6800 mg/kg de matière sèche |
| <b>Polyphénols</b> | 13-18 mg acide gallique éq  |

Le marc de café est reconnu comme une source importante de matières **lignocellulosiques**. Le glucane (cellulose), les hémicelluloses et la lignine sont les principaux composants de la biomasse lignocellulosique. La teneur en lignine est faible dans les grains de café, environ 5 % cependant, après la production de café soluble, le marc de café s'enrichit en teneur de lignine. (Massey,2016) (tableau 02)

**Les glucides** sont les éléments les plus abondants dans le marc de café. Plus précisément, le marc de café contient 46,8 % de mannose, 30,4 % de galactose, 19 % de glucose et 3,8 % d'arabinose. Ces données varient d'une étude à l'autre, cela pouvant être dû à la variété des grains de café utilisés. Dans le marc de café expresso, le galactomannane est le plus abondant et représente 50 % des glucides (Ballesteros et *al*, 2010, Kondamudi et *al*, 2008b).

En ce qui concerne **les lipides**, les données varient principalement entre 9,3 % et 16,2 %, parfois aux alentours de 20 %. De plus, cet ordre de grandeur ne varie pas significativement entre l'arabica et le robusta. Aussi, les lipides du marc de café sont composés de 84,4 % de triglycérides. (Vega et *al*, 2015).

De plus, le marc de café contient entre 6,7 et 14 % de **protéines** selon les études et est de même ordre chez l'arabica ou le robusta. Cependant, il se peut que ces estimations soient surévaluées à cause de la présence d'autres composés contenant de l'azote tel que la caféine ainsi que plusieurs acides aminés. En effet, 17 aminés sont présents dans le marc de café, dont les neuf acides aminés essentiels. Ces derniers représentent presque 50 % des acides aminés présents. Il possède une forte concentration en acides aminés à chaîne latérale ramifiée (BCAA) (Vega et al, 2015) .

**Les minéraux** sont présents dans le marc de café aussi, en plus grande quantité dans le marc de café à espresso, que dans le marc de café filtre. Le tableau 03 détaille les principaux

Le marc de café contient également d'autres éléments d'intérêts tels que des antioxydants. Tout d'abord, plusieurs tanins sont présents dans le marc de café. Parmi eux, la catéchine, la gallocatéchine, la gallocatéchine galate et l'acide chébulique. La catéchine est un antioxydant puissant qui possède une action complémentaire à la vitamine C. (Low et al, 2015). Les tanins ne sont pas les seuls antioxydants présents dans le marc de café. En effet, d'autres polyphénols sont présents ainsi que de la caféine. Parmi ces polyphénols, les principaux sont les flavonoïdes, l'acide protocatéchique et l'acide chlorogénique. Ce sont les acides chlorogéniques qui sont retrouvés en plus grande abondance, celui-ci étant plus important dans le marc de café arabica que dans le marc de café robusta (Carassou, 2015).

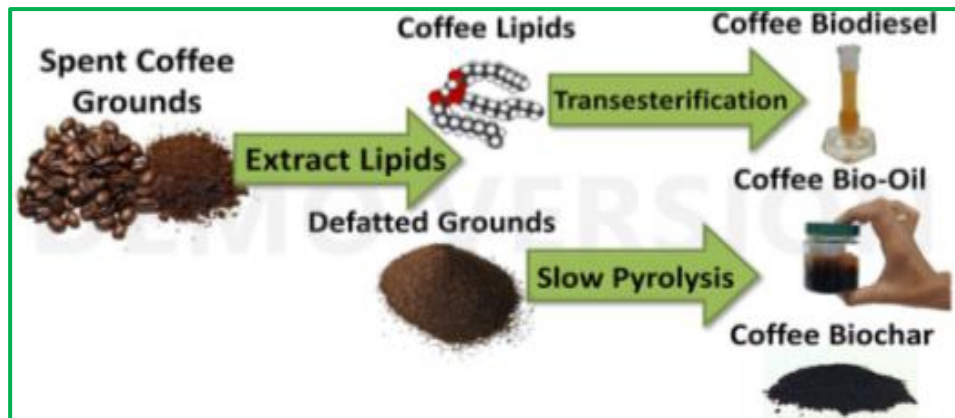
## **2.4. Domaines de valorisation du marc de café**

Le marc de café peut être utilisé dans différents domaines et peut servir à produire différents produits, Parmi ces domaines :

### ***2.4.1. Energie et production de biocarburants***

D'après Gomez-de la Cruz et al (2015), les productions successives de différents biocarburants sont possibles avec le marc de café. Cependant, certaines étapes sont nécessaires afin d'obtenir un rendement optimal. La production de biocarburant nécessite au préalable le séchage du marc de café, de ce fait, éliminer l'humidité est nécessaire afin d'obtenir des solvants de qualité dans la production de biocarburant (biodiesel, bioéthanol, biohuile). Le marc de café peut produire une multitude de combustible et peut encore être utilisé en pyrolyse pour fabriquer du biochar, comme l'illustre la figure 09.

Le biochar produit peut ainsi être utilisé notamment pour l'amendement de sol et la séquestration du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) (Ippolito et autres, 2010).



**Figure 09** : production de bioéthanol, biodiesel et biochar apartir de marc de café

(Vardon et *al*, 2013)

#### 2.4.2. Agriculture et génération des composts

Avec un bon ratio C/N, le marc de café peut être utilisé comme fertilisant. Ainsi, trois méthodes de compostage avec du marc de café ont été comparées, soit le vermicompostage, le compostage en cuve et le compostage en andain (Adi et Noor, 2009). Le compostage en cuve présente des résultats plus rapides, mais montre une plus grande perte en azote. Or le compostage en andain montre une plus grande augmentation en azote à hauteur de 75.



**Figure 10** : L'utilisation du marc de café comme fertilisant (vidal,2018)

Toutefois, le marc de café utilisé dans cette optique doit au préalable être dénué de mélanoides, car ces composés présents dans le marc de café possèdent une très bonne activité antimicrobienne. Cependant, grâce à cette propriété antimicrobienne, les mélanoides peuvent être utilisés pour lutter contre la croissance de pathogènes dans les aliments (Zamora et *al*, 2015).

### 2.4.3. Applications cosmétiques, médicales et pharmaceutiques

D'après Coupez (2019), le marc de café est plein de propriétés cosmétiques. C'est un très bon exfoliant. Il permet d'éliminer les cellules mortes de la peau. La caféine permet d'activer la circulation et de régénérer la peau. Les grains très fins sont antioxydants et vont stimuler le renouvellement cellulaire.



**Figure 11** : L'utilisation du marc de café dans une crème hydratante (Tarlayan, 2018)

Les résidus de café ont été introduits dans un médicament contenant des haricots et du *Glycyrrhizae radix* en tant que médicament contre le SIDA. Les dérivés de café, cafestol et kahweol possèdent des propriétés anticancéreuses, ils ont été utilisés comme des ingrédients cosmétiques actifs (en cas de la cellulite et le régime 'love handles') et le cafestol a été utilisé comme un hydratant pour la peau sèche (van Dam et Harmsen, 2010).



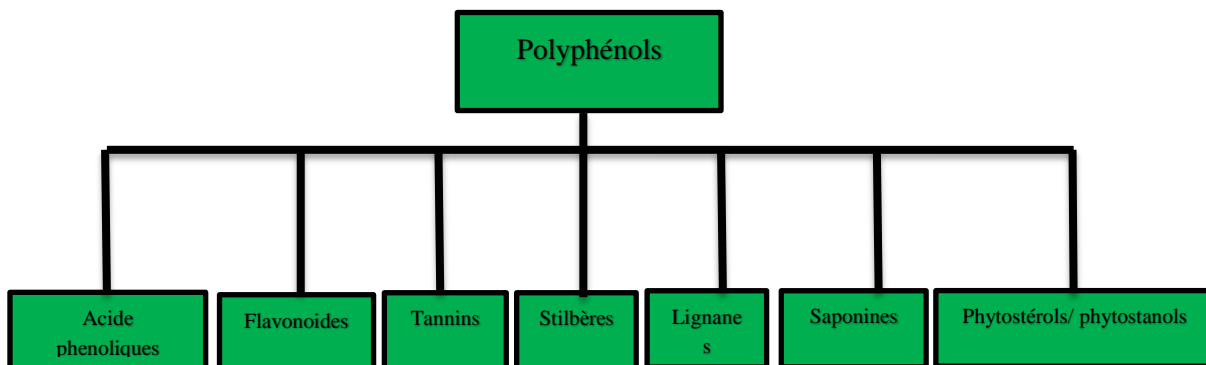
## Chapitre II : Les principaux composés secondaires isolés du café

### 1. Généralités

Le terme « extrait brut », habituellement utilisé, bien que très vague, regroupe des mélanges de molécules obtenues grâce à différentes techniques d'extraction, à partir de végétaux ou parties de végétaux. Les molécules actives de ces produits sont issues du métabolisme dit secondaire des plantes car elles proviennent de voies différentes de celles essentielles à la vie, que sont la photosynthèse, la glycolyse ou encore la synthèse des acides aminés. Bien que les polyphénols présents dans le café sont très divers, dans cette étude seront passés en revue les effets de quelques **composés phénoliques (flavonoïdes et tanins condensés)**, terpéniques et alcaloïdes contenus dans les extraits du café et du marc du café sur les différentes activités biologiques (antioxydantes, enzymatiques et antimicrobiennes).

### 2. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires constituant une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal, (Boizot N et Charpentier J.P., 2006). Ils regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants (Bamforth., 2000). Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées, elles varient depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (Macheix J J et al., 2005). Ces composés comprennent : les quinones, les coumarines, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbénoides, les lignanes, et les xanthonés. (stalikas, 2007).



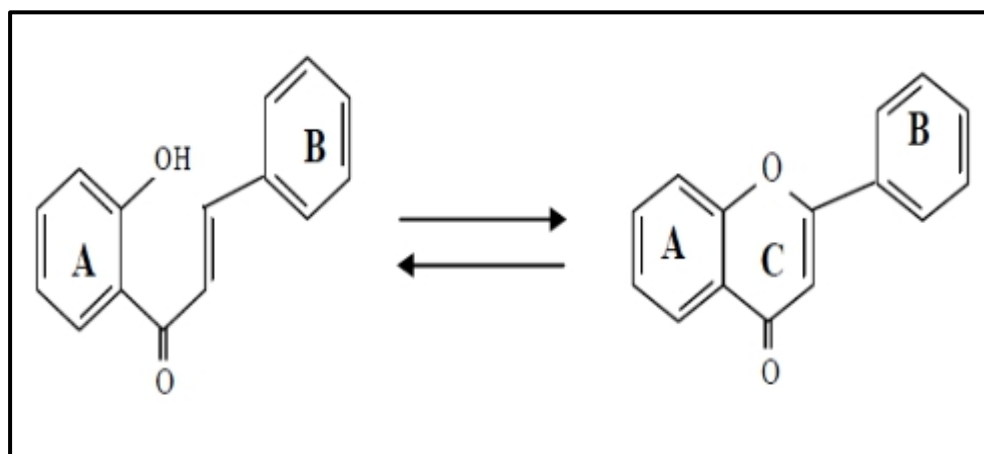
**Figure 12 :** Les différentes classes des composés phénoliques.

## 2.1. Les flavonoïdes

### Chimie des flavonoïdes

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (Edenharder et Grünhage, 2003).

Ils sont trouvés dissous dans la vacuole des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes. Ils ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane (Macheix et al., 2005). Leur variation structurelle émane, en partie, du degré et le mode d'hydroxylation, méthylation, prénylation ou glycosylation.



**Figure 13** : Structure de base des flavonoïdes (Heller et Forkmann, 1993)

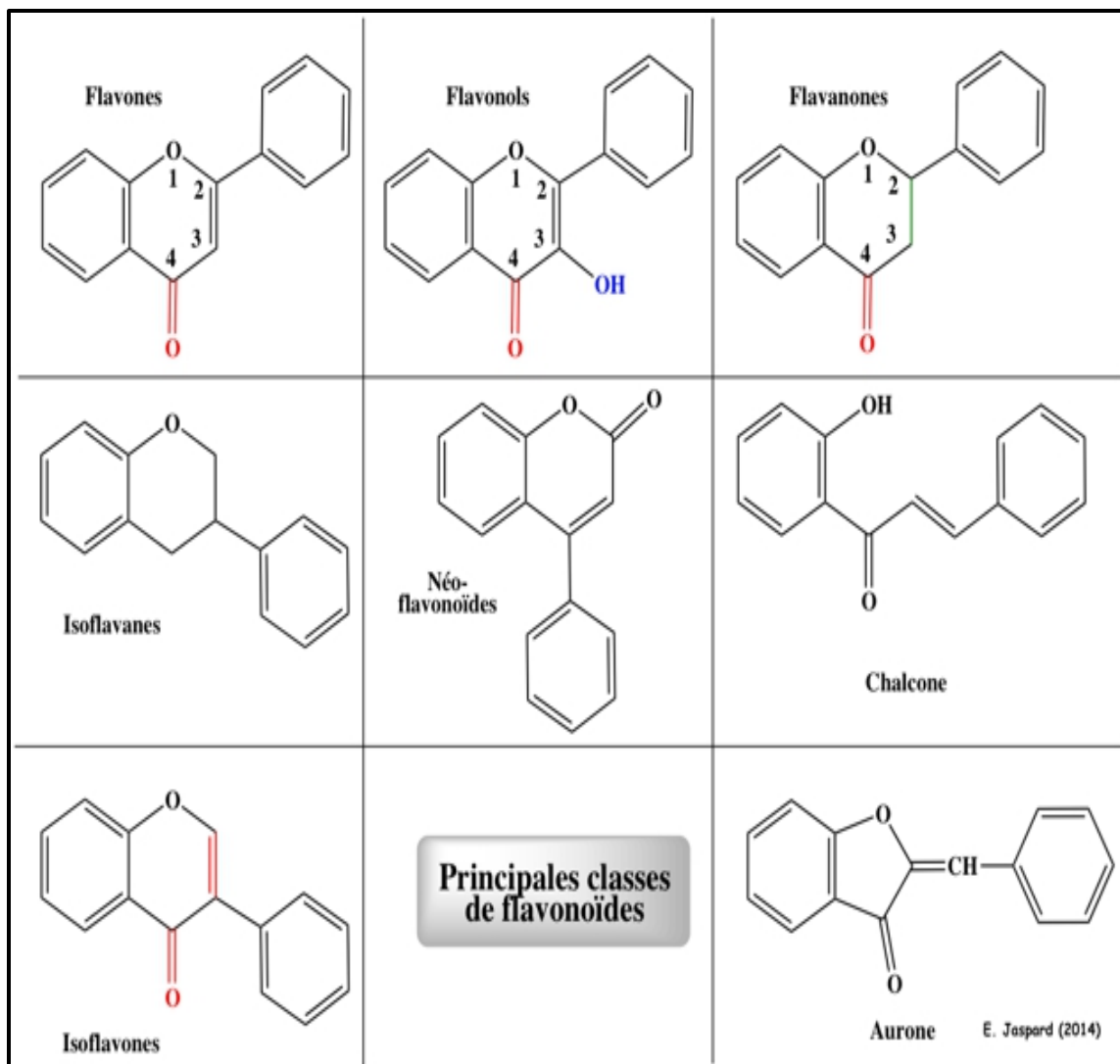
Ces divers composés se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycoside. En basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes : flavonoles, flavones, flavanones, isoflavanes, Chalcones, isoflavones et auronnes (Havsteen, 2002 ; Edenharder and Grünhage, 2003).

## 2.2. Les tannins

### Chimie des tanins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (Kamra et al., 2006). Leur structure chimique comprend au moins un noyau aromatique et un ou plusieurs groupements phénoliques (Figure

15, 16). Selon leur structure, ils sont généralement classés en deux groupes : les tannins hydrolysables et les tannins condensés (Athanasidou *et al.*, 2001; Hassanpour *et al.*, 2011).

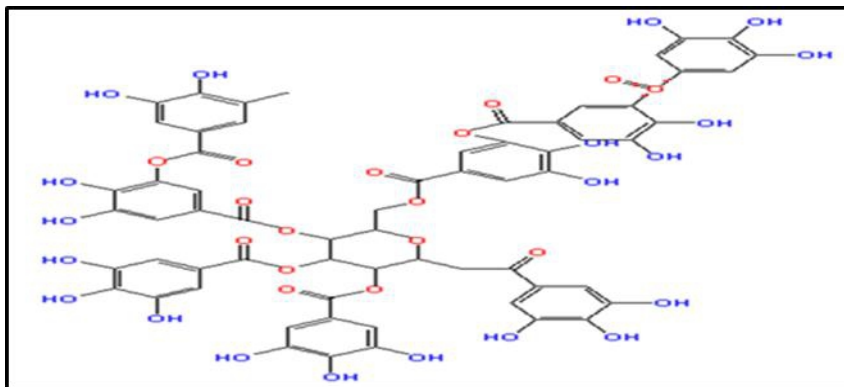


**Figure 14:** Principales classes des flavonoïdes (Athanasidou *et al.*, 2001; Hassanpour *et al.*, 2011).

Ils ont la propriété de former des complexes réversibles ou irréversibles avec les protéines (principalement), les polysaccharides (cellulose, hémicellulose et pectine), les acides nucléiques, les stéroïdes et les alcaloïdes à cause de leur nombre important des groupes hydroxyles (ChaichiSemsari *et al.*, 2011).

### 2.2.1. Les tanins hydrolysables

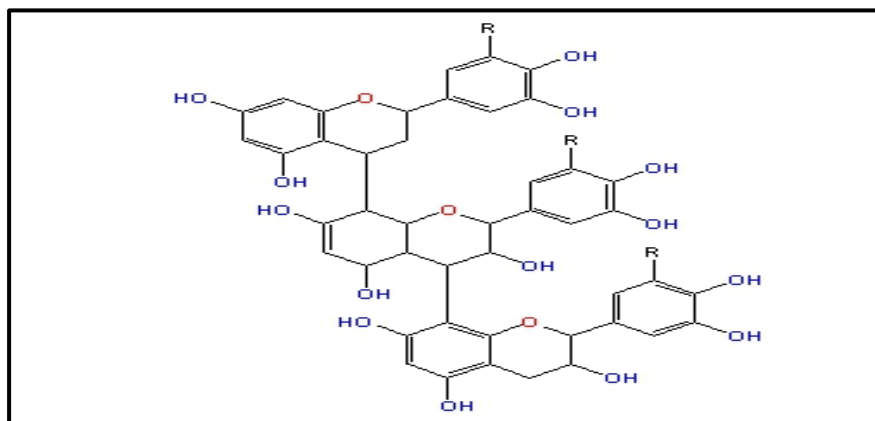
Ils sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol (Cowan, 1999). Ils sont en général présents en plus faible concentration que les TC dans le café.



**Figure 15** : Structure générale de tanins hydrolysables.

### 2.2.2. Les tanins condensés

Ils sont des polymères de haut poids moléculaire, ce sont des oligomères (2-10 monomères) ou des polymères (>10 monomères) de flavonoïdes (flavan-3-ols), reliés majoritairement par des liaisons de type Carbone-Carbone insensibles à la dégradation enzymatique (Waghorn, 2008). C'est le nombre de monomères qui déterminent principalement le degré de polymérisation du tannin.

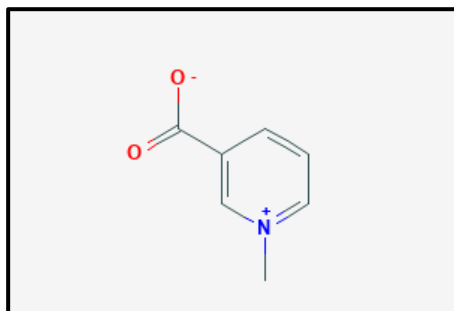


**Figure 16**: Structure générale de tanins condensés.

### 2.3. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote. Typiquement comme les amines primaires, secondaires, ou tertiaires et cela confère la basicité à l'alcaloïde, en facilitant leur isolement et purification comme sels solubles dans l'eau formés en présence des acides minéraux (Hess, 2002). Ils peuvent être présents dans tous organes. Contrairement à la plupart des autres types de métabolites secondaires, les nombreuses classes d'alcaloïdes ont des origines biosynthétiques unique.

La **trigonelline** est l'alcaloïde le plus abondant dans le café, c'est un dérivé de la niacine que l'on trouve également dans les grains de café. Lors de la torréfaction des grains de café, la trigonelline est convertie en niacine et sert de source de vitamine B3 à ses utilisateurs. La trigonelline contribue également au goût amer du café et sert de précurseur à de nombreux produits de torréfaction volatils, tels que les pyrroles et les pyridines (Benjamin et *al.*, 2017).



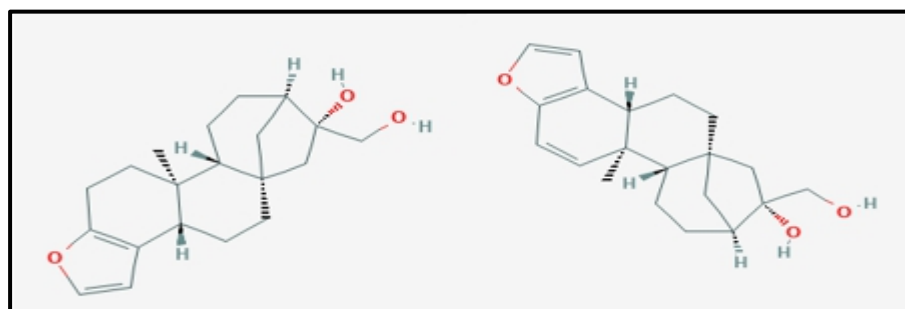
**Figure 17** : Structure de la trigonelline.

#### 2.4. Les terpénoïdes

Les terpènes ne sont pas formés à partir de la molécule d'**isoprène**  $C_5H_8$ , bien qu'ils aient pour formule de base des **multiples de celui-ci**, c'est à dire  $(C_5H_8)_n$ . En revanche, l'isoprène est facilement obtenu par dégradation des terpènes. Leur composition est en effet un squelette de carbone, constitué d'**unités isopréniques** reliées à la queue-leu-leu, et peut être de **constitution linéaire, cyclique, ou bicyclique**.

Ils sont appelés aussi isoprénoïdes car leur dégradation thermique libère le gaz isoprène. Mais l'isoprène n'est pas le vrai précurseur des isoprénoïdes.

Le **kahweol** et le **cafestol** sont deux diterpènes importants dans le café, qui auraient une activité anticancérogène. Structurellement, ces molécules sont similaires, car les deux sont des alcools diterpéniques pentacycliques (Benjamin et *al.*, 2017).



**Figure 18** : Structure du cafestol 'droite' et du kahweol 'gauche'.

## Chapitre III : Les activités biologiques des polyphénols

### 1- Les activités antioxydantes

#### 1.1- Généralités sur les antioxydants

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels a augmenté considérablement à cause de leurs propriétés thérapeutiques. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires.

Même si les antioxydants de synthèse sont efficaces et bon marché et que leurs doses autorisées sont largement limitées pour éviter tout problème de toxicité, on a assisté depuis les années 1980 à un engouement pour les produits naturels à usage antioxydant, qui auraient des propriétés biologiques pouvant contribuer à réduire le risque de certaines pathologies. (De Reyanol et Multon, 2009 )

#### 1-2- L'activité antioxydante

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité de résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le  $\beta$ -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que **les composés phénoliques**. En effet, la plupart des antioxydants synthétisés ou d'origine naturelle possèdent des groupements hydroxy phénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ( $\text{OH} \bullet$ ) et superoxydes ( $\text{O}_2 \bullet$ ). (Antolovich et al., 2002).

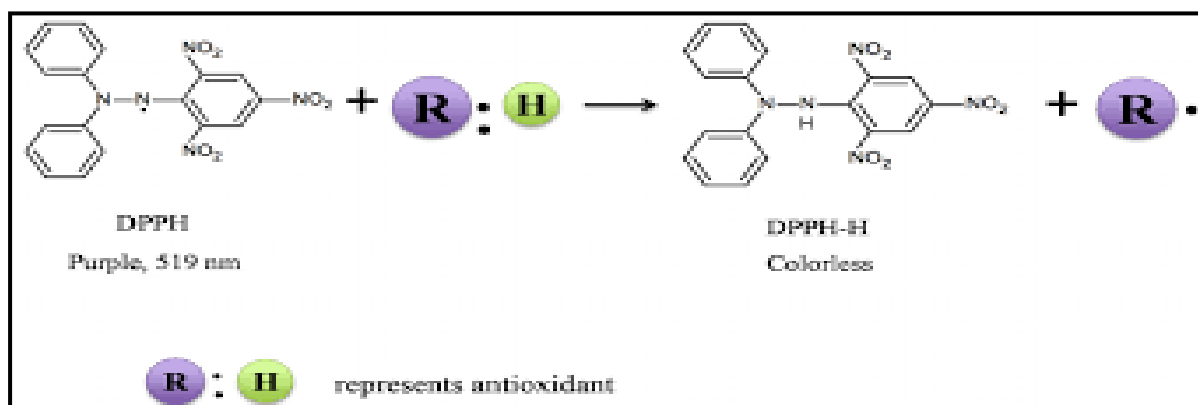
#### 1-3- Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

La capacité antioxydante des molécules peut être évaluée soit de façon *in vivo*, sur des organismes vivants, soit d'une façon *in vitro* en utilisant des tests qui miment le phénomène pathologique. Pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro*, différentes méthodes ont été développées. Ces méthodes impliquent le mélange des espèces oxydantes, tels que les radicaux libres ou les complexes métalliques oxydés avec un échantillon qui contient des antioxydants capables d'inhiber la génération des radicaux. Ces antioxydants peuvent agir selon deux mécanismes : soit par transfert d'hydrogène, soit par transfert d'électron. Parmi celles-ci, on note :

- Le test du diphényl picrylhydrazyl (**DPPH**).
- La décoloration ABTS, acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (**ABTS•+**).
- Le test de blanchissement ou de décoloration du **béta-carotène** (Système β- carotène /Acide linoléique).
- Le test utilisant le pouvoir réducteur des ions ferriques, chélation des ions ferreux (**FRAP**) "ferric reduccing antioxidant power".
- Le test utilisant le pouvoir réducteur des ions cupriques (**CUPRAC**) "Cupric reducing antioxidant capacity".

### 1.3.1- Le test du 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

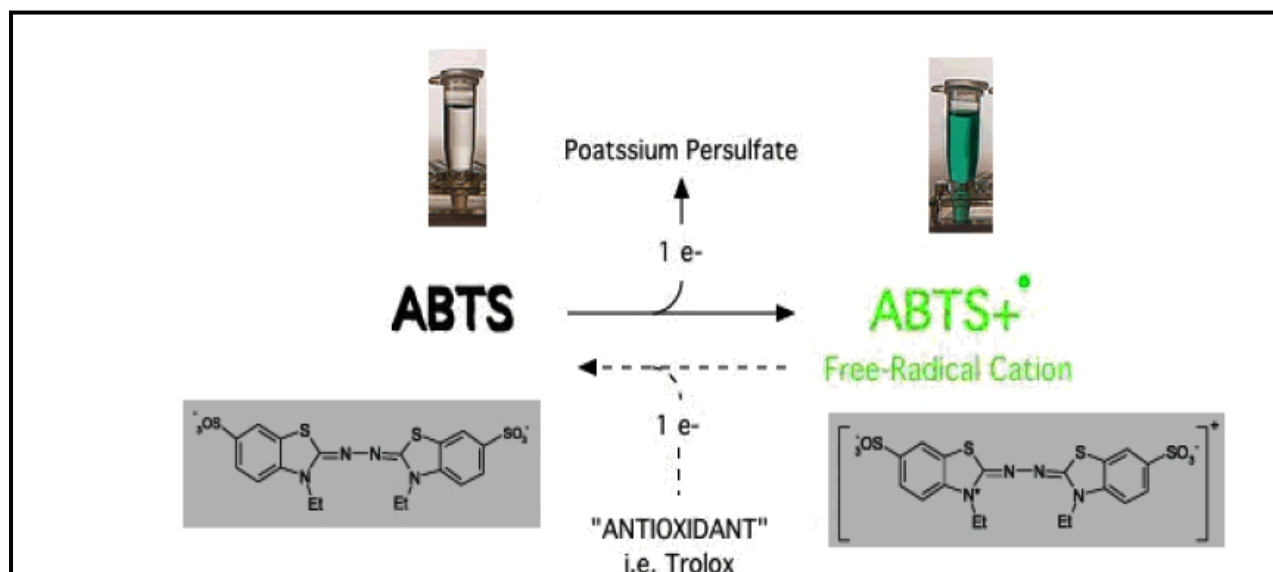
Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable de coloration violette foncée, il absorbe à 517 nm, lorsqu'il est réduit, en présence de composés antiradicalaires, il change de couleur en virant au jaune (figure 19). Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH qui est proportionnel au pouvoir antioxydant de l'échantillon (Blois 1958).



**Figure 19** : La forme réduite DPPH et la forme radical DPPH (Blois 1958).

### 1.3.2- La décoloration ABTS, acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS)

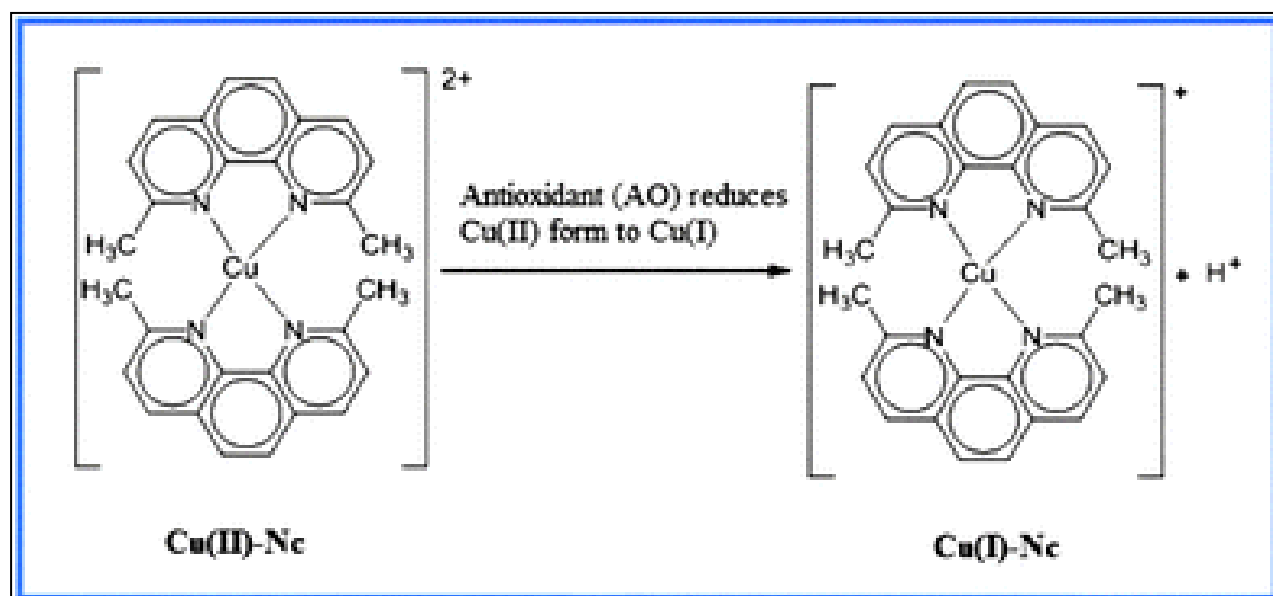
L'ABTS• est un radical libre stable. Il est très utilisé pour évaluer le pouvoir antioxydant des fluides biologiques, des huiles essentielles, des extraits ou bien des composés purs. Ce radical cation est facilement formé par oxydation en présence de persulfate de potassium pour donner une solution colorée en vert bleu (figure 20). Le radical formé est stable avec des coefficients d'extinction molaire élevés à 416, 650 et 734 nm. La concentration de ce radical peut être déterminée en mesurant l'absorbance à ces longueurs d'onde (Re et al.1999).



**Figure 20 :** La forme réduite ABTS et la forme radicale de cation  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  (Re et al.1999).

### 1.3.3- Le test utilisant le pouvoir réducteur des ions cupriques (CUPRAC)

La méthode du CUPRAC a été développée par Apak et ces coauteurs. Ce dosage est basé sur la réduction de  $\text{Cu}^{+2}$  en  $\text{Cu}^+$  par l'action combinée de tous les antioxydants ou les réducteurs dans un milieu aqueux-éthanolique ( $\text{pH}=7,0$ ) en présence de Néocuproïne (2,9-diméthyl-1,10-phénanthroline), par les polyphénols, donnant un complexe  $\text{Cu}^+$  avec un pic d'absorption maximale à 450 nm (figure 21). Ce procédé est capable de mesurer à la fois des antioxydants hydrophiles et hydrophobes (Apak et al., 2004 ).



**Figure 21 :** Réaction de CUPRAC par une molécule antioxydante (Apak et al., 2004 ).



## 2- Les activités enzymatiques

Cette partie consiste à identifier les échantillons à activités potentielles antidiabétique et /ou anti-Alzheimer en utilisant des essais sur des enzymes cibles thérapeutiques de ces deux pathologies, en l'occurrence, l'amylase et le glucosidase pour le diabète et l'acétylcholinestérase pour le traitement d'Alzheimer.

### 2.1- L'activité anticholinestérase

#### 2-1-1- Généralités sur la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative (perte progressive de neurones) incurable du tissu cérébral qui entraîne la perte progressive et irréversible des fonctions du cerveau et notamment la mémoire. C'est la forme la plus fréquente de démence chez l'être humain. Cette maladie est décrite par le médecin allemand Alois Alzheimer en 1906. Dans la Maladie d'Alzheimer (MA), les cellules nerveuses se détériorent progressivement, surtout celles produisant de l'acétylcholine, substance importante pour la mémoire. On a montré qu'il existe une baisse de la concentration d'acétylcholine dans le cerveau de patients atteints de MA (Messoud et Gauthier, 2010).

#### 2-1-2- Les cholinestérases

En fait, Il existe deux types de cholinestérases, distinguées par leur affinité pour l'acétylcholine

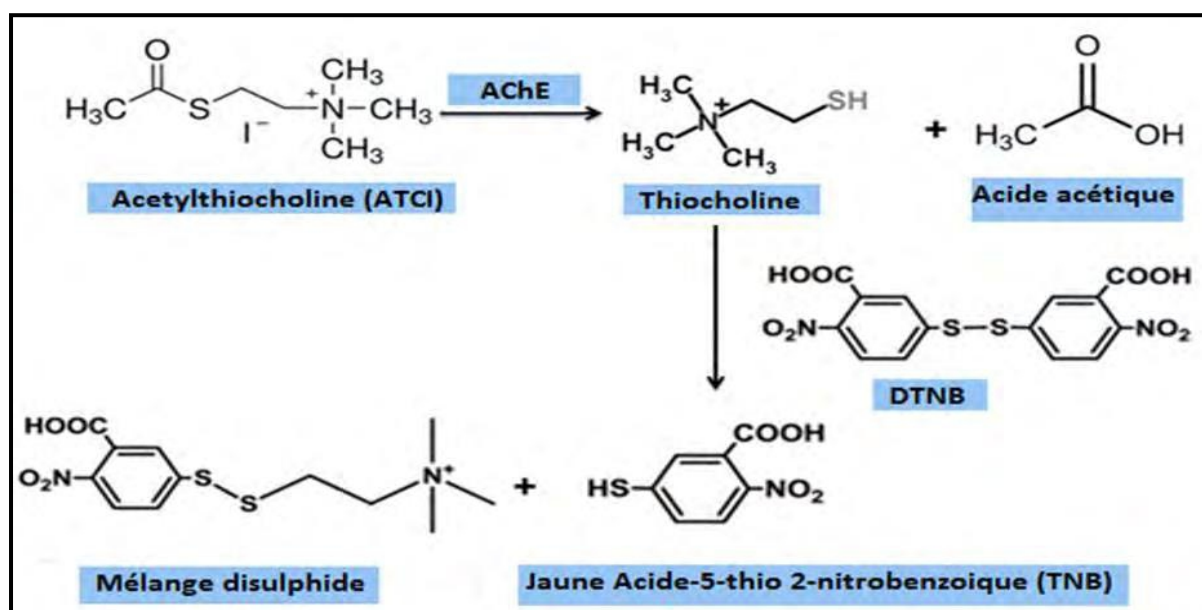
et la butylcholine :

- *L'acétylcholinestérase* (AChE) ou acétylcholine acétylhydrolase, identifiée au départ dans le plasma et dans les synapses.
- La pseudocholinestérase ou *butylcholinestérase* (BChE) ou encore acylcholine acylhydrolase, identifiée au départ dans le foie.

#### 2-1-3- Méthodes de mesure de l'inhibition

Afin de détecter les activités inhibitrices de l'acétylcholinestérase (AChE) et de la butylcholinestérase (BChE), plusieurs méthodes sont disponibles. Les principales reposent sur des tests colorimétriques, telles que la méthode *d'Ellman*. Cette dernière est la méthode standard utilisée pour détecter et surtout quantifier une inhibition de l'AChE (Ellman *et al.*, 1961). Elle est basée sur le clivage de l'acétylthiocholine par l'AChE, cette réaction produit de la thiocholine qui réagit avec le 5,5' dithiobisnitrobenzoate (DTNB) pour former un anion de couleur jaune (figure 22). (Ellman *et al.*, 1961).

Cette méthode, en plus de quantifier l'inhibition sous forme d'IC50 (concentration diminuant l'activité enzymatique de moitié), permet également d'étudier les paramètres cinétiques et par conséquent le taux d'inhibition.



**Figure 22** : Mécanisme chimiques de la méthode d'Ellman (Ellman *et al.*, 1961).

## 2-2- L'activité inhibitrice de l' $\alpha$ . amylase et l' $\alpha$ . glucosidase

### 2-2-1- Généralités sur le diabète

Selon l'OMS, le diabète est une maladie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit. L'insuline est une hormone qui régule la concentration de sucre dans le sang. On dit qu'une personne est diabétique quand son taux de glucose dans le sang (ou glycémie), à jeun, est supérieure à 1.26 g/L ou 7 mmol/L. On peut distinguer essentiellement deux types de diabète :

#### ✓ Diabète de type 1

Le diabète de type 1 « insulino-dépendant » affecte un nombre croissant de personnes dans le monde. Cette pathologie causée par la destruction sélective des cellules  $\beta$  pancréatique par le système immunitaire (Vieira *et al.*, 2013). Par conséquent ces patients doivent recevoir des injections quotidiennes d'insuline pendant toute leur vie (Thorel et Herrera, 2010).

#### ✓ Diabète de type 2

Le diabète de type 2 « non insulino-dépendant » est la forme la plus fréquente du diabète. Cette maladie se manifeste lorsque le pancréas ne produit pas assez d'insuline ou que

l'organisme n'utilise pas efficacement l'insuline qui est produite, Il peut se manifester chez les enfants et les adolescents, mais il apparaît habituellement après l'âge de 30 ans et devient plus fréquent aux âges plus avancés (Millar et Young, 2003).

### **2-2-2- Cibles thérapeutiques pour le traitement du diabète**

Le  $\beta$  glucosidase est une enzyme libérée par les entérocytes de la bordure en brosse de l'intestin grêle (Rabasa-Lhoret et Chiasson ,2000), par contre les amylases sont synthétisées par le pancréas et les glandes salivaires (Beaudeau et Durand, 2008). Ces enzymes catalysent l'hydrolyse des oligo- et polysaccharides « glucides alimentaires » non absorbables en monosaccharides absorbables au niveau de l'intestin.

Des chercheurs ont développé des inhibiteurs de ces enzymes dans le but de ralentir l'absorption des glucides dans l'intestin donc le glucose passe plus lentement dans le sang, réduisant ainsi l'hyperglycémie et l'hyperinsulinémie postprandiale (Rabasa-Lhoret et Chiasson ,2000). La phaséolamine est un inhibiteur de l'activité alpha amylase (Marshall et Lauda, 1975 ., Layer et *al*, 1987), alors que l'acarbose (Glucor®) est un exemple d'inhibiteur de l'  $\alpha$  -glucosidase (Rabasa-Lhoret et Chiasson, 2000).

## 1- Enquête préliminaire

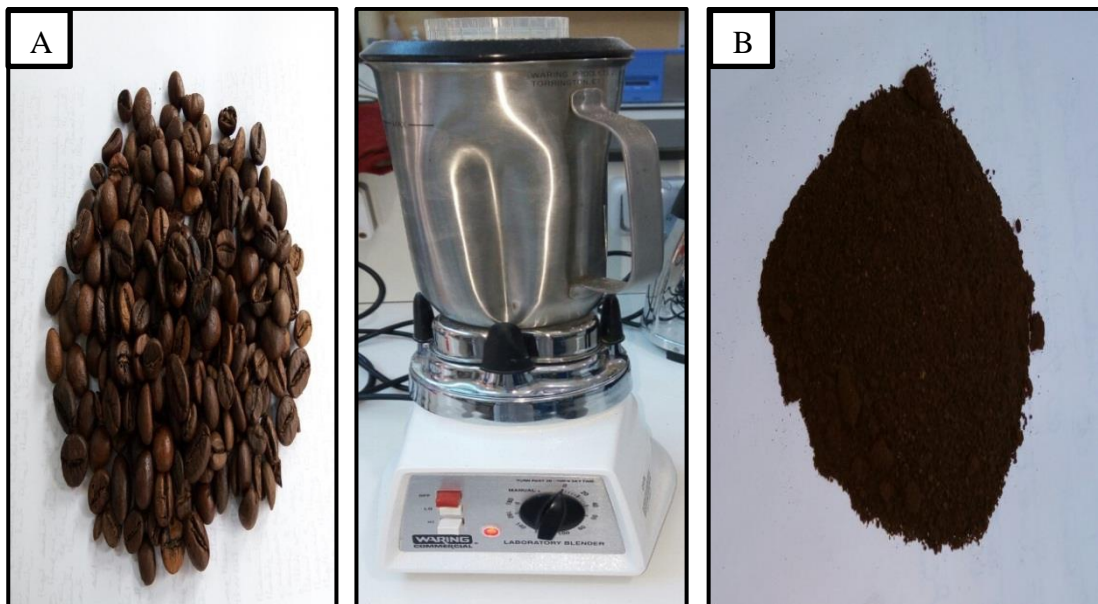
Une enquête préliminaire a été menée auprès des vendeurs du café les plus renommés à Constantine afin de cibler le type du café le plus populaire et par conséquent, le plus consommé par la société constantinoise. Les informations collectées indiquent qu'il existe plusieurs types du café dans le marché algérien, *Arabica* (*Coffea arabica*) est le café le moins consommé à cause de son acidité élevée comparativement au deuxième type *Robusta* (*Coffea canefora var. Robusta*). Une combinaison de ces deux types à raison de (20%-80%) est considérée, selon la même source, le meilleure type du café demandé par les consommateurs à tous types confondus (cafétéria, café public...etc.).

## 2- Echantillonnage

250g d'un café sont obtenus auprès du représentant du distributeur « *Bouanaba* » sis à Ali Mendjli, nouvelle ville). C'est un mélange du café *Arabica* (20%) et de Robusta (80%) étant les deux variétés du café les plus couramment consommés en Algérie et dans le monde.

### 2.1- Préparation du café

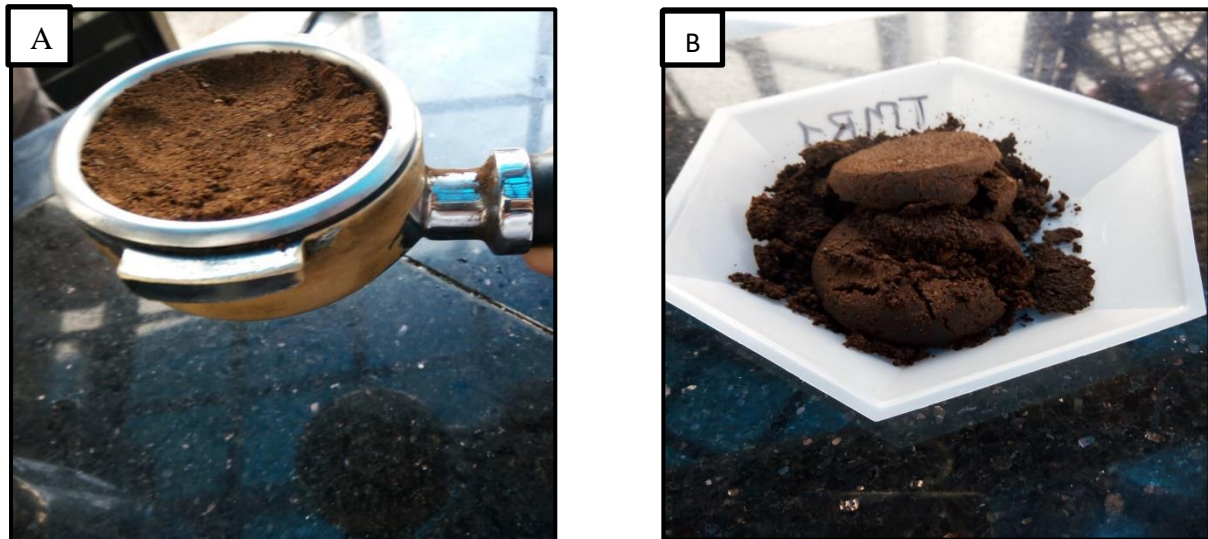
Une quantité du café ainsi obtenue est directement placée dans un broyeur du laboratoire et immédiatement transférée à la machine *espresso* pour l'obtention du marc du café.



**Figure 23** : Préparation du café. (A : Café torréfié (grains) ; B : Café moulu).

## 2.2- Préparation du marc de café

Le marc de café utilisé dans notre étude a été récupéré quotidiennement de la cafétéria du centre de recherche en biotechnologie (C.R.Bt). Il est immédiatement placé dans une étuve à 45°C pendant 48h afin d'éviter toute sorte de dégradation microbienne au cours du stockage (Haddoudi *et al.*, 2014). Une fois séché, le marc est placé dans un récipient opaque et stocké dans l'obscurité à température ambiante.



**Figure 24** : Préparation du marc de café. (A : Café moulu ; B : Marc du café récupéré)

## 3- Analyse comparée de la composition physico-chimique du café et du marc de café

La détermination de la matière minérale (method ID 942.05), de la matière azotée totale (N, method ID 954.01) et de la matière grasse (EE; method ID 920.39) ont été effectuées selon les normes décrites par l'AOAC (1990). Les dosages ont été faits **en triplet**, et les résultats sont rapportés par **g /kg** de matière sèche (MS).

### 3.1- Détermination de la teneur en eau

#### ✓ Principe

Elle est déterminée par dessiccation dans une étuve maintenue à 105°C jusqu'à ce que le poids devienne constant. La différence de poids correspond à la perte d'humidité et le résidu caractérise la teneur en matière sèche de l'échantillon.

### ✓ Mode opératoire

1g du café et du marc de café humide sont pesés séparément dans des creusets en porcelaine préalablement tarés, ils sont par la suite placés dans une étuve maintenue à 45°C pendant 48 heures jusqu'au poids constant. Les creusets sont mis dans un dessiccateur pendant au moins une demi-heure pour refroidir dans une atmosphère sèche. La matière sèche (MS) est calculée selon l'expression suivante :

$$MS(\%) = \frac{P2 - Tc}{P1 - Tc} * 100$$

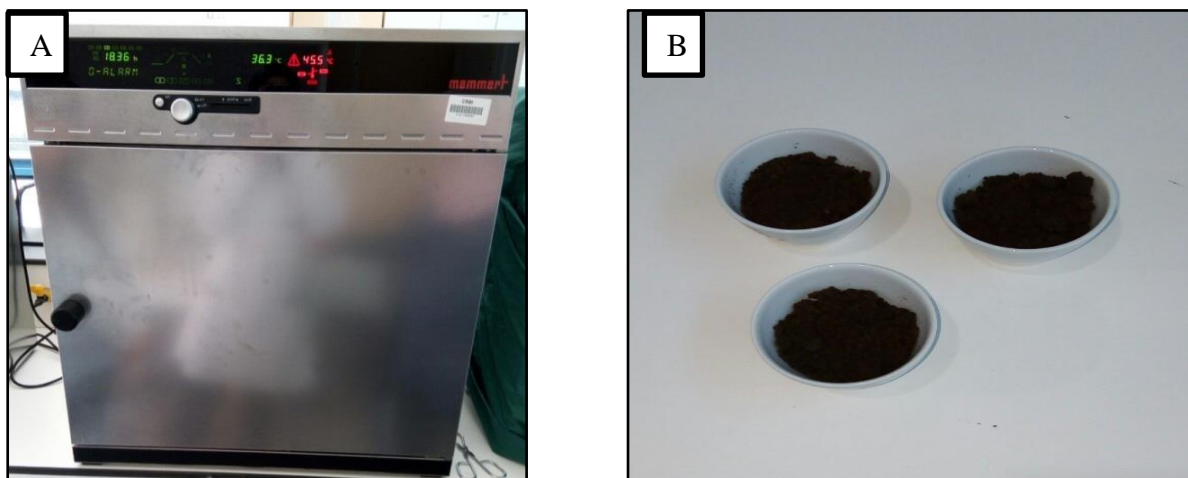
Où : **P1** : poids de l'échantillon avant séchage (g) ;

**P2** : poids de l'échantillon après dessiccation (g) ;

**Tc** : poids de creuset vide taré (g).

Le taux d'humidité est calculé à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ d'humidité} = 100 - \% MS$$



**Figure 25** : Détermination de la matière sèche. **A** : Etuve ventilée ; **B** : Echantillons secs

### 3.2- Détermination de la teneur en cendres et en matière organique

#### ✓ Principe

Lorsque l'échantillon, préalablement séché, est soumis à une incinération à 550°C, la matière organique se consume et la matière résiduelle constitue la matière minérale qui se trouve sous forme de cendres blanches.

### ✓ Mode opératoire

1g de la matière sèche déjà obtenue (café et marc du café) est pesée dans un creuset en porcelaine préalablement taré, ils sont placés dans un four à moufle porté à 550°C pendant 8 heures. Après refroidissement des creusets dans le four, ils sont par la suite placés dans un dessiccateur pendant au moins une demi-heure. Le résidu obtenu représente les cendres qui, par différence, donne la matière organique contenue dans l'échantillon. Le pourcentage des cendres est calculé par l'expression suivante :

$$\text{MM}(\%) = \frac{\text{P3-Tc}}{\text{P2-Tc}} * 100$$

Où : **P3** : poids de creuset après incinération

**P2** : poids de creuset après dessiccation

**Tc** : poids de creuset vide

La teneur en matière organique représente le complément à 100 des cendres :

$$\% \text{MO} = 100 - \% \text{ cendres}$$



**Figure 26** : Détermination de la matière organique. **A** : Echantillon incinéré ; **B** : Four à moufle

### 3.3- Détermination de la teneur en matière grasse (MG)

#### ✓ Principe

La graisse est extraite par des solvants, en général l'éther de pétrole et l'hexane. L'extraction est effectuée, soit d'une manière discontinue par décantations successives dans des ampoules, soit

d'une manière continue dans des appareils spéciaux à épuisement comme le « **SOXHLET** ». Il comporte 3 parties, respectivement de bas en haut, un creusé en aluminium, un extracteur recevant une cartouche et un réfrigérant à reflux.

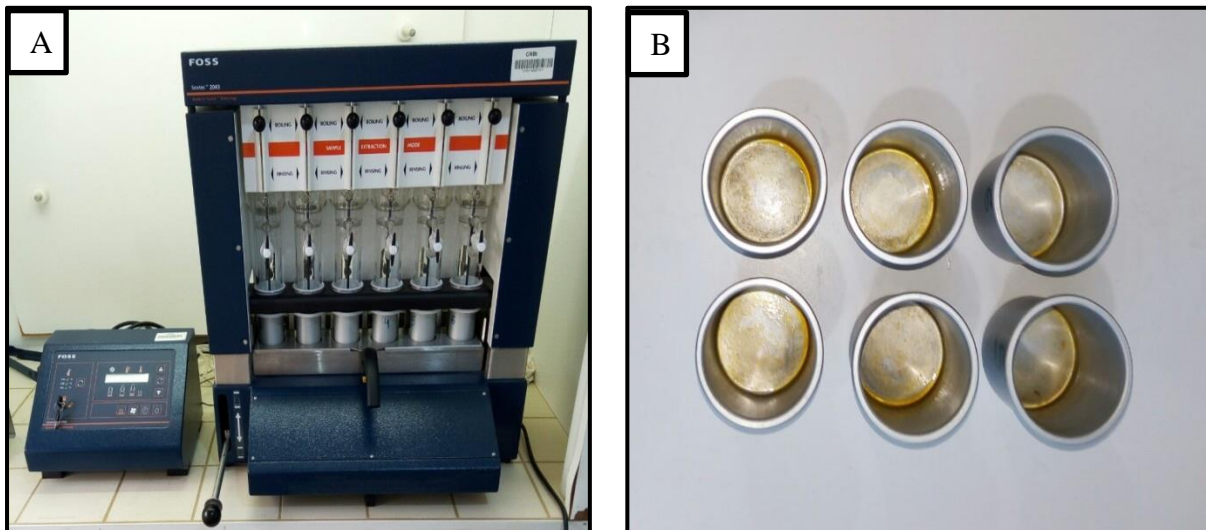
### ✓ Mode opératoire

Environ 1g d'échantillon sont pesés dans une cartouche en carton poreux, après introduction de 25 ml d'hexane dans chaque creusé, la cartouche est déposée dans l'extracteur et les trois parties de l'appareil sont assemblées. L'hexane est alors porté à ébullition pendant 55min sur des plaques chauffantes jusqu'à obtention d'un maximum d'hexane dans l'extracteur. Une fois l'hexane éliminé, les cartouches sont séchées à l'étuve à 105°C pendant 1 à 2 h et les creusés sont pesés. L'expression des résultats se fait comme suit :

$$\% \text{ MG} = \frac{(\text{PE}-\text{PV})}{\text{Prise d'essai} \times \text{MS} (\%)} \times 100$$

Où : **PE** : poids du creuset avec l'extrait éthéré ;

**PV** : poids du creuset vide.



**Figure 27** : Détermination de la matière grasse. **A** : Appareil de Soxhlet ; **B** Creusets secs.



### 3.4- Détermination de la teneur en protéines

#### ✓ Principe

La teneur en azote total est déterminée par la méthode de Kjeldahl. Cette méthode de dosage comporte trois étapes : la minéralisation ; la distillation et la titration. Elle consiste à détruire toute trace de matière organique par l'acide sulfurique concentré à l'ébullition en présence d'un catalyseur avec formation de sulfate d'ammonium puis de l'ammoniaque. Ce dernier déplacé par une base fixe, est entraîné par la vapeur d'eau dans une solution d'acide fort.

#### ✓ Mode opératoire

L'azote total (N) est dosé par la méthode de Kjeldahl comportant trois étapes : la minéralisation, la distillation et la titration.

➤ **La minéralisation** : Dans un batch de minéralisation (Kjeldtec 2400 Foss), L'azote organique de l'échantillon sec et broyé (prise d'essai 1g) est transformé en azote minéral  $\text{NH}_3$  (sulfate d'ammonium), en présence d'acide sulfurique concentré à chaud (30 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  à  $400^\circ\text{C}$  pendant 5 heures) et d'un catalyseur au titane/cuivre (5,6 g de  $\text{KSO}_4$  couplé avec 0,7 g de  $\text{CuSO}_4$ ) suivant la réaction suivant :  $2 \text{N (organique)} + 2 \text{SO}_4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{SO}_4(\text{NH}_4)_2 + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ .

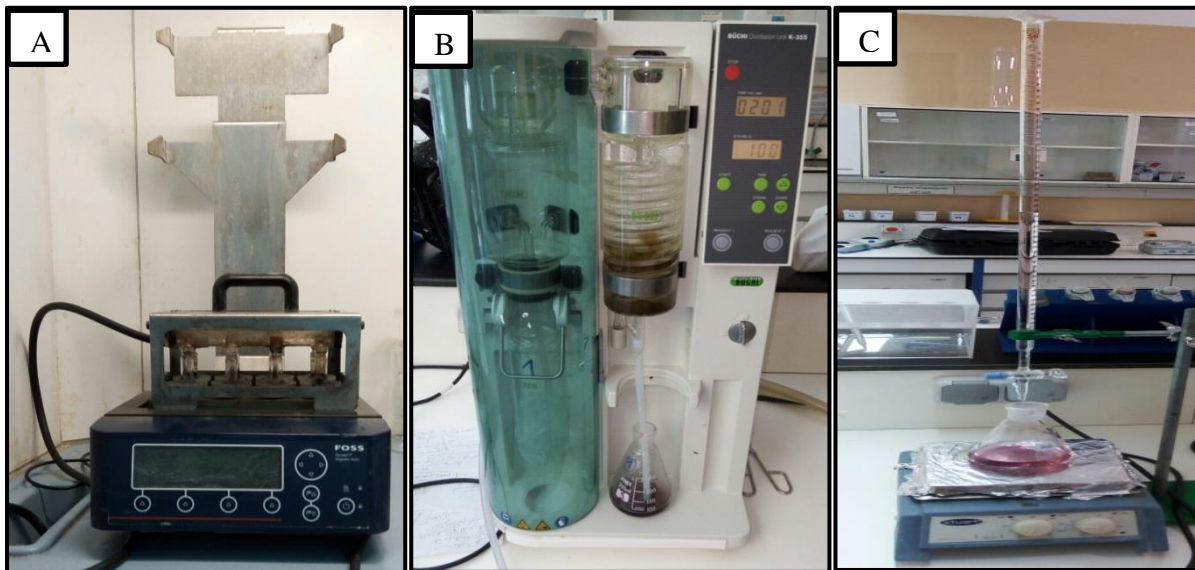
➤ **La distillation** : Après transformation du sulfate d'ammonium en ammoniac par une base forte (30 ml NaOH, 10N) suivant cette réaction :  $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2 + 2 \text{NaOH} \rightarrow \text{SO}_4\text{Na}_2 + 2 \text{NH}_4\text{OH}$  ;  $2\text{NH}_4\text{OH} \rightarrow 2 \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$ . L'ammoniac ainsi formé est entraîné par condensation de la vapeur d'eau ( $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4\text{OH}$ ) et repris dans 25 ml d'une solution d'acide borique (4%) qui se complexe avec l'hydroxyde d'ammonium contenant quelques gouttes d'un indicateur coloré (rouge de méthyle) ( $\text{NH}_4\text{OH} + \text{H}_3\text{BO}_3 \rightarrow \text{H}_2\text{BO}_3\text{NH}_4 + \text{H}_2\text{O}$ ).

➤ **La titration** : L'ammoniac sous la forme de borate d'ammonium est titré à l'aide d'une solution d'HCl (0,01N) jusqu'au virage de la couleur du vieux rose au gris ( $2\text{H}_2\text{BO}_3\text{NH}_4 + \text{HCl} \rightarrow 2\text{H}_2\text{BO}_3 + \text{HCl}(\text{NH}_4)_2$ ). La teneur en azote de la matière sèche est obtenue par l'équation suivante :

$$\frac{\text{Vol (Hcl) (ml)} \times 14.007 \times \text{Nr}}{\text{Prise d'essai} \times \text{MS} (\%)}$$

Où : Nr : La normalité de l'acide utilisé pour la titration (dans notre cas, 0.1).

La teneur en matières azotées totales (MAT) est obtenue en multipliant la teneur en azote (N) par 6,25.



**Figure 28:** Les différentes étapes de la détermination de la teneur en protéines. **A** : Unité de minéralisation ; **B** : Unité de distillation ; **C** : Unité de titration

### 3.5- Détermination de la teneur en sucres totaux

#### ✓ Principe

Les sucres totaux sont déterminés selon la méthode de Dubois *et al.* (1956) dont le principe repose sur fait que l'acide sulfurique concentré provoque à chaud, le départ de plusieurs molécules d'eau à partir des oses. Cette déshydratation s'accompagne par la formation d'un hydroxy-méthyl furfural (HMF) dans le cas d'hexose et d'un furfural dans le cas d'un pentose. Ces composés se condensent avec le phénol pour donner des complexes colorés (jaune-orange). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des oses. La densité optique est mesurée à 490 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

#### ✓ Mode opératoire

Dans des tubes Eppendorf on ajoute 200  $\mu\text{l}$  de chaque échantillon (1 mg dans un 1 ml eau distillée) et 200  $\mu\text{l}$  de phénol 5%. 1ml d'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) à 96% est par la suite ajouté ; après une phase d'agitation dans le vortex, les tubes sont maintenus dans l'étuve à 100°C pendant 5 min, puis laissés dans l'obscurité pendant 30 min. La lecture de l'absorbance est faite à 490 nm via un spectrophotomètre. La teneur en sucres totaux est exprimée en se référant à la courbe d'étalonnage établie à différentes concentrations du glucose (Annexe 02).

### 3.6- Détermination du PH

L'acidité des échantillons est déterminée selon la technique de (Damhan *et al*, 2016). 5 g du café et du marc de café sec sont portés à ébullition dans 50 ml d'eau distillée pendant 5 min sous agitation continue. Le mélange est par la suite centrifugé à 7000 tr / min pendant 10 min (Thermo Electron LED GmbH, Allemagne). Le surnageant est ensuite complétée à 100 ml avec l'eau distillée. Le pH est mesuré en utilisant un pH mètre multi-paramètres (Mettler-Toledo AG, Schwerzenbach, Switzerland).

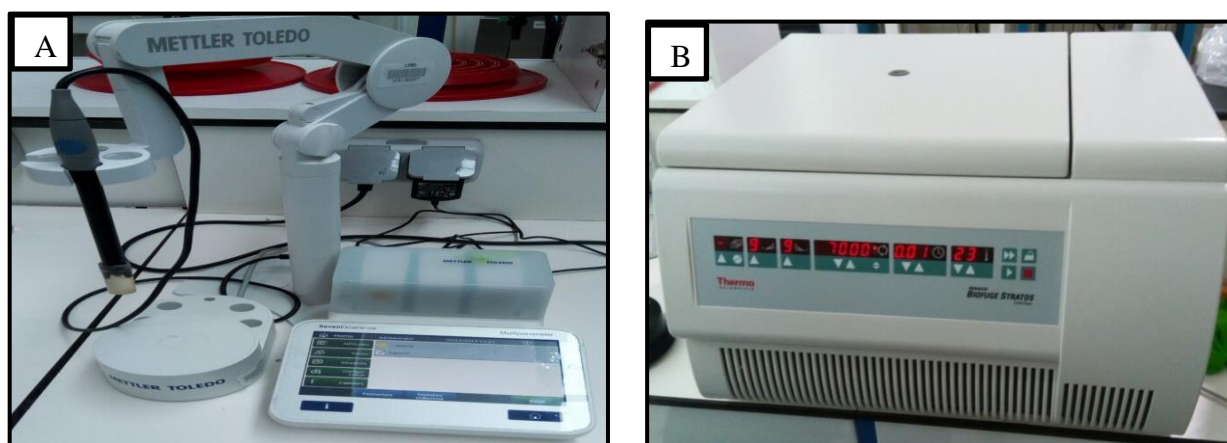


Figure 29 : Détermination du PH. A : pH mètre multi-paramètres ; B : Centrifugeuse.

## 4- Analyses phytochimiques du café et marc de café

Les extraits bruts du café et du marc de café sont préparés et analysés en termes de leurs contenus en quelques composants phytochimiques, à l'instar des phénols totaux, des flavonoïdes et des tannins condensés. Leurs activités antioxydantes, enzymatiques et microbiologiques sont ainsi investiguées. Dans le même contexte, les huiles grasses des mêmes échantillons sont ainsi obtenues et analysées parallèlement avec les extraits et dans les mêmes conditions.

### 4.1- Préparation de l'extrait brut du marc de café par macération (solide-liquide)

#### ✓ Principe

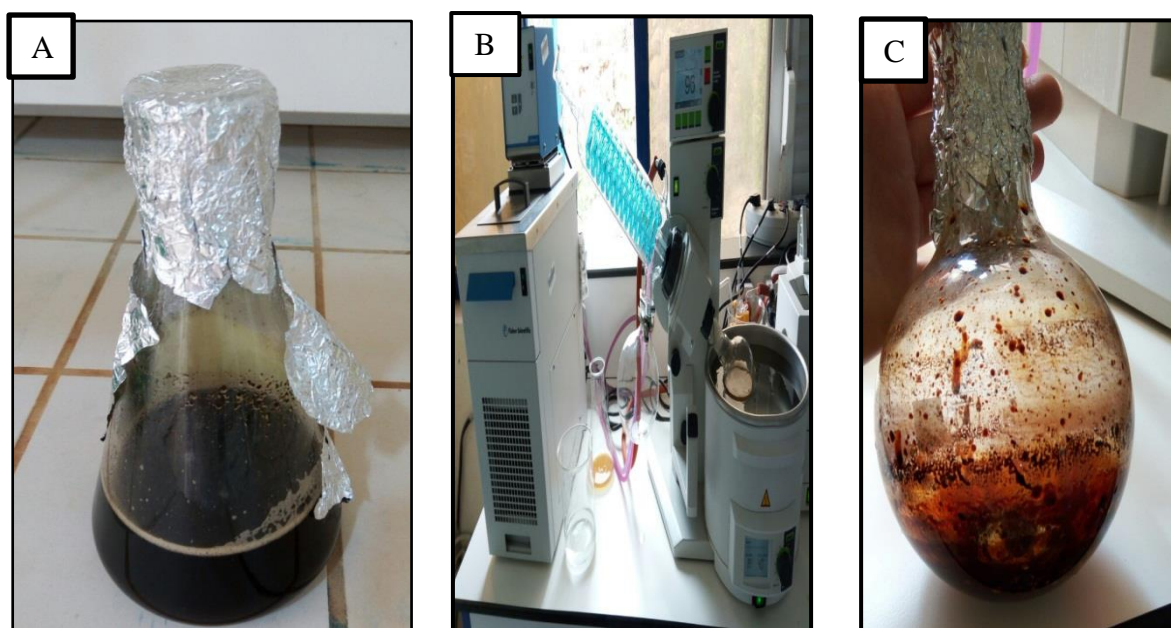
L'extraction par solvant consiste à faire passer, par solubilisation, la substance à extraire dans un solvant. La solubilisation peut être effectuée par différentes méthodes : infusion, décoction ou macération. Seule la macération est utilisée dans notre études, elle consiste à laisser séjourner, à froid, dans un solvant organique notre échantillon pour en extraire les substances chimiques solubles.

### ✓ Protocole

Les extraits bruts préparés à partir du marc de café en utilisant la technique de **macération** sont obtenus en couvrant une quantité bien définie de chaque échantillon sec avec une solution hydro-éthanolique (50:50 v/v; 1:5 p/v) pendant 72h avec renouvellement du solvant chaque 24 heures (Acevedo *et al.*, 2013). Les extraits obtenus chaque 24h sont ensuite combinés puis concentrés sous pression réduite à 40°C via un évaporateur rotatif (Rotavapor R.215.BUCHI, Switzerland).

Le rendement d'extraction est défini comme étant le pourcentage % de l'extrait obtenu par rapport à la quantité initiale de l'échantillon :

$$R (\%) = \frac{\text{La quantité de l'extrait brut (g)} \times 100}{\text{La quantité initiale de l'échantillon (g)} * MS (\%)}$$



**Figure 30 :** Le procédé d'extraction par macération (liquide-solide).

**A :** Solution hydro-éthanolique des extraits combinés ; **B :** Evaporateur rotatif ; **C :** L'extrait brut obtenu après séchage par pression réduite.

## 4.2- Préparation de l'extrait brut du café torréfié par sonication

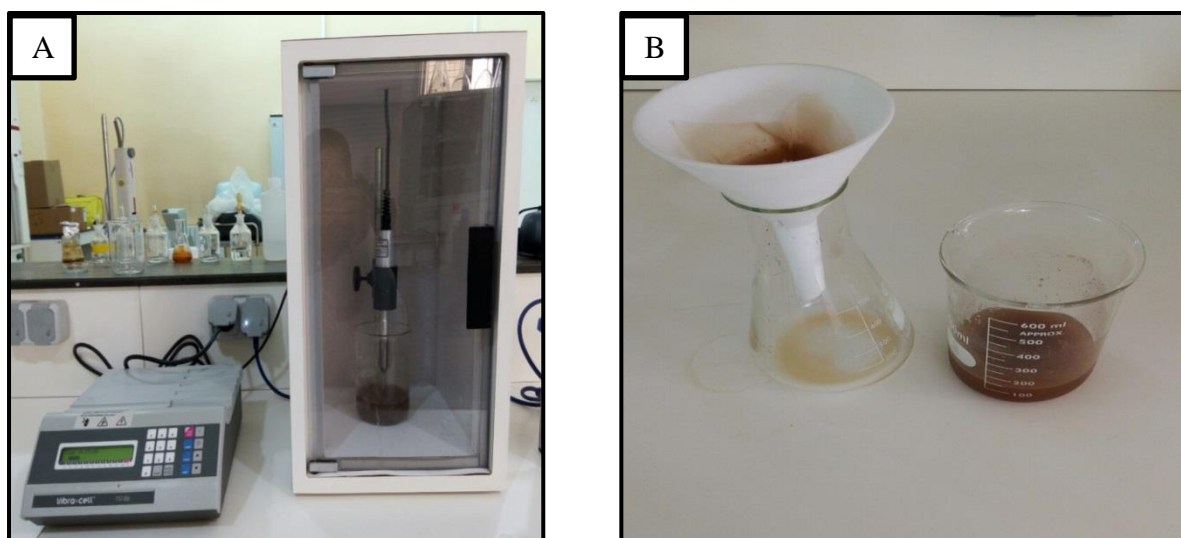
### ✓ Principe

L'extraction par sonication est une méthode simple, efficace et peu coûteuse. La vibration se propage dans le milieu en transportant de l'énergie mécanique sous forme de rapides variations de

pression. Les ultrasons peuvent également provoquer la rupture des parois cellulaires du café, facilitant ainsi la libération de leur contenu dans le solvant. L'échantillon broyé est mélangé avec le solvant approprié dans un récipient et placé dans un bain à ultrasons, où la température de travail et le temps d'extraction sont réglés.

#### ✓ Mode opératoire

1,6 g du café ont été extraits avec 160 ml d'un mélange d'eau acidifiée avec L'HCl (0,1 M ; pH 4,5) et de méthanol (70%) par sonication à 37 kHz pendant 15 min à 30 ° C dans un bain à ultrasons (Elmasonic P 30 H, Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Allemagne). Au bout d'une heure, les solutions récupérées après trois répétitions sont combinées puis filtrées sur un filtre en PTFE de 0,45 µm (Pall Corporation, Port Washington, NY, USA), puis concentrées sous pression réduite à 40 ° C. (Ciaramelli, *et al.*, 2018).



**Figure 31:** Le procédé d'extraction par sonication. **A** : Sonicateur ; **B** : Solution hydro-méthanolique récupérée.

### 4.3- Analyse colorimétrique des extraits bruts par spectrophotométrie UV-visible

C'est un ensemble de tests qualitatifs utilisés pour connaître la composition phytochimique (composés secondaires) globale des extraits en utilisant des réactions colorimétriques et des réactifs chimiques spécifiques. Notre étude sera focalisée sur la famille des composés phénoliques, particulièrement les flavonoïdes et les tanins condensés. Tous les dosages sont effectués en triplet.

#### 4.3.1- Détermination de la teneur en phénols totaux (PT)

La teneur des extraits des plantes en phénols totaux est déterminée par la méthode de Singleton et Rossi (1965) en utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu (FC). 20 µl de chaque extrait sont introduits dans une microplaque de 96 puits (200 µl pour chaque puits) auxquels 100µl de Folin-Ciocalteu (10 %) sont ajoutés. Après 3 min, 75µl de carbonate de sodium (7,5 %) sont additionnés. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 90 min à température ambiante. L'absorbance est mesurée par la suite à 760 nm via un lecteur microplaque (Multimode Reader, ENSPRO<sup>®</sup>, Singapore). La teneur en phénols totaux est exprimée (µg Eq de l'acide gallique/mg MS) en se référant à la courbe d'étalonnage établie à différentes concentrations de l'acide gallique (Annexe 02).

#### 4.3.2- Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux (FT)

##### ✓ Principe

En présence du chlorure d'aluminium, le groupement OH libre en position 5 présent dans les flavonoïdes donne un complexe jaunâtre par chélation de l'ion  $Al^{3+}$ , la coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'échantillon (Ribereau-Gayon, 1968).

##### ✓ Mode opératoire

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode colorimétrique d'aluminium nitrate décrite par Turkoglu *et al.* (2007). Dans une microplaque de 96 puits, une quantité de 50 µl de chaque extrait (1µg/1ml de méthanol) est mélangée avec 10 µl de l'acétate potassium ( $CH_3COOK$ ) (9,8 g dans 100 ml d'eau distillé) et un volume de 10 µl d'aluminium nitrate ( $Al(NO_3)_2 \cdot 9H_2O$ ). En Parallèle, le blanc est préparé avec 150 µl de MeOH et 50 µl d'extrait. Après l'incubation pendant 40 min à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 415 nm via un lecteur microplaque (Multimode Reader, ENSPRO<sup>®</sup>, Singapore). La teneur en flavonoïdes totaux est exprimée (µg Eq de la quercetine/mg MS) en se référant à la courbe d'étalonnage établie à différentes concentrations de la quercetine (Annexe 02).



Figure 32 : Le lecteur de microplaque.

#### 4.3.3- Détermination de la teneur en tanins condensés (TC)

##### ✓ Principe

Les tanins condensés se dépolymérisent en présence d'acide concentré et par réaction avec la vanilline se transforment en anthocyanidols de couleur rouge mesurable par spectrophotométrie à 550 nm.

##### ✓ Mode opératoire

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode de la vanilline en milieu acide décrite par Julkunen-Titto (1985). 5 ml du réactif de vanilline déjà préparé en mélangeant à volume égal 2.5 ml de la solution méthanolique de l' HCl à 8 % (v/v) avec 2.5 ml de la solution méthanolique de vanilline à 4% (m/v) sont ajoutés à 1 ml de chaque échantillon. Le mélange est par la suite agité vigoureusement et maintenu dans un bain marie à 30 °C pendant 20 mn. L'absorbance est mesurée à 500 nm par un lecteur microplaque (Multimode Reader, ENSPRO<sup>®</sup>, Singapore). La teneur en tanins condensés est exprimée ( $\mu\text{g}$  Eq de la vanilline/mg MS) en se référant à la courbe d'étalonnage établie à différentes concentrations de la catéchine (Annexe 02).

#### 4-4- Analyse chromatographique des extraits par HPLC

##### ✓ Principe

La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) est une méthode de séparation des constituants d'un mélange liquide basée sur les différences d'interactions entre les molécules à séparer et les phases mobile et stationnaire. Préalablement, les solutés sont mis en solution dans la **phase mobile** (solvant). Après son injection, ce mélange passe sous haute pression à travers une

colonne (tube en acier inoxydable) qui renferme la phase **stationnaire**. Celle-ci est constituée de microparticules de silice, elle est très sensible aux impuretés, il est donc essentiel de purifier et de filtrer l'échantillon avant son injection.

#### ✓ Mode opératoire

Dans notre étude, Une CLHP analytique de type THERMO FISHER SCIENTIF est utilisée, elle est constituée des éléments suivants : une pompe Prostar 1100, une colonne Hypersil ODS C18 (4.6mm × 250mm, phase inversée) de porosité 5µm, un détecteur à barrettes diodes (DAD, 1100), un système d'injection automatique model 1100 et un détecteur spectrophotométrique UV2000 fonctionnant à une longueur d'onde de 280 nm.

La phase mobile est constituée par un mélange de solvants (gradient d'élution) : Acétonitrile – Eau (acidifiée). L'échantillon est dissout dans le méthanol puis filtré à travers un filtre millipore 0.22 µm. La séparation a été faite à température ambiante sous un débit constant de 0.8 ml/min avec un gradient de solvant programmé selon le tableau 03. Le volume d'injection est de 20 µl (Proestos *et al.*, 2006).

**Tableau 03** : Programme (temps, débit et gradient de solvants) de l'CLHP pour l'analyse qualitative des extraits.

| T (min) | Méthanol (%) | Eau | Débit     |
|---------|--------------|-----|-----------|
| 25      | 60           | 40  | 0.8ml/min |
| 45      | 50           | 50  | 0.8ml/min |
| 50      | 40           | 60  | 0.8ml/min |
| 57      | 70           | 30  | 0.8ml/min |



**Figure 33** : La chromatographie liquide à haute performance (HPLC)



#### 4.5. Préparation des huiles grasses du café et du marc par Soxhlet

##### ✓ Principe

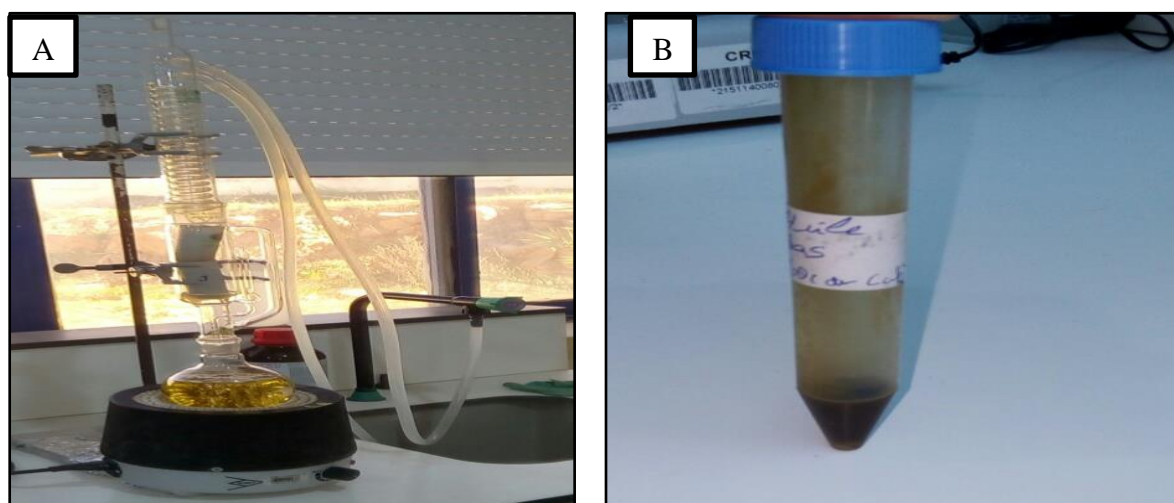
Le principe consiste à effectuer une extraction par un solvant organique à l'aide d'un dispositif « Soxhlet ». Les échantillons (café et marc du café) sont épuisés en matière grasse par le passage du solvant (hexane) pendant 8h. Une fois l'extraction est terminée, le solvant est éliminé à l'aide d'un Rotavapor (Rotavapor R.215.BUCHI, Switzerland).

Le Soxhlet est constitué d'un ballon contenant une réserve de solvant(1), d'un extracteur proprement dit permettant le contact entre le solvant et le solide dans une cartouche poreuse (2), d'un siphon qui permet l'évacuation de la solution vers le ballon (3) et enfin d'un réfrigérant à eau qui permet la condensation des vapeurs de solvant dans la cartouche (figure 20).

##### ✓ Protocole

40 g de chaque échantillon sont disposés dans une cartouche cellulosique poreuse, puis introduite dans l'extracteur du Soxhlet. 800 ml d'hexane sont mises en ébullition dans un ballon monocolé relié au pied de l'extracteur (Haddoudi *et al.*, 2014). Les vapeurs dégagées passent par une tubulure menant au réfrigérant pour y être condensées. Le condensat tombe par gravité dans le réservoir contenant la cartouche et solubilise les molécules actives. Une fois plein, le mélange solvant- extrait est siphonné vers le ballon ce qui permet de régénéré le solvant et de recommencer un autre cycle. Le rendement en huile est calculé de la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{\text{La quantité de l'extrait brut (g)} \times 100}{\text{La quantité initiale de l'échantillon (g) * MS}}$$



**Figure 34** : Extraction de l'huile grasse du café et du marc par Soxhlet

**A** : Montage du Soxhlet ; **B** : l'huile grasse récupérée

## 5- Evaluation des activités biologiques des extraits bruts/ huiles grasses

### 5.1- Determination du potentiel antioxydant des échantillons

#### 5.1.1- Activité du piégeage du radical 2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH')

Dans une plaque à 96 puits, 40 µl de chaque échantillon (extraits et huiles) dilué dans des solutions de méthanol à différentes concentrations sont introduits. Ils sont par la suite supplémentés par 160 µl de la solution de DPPH préalablement préparée. Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517 nm via un lecteur microplaque (Multimode Reader, ENSPRO<sup>®</sup>, Singapore) (Bois, 1959). Un contrôle positif représenté par une solution d'un antioxydant standard (le α-tocophérol, BHA, BHT) et un blanc préparé en mélangeant 40 µl de méthanol avec 160µl de la solution de DPPH sont introduits dans la plaque et traités dans les mêmes conditions. Le pourcentage de neutralisation du radical de DPPH est calculé selon la formule suivante:

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A \text{ Blanc} - A \text{ échantillon}}{A \text{ Blanc}} * 100$$

**Ou :** A Blanc : l'Absorbance de la réaction contenant que les réactifs.

A échantillon : l'Absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'échantillon.

En calculant les pourcentages d'inhibition, une courbe de régression linéaire reliant les différentes concentrations et les pourcentages d'inhibition est obtenue. A partir de cet abaque, on détermine l'IC50 qui correspond à la concentration de l'échantillon qui entraîne 50% d'inhibition. Notons que l'activité antioxydante est inversement proportionnelle à la valeur de l'IC50. Ainsi, l'échantillon qui présente l'IC50 la plus faible est celui qui présente l'activité anti-radicalaire la plus importante.

#### 5.1.2- Activité du piégeage du radical 2,2'-azinobis-(3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS<sup>+</sup>).

Dans une plaque à 96 puits, 40 µl de chaque échantillon à différentes concentrations (3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 et 200 µM) sont incubés avec 160 µl de la solution ABTS<sup>+</sup> pendant 10 minutes à température ambiante et dans l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 734 nm via un

lecteur microplaque (Multimode Reader, ENSPRO<sup>®</sup>, Singapore) contre un blanc sans échantillon préparé dans les mêmes conditions (Re *et al.*, 1999).

Le pouvoir antiradicalaire de l'extrait est exprimé en pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>+</sup> :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{Blanc}} - A_{\text{Extrait}}}{A_{\text{Blanc}}} \times 100$$

Où :  $A_{\text{Blanc}}$  : l'Absorbance de la réaction contenant que les réactifs.

$A_{\text{échantillon}}$  : l'Absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'échantillon.

### 5.1.3- Le pouvoir réducteur des ions cupriques (CUPRAC)

Un volume de 40  $\mu\text{l}$  de chaque extrait ainsi que les différentes concentrations sont mélangés avec 60  $\mu\text{l}$  du tampon, 50  $\mu\text{l}$  de la solution  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  et 50  $\mu\text{l}$  de solution neocuprine. La couleur du milieu réactionnel change alors du blanc au jaune orangé (APAK *et al.*, 2004). Un contrôle positif représenté par deux antioxydants de synthèse (BHA, BHT) et un blanc préparé en remplaçant les extraits par le méthanol sont introduits dans la plaque et traités dans les mêmes conditions. Après 1h d'incubation à température ambiante à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 450 nm par un lecteur microplaque (Multimode Reader, ENSPRO<sup>®</sup>, Singapore).

## 5.2- Détermination du potentiel enzymatique des échantillons

### 5.2.1- L'activité anticholinestérase

Elle est déterminée selon la méthode d'Ellman *et al.* (1961). 150  $\mu\text{l}$  de tampon phosphate de sodium (100Mm, pH 8,0), 10  $\mu\text{l}$  d'une solution d'échantillon dissoute dans l'éthanol à différentes concentrations et un volume de 20  $\mu\text{l}$  l'AChE ( $5,32 \times 10^{-3}$  U) ou BChE ( $6,85 \times 10^{-3}$  U) ont été mélangés et incubés pendant 15 min à 25°C. Après la pré-incubation, 10  $\mu\text{l}$  de DTNB (0,5 mM) ont été ajoutés. Ensuite, la réaction a été initiée par l'addition de 20  $\mu\text{l}$  d'iodure d'acétylthiocholine (0,71 mM) ou le chlorure de butyrylthiocholine (0,2 mM). Les hydrolyses de ces substrats ont été suivies par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 412 nm, en utilisant un lecteur de microplaques à 96 puits (Multimode Reader, ENSPRO<sup>®</sup>, Singapore). Les mesures et les calculs ont été évalués en utilisant le logiciel PRO Softmax v5.2. La galanthamine a été utilisé comme composé de référence.

Le pourcentage d'inhibition de l'ACHé ou BChE a été déterminé par comparaison des vitesses de réaction d'échantillons par rapport à l'échantillon témoin (éthanol dans du tampon phosphate, pH 8) en utilisant la formule :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{E - S}{E} * 100$$

Où : **E** est l'activité de l'enzyme sans échantillon d'essai

**S** est l'activité de l'enzyme avec l'échantillon de test.

### 5.2.2- L'activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase

L'activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase a été réalisée en utilisant la méthode iode / iodure de potassium (IKI) (Zengin *et al.*, 2014) avec quelques modifications. La solution d'échantillon (25  $\mu$ L) a été mélangée avec une solution d' $\alpha$ -amylase (50  $\mu$ l) dans du tampon phosphate (pH 6,9 avec du chlorure de sodium 6 mM) dans une microplaque à 96 puits et incubée pendant 10 min à 37 ° C. Après la pré-incubation, la réaction a été initiée avec l'addition d'une solution d'amidon (50  $\mu$ L, 1%). De même, un blanc a été préparé en ajoutant une solution d'échantillon à tous les réactifs de réaction sans solution d'enzyme ( $\alpha$ -amylase). Le mélange réactionnel a été incubé 10 min à 37 ° C. La réaction a ensuite été arrêtée par addition de HCl (25  $\mu$ L, 1 M). Ceci a été suivi de l'ajout de 100  $\mu$ l de la solution d'iode-iodure de potassium IKI (5 mM de I<sub>2</sub> et 5 mM de KI). Les absorbances de l'échantillon et du blanc ont été lues à 630 nm. L'absorbance du blanc a été soustraite de celle de l'échantillon et l'activité inhibitrice de l' $\alpha$  amylase a été exprimée en équivalents d'acarbose. Les résultats ont été exprimés en% d'inhibition, calculée à l'aide de la formule suivante:

$$\text{INH (\%)} = [1 - \{(A_c - A_e) - (A_s - A_b) / (A_c - A_e)\}] \times 100$$

Où : **A<sub>c</sub>**=Absorbance [Amidon+IKI+HCl+Vol de solvant d'extrait+Vol tampon Enzyme].

**A<sub>e</sub>**=Absorbance [Enzyme + Amidon+IKI+HCL+ Vol de solvant d'extrait].

**A<sub>s</sub>**=Absorbance [Enzyme + Extrait + Amidon + IKI +HCl].

**A<sub>b</sub>**=Absorbance [Extrait+IKI+125 $\mu$ l de tampon].

### 5.2.3- L'activité inhibitrice de l' $\alpha$ -glucosidase

L'inhibition de l'activité catalytique de l'  $\alpha$ -glucosidase est déterminée par la méthode de Behvar Asghari *et al.* (2018), Dans une microplaque de 96 puits, 50  $\mu$ L des différents concentrations de chaque échantillon sont mélangés avec 100  $\mu$ L de la solution d'enzyme (préparée dans 9,8 ml du tampon phosphate de pH=6,9). Le mélange est par la suite incubé à 37° pendant 15 min. Après la phase d'incubation, 50  $\mu$ L de substrat (p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (préparé en mélangeant 15 mg dans 10 ml de tampon phosphate de pH =6.9) sont ajouté dans chaque puits. Un blanc préparé en remplaçant les extraits par le méthanol est introduit dans la plaque et traité dans les mêmes conditions. L'absorbance est lue par le lecteur des microplaques (Multimode Reader, ENSPRO<sup>®</sup>, Singapore) à 405nm pour le 0min puis en 15min après l'incubation à 37°. Les résultats ont été exprimés en% d'inhibition, calculée à l'aide de la formule suivant :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{\text{Abs de l'extrait} - \text{Abs de Blanc}}{\text{Abs de contrôle}} \times 100$$

Où : Control : Enzyme + Substrat + Solvant de l'extrait ;

Blanc : Substrat + Extrait + Tampon de l'enzyme.

## 5-3- Détermination du potentiel antimicrobien des échantillons

Les méthodes du laboratoire qui permettent d'estimer les propriétés d'un produit *in vitro* sont nombreuses, mais reposent toutes sur le même principe, celui de confronter la substance probablement avoir une activité antimicrobienne (extrait, huile,...etc.) et l'agent pathogène (champignons, bactéries, insectes,...) sur un support artificiel.

### 5.3.1- L'activité antifongique

#### ✓ Principe

Les différents échantillons du café et du marc de café ont été testés pour leur éventuelle toxicité en évaluant l'inhibition de la croissance du mycélium de quelques agents phytopathogènes sur un milieu PDA (Potato Dextrose Agar) contenant l'échantillon à tester. Les résultats donnent le I(%) qui est définie comme étant la plus faible concentration pour laquelle aucune croissance à l'œil nu n'est observée (Tantaoui *et al.*, 1992 ; Fandohan, 2004).

### ✓ Mode opératoire

Dans notre étude, l'agent phytopathogène (*Fusarium oxysporum* f. sp) a été testé. De ce fait, 1 ml de solution de DMSO contenant 1 mg du produit lyophilisé a été ajouté à 100 ml de milieu PDA à 60°C préalablement stérilisé puis réparti dans 4 boîtes de Pétri. De même, 1 ml de DMSO a été ajouté à 100 ml de milieu PDA considéré comme un contrôle positif. Le contrôle négatif contient le support PDA sans aucun autre produit (Song *et al.*, 2004).

Expérimentalement, un disque de 5 mm de diamètre imbibé d'une jeune culture fongique est déposé de manière aseptique au centre de la boîte de Pétri contenant le milieu PDA et l'échantillon à tester. L'expérience est répliquée 4 fois pour chaque traitement. Après 7 jours d'incubation à 28 °C, la croissance mycélienne de l'agent phytopathogène est mesurée à l'échelle centimétrique. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition de la croissance de chaque champignon par rapport au diamètre moyen des colonies de chaque champignon cultivé dans un milieu témoin. Ainsi, l'activité d'inhibition exprimée en pourcentage a été calculée selon la formule suivante:

$$I \% = (C - T / C) \times 100$$

Où : **I** = taux d'inhibition en% ;

**C** = croissance radiale de l'agent phytopathogène en cm sur milieu PDA avec DMSO (témoin) ;

**T** = la croissance radiale (en cm) de l'agent phytopathogène sur milieu PDA contenant l'échantillon à tester.

Pour identifier la concentration inhibitrice la plus faible, le test a été répété avec **1 mg / ml**, **2 mg / ml**, **4 mg / ml** et **8 mg / ml** et **16 mg / ml** de solvant au lieu de 1 mg / ml de solvant. Le même résultat a été obtenu, ce qui signifie que la concentration du seuil d'efficacité peut être faible (Dennis *et al.*, 1971).



**Figure 35** : Etapes de manipulation de l'activité antifongique des échantillons

### 5.3.2- l'activité antibactérienne

#### ✓ Principe

L'activité antibactérienne des échantillons était testée *in vitro* par la méthode de diffusion sur gélose (Liao *et al*, 2010). Cette méthode a exactement le même principe que celui des tests d'antibiogramme avec l'application des disques imprégnés des échantillons (extraits, huiles...etc) sur des milieux de cultureensemencés de microorganismes. L'activité antimicrobienne, quand elle était présente, se manifestait alors par des zones d'inhibition autour des disques.

#### ✓ Mode opératoire

Les souches testées pour déceler l'activité antibactérienne des échantillons (extraits et huiles) du café et du marc de café sont *Salmonella enteritidis* et *Bacillus aureus* (**Gram+**) et *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (**Gram-**). Des colonies bien séparées de ces espèces bactériennes ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et homogénéisées dans 10 ml de **bouillon nutritif** puis portées à l'incubation pendant (18-24) heures à 37 °C.

Des disques (patches) de 6 mm de diamètre ont été découpés sur du papier Wattman n°1 puis autoclavés dans 10 ml d'eau distillée à 120°C pendant 20 min. Des séries de dilutions allant de 0,150 à 0,005 mg / ml ont été préparées pour chaque échantillon. Les disques de papier Wattman déjà préparés sont chargés de l'extrait/huile à tester, des disques imprégnés du DMSO sont également utilisées comme un témoin négatif.

Les microorganismes ont étéensemencés par étalement sur des boîtes de Pétri contenant la gélose Muller-Hinton. Les disques ont été ensuite imprégnés chacun par 20 µl de principe actif (extrait/huile dilué) et déposés sur la surface des géloses. L'activité antibactérienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 h d'incubation à 37 °C.

## 6- Analyse statistique

Tous les tests ont été effectués en triplet. Les moyennes et les écarts types sont calculés avec Excel de Microsoft Office 2010. Une analyse de la variance à un seul facteur (ANOVA) est réalisée sur les données de la détermination de l'activité antioxydante valorisée à travers trois essais complémentaires en utilisant le logiciel statistique SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), version 17.0.0.3, 2009. Le test de comparaison multiple de Tukey's est utilisé pour déterminer la moyenne qui diffère du reste du groupe. Elles sont considérées significativement différentes pour une valeur de probabilité ( $P < 0,05$ ).

## 1- Analyses physico-chimiques des échantillons

### 1-1. Teneur en eau (taux d'humidité)

L'analyse du tableau 04 a révélé clairement une variabilité entre le café et le marc du café dans la majorité des composantes chimiques étudiées.

Le café torréfié se distingue par sa teneur élevée en humidité comparativement au marc, soit 97.6% Verus 62.6%, respectivement. Notre résultat est tout à fait logique et prévisible du fait que le marc est un sous-produit de la production de la boisson du café à partir des graines du café torréfiés dont tous les composants solubles dans l'eau, comme les polysaccharides, les mélanoides, les caféines sont extraites, ce qui provoque une perte considérable du poids initiale, estimé dans notre cas à 35%.

**Tableau 04** : Le pH et la composition chimique du café torréfié et du marc de café.

| <b>Tableau 04</b> : Le pH, le taux d'humidité et les teneurs en minéraux, en protéines, en sucres totaux et en matières grasses du café et du marc du café (% MS). |             |             |            |            |             |           |
|--|-------------|-------------|------------|------------|-------------|-----------|
| <b>Echantillons</b>  | <b>Hum</b>  | <b>MM</b>   | <b>ST</b>  | <b>MAT</b> | <b>MG</b>   | <b>pH</b> |
| <b>Café</b>  | 97.6        | 4.83 ± 0.04 | 37.8± 1.2  | 9.5 ±0.59  | 9.6 ± 0.54  | 5.56      |
| <b>Marc du café</b>  | 62.6 ± 0.87 | 2.5 ± 0.04  | 45.3 ± 2.5 | 7.4 ±1.05  | 6.04 ± 0.16 | 5.45      |

**Hum** : humidité ; **MM** : Matières minérales ; **ST** : Sucres totaux ; **MAT** : Matières azotées totales ; **MG** : Matières grasses.

-Les résultats sont exprimés comme la moyenne de trois répétitions ± écart type.

Autrement dit, Le marc du café contient une teneur en matière sèche relativement élevée comparativement au café torréfié, soit 37.4 et 2.4%, respectivement. Xiuju et Loong-Tak (2015) ont rapporté une teneur en humidité du café torréfié variant de 1% à 5%, selon la matière première et le niveau de torréfaction. Cependant, Cruz *et al.*, 2015 ont notifié un taux d'humidité du marc de café variant entre 18 à 45%. L'origine, le type/variété du café et les différentes techniques de préparation du boisson (décoction, infusion ou pressage) de café ont été rapportés avoir un effet significatif sur le taux finale d'humidité du marc (Al-Hamamre *et al.*, 2012; Cruz *et al.*, 2015). Les mêmes auteurs ont stipulé que la teneur en humidité relativement élevée du marc de café peut être un inconvénient potentiel pour sa valorisation en tant que matière première pour les biocarburants, et en particulier pour la récupération des



lipides, car la plupart des méthodes d'extraction nécessitent une matière première sèche (Corrêa *et al.*, 2014; Cruz *et al.*, 2015). Une déshydratation de la biomasse du marc à un taux d'humidité de 10% est fortement recommandée afin d'éviter toutes sortes de contamination avec les moisissures détériorants lors du stockage.

### **1-2. Teneur en minéraux**

Les échantillons étudiés renferment des taux différents en cendres variant de 2.5 pour le marc et 4.8% MS pour le café torréfié (tableau 04). Notre résultat est cohérent avec celui de Peshev *et al.*, 2018 ayant rapporté que le taux des minéraux dans le café torréfié est d'environ 4.6% MS et que la méthode de préparation de la boisson du café affecte significativement la composition minérale du marc, stipulant par ainsi que la méthode de préparation conventionnelle peut réduire le taux des cendres jusqu'à 93%, en raison de la nature hydrophile des composés inorganiques et des minéraux et que la majorité des minéraux sont facilement extraits dans l'eau chaude.

Cependant, Cruz *et al.*, 2015 (0.8-3.5% MS) rapportent un résultat similaire au notre, soit une fourchette de 0.8-3.5% MS des minéraux dans le marc du café. Dans ce dernier, plusieurs éléments ont été identifiés et quantifiés, à savoir le phosphore, le potassium, le magnésium, le calcium, le manganèse, le cuivre, le sodium, le fer et le zinc. Le potassium est considéré comme les minéraux le plus abondant dans le marc, cependant le magnésium est l'élément prédominant dans le café torréfié (Capos-véga *et al.*, 2015 ; Cruz *et al.*, 2015 ; Mussatto *et al.*, 2010). Ces minéraux sont considérés comme des micronutriments essentiels pour la santé humaine. Ils régulent de multiples fonctions métaboliques et physiologiques du corps humain, de plus, ils pourraient être utilisés pour la production d'aliments nutritifs ajoutés (Kuan *et al.*, 2011).

### **1-3. Teneurs en matières grasses**

En ce qui concerne les lipides, les données varient principalement entre 6.04 et 9.6% MS pour le marc et le café, respectivement. Cet ordre ne varie pas grandement entre les deux échantillons, cela pourrait être traduit par le fait que les lipides sont mal extraits par l'eau chaude. Il a été rapporté que le café torréfié contient de 10 à 15% de lipides et parfois plus élevés en moyenne 20% (Jenkins, Stageman, Fortune et Chuck, 2014). Au cours de la préparation des infusions du café, les lipides restent accolés aux résidus, ce qui fait le marc une bonne source de lipides (Oestreich-Janzen, 2010).

Nos résultats corroborent avec ceux stipulant que les teneurs en lipides se situent entre 9,3 et 16,2% , 10-15% et 14-15,4% dans les marc issus de café espresso, du café soluble et du café industriel soluble, respectivement (Couto , Fernandes, da Silva et Simões, 2009; Calixto et al., 2011; Cruz et al., 2012). Ils sont composés de 84,4 % de triglycérides. Ceux-ci sont représentés par l'acide linoléique (C18:2), l'acide palmitique (C18:2) et (C16:0), l'acide oléique (C18:1) et l'acide stéarique. Ainsi, 12,3% d'esters d'alcool diterpéniques, 1,9% de stérols, 1,3% de matière polaire et 0,1% des esters de stérol sont également quantifiés (Capos-Vega et *al.*, 2015). Cette composition est similaire à celle du café bouilli ou filtré avec 87-93% de triglycérides, 7-13% d'esters d'alcool diterpéniques, 0,2-0,9% de stérols et jusqu'à 0,8% de matières polaires (Melo et *al.*, 2014 ; capos véga 2015).

### ***1-4. Teneur en protéines***

Le café torréfié renferme une teneur en protéines bruts légèrement supérieure comparativement à son marc, soient 9.5 et 7.4% MS, respectivement. Le taux des protéines dans le café torréfié est rapporté être entre 8.7 et 12.2% MS selon Macrae, 1985. Le taux des protéines dans le marc du café est ainsi rapporté être similaire à celui du café torréfié, soit une moyenne de 13.6% (Messay, 2016). En contrepartie, Spiller, 1998 stipule que la teneur en protéines dans le café torréfié était de 9%, dont 1,5% est soluble dans l'eau et les 7,5% restants insolubles.

De plus, Compos-véga et al., 2015 indique que le marc de café contient entre 6,7 et 14 % de protéines selon les études et est de même ordre chez l'arabica ou le robusta. Cependant, il se peut que ces estimations soient surévaluées à cause de la présence d'autres composés contenant de l'azote tel que la caféine ainsi que plusieurs acides aminés. Le même rapport signale que Les acides aminés essentiels représentent près de la moitié (~ 49%) des acides aminés totaux du marc, principalement la leucine, ce qui représente 13 ou 21% du contenu total. Le rapport lysine / arginine, déterminant des effets cholestérolémiques et athérogènes d'une protéine, est élevé dans le marc, ce qui suggère qu'il peut contribuer à effets physiologiques hypercholestérolémiques et athérogènes.

Les protéines du marc sont également une excellente source d'arginine, de glutamine et d'histidine, les trois acides aminés connus pour effets forts sur les fonctions immunitaires du corps. La teneur élevée en cystéine et en méthionine de ces protéines peut augmenter les niveaux d'antioxydants dans l'organisme, stabilisant potentiellement l'ADN lors de la division cellulaire et réduisant le risque de certaines formes de cancer du côlon (Mussatto *et al.*, 2011).

### 1-5. Teneur en sucres

Il ressort du tableau 04 que les deux échantillons sont assez riches en sucres comparativement aux autres composants. Le taux des sucres totaux enregistré pour le café torréfié est estimé à 37.8% MS, tandis que celui noté pour le marc du café est 45.3% MS. Il a été rapporté que les grains du café sont une source riche en polysaccharides (environ 50% du poids sec du grain vert) composés principalement de mannanes ou de galactomannanes, d'arabinogalactanes et de cellulose. Cependant, lors de la préparation de la boisson en utilisant l'eau chaude, la plupart de ces polysaccharides restent sous forme de composés insoluble lié au marc du café (Mussatto *et al.*, 2011 ; Simões *et al.*, 2013). Cela pourrait indiquer que la majorité des sucres présents dans notre café sont insolubles dans l'eau chaude, ce qui conduit à une concentration de ces derniers dans le marc.

Le même pourcentage (45.3% MS) en sucres totaux est enregistré pour le marc du café par Mussato *et al.* (2011), il est représenté, selon le même rapport, par 46,8% de mannose, 30,4% de galactose, 19% de glucose et 3,8% d'arabinose. Cependant, Simões *et al.* (2009) ont rapporté la présence de mannose (57%), suivie par le galactose (26%), le glucose (11%) et l'arabinose (6%), ces différences pourrait être attribués à la variété du café et les procédés utilisés dans la torréfaction et l'extraction.

D'une manière générale, les variations enregistrées entre les données enregistrées dans notre étude et celles rapportées dans la littérature en matière de la composition chimique du café torréfié et du marc de café pourraient être attribuées aux origines et aux espèces des échantillons utilisés, aux méthodes de torréfaction et de préparation de la boisson et aux différentes méthodes d'analyse et d'extraction (Go *et al.*, 2016).

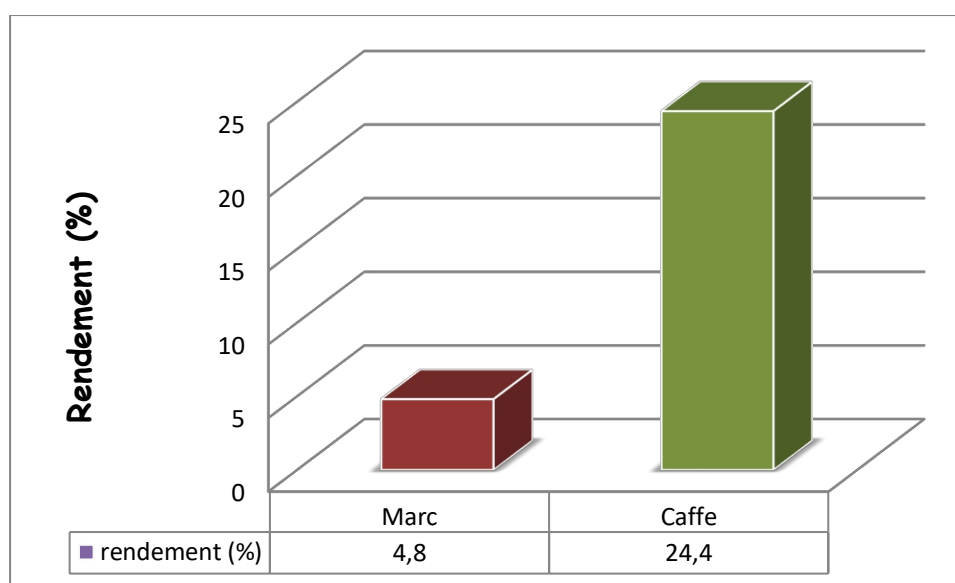
### 1-6. Le pH

Les valeurs du pH enregistrées pour le café torréfié et le marc du café sont 5.56 et 5.45, respectivement. Cette légère acidité pourrait être due à la présence d'un pourcentage bien défini du café *Arabica* (20%) renommé par son acidité élevée comparativement au café *Robusta*. Todaka *et al.* (2016) ont rapporté une fourchette de pH du marc de café allant de 4.2 jusqu'à 5.7, ce qui est en accord avec notre résultats. Dans le même contexte, Damhan *et al.* (2016) ont notifié qu'un pH acide pourrait réduire l'activité enzymatique ainsi que les processus de saccharification et de fermentation ayant lieu dans les procédés de valorisation du marc de café.

## 2- Analyses phytochimiques des échantillons

### 2-1. Rendement d'extraction du café et du marc de café

Il s'est avéré clairement que le rendement d'extraction du café par la technique de sonication (24.4%) et largement supérieur à celui enregistré pour le marc de café (4.8%) en utilisant la technique de macération (figure 36).



**Figure 36** : Rendement d'extraction du café et du marc de café par sonication et macération.

L'efficacité de la technique de sonication dans l'extraction des composés phénoliques comparativement à celle de la macération a été largement évoquée à travers des dizaines d'études à cause de sa facilité, efficacité et sa large gamme d'application sur plusieurs types d'échantillon (Koffi *et al.*, 2010 ; Mahmoudi *et al.*, 2012 ; Bourgou *et al.*, 2016).

### 2-2. Rendement d'extraction des huiles par soxhlet

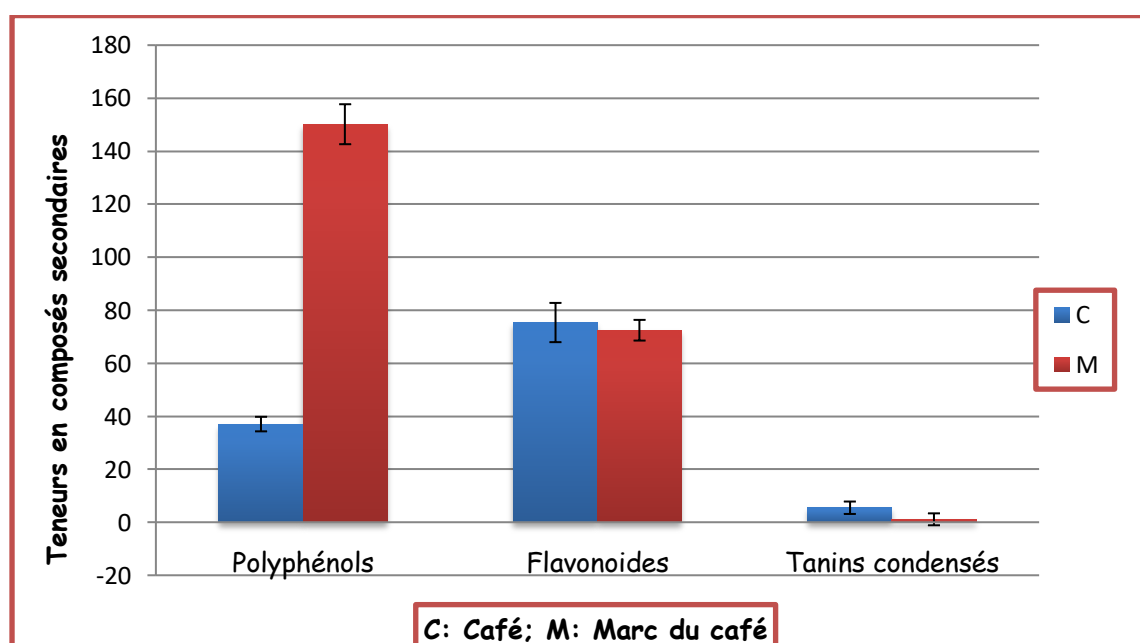
Le rendement d'extraction de l'huile de café par Soxhlet est estimé à 14.95 %, tandis que celui du marc de café est évalué à 15.5%. Phung *et al.* (2016) a enregistré un rendement d'extraction de l'huile du café similaire au nôtre, soit 16.99%. En fait, il est difficile de comparer les rendements obtenus dans notre étude avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif et dépend de la **méthode** et les **conditions dans lesquelles** l'extraction a été effectuée (solvant, rapport solvant/poudre, temps d'extraction...etc.), à

l'origine et aux différentes variétés du café (culture, climat...etc.) et aux différents procédés de torréfaction (Oliveira *et al.*, 2008 ; Al-Hamamre *et al.*, 2012 ; Jenkins *et al.*, 2014).

### 3- Analyses colorimétriques par spectrophotométrie (UV-Visible)

#### 3.1- Détermination de la teneur en phénols totaux (PT)

Les extraits bruts du café et du marc de café ont été analysés quantitativement par spectrophotométrie UV-visible pour déterminer leur contenu en polyphénols. Les résultats exprimés en terme d'équivalent d'acide gallique/ mg d'extrait sont représentés dans la figure 37. Les résultats montrent que les teneurs en polyphénols totaux varient considérablement entre les deux extraits. L'extrait du marc de café renferment une quantité des phénols totaux approximativement 5 fois plus élevée que celle enregistrée pour le café torréfié, soient 150.18 et 37.04  $\mu\text{g}$  EAG /mg, respectivement. Cela est probablement justifié soit, par la différence des techniques utilisées pour la préparation des extraits (macération et sonication) ainsi que les conditions d'extraction incluant le type du solvant utilisé ainsi que le temps d'extraction (Mussatto *et al.*, 2011 ; Bravo *et al.*, 2013), soit par le fait que la majorité des composés phénoliques présents dans le café torréfié sont des composants hydrophobes (hormis l'acide chlorogénique et la caféine), ils ont été concentrés au cours de la préparation de la boisson du café. Les phénols principalement présents dans le café sont les acides caffeoylquiniques, féruloylquiniques et dicaffeoylquiniques.



**Figure 37** : Teneurs en polyphénols ( $\mu\text{g}$  GAE/ml), en flavonoïdes ( $\mu\text{g}$  QE/ml) et en tanins ( $\mu\text{g}$  cat/ml) du café et du marc de café.

Au cours de la torréfaction, ils sont en partie isomérisés, hydrolysés, dégradés, transformés en lactones et mélanoidines, conduisant ainsi à des pertes drastiques avec un contenu final de 0,5 à 7% dans le grain torréfié, ce qui pourrait justifier le taux faible des composés phénoliques dans le café. En contrepartie, les principaux polyphénols rapportés présents dans le marc du café sont les flavonoïdes, l'acide protocatéchuïque, l'acide chlorogénique et la caféine (Carassou, 2015).

A titre de comparaison, le contenu phénolique du marc de café n'est pas loin de celui noté par Panusa *et al.*, 2013 et Bogyong and Eunim, 2017 variant de 19,3 à 25,5  $\mu\text{g}$  d'AGE / mg et 17,1 et 35,5  $\mu\text{g}$  GAE / mg, respectivement. Cependant, ceci est légèrement supérieur à la valeur enregistrée par Mussato *et al.* 2011, ayant noté 16  $\mu\text{g}$  d'AEG / mg de l'extrait éthanolique du marc du café.

### 3.2- Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux (FT)

Les résultats obtenus pour le dosage des flavonoïdes totaux de café et du marc de café exprimées en ( $\mu\text{g}$  EQ/mg d'extrait) en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions sont représentées dans la l'annexe 02. Les teneurs en flavonoïdes des extraits étudiés révèlent peu de variabilités entre les échantillons (figure 37). Il s'est avéré nettement que la concentration des flavonoïdes dans le café torréfié est pratiquement similaire à celle enregistrée dans le marc après le processus de préparation du café soluble, soit 75.35  $\mu\text{g}$  EQ/mg et  $72,45 \pm 3,90\mu\text{g}$  EQ/mg d'extrait, respectivement. Cet équilibre pourrait être attribué à la présence des flavonoïdes non polaires dans le café torréfié dont leur concentration n'a pas été influencée par la préparation de la boisson du café.

Une valeur inférieure au notre est enregistrée par Phung *et al.* (2017) pour l'extrait hydrométhanolique (1 : 20, v/v) du marc de café, estimée à 31.15  $\mu\text{g}$ /mg d'extrait.

### 3.3- Détermination de la teneur en tanins condensé (TC)

L'étude quantitative pour le dosage des tanins condensés des deux extraits est également exposée dans la figure 37. L'analyse de la figure révèle que le taux des tanins condensés dans le café torréfié est presque 4 fois supérieur à celui du marc de café, soit 5,11  $\mu\text{g}$  EVL /mg et 1,47  $\mu\text{g}$  EVL/mg, respectivement. La réduction des tanins condensés s'est estimée à 71.2%, indiquant que les tanins du café sont fortement solubles dans l'eau chaude pendant l'extraction d'espresso. Les travaux de Nieves-Guerrero *et al.* (2009) viennent d'ailleurs renforcer cette

hypothèse en montrant une teneur de 4,5% de TC dans un extrait acétonique de marc de café humide.

A titre d'exemple, Bogyoun and Eunim (2017) ont enregistré une teneur dans le café torréfié largement inférieure à la nôtre variant entre 0,7 et 0,9 mg de TAE / g d'extrait. Dans le même contexte, Hecimovic *et al.* (2011) a démontré que la teneur en tanin dans le café torréfié varie en fonction de la variété et du degré de torréfaction. Plusieurs tanins sont présents dans le marc de café. Parmi eux, on note la catéchine, la gallocatéchine, la gallocatéchine galate et l'acide chébulique. La catéchine est un antioxydant puissant qui possède une action complémentaire à la vitamine C. (Low *et al.*, 2015).

#### **4- Analyse chromatographique des échantillons par HPLC**

Contrairement aux analyses quantitatives par spectrophotométrie UV-visible, l'analyse de des composés phénoliques qualitativement par HPLC révèle la richesse et la diversité des extraits en polyphénols. En fait, la vaste gamme de polarité des phénols nécessite souvent de travailler en gradients d'éluion constitué dans notre étude d'eau acidifiée et de méthanol. Il a été suivi à 280nm, longueur d'onde caractéristique des composés phénoliques.

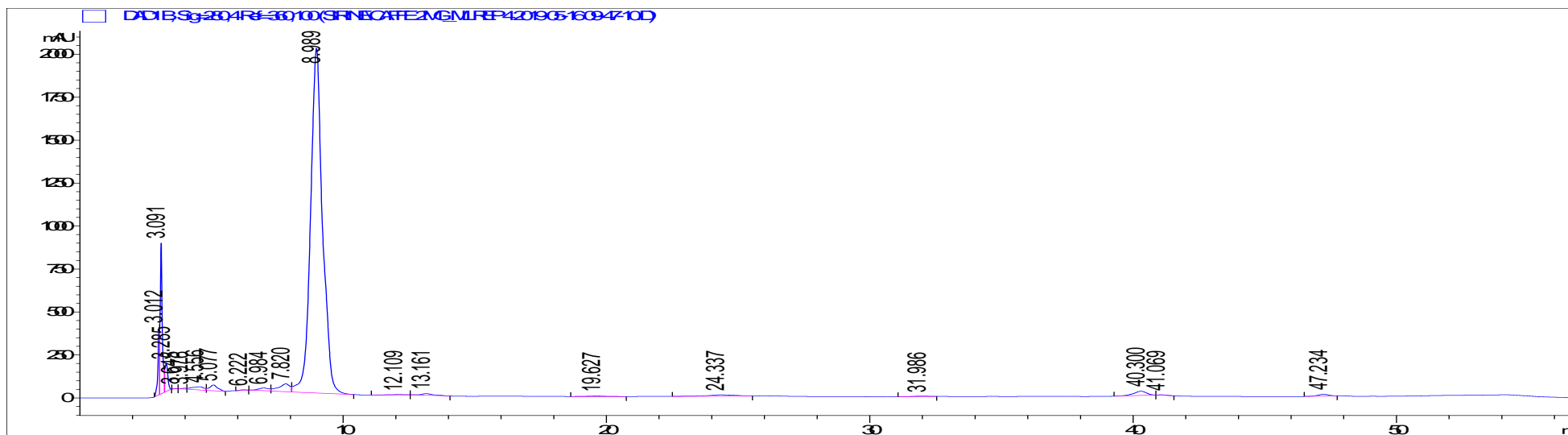
D'une façon générale, le marc du café présente le profil le plus concentré en composés phénoliques révélé par le nombre de pics le plus élevé, estimé à 19 (figure 38). Le profil obtenu pour l'extrait de café torréfié est peu intense avec un nombre de pics estimé à 15 (figure 39). Les résultats obtenus sont dans le même ordre que ceux obtenus par colorimétrie ou le marc du café semble être plus concentré en composés phénoliques que le café torréfié.

Chaque chromatogramme est dominé par un/plusieurs pic(s) majoritaire(s) dont les temps de rétention différent d'un profil à un autre. À titre d'exemple, le composant majoritaire apparu dans le profil chromatographique du marc de café détient un temps de rétention égale à 8.898 (pic n° 11). De plus, Le composant majoritaire présent dans l'extrait du café torréfié est avec un temps de rétention égale à 8.995 (pic n° 11).

Il nous est toutefois impossible d'identifier ces composants majoritaires présents dans nos extraits car leurs temps de rétention ne correspondent pas à ceux enregistrés dans notre bibliothèque. Étant donné que le temps de rétention d'un composant dans un mélange de

molécules dépend de la nature de la phase stationnaire, de la composition de la phase mobile, des conditions analytiques.



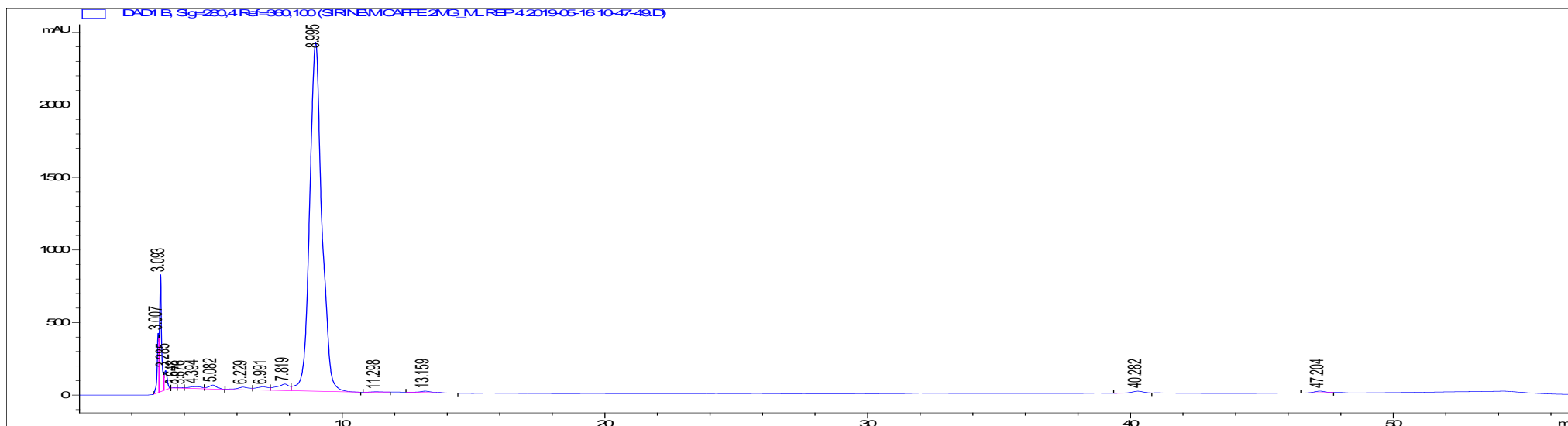


Signal 2: DAD1 B, Sig=280,4 Ref=360,100

| Peak # | RetTime [min] | Type | Width [min] | Area [mAU*s] | Area %   | Name |
|--------|---------------|------|-------------|--------------|----------|------|
| 1      | 3.012         | BV   | 0.0590      | 1584.19214   | 2.0647   | ?    |
| 2      | 3.091         | VV   | 0.0809      | 4890.07471   | 6.3732   | ?    |
| 3      | 3.285         | VB   | 0.1143      | 1267.64832   | 1.6521   | ?    |
| 4      | 3.645         | BB   | 0.1003      | 6.57171      | 8.565e-3 | ?    |
| 5      | 3.976         | BV   | 0.1639      | 66.03194     | 0.0861   | ?    |
| 6      | 4.556         | VV   | 0.4130      | 575.94250    | 0.7506   | ?    |
| 7      | 5.077         | VB   | 0.2939      | 693.78192    | 0.9042   | ?    |
| 8      | 6.222         | BB   | 0.2428      | 54.64118     | 0.0712   | ?    |
| 9      | 6.984         | BV   | 0.4006      | 435.22540    | 0.5672   | ?    |
| 10     | 7.820         | VV   | 0.4098      | 1351.63269   | 1.7616   | ?    |
| 11     | 8.989         | VB   | 0.4731      | 6.34648e4    | 82.7129  | ?    |
| 12     | 12.109        | BB   | 0.5530      | 72.05561     | 0.0939   | ?    |
| 13     | 13.161        | BB   | 0.4612      | 329.64420    | 0.4296   | ?    |
| 14     | 19.627        | BB   | 0.6611      | 145.19109    | 0.1892   | ?    |
| 15     | 24.337        | BB   | 0.9597      | 519.39960    | 0.6769   | ?    |
| 16     | 31.986        | BB   | 0.5593      | 93.48450     | 0.1218   | ?    |
| 17     | 40.300        | BB   | 0.5026      | 824.31543    | 1.0743   | ?    |
| 18     | 41.069        | BB   | 0.3555      | 51.73406     | 0.0674   | ?    |
| 19     | 47.234        | BB   | 0.4204      | 302.60751    | 0.3944   | ?    |

Totals : 7.67289e4

Figure 38 : Profil chromatographique des composés phénoliques du marc de café à une longueur d'onde 280nm



Signal 2: DAD1 B, Sig=280,4 Ref=360,100

| Peak # | RetTime [min] | Type | Width [min] | Area [mAU*s] | Area %  | Name |
|--------|---------------|------|-------------|--------------|---------|------|
| 1      | 3.007         | BV   | 0.0688      | 1853.81055   | 2.0635  | ?    |
| 2      | 3.093         | VV   | 0.0766      | 4323.43311   | 4.8125  | ?    |
| 3      | 3.285         | VB   | 0.1138      | 1021.66821   | 1.1372  | ?    |
| 4      | 3.648         | BV   | 0.1343      | 34.59050     | 0.0385  | ?    |
| 5      | 3.876         | VV   | 0.1853      | 73.05886     | 0.0813  | ?    |
| 6      | 4.394         | VV   | 0.4931      | 444.72385    | 0.4950  | ?    |
| 7      | 5.082         | VB   | 0.3147      | 615.49640    | 0.6851  | ?    |
| 8      | 6.229         | BV   | 0.4486      | 593.33173    | 0.6604  | ?    |
| 9      | 6.991         | VV   | 0.4480      | 734.22748    | 0.8173  | ?    |
| 10     | 7.819         | VV   | 0.4472      | 1489.47363   | 1.6580  | ?    |
| 11     | 8.995         | VB   | 0.4860      | 7.75576e4    | 86.3304 | ?    |
| 12     | 11.298        | BB   | 0.3972      | 64.12830     | 0.0714  | ?    |
| 13     | 13.159        | BB   | 0.5051      | 353.21634    | 0.3932  | ?    |
| 14     | 40.282        | BB   | 0.4476      | 368.74509    | 0.4105  | ?    |
| 15     | 47.204        | BB   | 0.4294      | 310.62845    | 0.3458  | ?    |

Totals : 8.98381e4

Figure 39 : Profil chromatographique des composés phénoliques du café torréfié à une longueur d'onde 280nm.

Ainsi, la séparation des composés phénoliques par HPLC est conduite de différentes manières selon l'espèce étudiée, la méthode d'extraction, le type de colonne, le solvant et le gradient d'élution.

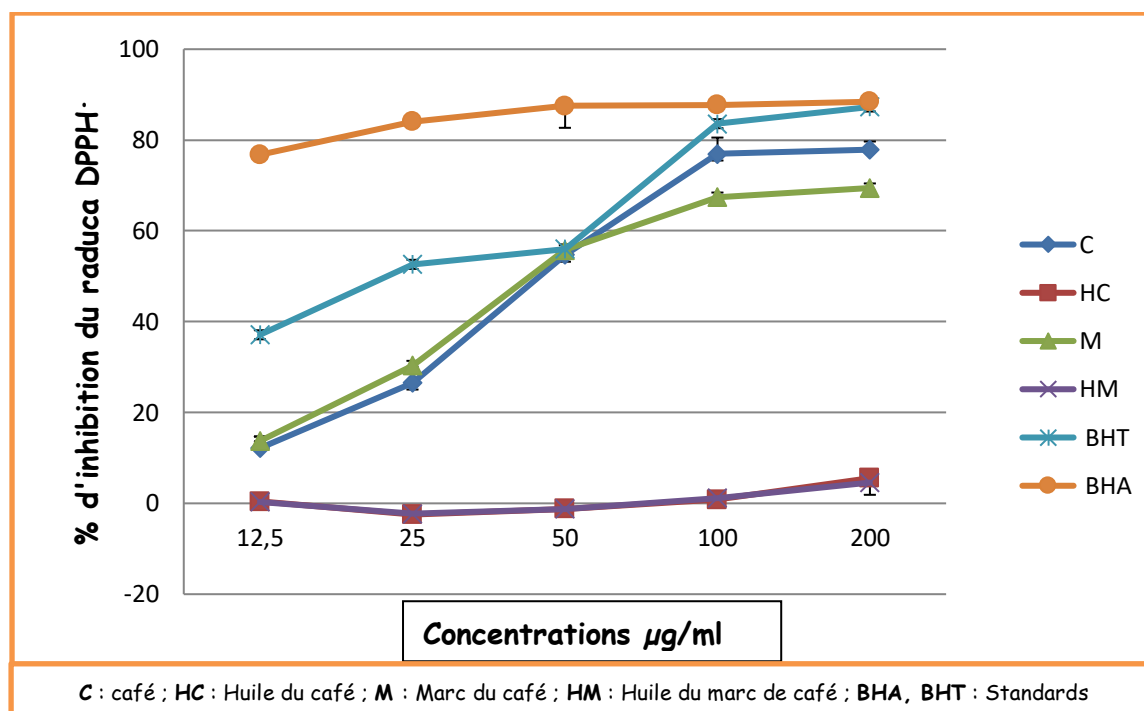
### **5- Evaluation du potentiel antioxydant des échantillons**

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation, il manifeste clairement qu'une seule méthode n'est pas suffisante pour caractériser le potentiel oxydant d'un échantillon, il faut donc combiner plusieurs tests complémentaires pour pouvoir offrir des résultats cohérents et exhaustifs. En conséquence, dans notre étude et à notre niveau, nous avons choisis **trois** principaux tests antioxydants dont les principes reposent sur le changement de couleur suivie par la lecture de l'absorbance à des longueurs d'ondes spécifiques.

#### **5.1- L'activité du piégeage du radical libre DPPH· (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)**

##### **➤ Le pourcentage d'inhibition**

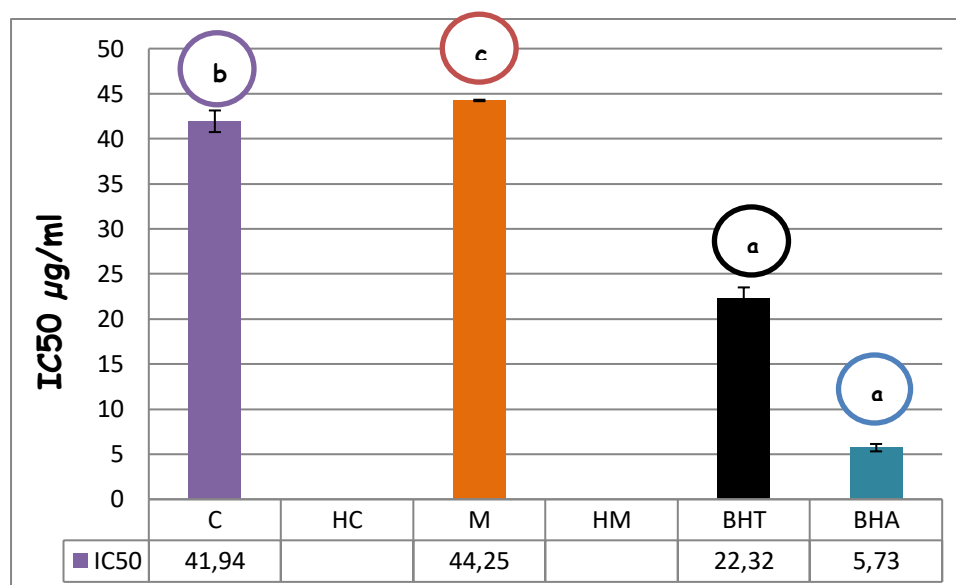
Les résultats du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de différents échantillons à différentes concentrations comparativement à deux standards (BHA et BHT) sont représentés dans la figure 40. Il s'est avéré une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des échantillons ainsi que des contrôles positifs : BHT et BHA. Le café et son marc présentent des taux d'inhibitions comparables et similaires aux standards dans les concentrations croissantes suivantes ; 50, 100 et 200 µg. Leurs huiles n'exercent, en contrepartie, aucun effet décelable comparativement aux standards durant toute la gamme des concentrations utilisées dans notre étude.



**Figure 40** : Profil de l'activité scavenging du radical DPPH• des échantillons et des standards à différentes concentrations

#### ➤ La valeur IC<sub>50</sub>

L'activité de piégeage du radical libre DPPH• des quatre échantillons est exprimée par la valeur IC<sub>50</sub> (la concentration d'extrait nécessaire pour inhiber 50% du radical libre DPPH•) (figure 41). Selon les valeurs d'IC<sub>50</sub>, il ressort que l'extrait du café torréfié est significativement différent (41.94 µg/ml) de celui du marc de café (44,25 µg/ml ;  $p \leq 0.001$ ). Cela confirme la possibilité qu'il contient la plus grande quantité de composés accepteurs de radicaux libres et le plus grand potentiel antioxydant. Toutefois, cette activité antioxydante est significativement plus faible ( $p \leq 0.001$ ) comparativement aux standards utilisés le BHT et le BHA qui ont des IC<sub>50</sub> égaux à 22.32µg/ml et 5.73µg/ml, respectivement). Par contre, pour les deux huiles de café et du marc de café n'exercent aucun effet piègeur vis-à-vis le DPPH• dans toutes les concentrations utilisées.



**Figure 41** : IC50 pour l'activité antiradicalaire DPPH<sup>•</sup> des échantillons et des standards exprimée en µg/ml ( $p \leq 0.001$ ).

La différence dans l'activité antiradicalaire du DPPH<sup>•</sup> entre les quatre échantillons analysés est probablement due à la richesse en différents composés polaire à savoir les polyphénols et les flavonoïdes. Plusieurs études ont montré une relation étroite entre la structure des composés phénoliques et leur pouvoir antioxydant. De plus la réduction du DPPH<sup>•</sup> n'est généralement pas due à l'action d'un seul composé mais aux interactions entre plusieurs composés, ces interactions peuvent exister dans un extrait pas dans un autre, conduisant ainsi à cette différence d'activité entre les extraits. De plus, il a été rapporté que la réaction du dosage des phénols totaux est basé sur une réaction d'oxydo-réduction pouvant être considéré comme une méthode d'évaluation de l'activité antioxydante des extraits. De ce fait, les extraits riches en composés phénoliques peuvent être considérés comme les plus antioxydants, ce qui en contradiction avec notre résultats (Prior *et al.*, 2005).

## 5.2- L'activité du piégeage du radical-cation ABTS<sup>•+</sup> (scavenging activity)

### ➤ Le pourcentage d'inhibition

L'activité antioxydante des échantillons est ainsi déduite à partir de leur capacité à inhiber le radical ABTS<sup>•+</sup> obtenu à partir l'ABTS comparativement à des références à savoir le BHT et le BHA. La figure 42 illustre les courbes représentatives du pourcentage d'inhibition du radical en fonction des différentes concentrations des échantillons.

Le profil de l'activité antiradicalaire ABTS.<sup>+</sup> révèle que tous les échantillons possèdent une activité dose-dépendante. A une concentration de 25 µg, le café torréfié révèle une activité inhibitrice très puissante et comparable aux standards avec une inhibition plus de 90%. A des concentrations plus élevées, le café s'est montré encore plus actif avec un taux d'inhibition dépassant le 92% comparativement aux standards. Le marc du café a montré une activité antiradicalaire largement inférieure au café torréfié, mais intéressante quand même à la concentration 200 µg dépassant 72.5% d'inhibition. Les deux huiles ont montré des activités inhibitrices vis-à-vis le radical ABTS faibles mêmes à des concentrations élevées comparativement aux standards, soient 41 et 21% pour l'huile du marc et l'huile du café, respectivement.

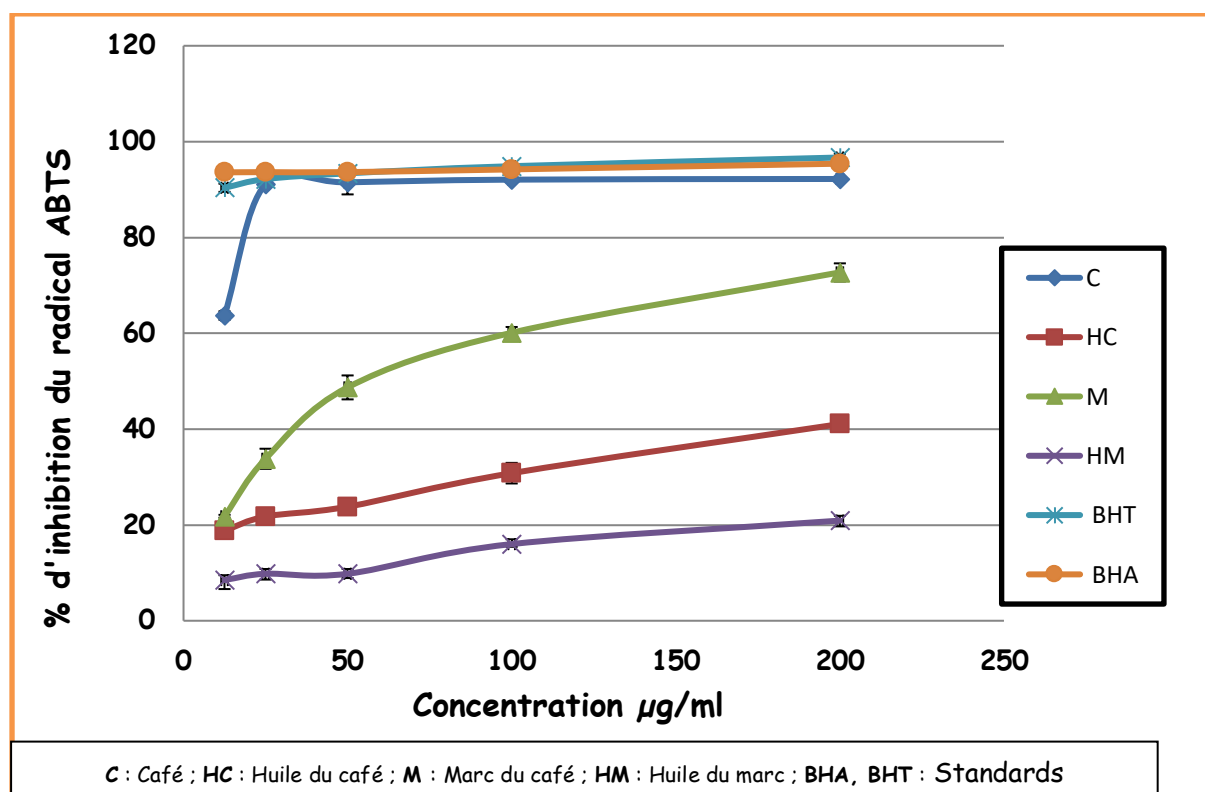
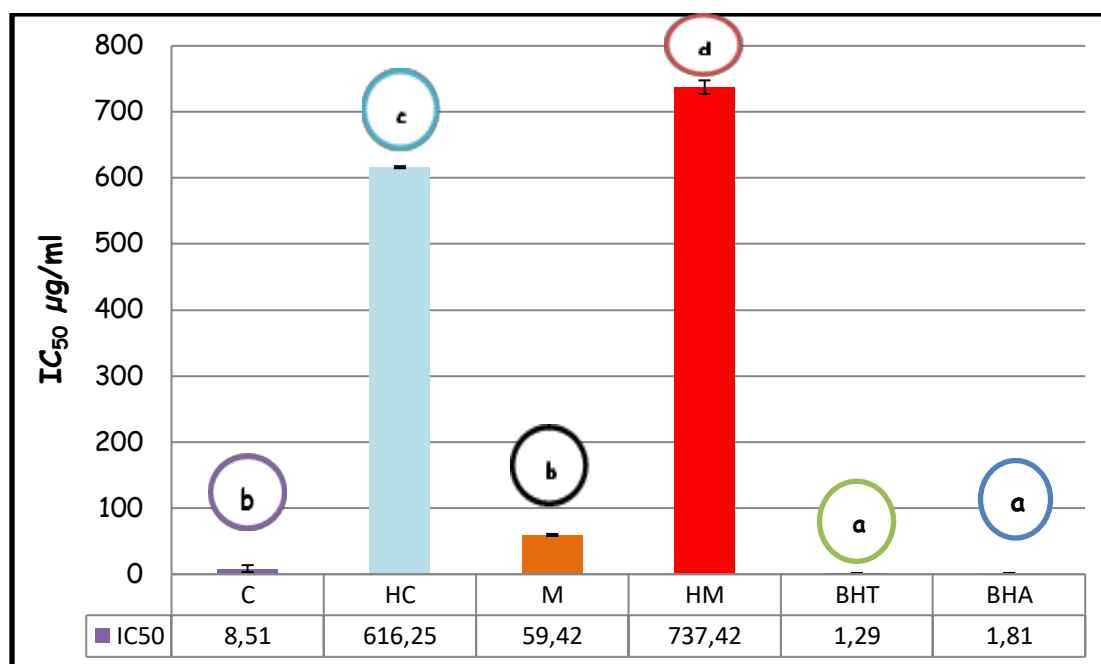


Figure 42 : Profil de l'activité antiradicalaire ABTS.<sup>+</sup> des échantillons et des standards à différentes concentrations.

### ➤ La valeur IC50

Les valeurs d'IC50 enregistrées pour les quatre échantillons sont significativement différentes comparativement aux standards ( $p \leq 0.001$ ). Le classement décroissant des échantillons sur la base de leur activité antiradicalaire ABTS.<sup>+</sup> est le suivant (figure 43) :

Café ≥ Marc du café ≥ Huile du café ≥ Huile du marc



**Figure 43:** IC50 pour l'activité antiradicalaire ABTS<sup>+</sup> des échantillons et des standards exprimée en µg/ml ( $p \leq 0.001$ ).

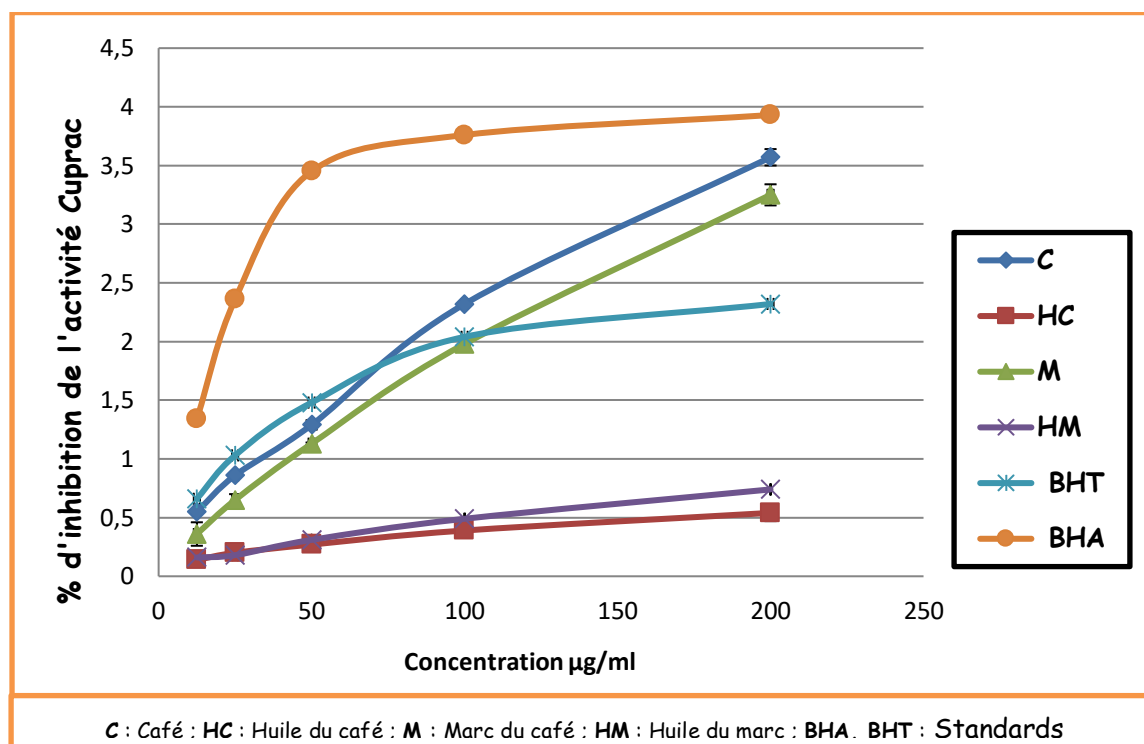
Comme dans le cas du test précédent, le café présente la capacité la plus grande à neutraliser le radical ABTS<sup>+</sup> comparativement aux standards et autres échantillons ( $p \leq 0.001$ ), avec une IC<sub>50</sub> la moins faible égale à 8.51 µg/ml. Le marc révèle une capacité statistiquement similaire à celle du café, estimée à 59.42 µg/ml. Les deux huiles semblent être très loin d'être des inhibiteurs de l'activité du radical ABTS<sup>+</sup> dont leurs IC<sub>50</sub> sont grandement supérieurs à ceux des standards, soient 616,25 et 737 µg/ml pour HC et HM, respectivement. La composition chimique et phytochimique du café pourrait avoir un effet significatif sur la capacité antioxydante de ce dernier. Une étude de la littérature a montré que le processus de torréfaction pouvait influencer sur la capacité antioxydante du café. Vignoli et al. (2011) ont rapporté que l'activité antioxydante du café n'était pas affectée par le degré de torréfaction en raison de l'équilibre entre composés dégradés et nouveaux formés.

### 5.3- L'activité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)

#### ➤ Le pourcentage d'inhibition

Le café torréfié et son marc présentent des taux d'inhibition de l'activité de réduction du Cu<sup>+2</sup> en Cu<sup>+</sup> à différentes concentrations similaires au standard BHA. A partir de la concentration

100 µg, les deux extraits dépassent les taux enregistrés pour le même standard, soit 2.32 et 3.57 versus 2.04 et 2.32, pour le café et le marc respectivement. Similairement aux tests précédents, les deux huiles semblent être très faibles pour exercer une activité antioxydante quelconque (figure 44).

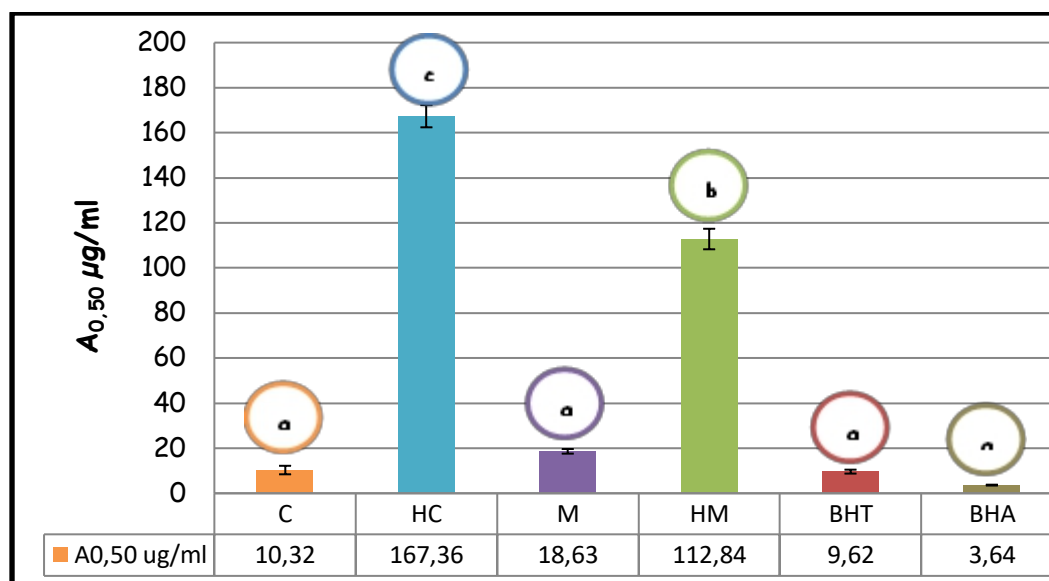


**Figure 44 :** Activité Cuprac des différents échantillons et des standards à différentes concentrations.

➤ **La valeur  $A_{0.50}$**

Le café torréfié et son marc ont montré une activité de réduction des ions cuivre ( $A_{0.50} = 10.32$  et  $18.63$  µg/ml, respectivement) statistiquement similaires aux standards utilisés ( $9.62$  et  $3.64$  µg/ml pour le BHA et le BHT, respectivement), mais significativement supérieures aux huiles testées ( $A_{0.50} = 167,36$  et  $112.84$  µg/ml pour HC et HM, respectivement) (figure 45). La nature de la composition des échantillons en matière de leurs contenus en composés phénoliques et non phénoliques pourrait, à un certain degré, justifier ces constats.





**Figure 45 :** A<sub>0.50</sub> pour l'activité antioxydante Cuprac des échantillons et des standards exprimée en µg/ml ( $p \leq 0.001$ ).

Par exemple, la présence des acides chlorogéniques, des acides hydroxycinnamiques, de la caféine et des mélanoidines étant des composants à puissance oxydative élevée dans le café pourrait octroyer à ce dernier une forte activité antioxydante (YILMAZ et *al* 2014) comparativement au marc dont la présence est très réduite.

D'une façon générale, le classement décroissant des échantillons testés sur la base de trois tests antioxydants est semblable. Cette ressemblance est due certainement aux mécanismes des réactions mises en jeu (transfert d'électron).

## 6- Evaluation du potentiel enzymatique des échantillons

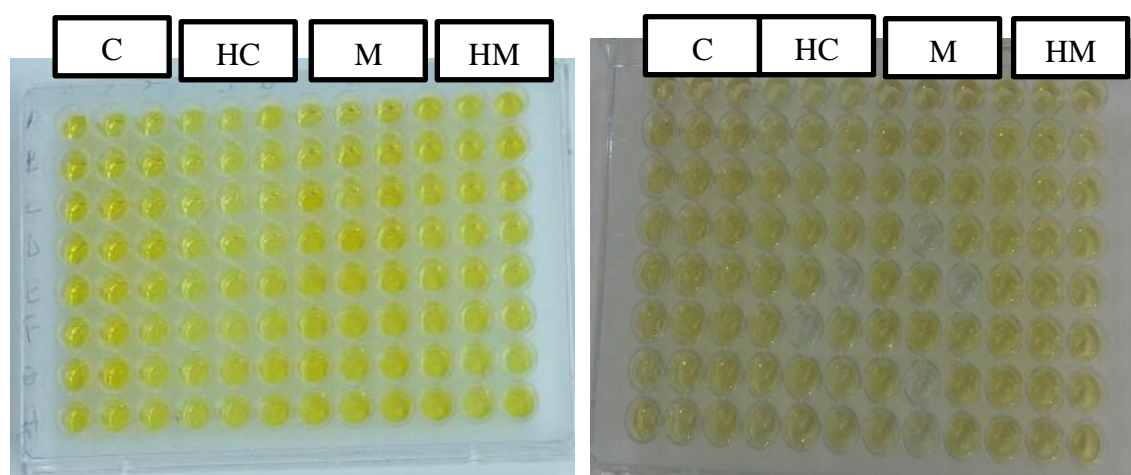
Les métabolites secondaires emprisonnés dans les extraits bruts ainsi que dans les huiles ont des propriétés biologiques diverses et très intéressantes prouvées depuis l'antiquité, proposant de ce fait, leur potentielle utilisation dans divers domaines notamment dans le domaine de la médecine. Dans le but déterminer le potentiel antidiabétique et/ou anti Alzheimer de nos échantillons, des enzymes thérapeutiques potentielles de ces deux pathologies ont été ciblés, à savoir l'alpha amylase et l'alpha glucosidase pour le diabète, et le cholinestérase et le butyryléstérase pour Alzheimer.

## 6.1- L'Activité anti-cholinestérase et anti-butyryléstérase des échantillons

L'étude de l'activité anti-AChE et anti-BchE a montré que tous les échantillons testés dans notre étude ne présentent aucune activité vis-à-vis les enzymes responsables de la maladie d'Alzheimer.

L'inactivité de nos échantillon est inattendue surtout pour l'extrait du café du fait que ce dernier rapportés content des quantités intenses d'importants composés phytochimiques, tels que la caféine, les flavonoïdes, les acides phénoliques, les acides chlorogéniques et la catéchine signalés comme étant des inhibiteur puissants de l'AChE et du BchE (Orhan *et al.*, 2012 ; Serekoglu *et al.*, 2012) . Des études ont montré que la caféine est un inhibiteur non compétitif de l'acétylcholinestérase mais pas du BchE (Ganiyu *et al.* , 2014). Dans le même contexte, Kwon *et al.*(2010) ont également notifié la fonction neuroprotective des acides chlorogéniques via l'inhibition des acétyle cholinestérases.

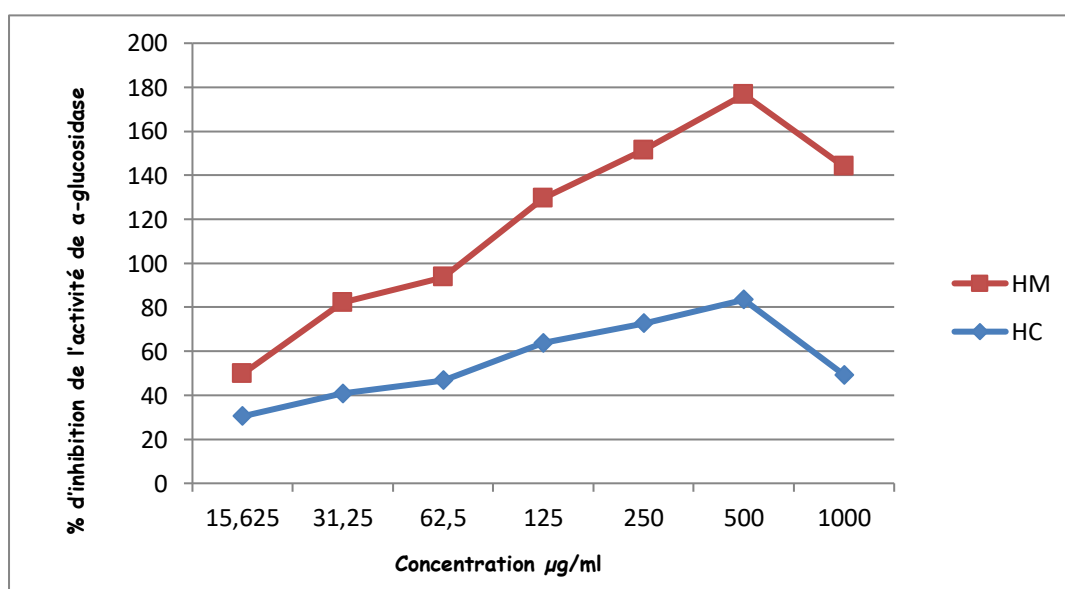
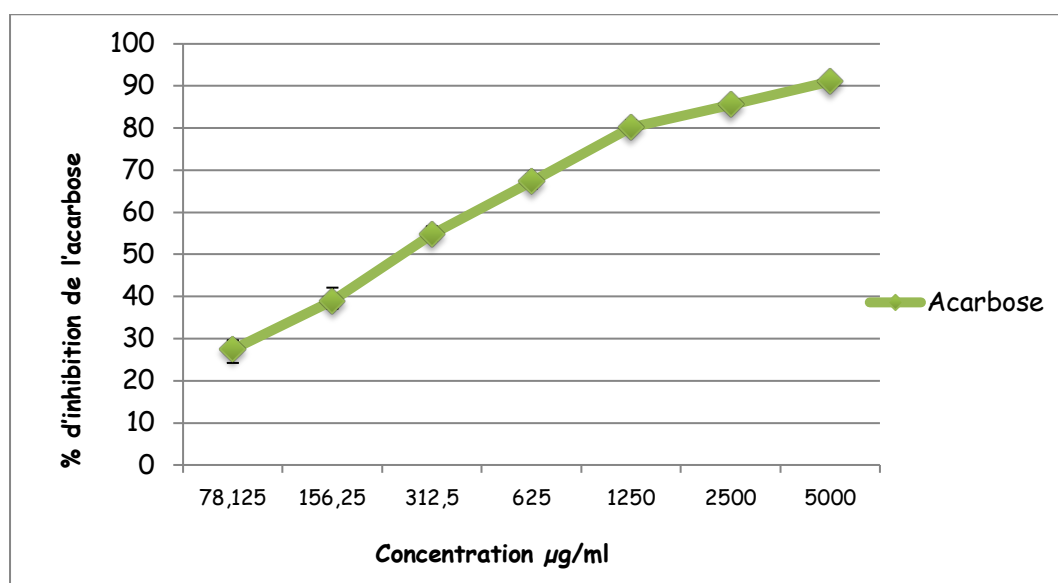
L'absence d'activité de nos échantillons pourrait avoir deux aspects : **soit** un aspect quantitatif ou la présence de ces composants dans le café et le marc du café était en quantité inférieures aux seuils d'inhibition, **soit** le processus de torréfaction a influencé sur la composition chimique et l'activité biologique du café et par conséquent de son marc. Il a été rapporté que lors de la torréfaction, les composés phénoliques se dégradent partiellement et / ou forment des composés polymères dans les réactions de Maillard, et la caramélisation des saccharides ainsi que la pyrolyse des composés organiques. Pendant la torréfaction, en particulier avec la dégradation des acides chlorogéniques, la teneur en composés phénoliques dans le café diminue (Yilmaz *et al.*, 2011).



**Figure 46** : résultats négatif de l'activité anti-Alzheimer des échantillons (huiles/extraits)

## 6-2- L'activité anti-amylase et anti-glucosidase des échantillons

Dans notre étude, seules les deux huiles, celui du café et du marc de café possèdent une activité inhibitrice vis-à-vis l'alpha-glucosidase avec des IC<sub>50</sub> égaux à 74,29 et 71µg/ml, respectivement. Les extraits bruts du café et du marc de café ont présentés alors des IC<sub>50</sub> supérieure à 1000 µg/ml. En cote partie, seules le café et les deux huiles présentent une activité inhibitrice vis-à-vis l'enzyme α-amylase avec des IC 50 égaux à 75,47, 24,14 et 75,47µg /ml, respectivement. Le marc du café, quand à lui, ne possède aucune activité décelable vis-à-vis ledit enzyme avec un IC<sub>50</sub> supérieur à 400 (figure 46, 47)



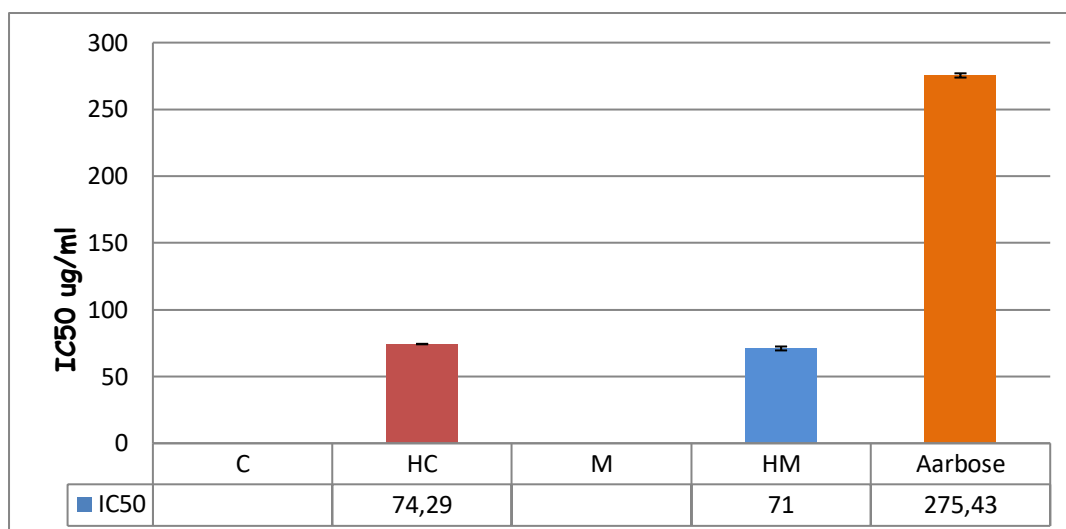
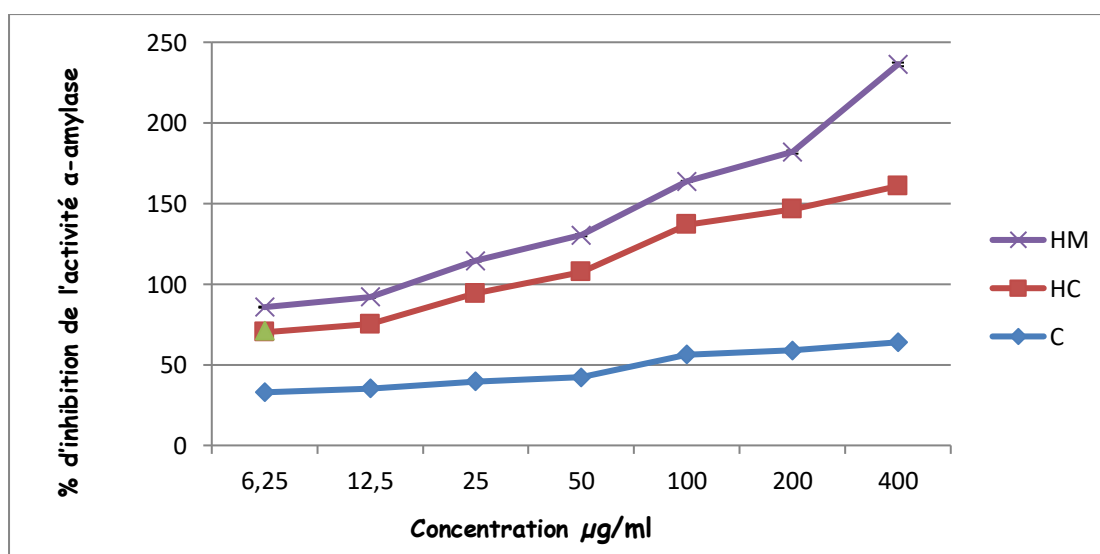
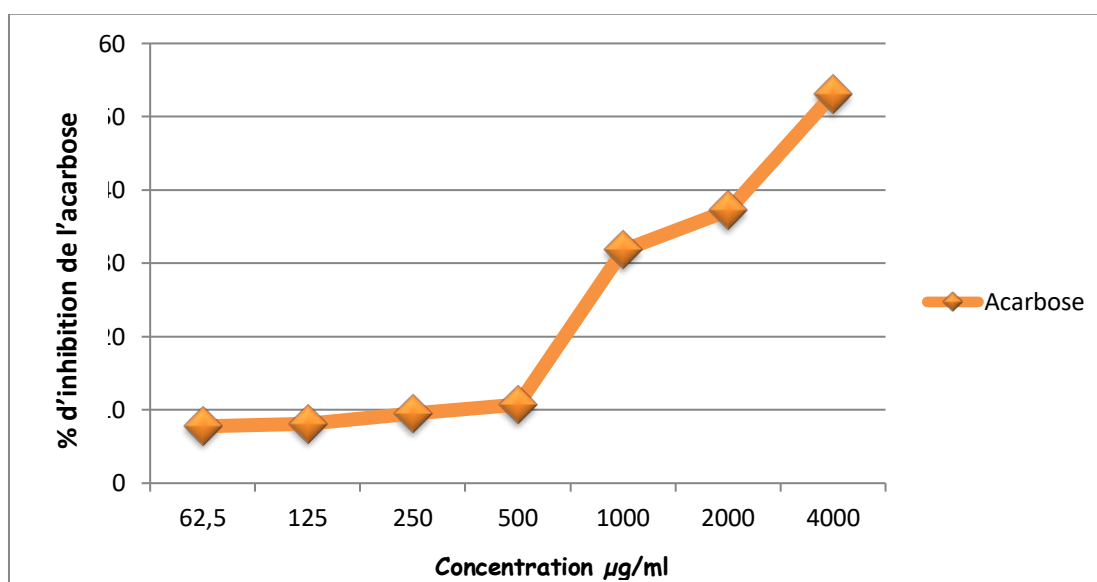
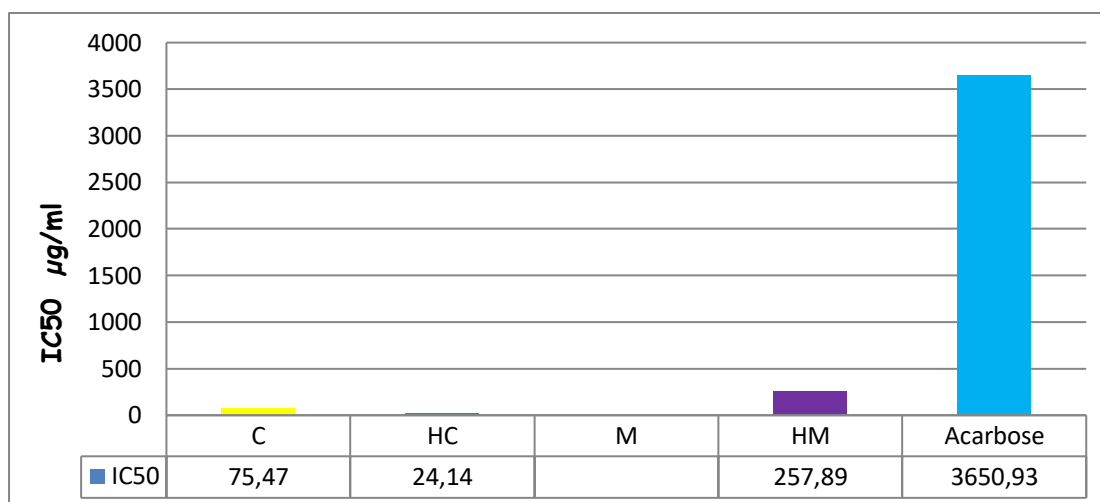


Figure 47 : L'activité de l' $\alpha$ -glucosidase des échantillons et du standard





**Figure 48 :** L'activité de l' $\alpha$ -amylase des échantillons et du standard

L'activité prometteuse des échantillons vis-à-vis les deux enzymes pourrait être attribuée à la présence de divers produits naturels inhibant les récepteurs de l' $\alpha$ -amylase et de l' $\alpha$ -glucosidase, telles que flavones et les flavonoïdes (Kim *et al.*, 2000). L'acide 5-caffeoylquinic, l'acide ferulique l'acide caféique et l'acide 3,4-diméthoxycinnamic présents dans le café ont été rapportés avoir un effet inhibiteur puissant des enzymes digérant les glucides conduisant à une diminution de la glycémie postprandiale (Silavwe et Williamson, 2018).

De plus, les polyphénols ont également des effets antihyperglycémiques selon les rapports de Hanamura *et al.* (2006) et Hossain *et al.* (2007). Dans le même contexte, les effets inhibiteurs des polyphénols sur l'activité de l'enzyme  $\alpha$ -amylase ont montré une relation structure-activité, beaucoup de structures moléculaires influençant l'inhibition telles que : L'hydroxylation des flavonoïdes améliore l'effet inhibiteur sur l'a-amylase ; la présence d'une liaison 2,3 insaturée en conjonction avec un groupe 4-carbonyle a été associée à une inhibition plus forte; La glycosylation des flavonoïdes a diminué l'effet inhibiteur sur l'a-amylase en fonction du site de conjugaison et de la classe de la fraction sucre; La méthylation et la méthoxylation des flavonoïdes ont manifestement affaibli l'effet inhibiteur.etc (Jianbo *et al.*, 2013). De ce fait, nous supposant que la torréfaction a apporté des changements induisant l'inhibition de l'activité de quelques polyphénols vis-à-vis les enzymes responsables de ladite maladie.

## 7- Evaluation du potentiel antimicrobien des échantillons

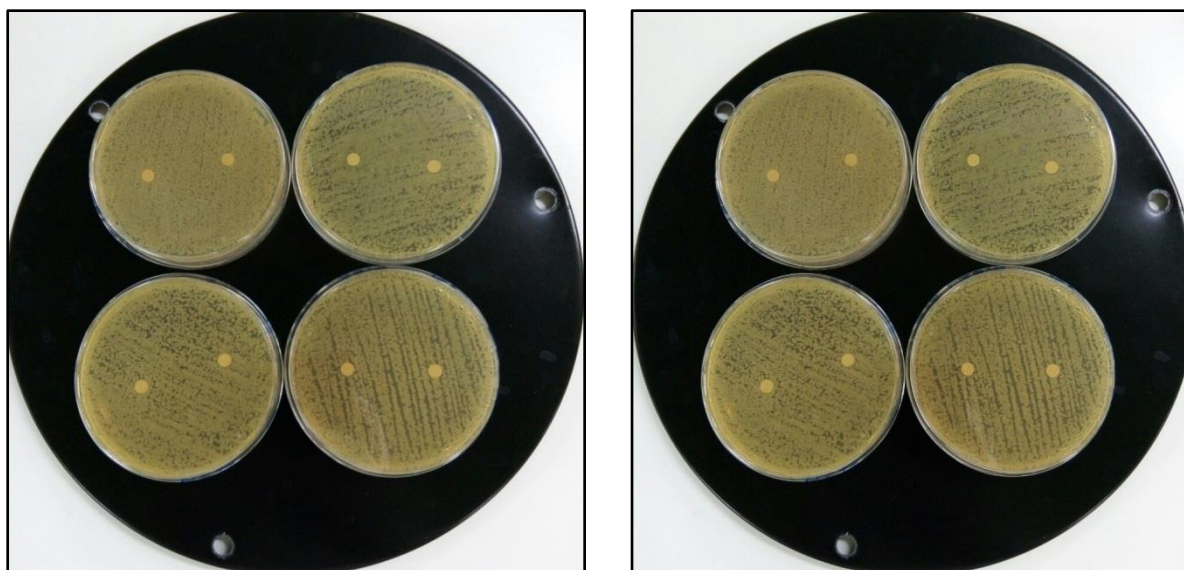
Le principe de la technique de diffusion sur disque utilisée dans notre étude est inspiré de l'antibiogramme, il consiste à tester la sensibilité des souches bactériennes par la diffusion de l'extrait sur le milieu solide dans une boîte à Pétri, avec la création d'un gradient de concentration entre le composé et le microorganisme cible.

La sensibilité des souches se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques. Ainsi, ces dernières seront qualifiées de sensibles ou très sensibles, ou résistantes.

### 7-1- L'activité antibactérienne

Les résultats révèlent que les quatre extraits étudiés ne présentent aucune activité inhibitrice vis-à-vis les souches **Gram+** et **Gram-** sélectionnées (figure 48). Ces résultats sont surprenants du fait que la présence des composés phénoliques, d'une manière générale, dans le café et son marc est rapportée avoir un effet antibactérien, antiviral et anti-inflammatoire (De Souza et al., 2004). Notre résultats est contradictoire avec les résultats de Franca et Oliveira, 2010 ayant trouvé que l'extrait du marc de café a provoqué une activité inhibitrice vis-à-vis deux bactéries Gram+ (*Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes*) et une levure (*Candida albicans*). L'inhibition de la croissance a été attribuée, par les mêmes auteurs, à la teneur élevée en mélanoides. Dans le même contexte, Jiménez-Zamora *et al.*(2015) ont stipulé que l'activité antibactérienne et la quantité des mélanoides dans les extraits est dose-dépendante.

La discordance entre les résultats obtenus et ceux rapportés peut être due au contenu en composés phénolique pouvant varier selon l'espèce et le cultivar, le degré de maturation des grains de café, les conditions de culture (pratiques caféiculturales utilisées, type de climat et sol), le procédé de torréfaction employé (fort, léger ou moyen), le mode de préparation de la boisson et enfin selon la méthode d'extraction et d'analyse (Farah et Donangelo, 2006).



**Figure 49:** Résultats négatifs de l'activité antibactérienne des quatre échantillons.

### 7-2- L'activité antifongique

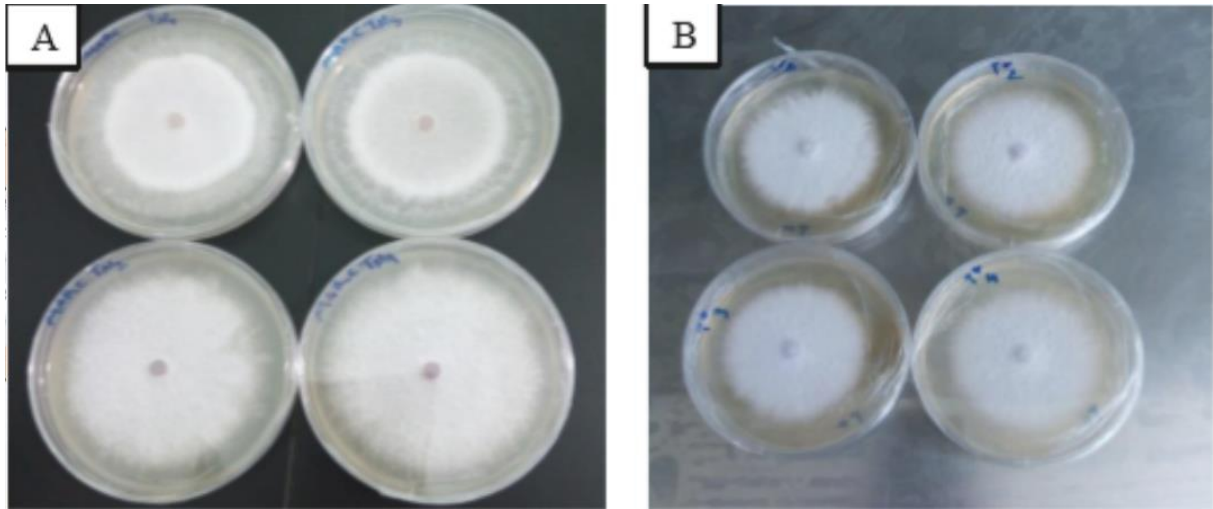
Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne en présence des différents échantillons sont présentés dans le tableau 05. Il en ressort, en premier temps, que les deux huiles ne possèdent aucune activité inhibitrice vis-à-vis l'agent phytopathogène étudié. Le café et le marc du café présentent, en revanche une très faible activité inhibitrice variant de 1.05 à 8.5%. L'activité inhibitrice la plus élevée (8.5%) est révélée à la plus grande concentration (16mg/ml) pour le marc du café, tandis la plus faible est notée à la même concentration avec un taux d'inhibition estimé à 2.1% pour le café torréfié.

| <b>Tableau 05 : Pourcentage d'inhibition de la croissance de <i>Fusarium oxysporum</i> en présence de différents échantillons</b> |        |        |        |        |         |
|---|--------|--------|--------|--------|---------|
| Echantillons  | 1mg/ml | 2mg/ml | 4mg/ml | 8mg/ml | 16mg/ml |
| C   | /      | /      | 1,05%  | 1,75%  | 2,1%    |
| HC  | /      | /      | /      | /      | /       |
| M   | /      | /      | 1,06%  | 3,18%  | 8,48%   |
| HM  | /      | /      | /      | /      | /       |

**C : Café ; HC : Huile du café ; M : Marc du café ; HM : Huile du marc**

En absence des résultats comparatifs, nous émettons l'hypothèse que le taux élevé des composés phénoliques dans le marc comparativement au café torréfié pourrait être la cause de

telle activité. Sachant que nous ne pouvant pas attribuer une activité quelconque à la présence de tel ou tel composant, mais la complexité, la conjugaison et l'interactivité des structures chimiques dans un extrait/huile est à l'origine de toute sorte de réaction.



**Figure 50** : Résultats de l'activité antifongique (A : témoin négatif ; B : témoin positif)



Le présent travail s'oriente vers une voie d'investigation et de caractérisation- jusque-là n'a jamais entreprise en Algérie- de deux types de substrats, le café torréfié composé de 20% Arabica (*Cofea arabica*) et 80% Robusta (*Cofea canefora* var. *robusta*) et le marc du même café récupéré de la cafétéria du C.R.Bt. L'objectif de notre travail est de mener une étude comparative de ces deux substrats d'un côté, d'autre coté. L'aspect socio-économique et environnemental de notre travail de recherche est d'une importance majeure. Pour ce faire, nous avons entrepris un travail multidisciplinaire en impliquant plusieurs domaines et disciplines en commençant par une caractérisation chimique et phytochimique des deux substrats à travers la détermination de leur taux en constituants primaires et secondaires. En deuxième lieu, une détermination de leur potentiel oxydatif, enzymatique et antimicrobien est ainsi entreprise.

La caractérisation chimique du café torréfié et du marc de café révèle une baisse de la quantité de la majorité des composants cellulaires après la préparation de la boisson. La diminution du taux de l'humidité, des minéraux, des protéines et des lipides est tout à fait logique du fait que tous les composants hydrophiles sont extraits par l'eau chaude. Le taux des sucres totaux est, en contrepartie, augmenté reflétant, par ainsi leur insolubilité dans l'eau chaude, la tendance inverse est enregistrée pour le taux en phénols totaux dont le contenu est drastiquement augmenté dans le marc du café.

L'analyse phytochimique est ainsi une étape cruciale pour la valorisation des principes actifs de nos substrats. Nous avons extrait les composés phénoliques du café et du marc de café par sonication et par macération, respectivement. Les extraits obtenus sont analysés **quantitativement** par spectrophotométrie UV-Visible pour leur teneur en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés en utilisant les méthodes de Folin-Ciocalteu, d'aluminium nitrate et de vanilline en milieu acide, respectivement. Le taux des polyphénols est largement supérieur dans le marc que dans le café (150.18 vs 37.04  $\mu\text{g}$  EAG /mg), tandis que les teneurs des flavonoïdes et les tanins condensés sont légèrement baissés dans le marc comparativement au café torréfié. La technique et les conditions d'extraction, la nature des composés phénoliques présent dans les deux substrats (hydrophiles/hydrophobes) ainsi que le processus de torréfaction pourraient justifier les différences des résultats obtenus.

Les mêmes substrats sont analysés **qualitativement** par HPLC, les chromatogrammes montrent que le marc de café présente le profil le plus concentré en composés phénoliques révélé par le nombre de pics le plus élevé, estimé à 19. Le profil obtenu pour l'extrait de café torréfié est peu intense avec un nombre de pics estimé à 15. Les résultats obtenus sont dans le

même ordre que ceux obtenus par colorimétrie ou le marc du café semble être plus concentré en composés phénoliques que le café torréfié.

Dans un deuxième temps, l'évaluation des différentes activités biologiques a été faite pour les extraits bruts du café torréfié et du marc de café ainsi que sur les huiles grasses de ces derniers obtenues par hydrodistillation. De ce fait, l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits/huiles du café et de son marc a été réalisée par différentes méthodes, à savoir, le piégeage du radical libre DPPH<sup>•</sup>, le piégeage du radical-cation ABTS<sup>•+</sup> et le test de réduction du cuivre (CUPRAC). Les résultats révèlent que l'extrait du café torréfié suivi par celui du marc présentent les activités antiradicalaires et antioxydantes significativement les plus importantes ( $p \leq 0.0001$ ) comparativement aux huiles dont l'activité est tantôt absentes tantôt très faibles comparativement aux standards. La composition chimique et phytochimique des substrats pourraient avoir un effet significatif sur leur capacité antioxydante. De plus, l'activité antioxydante n'est généralement pas due à l'action d'un seul composé mais aux interactions entre plusieurs composés, ces interactions peuvent exister dans un extrait pas dans un autre, conduisant ainsi à cette différence d'activité entre les extraits.

L'évaluation du potentiel anti-Alzheimer de nos extraits a révélé que tous les échantillons testés dans notre étude ne présentent aucune activité vis-à-vis les enzymes responsables de ladite maladie, à savoir le cholinestérase et le butyryléstérase. Cela pourrait avoir soit un **aspect quantitatif** où les quantités des composés responsables de telle activité sont inférieures au seuil critique, soit un **aspect qualitatif** révélé par l'effet du processus de la torréfaction sur la composition chimique et phytochimique du café.

En matière de l'activité antidiabétique de nos échantillons en ciblant les deux enzymes impliqués dans la maladie, seules les deux huiles, celui du café et du marc de café possèdent une activité inhibitrice vis-à-vis l'alpha-glucosidase avec des IC<sub>50</sub> égaux à 74,29 et 71µg/ml, respectivement. En cote partie, seules le café et les deux huiles présentent une activité inhibitrice vis-à-vis l'enzyme α-amylase avec des IC 50 égaux à 75,47, 24,14 et 75,47µg /ml, respectivement.

L'étude du potentiel antimicrobien révèle que nos échantillons (extraits/huiles) présentent une faible activité inhibitrice où ne présentent aucune activité décelable vis-à vis les microorganismes pathogènes testés. Ce qui pourrait être attribué au contenu en composés phénolique pouvant varier selon l'espèce et le cultivar, le degré de maturation des grains de café, les conditions de culture (pratiques caféicultures utilisées, type de climat et sol), le

procédé de torréfaction employé (fort, léger ou moyen), le mode de préparation de la boisson et enfin selon la méthode d'extraction et d'analyse.

A notre niveau et à la lumière de ces résultats, nous pouvons conclure que la méthode de préparation du café (*espresso*) utilisée dans notre étude a influencé la composition chimique et phytochimique du marc récupéré. Ainsi, **le marc du café** peut être valorisé en tant qu'une source importante et très intéressante de composés naturels à usage biologique et thérapeutique divers. Des tests complémentaires, tels que ceux de toxicité sont fortement recommandés pour confirmer nos suggestions. Notre étude préliminaire nécessite d'autres recherches plus approfondies comme les études *in vivo* et les analyses chimiques récentes (HPLC-MS/MS, RMN...etc) afin de déterminer les molécules réellement responsables des différentes activités. D'un point de vue comparative, d'autres études son d'importance majeures, à savoir :

- L'étude de différents types de préparation de la boisson (percolation, infusion, filtre...etc) afin de déterminer l'effet de chaque méthode sur la qualité organoleptique de la boisson d'un côté, et savoir le même effet sur la qualité du marc récupéré, d'autre coté.
- L'étude du café vert avant torréfaction comme un troisième substrat afin d'élargir le champ d'interprétation des résultats.
- Etablissement des matrices de corrélation afin de retirer les paramètres à influence significative sur les différentes activités biologiques.

- Abolfathi, B., Aguado, D. S., Aguilar, G., Prieto, C. A., Almeida, A., Ananna, T. T., et Aragon-Salamanca, A. (2018). The fourteenth data release of the Sloan Digital Sky Survey: First spectroscopic data from the extended Baryon Oscillation Spectroscopic Survey and from the second phase of the Apache Point Observatory Galactic Evolution Experiment. *The Astrophysical Journal Supplement Series*, 235(2), 42.
- Acevedo, F., Rubilar, M., Scheuermann, E., Cancino, B., Uquiche, E., Garcés, M., et Shene, C. (2013, March). Bioactive compounds of spent coffee grounds, a coffee industrial residue. In *Iii Symp. Agric. Agroindustrial Waste Manag* (pp. 12-15).
- Antolovich M., Prenzler D., Patsalides E., McDonald., S Robards .(2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127, 183-198.
- Adi, A.J. et Noor, Z.M. (2009) Waste recycling: Utilization of coffee grounds and kitchen waste in vermicomposting. *Bioresource Technology*, vol. 100, p. 1027-1030. [www.elsevier.com/locate/biortech](http://www.elsevier.com/locate/biortech) (Page consultée le 12 juin 2015)
- Al-Hamamre, Z., Foerster, S., Hartmann, F., Kröger, M., & Kaltschmitt, M. (2012). Oil extracted from spent coffee grounds as a renewable source for fatty acid methyl ester manufacturing. *Fuel*, 96, 70-76.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981
- Asghari, B., Zengin, G., Bahadori, M. B., Abbas-Mohammadi, M., & Dinparast, L. (2018). Amylase, glucosidase, tyrosinase, and cholinesterases inhibitory, antioxidant effects, and GC-MS analysis of wild mint (*Mentha longifolia* var. *calliantha*) essential oil: A natural remedy. *European Journal of Integrative Medicine*, 22, 44-49.
- Aurélie Franc, (2017), Cinq effets bénéfiques du café pour la santé. disponible sur net : <http://sante.lefigaro.fr/article/caf-le-breuvage-miracle->
- Aurore (2019) disponible sur net : <https://www.consoglobe.com/21-astuces-marc-de-cafe-fiches-pratique-cg>
- Ballesteros, L. F., Cerqueira, M. A., Teixeira, J. A., & Mussatto, S. I. (2015). Characterization of polysaccharides extracted from spent coffee grounds by alkali pretreatment. *Carbohydrate polymers*, 127, 347-354.
- Ballesteros, L.F., Teixeira, J.A et Mussatto, S.I. (2010) Chemical, Functional, and Structural Properties of Spent Coffee Grounds and Coffee Silverskin. *Food Bioprocess Technol*, vol. 7, p. 3493-3503.
- Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014). *Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de Fredolia aretioides de la région de Béchar en Algérie. Phytothérapie*, 12(6), 364–371.

- Bois, E. S. D. (1959). Paramagnetic spectra of substituted sapphires—Part I: Ruby. *Bell System Technical Journal*, 38(1), 271-290.
- Boyraz N.& Ozcan M. (2006). Inhibition of phytopathogenic fungi by essential oil, hydrosol, ground material and extract of summer savory (*Satureja hortensis* L.) growing wild in Turkey. *International Journal of Food Microbiology*, 107: 238 - 242.
- Campos-Vega, R., Loarca-Pina, G., Vergara-Castañeda, H. A., & Oomah, B. D. (2015). Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. *Trends in Food Science & Technology*, 45(1), 24-36.
- Cao, S., Low, J., Yu, J., & Jaroniec, M. (2015). Polymeric photocatalysts based on graphitic carbon nitride. *Advanced Materials*, 27(13), 2150-2176.
- ChaichiSemsari M., MaheriSis, N., Sadaghian, M., Eshratkhah, B., & Hassanpour S. (2011). Effects of administration of industrial tannins on nutrient excretion parameters during naturally acquired mixed nematode infections in Moghani sheep. *J. Amer. Sci.*, 7(6), 245-248.
- Chen, K.I., Lo, Y.C., Liu, C.W., Chou, C.C. et Cheng, K.C. (2013) Enrichment of two isoflavone aglycones in black soymilk by using spent coffee grounds as an immobiliser for  $\beta$ -glucosidase. *Food Chemistry*, vol. 139, p. 79-85. [www.elsevier.com/locate/foodchem](http://www.elsevier.com/locate/foodchem) (Page consultée le 12 juin 2015).
- Chira, K., Suh, J.-H., Saucier, C., & Teissède, P.-L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75–82
- Cholé lamberd,(2015). La meilleure tasse à café! disponible sur net : <https://archzine.fr/deco/la-meilleure-tasse-a-cafe-beaucoup-dinspiration-en-45-super-photos-qui-portent-la-magie-du-matin/>
- Couto, R. M., Fernandes, J., Da Silva, M. G., & Simões, P. C. (2009). Supercritical fluid extraction of lipids from spent coffee grounds. *The journal of Supercritical fluids*, 51(2), 159-166.
- -Cowann. M., (1999). Plant products as anti microbial agents. *Clinical microbiology Reviews*. Vol. 12(4):564-582
- Cruz, M.V., Paiva, P., Lisbosa, P., Freitas, F., Alves, V.D., Simoes, P., Barreiros, S. et Reis, M.A.M. (2014). Production of polyhydroxyalkanoates from spent coffee grounds oil obtained by supercritical fluid extraction technology. *Food Research International*, vol. 157, p. 360-363. [www.elsevier.com/locate/biortech](http://www.elsevier.com/locate/biortech)
- Cruz, R., Cardoso, M.M., Fernandes, L. et Oliveira, M.. (2009). Espresso Coffee Residues: A Valuable Source of Unextracted Compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 60, p. 7777-7784. . <http://pubs.acs.org/journal/jafcau> (Page consultée le 6 juin 2015).
- Cruz, R., Cardoso, M. M., Fernandes, L., Oliveira, M., Mendes, E., Baptista, P., ... & Casal, S. (2012). Espresso coffee residues: a valuable source of unextracted compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(32), 7777-7784.
- Cruz, R., Gomes, T., Ferreira, A., Mendes, E., baptista, P., Cunha, S., Pereira, J.A., Ramalhosa, E. et Casal, S. (2014) Antioxidant activity and bioactive

- compounds of lettuce improved by espresso coffee residues. *Food Chemistry*, vol. 145, p. 95-101. [www.elsevier.com/locate/foodchem](http://www.elsevier.com/locate/foodchem) (Page consultée le 12 juin 2015).
- Cruz, R., Mendes, E., Torrinha, A., Morais, S., Pereira, J.A., Baptista, P. et Casal, S. (2015). Revalorization of spent coffee residues by a direct agronomic approach. *Food Research International*, vol. 73, p.190-196. [www.elsevier.com/locate/foodres](http://www.elsevier.com/locate/foodres) (Page consultée le 12 juin 2015)
  - Cruz, R., Morais, S., Mendes, E, Pereira, J.A., Baptista, P. et Casal, S. (2014) Improvement of vegetable elemental quality by espresso coffee residues. *Food Chemistry*, vol. 148, p. 294-299. [www.elsevier.com/locate/foodchem](http://www.elsevier.com/locate/foodchem) (Page consultée le 12 juin 2015).
  - Dennis, C., & Webster, J. (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: II. Production of volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, 57(1), 41-IN4.
  - De Souza, G. C., Haas, A. P. S., Von Poser, G. L., Schapoval, E. E. S., & Elisabetsky, E. (2004). Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *Journal of ethnopharmacology*, 90(1), 135-143.
  - Dorner, J. W., Horn, B. W., & Cole, R. J. (2000). *U.S. Patent No. 6,027,724*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
  - -Domingo, E., Freeman-Mills, L., Rayner, E., Glaire, M., Briggs, S., Vermeulen, L., et van Wezel, T. (2016). Somatic POLE proofreading domain mutation, immune response, and prognosis in colorectal cancer: a retrospective, pooled biomarker study. *The lancet Gastroenterology & hepatology*, 1(3), 207-216.
  - Dorsey, B. M., & Jones, M. A. (2017). Healthy components of coffee processing by-products. *Handbook of Coffee Processing By-Products*, 27–62.
  - Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.
  - Eberhardt., Roberta., Annelisel., (2005). *Plantes aromatiques, épice aromates, condiments et huiles essentielles*. Ed. Tec et Doc, Paris. France. 521p.
  - Edenharter, R., & Grünhage, D. (2003). *Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in Salmonella typhimurium TA102*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 540(1), 1–18.
  - Ellman, D. K., Courtney, Valentino Andresjr and Robert, M. Featherstone (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 91-95.

- Farah, A., & Donangelo, C. M. (2006). Phenolic compounds in coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 23-36.
- Franca, A. S., Oliveira, L. S., Nunes, A. A., & Alves, C. C. (2010). Microwave assisted thermal treatment of defective coffee beans press cake for the production of adsorbents. *Bioresource Technology*, 101(3), 1068-1074.
- Gilbert, L., Norris, M., (1968). A chemical basis for bark beetle (scolytus) distinction between host and non-host trees. *J Insect physiol.* Vol. (14): 1063-1068.
- Haddoudi, M., Mellouk, H., Bejjany, B., Dani, A., & Digua, K. (2014). Valorisation du marc du café: extraction de l'huile et évaluation de son activité antioxydante. *Les technologies de laboratoire*, 8(36).
- Hečimović, I., Belščak-Cvitanović, A., Horžić, D., & Komes, D. (2011). Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food chemistry*, 129(3), 991-1000.
- Heller, W., Forkmann, G., 1993-The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman et Hall, London. UK. Pp 399-425.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- Ippolito, J.A., Laird, D.A. et Busscher, W.J. (2010) Environmental Benefits of Biochar. *Journal of Environmental Quality*, vol. 41.
- Jenkins, RW, Stageman, NE, Fortune, CM et Chuck, CJ (2014). Effet du type de grain, de la transformation et de la localisation géographique sur le biodiesel produit à partir de marc de café. *Énergie et carburants*, 28 (2), 1166-1174.
- Jiménez-Zamora, A., Pastoriza, S., & Rufián-Henares, J. A. (2015). Revalorization of coffee by-products. Prebiotic, antimicrobial and antioxidant properties. *LWT-Food Science and Technology*, 61(1), 12-18.
- Kerimi, A., Nyambe-Silavwe, H., Pyner, A., Oladele, E., Gauer, J. S., Stevens, Y., & Williamson, G. (2018). Nutritional implications of olives and sugar: Attenuation of post-prandial glucose spikes in healthy volunteers by inhibition of sucrose hydrolysis and glucose transport by oleuropein. *European journal of nutrition*, 1-16.
- Kondamudi, N., Mohapatra, S. et Misra, M. (2008). Spent Coffee Grounds as a Versatile Source of Green Energy. *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 2015, n° 17 février, p. 11757-11760.
- Kondamudi, N., Mohapatra, S.K. et Misra, M. (2008). Espresso Coffee Residues: A Valuable Source of Unextracted Compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 56, p. 11757-11760. <http://pubs.acs.org/journal/jafcau> (Page consultée le 6 juin 2015).
- Köseoğlu Yılmaz, P. E. L. I. N., Hacibekiroğlu, I., & Kolak, U. (2014). Effect of roasting on antioxidant and anticholinesterase capacities of coffee. *Journal of Food & Nutrition Research*, 53(3).

- -KotarU, M., Yoshikawa, H., Ikeuchi, T., Saito, K., Iwami, K., & Ibuki, F. (1987). An  $\alpha$ -amylase inhibitor from cranberry bean (*Phaseolus vulgaris*): Its specificity in inhibition of mammalian pancreatic  $\alpha$ -amylase and formation of a complex with the porcine enzyme. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 33(5), 359–367.
- Lee, S. C., & Hicks, V. A. (1990). Modifications of the AOAC total dietary fiber method. In *New developments in dietary fiber* (pp. 237-244). Springer, Boston, MA.
- Lien E J., Ren S., Bui H H., Wang R. (1999). Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.*, 26, 285-294.
- Limousy, L., Jeguirim, M., Dutournié, P., Kraiem, N., Lajili, M et Said, R. (2013) Gaseous products and particulate matter emissions of biomass residential boiler fired with spent coffee grounds pellets.
- Liu, S. C., Lin, J. T., Wang, C. K., Chen, H. Y., & Yang, D. J. (2009). Antioxidant properties of various solvent extracts from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) flowers. *Food Chemistry*, 114(2), 577-581.
- Low, J.H., Rahman, W.A.W.A et Jamaluddin, J. (2015) Structural elucidation of tannins of spent coffee grounds by CP-MAS  $^{13}\text{C}$  NMR and MALDI-TOF MS. *Industrial Crops and Products*, vol. 69, p. 456-461. [www.elsevier.com/locate/indcrop](http://www.elsevier.com/locate/indcrop) (Page consultée le 12 juin 2015)
- Macheix J-J, Fleuriet A, Jay-Allemand C.(2005). Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Suisse : Lausanne ; Presses polytechniques et universitaires Romandes
- Macrae, A. R., & Hammond, R. C. (1985). Present and future applications of lipases. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 3(1), 193-218
- McCormick, C., Ciaramelli, E., De Luca, F., & Maguire, E. A. (2018). Comparing and contrasting the cognitive effects of hippocampal and ventromedial prefrontal cortex damage: A review of human lesion studies. *Neuroscience*, 374, 295-318.
- Meneilly, G. S., Ryan, E. A., Radziuk, J., Lau, D. C., Yale, J. F., Morais, J., ... Elahi, D. (2000). *Effect of acarbose on insulin sensitivity in elderly patients with diabetes*. *Diabetes Care*, 23(8), 1162–1167.
- Miller N J., Rice-Evans C A. (1997). The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food. Chem.*, 60, 331-337
- Minayo, M. C. D. S., Deslandes, S. F., & Gomes, R. C. (2015). Pesquisa social: teoria, método e criatividade. In *Pesquisa social: teoria, método e criatividade*.
- Mozaffarian, D., Benjamin, E. J., Go, A. S., Arnett, D. K., Blaha, M. J., Cushman, M., et Howard, V. J. (2016). Heart disease and stroke statistics-



- 2016 update a report from the American Heart Association. *Circulation*, 133(4), e38-e48.
- Multon Jean louis et De reynol Béatrice (2009) Additifs et auxiliaires de fabrication dans l'industries, Paris, J-C Guillard, 194.
  - Mussatto, S.I., Carneiro, L.M., Silva, J.P.A, Roberto, I.C. et Teixeira, J.A. (2011). A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds. *Carbohydrate Polymers*, vol. 83. [www.elsevier.com/locate/carbpol](http://www.elsevier.com/locate/carbpol) (Page consultée le 6 juin 2015).
  - Mussatto, S. I., Machado, E. M., Martins, S., & Teixeira, J. A. (2011). Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food and Bioprocess Technology*, 4(5), 661
  - Nieves-Guerrero, A., Torres-Acosta, J. F. J., Hoste, H., Sandoval-Castro, C., Cámara-Sarmiento, R., & Alonso-Díaz, M. A. (2009). Evaluación de fuentes de taninos provenientes de sustratos agroindustriales (cacao y café) en el control de *Haemonchus contortus* en ovinos. In *Memoria VIII Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria*.
  - Nonaka, P. N., Uriarte, J. J., Campillo, N., Melo, E., Navajas, D., Farré, R., & Oliveira, L. V. (2014). Mechanical properties of mouse lungs along organ decellularization by sodium dodecyl sulfate. *Respiratory physiology & neurobiology*, 200, 1-5.
  - Panusa, A., Zuurro, A., Lavecchia, R., Marrosu, G., & Petrucci, R. (2013). Recovery of natural antioxidants from spent coffee grounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(17), 4162-4168.
  - Park, J., Kim, B., & Lee, J. W. (2016). In-situ transesterification of wet spent coffee grounds for sustainable biodiesel production. *Bioresource technology*, 221, 55-60.
  - Proestos, C., Boziaris, I. S., Nychas, G. J., & Komaitis, M. (2006). Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Food Chemistry*, 95(4), 664-671.
  - Pujol, D., Liu, C., Gominho, J., Olivella, M. À., Fiol, N., Villaescusa, I., & Pereira, H. (2013). The chemical composition of exhausted coffee waste. *Industrial Crops and Products*, 50, 423-429.
  - Pont-l'Abbé (2011), Filet Bleu Torréfaction, disponible sur net : <http://filetbleu.com/>
  - Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237
  - Runti, G., Pacor, S., Colomban, S., Gennaro, R., Navarini, L., & Scocchi, M. (2015). *Arabica coffee extract shows antibacterial activity against*

- Staphylococcus epidermidis* and *Enterococcus faecalis* and low toxicity towards a human cell line. *LWT - Food Science and Technology*.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
  - Song, W., Zhou, L., Yang, C., Cao, X., Zhang, L., & Liu, X. (2004). Tomato Fusarium wilt and its chemical control strategies in a hydroponic system. *Crop protection*, 23(3), 243-247.
  - Sunarharum, W. B., Williams, D. J., & Smyth, H. E. (2014). Complexity of coffee flavor: A compositional and sensory perspective. *Food Research International*, 62, 315-325.
  - Thorel, F., & Herrera, P. L. (2010). Génération de cellules  $\beta$ -pancréatiques par conversion spontanée de cellules  $\alpha$  chez des souris diabétiques. *Médecine/sciences*, 26(11), 906–909.
  - Tsagarakis, M., Kafetsios, K., & Stalikas, A. (2007). Reliability and Validity of the Greek Version of the Revised Experiences in Close Relationships Measure of Adult Attachment. *European Journal of Psychological Assessment*, 23(1), 47–55.
  - Turkoglu, A., Duru, M. E., Mercan, N., Kivrak, I., & Gezer, K. (2007). Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. *Food Chemistry*, 101(1), 267-273.
  - Vanessa bernard, (2019). Êtes-vous arabica ou plutôt robusta mais au fait, quelle est la différence ? Disponible sur net : <https://www.observatoire-sante.fr/etes-vous-arabica-ou-plutot-robusta-mais-au-fait-quelle-est-dla-difference/>
  - Vardon, D.R., Moser, B.R., Zheng, W., Witkin, K., Evangelista, R.L., Strathmann, T.J., Rajagopalan, K. et Sharma, B.K. (2013). Complete Utilization of Spent Coffee Grounds To Produce Biodiesel, Bio-Oil, and Biochar. In ACS Sustainable Chemistry and Engineering. ACS.
  - Vega, R.C., Pina, G.L., Castaneda, H.A.V. et Oomah, D. (2015) Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. *Food Science and Technology*, vol. 45, p. 24-36.
  - Vieira, A., Druelle, N., Courtney, M., Avolio, F., Ben-Othman, N., Pfeifer, A., ... Collombat, P. (2013). Reprogrammation des cellules pancréatiques en cellules  $\beta$ . *Médecine/sciences*, 29(8-9), 749–755.
  - Vignoli, J. A., Bassoli, D. G., & Benassi, M. T. (2011). Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food Chemistry*, 124(3), 863-868.
  - Waghorn, G. (2008). Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production—Progress and challenges. *Animal Feed Science and Technology*, 147(1-3), 116–139. Jan van Dam, Paulien Harmsen, 2010, Coffee residues utilization, disponible sur net : <https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/fulltext/382065>

- Wang, X., & Lim, L. T. (2014). A kinetics and modeling study of coffee roasting under isothermal conditions. *Food and bioprocess technology*, 7(3), 621-632.
- Wang, X., & Lim, L.-T. (2015). Physicochemical Characteristics of Roasted Coffee. *Coffee in Health and Disease Prevention*, 247–254.
- Zaman, I., Phan, T. T., Kuan, H. C., Meng, Q., La, L. T. B., Luong, L., ... & Ma, J. (2011). Epoxy/graphene platelets nanocomposites with two levels of interface strength. *Polymer*, 52(7), 1603-1611.
- Zamora, A.J., Pastoriza, S. et Henares, J.A.R (2015) Revalorization of coffee by-products. Prebiotic, antimicrobial and antioxidant properties. *LWT - Food Science and Technology*, vol. 61, p. 12-18. [www.elsevier.com/locate/lwt](http://www.elsevier.com/locate/lwt) (Page consultée le 12 juin 2015)
- Zengin, O. (2014). Büyükşehir belediyesi sisteminin dönüşümü: Son on yılın değerlendirmesi. *Ankara Barosu Dergisi*, (2), 91-116.

### Résumé

L'objectif de notre travail est porté sur l'étude de deux substrats algériens dont leur caractérisation à l'échelle nationale est quasi-absente. Notre étude s'est focalisée, en premier temps sur la caractérisation physico-chimique et phytochimique du café torréfié et de son marc récupéré à partir d'une machine *espresso*. En deuxième lieu, une évaluation du potentiel antioxydant, enzymatique et antimicrobien de leur extraits/huiles est parallèlement entreprise. Hormis la teneur en sucres totaux, tous les constituants primaires (protéines, minéraux et matières grasses) sont diminués dans le marc après la préparation de la boisson. La tendance inverse est enregistrée pour le taux en phénols totaux dont le contenu est drastiquement augmenté dans le marc du café. Ce résultat est confirmé qualitativement par HPLC. L'évaluation de l'activité antioxydante par les trois méthodes (DPPH, ABTS et CUPRAC) montre que l'extrait du café suivi par celui du marc sont les plus puissants. Aucun de nos substrats (huiles/extraits) n'avait une activité vis-à-vis la maladie d'Alzheimer, tandis que les deux huiles détiennent une activité inhibitrice contre les deux enzymes thérapeutiques responsable de l'apparition du diabète. L'activité antimicrobienne vis-à-vis des microorganismes pathogènes de nos échantillons est pratiquement faible et/ou absente. Vu son contenu élevé en composés phénoliques, le marc du café peut être valorisé en tant qu'une source importante de composés secondaires à usage biologique et thérapeutiques divers.

**Mots clés :** Café torréfié, marc du café, polyphénols, activité antioxydante.

### **Abstract**

The objective of our work is focused on the study of two Algerian substrates whose characterization on a national scale is almost absent. Our study focused initially on the physico-chemical and phytochemical characterization of roasted coffee and its marc recovered from an espresso machine. Second, an evaluation of the antioxidant, enzymatic and antimicrobial potential of their extracts / oils is undertaken at the same time. Apart from the total sugar content, all the primary constituents (proteins, minerals and fats) are reduced in the marc after the preparation of the brew. The opposite trend is recorded for the total phenol content, the content of which is drastically increased in coffee grounds. This result is qualitatively confirmed by HPLC analysis. The evaluation of the antioxidant activity by the three methods (DPPH, ABTS and CUPRAC) shows that the coffee extract followed by that of the marc are the most powerful. None of our substrates (oils / extracts) had activity against Alzheimer's disease, while both oils have an inhibitory activity against the two therapeutic enzymes responsible for the appearance of diabetes. The antimicrobial activity against the pathogenic microorganisms of our samples is practically low and / or absent. Because of its high content of phenolic compounds, coffee grounds can be valued as an important source of secondary compounds for biological and therapeutic uses.

**Keywords : Roasted coffee, coffee grounds, polyphenols, antioxidant activity .**

### ملخص

تركز الهدف من هذا العمل على دراسة مادتين جزائريتين تكاد تكون خصائصها على المستوى الوطني غائبة. تمحورت دراستنا اولا على تحديد الخصائص الفيزيائية والفيتو كيميائية للقهوة المحمصّة من آلة إسبرسو. ثانياً ، تم إجراء تقييم القدرة المضادة للأكسدة والقدرة الانزيمية و القدرة المضادات للميكروبات لمستخلصاتها / زيوتها. بصرف النظر عن المحتوى الاجمالي للسكر ، لقد تم تقليل المكونات الأولية (البروتينات والمعادن والدهون) في مخلف تحضير شراب القهوة. عكس ذلك، تم تسجيل زيادة المحتوى الفينول الكلي، بشكل كبير في القهوة. وأكدت هذه النتيجة نوعياً من خلال تحليل HPLC. يوضح تقييم نشاط مضادات الأكسدة من خلال الطرق الثلاثة DPPH و ABTS و CUPRAC أن مستخلص القهوة هو أحد أكثر مضادات الأكسدة فعالية و ان لم يكن لأي من (الزيوت / المستخلصات) نشاط ضد مرض الزهايمر، في حين أن كلا الزيتين له نشاط مثبط ضد الإنزيمات العلاجية المسؤولة عن ظهور مرض السكري. النشاط المضاد للميكروبات ضد الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض منخفضة أو غائبة بسبب محتواه العالي من المركبات الفينولية، مخلف تحضير شراب القهوة هو مصدر مهم للمركبات الثانوية للاستخدام البيولوجي والعلاجي المتنوع.

**الكلمات المفتاحية:** البن المحمص، القهوة ، البوليفينول ، نشاط مضاد للأكسدة .

### Résumé

L'objectif de notre travail est porté sur l'étude de deux substrats algériens dont leur caractérisation à l'échelle nationale est quasi-absente. Notre étude s'est focalisée, en premier temps sur la caractérisation physico-chimique et phytochimique du café torréfié et de son marc récupéré à partir d'une machine *espresso*. En deuxième lieu, une évaluation du potentiel antioxydant, enzymatique et antimicrobien de leur extraits/huiles est parallèlement entreprise. Hormis la teneur en sucres totaux, tous les constituants primaires (protéines, minéraux et matières grasses) sont diminués dans le marc après la préparation de la boisson. La tendance inverse est enregistrée pour le taux en phénols totaux dont le contenu est drastiquement augmenté dans le marc du café. Ce résultat est confirmé qualitativement par HPLC. L'évaluation de l'activité antioxydante par les trois méthodes (DPPH, ABTS et CUPRAC) montre que l'extrait du café suivi par celui du marc sont les plus puissants. Aucun de nos substrats (huiles/extraits) n'avait une activité vis-à-vis la maladie d'Alzheimer, tandis que les deux huiles détiennent une activité inhibitrice contre les deux enzymes thérapeutiques responsable de l'apparition du diabète. L'activité antimicrobienne vis-à-vis des microorganismes pathogènes de nos échantillons est pratiquement faible et/ou absente. Vu son contenu élevé en composés phénoliques, le marc du café peut être valorisé en tant qu'une source importante de composés secondaires à usage biologique et thérapeutiques divers.

**Mots clés :** Café torréfié, marc du café, polyphénols, activité antioxydante.

### **Abstract**

The objective of our work is focused on the study of two Algerian substrates whose characterization on a national scale is almost absent. Our study focused initially on the physico-chemical and phytochemical characterization of roasted coffee and its marc recovered from an espresso machine. Second, an evaluation of the antioxidant, enzymatic and antimicrobial potential of their extracts / oils is undertaken at the same time. Apart from the total sugar content, all the primary constituents (proteins, minerals and fats) are reduced in the marc after the preparation of the brew. The opposite trend is recorded for the total phenol content, the content of which is drastically increased in coffee grounds. This result is qualitatively confirmed by HPLC analysis. The evaluation of the antioxidant activity by the three methods (DPPH, ABTS and CUPRAC) shows that the coffee extract followed by that of the marc are the most powerful. None of our substrates (oils / extracts) had activity against Alzheimer's disease, while both oils have an inhibitory activity against the two therapeutic enzymes responsible for the appearance of diabetes. The antimicrobial activity against the pathogenic microorganisms of our samples is practically low and / or absent. Because of its high content of phenolic compounds, coffee grounds can be valued as an important source of secondary compounds for biological and therapeutic uses.

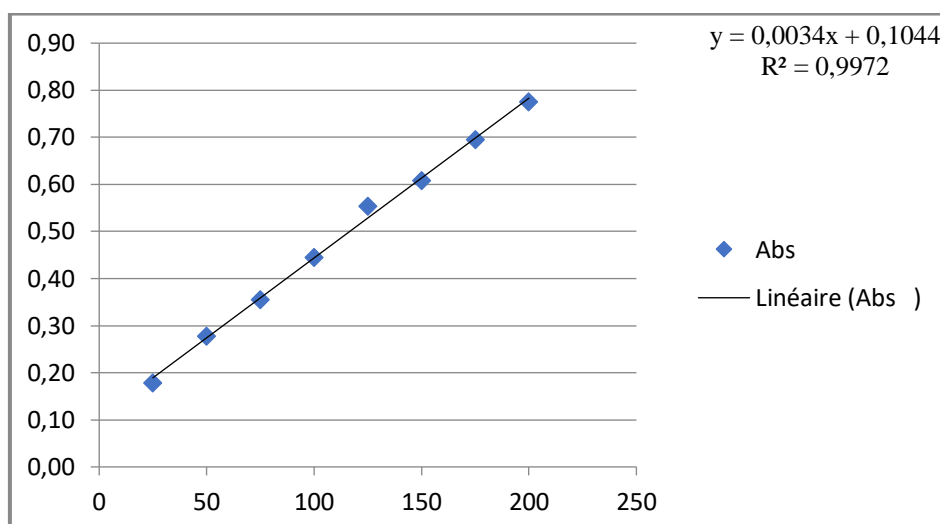
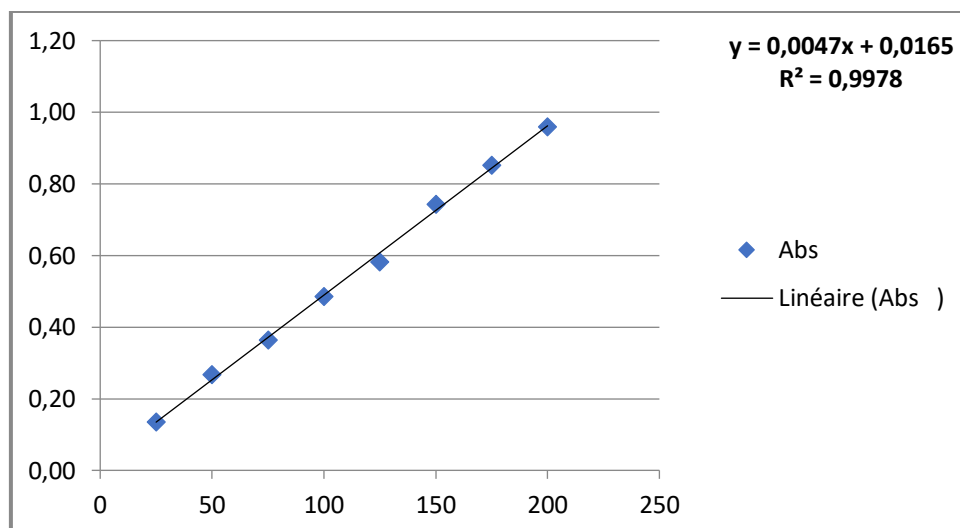
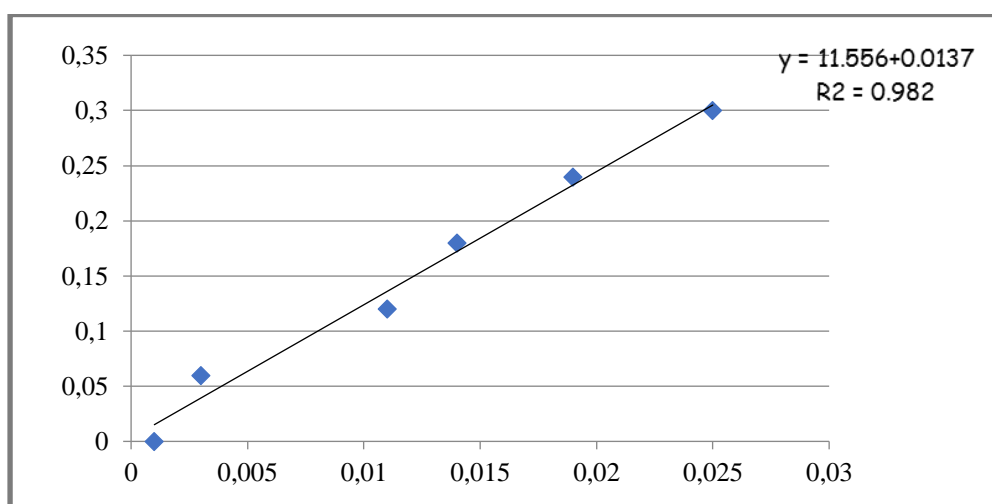
**Keywords : Roasted coffee, coffee grounds, polyphenols, antioxidant activity .**

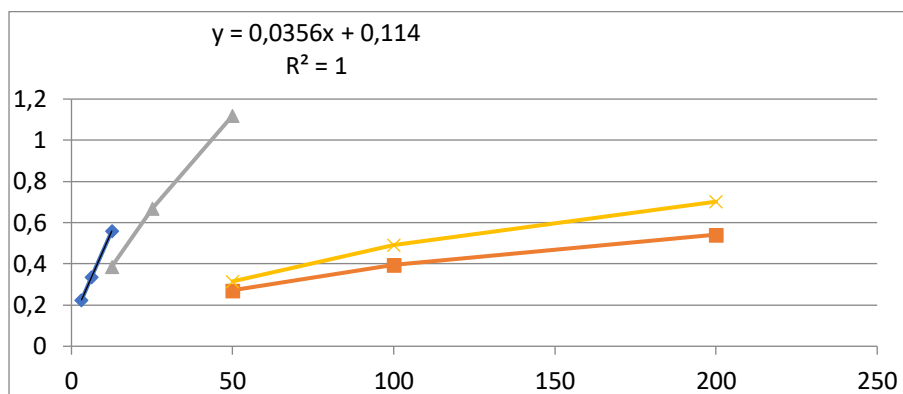
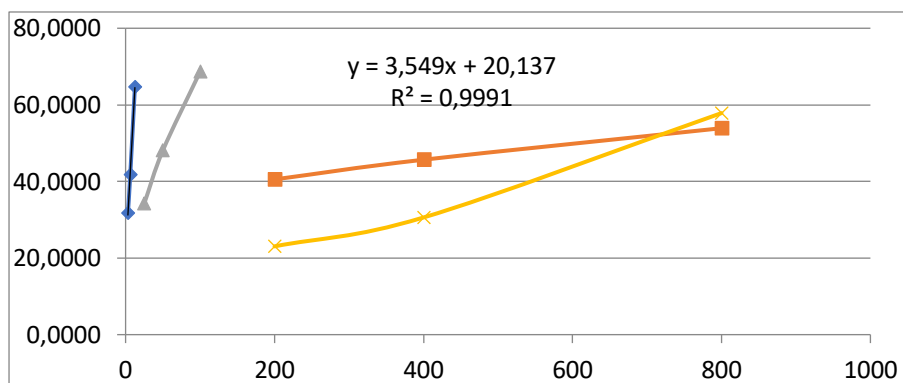
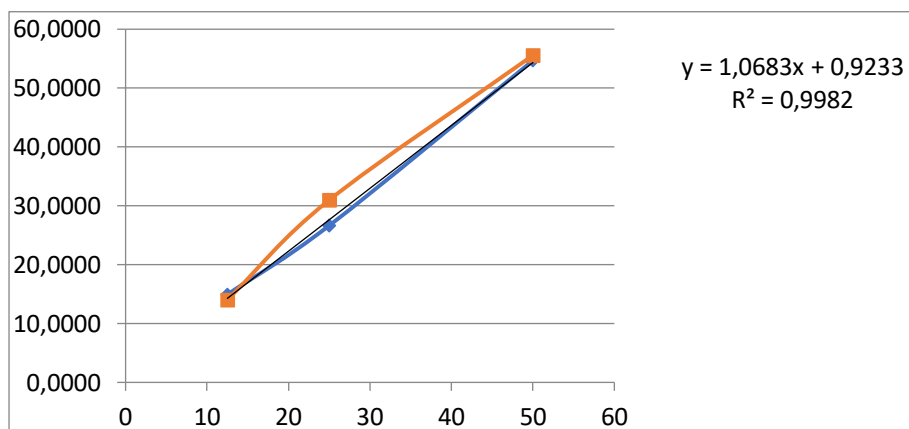


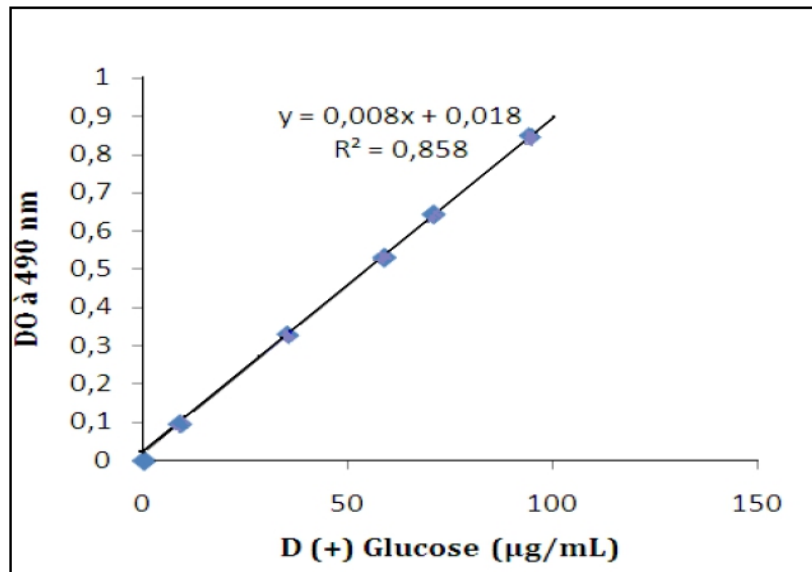
### ملخص

تركز الهدف من هذا العمل على دراسة مادتين جزائريتين تكاد تكون خصائصها على المستوى الوطني غائبة. تمحورت دراستنا اولا على تحديد الخصائص الفيزيائية والفيتو كيميائية للقهوة المحمصّة من آلة إسبرسو. ثانياً ، تم إجراء تقييم القدرة المضادة للأكسدة والقدرة الانزيمية و القدرة المضادات للميكروبات لمستخلصاتها / زيوتها. بصرف النظر عن المحتوى الاجمالي للسكر ، لقد تم تقليل المكونات الأولية (البروتينات والمعادن والدهون) في مخلف تحضير شراب القهوة. عكس ذلك، تم تسجيل زيادة المحتوى الفينول الكلي، بشكل كبير في القهوة. وأكدت هذه النتيجة نوعياً من خلال تحليل HPLC. يوضح تقييم نشاط مضادات الأكسدة من خلال الطرق الثلاثة DPPH و ABTS و CUPRAC أن مستخلص القهوة هو أحد أكثر مضادات الأكسدة فعالية و ان لم يكن لأي من (الزيوت / المستخلصات) نشاط ضد مرض الزهايمر، في حين أن كلا الزيتين له نشاط مثبط ضد الإنزيمات العلاجية المسؤولة عن ظهور مرض السكري. النشاط المضاد للميكروبات ضد الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض منخفضة أو غائبة بسبب محتواه العالي من المركبات الفينولية، مخلف تحضير شراب القهوة هو مصدر مهم للمركبات الثانوية للاستخدام البيولوجي والعلاجي المتنوع.

**الكلمات المفتاحية:** البن المحمص، القهوة ، البوليفينول ، نشاط مضاد للأكسدة .

**Courbe étalon du dosage des polyphénols****Courbe étalon du dosage des flavnoïdes****Courbe étalon du dosage des tanins condensés**

**Courbe étalon de l'activité CUPRAC****Courbe étalon de l'activité ABTS****Courbe étalon de l'activité DPPH**



**Courbe étalon du dosage des sucres totaux**

|  |                                 |
|--|---------------------------------|
| <b>Université Des Frères Mentouri Constantine -Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie</b><br><b>Département de Biochimie et biologie cellulaire et moléculaire</b>   |                                 |
| <b>Nom : AISSANI, Derouiche</b><br><b>Prénom : Oumnia, Oumaima</b>   | Date de soutenance : 10/07/2019 |
| <u><b>Intitulé</b></u>   |                                 |
| <b>Investigation chimique, phytochimique et biologique du café et du marc de café</b>  |                                 |
| <b><i>Résumé</i></b>   |                                 |
| <p>L'objectif de notre travail est porté sur l'étude de deux substrats algériens dont leur caractérisation à l'échelle nationale est quasi-absente. Notre étude s'est focalisée, en premier temps sur la caractérisation physico-chimique et phytochimique du café torréfié et de son marc récupéré à partir d'une machine <i>espresso</i>. En deuxième lieu, une évaluation du potentiel antioxydant, enzymatique et antimicrobien de leur extraits/huiles est parallèlement entreprise. Hormis la teneur en sucres totaux, tous les constituants primaires (protéines, minéraux et matières grasses) sont diminués dans le marc après la préparation de la boisson. La tendance inverse est enregistrée pour le taux en phénols totaux dont le contenu est drastiquement augmenté dans le marc du café. Ce résultat est confirmé qualitativement par HPLC. L'évaluation de l'activité antioxydante par les trois méthodes (DPPH, ABTS et CUPRAC) montre que l'extrait du café suivi par celui du marc sont les plus puissants. Aucun de nos substrats (huiles/extraits) n'avait une activité vis-à-vis la maladie d'Alzheimer, tandis que les deux huiles détiennent une activité inhibitrice contre les deux enzymes thérapeutiques responsable de l'apparition du diabète. L'activité antimicrobienne vis-à-vis des microorganismes pathogènes de nos échantillons est pratiquement faible et/ou absente. Vu son contenu élevé en composés phénoliques, le marc du café peut être valorisé en tant qu'une source importante de composés secondaires à usage biologique et thérapeutiques divers.</p> |                                 |
| <b>Mots clés : Café torréfié, marc du café, polyphénols, activité antioxydante.</b>  |                                 |
| <b>Laboratoires de recherche :</b>   |                                 |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>*Laboratoire d'analyse des aliments, CRBt ;</li> <li>*Laboratoire d'analyse et contrôle qualité, CRBt ;</li> <li>*Laboratoire de Biochimie, CRBt ;</li> <li>*Laboratoire des analyses environnementales, CRBt.</li> <li>*Laboratoire bactériologie, CRBt.</li> </ul>  |                                 |