

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abou BekrBelkaid Tlemcen
Faculté des Sciences de la nature et de la vie et des Sciences de la terre
et de l'Univers
Département de Biologie
Laboratoire des Produits Naturels



Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie
Option : «Toxicologie Industrielle et Environnementale »

ETUDE DE L'EFFET DE LA TORREFACTION SUR QUELQUES PROPRIETES PHYTOCHIMIQUES DU CAFE ROBUSTA

- Présenté par :

- M^{lle} CHENIKA Soumia
- M^{lle} CHOUITI Nor El Houda



- Soutenu le 14-06-2020 devant le jury :

Président :	Mr AZZI Rachid	Maitre de conférences A
Encadreur :	Mr CHAUCHE Mohamed Tarik	Maitre de conférences A
Examinatrice :	M^{lle} MEZOUAR Dounia	Maitre de conférences B

Année universitaire 2019 - 2020




Remerciements

terme de ce travail, nous tenons à adresser nos vifs et sincères remerciements à toutes les personnes qui nous ont apporté leur aide et leur soutien, en particulier de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail :

Tout d'abord, Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement de **Mr. CHAUCHE Mohamed Tarik**, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Et à **Mme. CHAUCHE Farah** pour le soutien et les conseils qu'elle nous a prodigué. Nous avons eu le privilège de travailler parmi votre équipe et d'apprécier vos qualités et vos valeurs, votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir nous ont énormément marqués.





Nous remercions infiniment **Mr AZZI Rachid**, d'avoir eu la gentillesse d'accepter de juger ce mémoire, Nous vous exprimons solennellement notre vive et déférente gratitude ainsi que l'assurance de notre sincère reconnaissance.

Nous remercions ainsi **Mlle MEZOUAR Dounia**, vous nous avez honoré d'accepter de siéger parmi notre jury de mémoire de fin d'études.

Nous tenons aussi à remercier toutes les personnes qui nous ont accueillie et aidé durant la partie expérimentale réalisée au niveau du laboratoire de recherche des produits naturels (**LAPRONA**), Département de Biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie (**SNV**) et sciences de la terre et de l'univers (**STU**), Université **Abou Bekr Belkaid**-Tlemcen.





Dédicaces

C'est avec une profonde gratitude et sincères mots que je dédie ce modeste travail à
mes êtres les plus chers :

Mes parents, qui m'ont toujours beaucoup encouragé et aidé durant tout mon
parcours avec beaucoup de tendresse de dévouement de gentillesse et d'amour

Mes grands-parents, à ceux qui m'ont toujours soutenue avec leurs prières

Ma sœur **Sarah** et son mari **Hichem** qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager
et soutenir tout au long de mes études

Mon neveu **Anes**, mon amour et mon affection pour toi n'ont pas cessé de s'accroître
de jour en jour. Ton sourire illumine ma vie et la rend plus joyeuse et pleine de sens

Mon cher frère **Ilyess**

Mes **tantes**, ainsi que tous mes **oncles**

Mes **cousins** et **cousines**

A Mon Binôme **Noor El Houda**, je te remercie pour ton soutien continu. Je suis
chanceuse de t'avoir à mes côtés

Mes chères amies **Souad, Manel, Amina, Latifa** et **Meriem**

Ainsi que toute l'équipe du laboratoire

Mlle **CHENIKA Soumia**





Dédicaces

Dieu tout Puissant merci pour le pouvoir et le courage que vous m'avez donné pour compléter ce travail

Je dédie ce modeste travail tout d'abord à la personne que j'aime le plus au monde, celle qui m'a donné la vie et qui m'a entouré d'amours, aujourd'hui comme tous les jours j'espère la rendre fière

Qu'Allah vous comble de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.

Merci **maman** chérie

A mon **père** qui m'a aidé à devenir ce que je suis aujourd'hui, que Dieu le garde et le protège.

A mon cher **frère Tarik** Mon ange gardien,
les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement et l'amour que je porte pour vous.

A mes chers **frères** et **sœurs** ainsi que leurs **petites familles** pour leur aide et leur soutien moral.

A mon cher binôme **Soumia** merci d'être si patiente et compressive avec moi
T'avoir à mes côtés est un cadeau si exceptionnel.

A mes **Amis** A tous ceux qui me sont chers
Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

Mlle CHOUITI Nor El Houda



Table de Matière

REMERCIEMENTS

DEDICACES

LISTE DES PHOTOS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

RESUME

ABSTRACT

ملخص

INTRODUCTION GENERALE.....1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....3

Chapitre I : Présentation du café Robusta.....4

1-1-L'histoire du café en Algérie.....4

1-2-Les origines.....4

1-3-La botanique.....5

1-4-La structure de la graine de café.....6

1-5-La composition des grains du café Robusta.....7

1-6-Les effets du café sur l'organisme.....8

1-6-1-Les effets sur le système nerveux centrale.....8

1-6-2-Les effets sur le système cardiovasculaire.....8

1-6-3-Les effets sur le reste de l'organisme.....8

Chapitre II : l'effet de la torréfaction sur quelques propriétés phytochimiques du café Robusta.....9

2-1-Introduction.....9

2-2-La réaction chimique du café durant la torréfaction.....9

-La réaction de Maillard.....10

Chapitre III : Stresseoxydatif et les métabolites secondaires.....11

3-1-Introduction.....11

3-2-Le stress oxydant.....11

3-3-Les radicaux libres.....12

3-4-Les antioxydants.....13

MATERIEL ET METHODES	16
1-Matériel	17
-Matérielvégétal.....	17
2-Méthodes	17
2-1-Préparation des extraits	17
-Calcul des rendements en extraits.....	18
2-2-Dosage des composés phénoliques	18
2-2-1-Dosage des polyphénols totaux.....	18
2-2-2-Dosage des flavonoïdes totaux.....	19
2-2-3-Dosage des tanins condensés.....	20
2-3-Etude de l'activité antioxydante	20
2-3-1-Capacité antioxydante totale.....	20
2-3-2-Piégeage du radical DPPH.....	21
2-3-3-Réduction du Fer : FRAP.....	22
RESULTATS	23
1-Le rendement	24
2-Dosage des composés phénoliques	24
2-1-Polyphénols totaux.....	24
2-2-Flavonoïdes.....	25
2-3-Tanins condensés.....	26
3-Etude de l'activité antioxydante	27
3-1-Capacité antioxydante totale.....	27
3-2-Piégeage du radical DPPH.....	29
3-3-Réduction du Fer : FRAP.....	30
DISCUSSION	33
CONCLUSION	36
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : Feuilles et fruits du caféier (<i>Coffea Canephora</i>)	5
Photo 2 : Fleur de café Robusta.....	5
Photo 3 : les grains verts du café Robusta.....	8
Photo 4 : Grains verts et torréfiés de café Robusta (<i>Coffea Canephora</i>)	17
Photo 5 : Les étapes de la préparation des extraits du café Robusta.....	18

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : la structure du fruit de la graine du caféier.....	7
Figure 2 : Principales étapes de la réaction de Maillard.....	11
Figure 3 : La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants.....	13
Figure 4 : Différentes sources d'antioxydants dont dispose l'organisme pour répondre aux situations de stress oxydant.....	14
Figure 5 : Forme réduite du radical DPPH.....	21
Figure 6 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	24
Figure 7 : Teneurs en polyphénols pour les deux extraits de <i>coffea robusta</i>	25
Figure 8 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.....	26
Figure 9 : Teneurs en flavonoïdes totaux pour les deux extraits de <i>coffea robusta</i> ...	26
Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.....	27
Figure 11 : Teneurs en tanins condensés pour les deux extraits de <i>coffea robusta</i>	27
Figure 12 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	28
Figure 13 : Teneurs de capacité antioxydante totale pour les deux extraits de <i>coffea robusta</i>	28
Figure 14 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations de BHA.....	29
Figure 15 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de l'extrait des grains verts et torréfiés de <i>coffea robusta</i>	29
Figure 16 : Evolution des absorbance du fer réduit par le BHA.....	30
Figure 17 : Evolution des absorbance du fer réduit par l'extrait des grains verts torréfiés de <i>coffea robusta</i>	31

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Composition de grain de café vert et torréfié du café Robusta (en pourcentage de la matière sèche).....	8
Tableau 2 : Rendements et caractéristiques des différents extraits des <i>coffea robusta</i>	24
Tableau 3 : Résultats des valeurs d'CI50 des différents extraits de <i>coffea robusta</i> ...	30
Tableau 4 : EC50 des différents extraits de <i>coffea robusta</i>	32

LISTE DES ABREVIATIONS

ACG: acide chlorogénique
ADN : acide désoxyribonucléique
AlCl₃ : chlorure d'aluminium
APG III : classification phylogénétique
BHA :Butylhydroxyanisole
CE₅₀ : concentration efficace médiane
CI₅₀ : concentration inhibitrice médiane
CRT : café Robusta torréfié
CRV : café Robusta vert
DO : densité optique
DPPH : 2,2-dipheyl-1-picrylh�razil
EAG : équivalent d'acide gallique
EC : équivalent catéchine
ERO : espèce réactives de l'oxygène
FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power
HO₂[°] : radical perhydroxyle
H₃PW₁₂O₄₀ :acidephosphotungstique
H₃PMo₁₂O₄₀ :acidephosphomolybdique
mM :millimolaire
Mo : molybdène
NaNO₂ : nitrite de sodium
MS: matière sèche
NADP: NicotinamideAdénine DinucléotidePhosphate
O₂[°] : Anion superoxide.
OH[°] : radical hydroxyl
RO[°] : radical alkoxye
ROO[°] : radical peroxye
Pdt: rendement

Résumé

Le caféier robusta *Coffea canephora* de la famille des Rubiacées, est un arbuste dont les grains verts et torréfiés sont consommés par une grande population du monde. Il possède des propriétés biologiques et thérapeutiques diverses envers les maladies cardio-vasculaires, les cancers, le diabète sucré de les maladies de neurodégénérative. Le but de cette étude est de faire une comparaison phytochimique entre les grains verts et torréfiés de *C. canephora*. À travers cette étude, nous avons mis en évidence l'existence des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins condensés. L'activité antioxydante a été évaluée par plusieurs méthodes, la capacité antioxydante totale, le test de piégeage du radical libre DPPH et le teste de réduction des ions de fer. Pour l'extrait des grains verts, les teneurs en polyphénols totaux (27,15 mg EAG/g MS), en flavonoïdes (21,56 mg EC/g MS) et en tanins condensés (11,67 mg EC/g MS) sont plus élevées comparées à celui des grains torréfiés. De même, les grains verts montrent une capacité antioxydante totale (20,22mg EAG/g MS), un piégeage du radical DPPH (CI₅₀ de 1,97 mg/ml) et une réduction de Fer (CE₅₀ de 0,6372 mg/ml) plus importants. Ces résultats viennent confirmer le faite que la torréfaction affecte la composition phénolique du café notamment en acides chlorogéniques, qui ont un potentiel antioxydant.

Les grains verts de café peuvent être exploités comme une source d'antioxydants qui peuvent intervenir de manière significative dans la prévention des maladies et le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydants d'origine naturelle.

Mots clés : *Coffea canephora*, grains verts, grains torréfiés, activité antioxydante, composés phénoliques, torréfaction.

Abstract

The robusta coffee tree *Coffea canephora* from the Rubiaceae family, is a shrub whose green and roasted beans are consumed by a large population of the world. It has various biological and therapeutic properties for cardiovascular diseases, cancers, diabetes mellitus and neurodegenerative diseases. The objective of this study is to make a phytochemical comparison between the green and roasted beans of *C. Canephora* . Through this study, we have highlighted the existence of polyphenols, flavonoids and condensed tannins. The antioxidant activity of the different extracts has been evaluated by several methods. Total antioxidant capacity, the free radical trapping test (DPPH) and Power iron reduction test. For the extract of green beans, the contents of total polyphenols (27.15 mg EAG / g DM), flavonoids (21.56 mg EC / g DM) and condensed tannins (11.67 mg EC / g DM) are higher compared to that of roasted beans. Similarly, the green beans show a total antioxidant capacity (20.22 mg EAG / g DM), a trapping of the DPPH radical (IC₅₀ of 1.97 mg / ml) and a reduction of Iron (EC₅₀ of 0.6372 mg / ml) more important. These results confirm the fact that roasting affects the phenolic composition of coffee, in particular chlorogenic acids, which have antioxidant potential.

Green coffee beans can be exploited like a source of antioxidants that can play a significant role in disease prevention and the development of new antioxidant drugs from natural sources.

Key words: *Coffea canephora*, green beans, roasted beans, antioxidant activity, phenolic compound, roasting.

ملخص

شجرة البن روببستا من عائلة Rubiaceae هي شجيرة يستهلكها عدد كبير من سكان العالم إما خضراء أو محمصة. لديها العديد من الخصائص البيولوجية و العلاجية لأمراض القلب و الأوعية الدموية، والسرطانات، ومرض السكري، والأمراض العصبية. الهدف من هذه الدراسة هو إجراء مقارنة كيميائية نباتية بين القهوة الخضراء والمحمصة من قهوة روببستا. من خلال هذه الدراسة ، قمنا بتسليط الضوء على وجود مادة البوليفينول والفلافونويد و التانا المكثف. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة بعدة طرق، القدرة الإجمالية لمضادات الأكسدة، و اختبار تثبيث الجذور الحرة DPPH واختبار اختزال أيون الحديد. في مستخلص الحبوب الخضراء كمية البوليفينول 27,15 ملغ معادل لحمض الغاليك والفلافونويد 21,56 ملغ معادل للكاتيشين و التانينات المكثفة 11,67 ملغ معادل للكاتيشين أعلى مقارنة للحبوب المحمصة. كذلك فإن الحبوب الخضراء تظهر قدرة إجمالية مضادة للأكسدة 20,22 ملغ معادل لحمض الغاليك ، تثبيث جذر DPPH (CI₅₀ تساوي 1,97 ملغ/مل) واختزال أيون الحديد (CE₅₀ تساوي 0,6372 ملغ/مل) (CE₅₀) أكثر أهمية . تؤكد هذه النتائج حقيقة أن التحميص يؤثر على التركيبة الفينولية للقهوة ، وخاصة أحماض الكلوروجينيك ، التي لها قدرة مضادة للأكسدة. يمكن استغلال حبوب البن الخضراء كمصدر لمضادات الأكسدة وتلعب دورًا مهمًا في الوقاية من الأمراض وتطوير أدوية جديدة قائمة على مضادات الأكسدة ذات الأصل الطبيعي.

الكلمات المفتاحية: قهوة روببستا، قهوة خضراء، قهوة محمصة، نشاط مضاد للأكسدة، مركبات فينولية، تحميص

INTRODUCTION

GENERALE



Le café est l'une des boissons les plus populaires dans le monde entier, la demande et la consommation de café est augmentée ces dernières années, il a attiré une attention, grâce à ses bienfaits pour la santé, de son arôme spécifique, et de son amertume caractéristique du goût **(Liu et al., 2018)**.

Le café est un produit agricole précieux et une exportation importante dans le développement de nombreux pays tropicaux, qui lui permet de représenter encore la deuxième matière première la plus échangée dans le monde.

Récemment, des études biologiques ont montré que la consommation de café peut réduire le risque de diabète de type 2, du cancer colorectal, des maladies cardiovasculaires. C'est une boisson dite psychoactive qui agit principalement sur le système nerveux. Donc, nous pouvons nous demander, si cette boisson est considérée comme un excitant, une drogue ou un médicament ? **(Dong et al., 2017)**.

Dans le marché algérien, différentes marques du café sont disponibles. Ces cafés sont composés principalement de deux types de café : Robusta et Arabica purs ou un mélange de deux variétés. Des études antérieures ont montré que le Robusta, l'une des espèces les plus populaires et les plus consommées dans le monde entier, présente un arôme moins développé, un goût plus amer et plus corsé que l'Arabica **(Liu et al., 2018)**.

La valeur nutritionnelle et la saveur du café d'une part, et ses propriétés toxicologiques de l'autre part, sont influencées par la torréfaction qui est à l'origine de nombreuses réactions chimiques de dégradation entraînant la disparition de composés initiaux thermosensibles et la formation de nouveaux composés **(Dong et al., 2017)**.

L'objectif de notre étude est basé sur la comparaison de l'étude phytochimique ainsi que l'évaluation, *in vitro*, de l'activité antioxydante d'extraits des grains verts et torréfiés du café Robusta « *Coffea Canephora* ».

Notre travail englobe:

- Une étude bibliographique qui regroupe des données sur la plante, la torréfaction, le stress oxydatif et les métabolites secondaires
- Le matériel et les méthodes utilisés dans ce travail qui porte sur l'extraction et la quantification des composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante par trois méthodes (capacité antioxydante total, piégeage du radical libre DPPH et le pouvoir réducteur de fer).
- Enfin, nous présenterons les résultats obtenus et la discussion.

Ce travail s'achève par une conclusion générale qui résumera l'ensemble du travail réalisé.

SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE



Chapitre I : Présentation du café Robusta

1-1-Histoire du café en Algérie

Le café est la boisson la plus consommée en Algérie, ce peuple consomme annuellement plus de 4kg de café par personne, une consommation qui le place au sommet de continent Africain.

Le café a connu une histoire très mouvementée avant de devenir un breuvage inconditionnel des Algériens, semblerait que cette boisson est originaire d’Ethiopie plus précisément dans la région de Kaffa, où il y a plusieurs légendes qui circulent sur ses effets stimulants, la plus célèbre version est celle d’un jeune berger qui aurait noté que ses chèvres étaient excitées après avoir mangé les feuilles et les fruits d’un arbuste. Ensuite, il s’est répandu peu à peu au monde arabe grâce aux pèlerins musulmans se rendant à la Mecque où l’alcool était interdit par l’islam par contre «k’hawah» y rencontre un gros succès. Le café, par de ses propriétés stimulantes sur l’organisme va être le débat de plusieurs polémiques, la première qui date de 1511. Selon les autorités de la Mecque les cafétérias seraient des lieux débauches et des contestations politiques. En Europe des prêtres italiens jugeant que le café serait la boisson des infidèles.

Retournât en Algérie le café aux épices est l’incontournable boisson chaude d’El Mayda de ramadan avec tous ses arômes accompagnés souvent des gâteaux au miel, ce régal est préparé par l’utilisation de plusieurs épices comme le clou de girofle, cardamome, gingembre, poivre et la cannelle et la particularité de ce café c’est qu’il ya des grains de sésames et des noix qui donnent vraiment de la profondeur a ses arômes (Larbi, 2018).

1-2- Les origines

Le café Robusta, *Coffea canephora*, est indigène d’Afrique occidentale tropicale (Davis et al., 2006 ; Gomez et al., 2009). Représente environ 65 % de la production de café du continent Africain, et 30% de la production et le commerce mondial du café (Nemlin et al., 2009). Le Brésil est le plus grand producteur et exportateur de café, et le deuxième plus grand producteur de *Coffea canephora* (Ivogloet al., 2008). Mais ces dernières années, le Vietnam, qui produit

essentiellement de Robusta, a dépassé le Brésil, l'Inde et L'Indonésie et devient le plus grand pays du monde exportateur de café Robusta (**Lim, 2012**).

1-3-La botanique

Le café *Coffea Canephora* ou Robusta est plus robuste que *Coffea Arabica*, car elle tolère des conditions pédologiques et climatiques moins favorables. Il est cultivé à des altitudes beaucoup plus basses et plus chaudes (**Lim, 2012**).

Le caféier Robusta est un petit arbuste pouvant atteindre une hauteur de 3 à 6,5 mètres, avec des branches longues et flexibles. Ces feuilles sont de 20 à 35 cm de longueur et 8 à 15 cm de largeur (**photo 1**). Les fleurs du Robusta fleurissent d'une façon irrégulière (**photo 2**), le fruit est rond et rouge à maturité, les graines sont plan-ovoïde, de dimensions assez variables, mais généralement plus petites que celles d'Arabica (**Lim, 2012**).



Photo 1 : Feuilles et fruits du caféier (*Coffea Canephora*) (**Lim, 2012**).



Photo 2 : Fleur de café Robusta (**Lim, 2012**).

La classification de *Coffea Canephora* est comme suit (APGIII) 2014 :

- Règne : Plantae
- Division : Angiospermae
- Classe : Dicotyledonae
- Sous-classe : Euasteridsi
- Ordre : Gentianales
- Famille : Rubiaceae
- Sous-famille : Ixoroideae
- Genre : *Coffea*
- Espèce : *canephora*
- Genre espèce : *Coffeacanephora*

1-4-La structure de la graine de café

Le fruit mûrit au bout de 10 à 11 mois (Lim, 2012). Il a une cosse, ou exocarpe, avec des nuances allant du jaune au rouge (figure 1). Le mésocarpe est une pulpe charnue et facilement amovible, composée principalement de glucides, tels que le glucose, le fructose et la pectine. La couche de pectine, également connue sous le nom de mucilage, contient des protéines, des graisses, des minéraux lipidiques, des tanins, des polyphénols et de la caféine. L'endocarpe ou parchemin est une couche de polysaccharide semblable à un papier mince, jaunâtre et facilement déchiqueté composé principalement de lignocellulose. La couche entourant le haricot est le tégument, également appelé peau d'argent. Elle est composée de polysaccharides, tels que la cellulose et les hémicelluloses, ainsi que des monosaccharides, des protéines et des composés phénoliques ayant une activité antioxydante (De Melo Pereira et al., 2020).

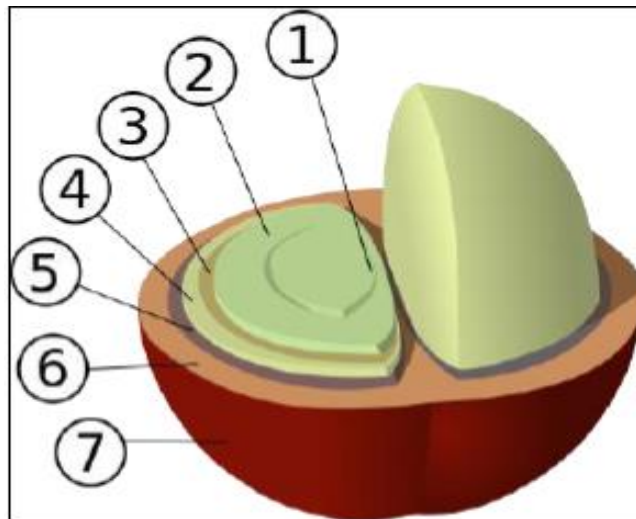


Figure 1 : la structure du fruit de la graine du caféier (De Melo Pereira et al., 2020).

1: sillón central. 2: grain de café (endosperme). 3: peau du grain (tégument). 4: parchemin (endocarpe). 5: couche de pectine. 6: pulpe (mésocarpe). 7: peau du fruit (exocarpe)

1-5-La composition des grains du café Robusta

Le caféier Robusta donne des grains jaunes à brunes (**photo 3**) Les grains de café renferment plus d'une centaine de constituants tels que des matières azotées ou des tanins condensés solubles, peuvent comprendre 0,8% à 2,8% de la peau et de la pulpe de *Coffea Arabica* et *Coffea Canephora*, avec des niveaux plus élevés observés chez *Coffea Canephora*. Près de la moitié de la matière sèche du grain de café vert (non torréfié) est constituée de glucides. Le saccharose s'est avéré être le glucide dominant dans le café vert avec une concentration allant jusqu'à 60 mg / g (moyenne = 45 mg / g) dans les grains de Robusta. On trouve également 7,1% d'acide chlorogénique a une puissante antioxydante, les lipides totaux 16%, les acides aminés, et une concentration de 2,26 g / 100g de caféine. De plus le café est riche en vitamines et minéraux tels que le potassium, le calcium et le magnésium (**Lim, 2012**).

La composition chimique moyenne des grains de café verts et torréfiés est donnée dans le **Tableau 1**.

Tableau 1 : Composition de grain de café vert et torréfié du café Robusta (en pourcentage de la matière sèche) (Houessou, 2007).

Composants	Café Robusta	
	Vert	Torréfié
Caféine	1.7-4.0	1.2-2.6
Trigonelline	0.3-1.0	0.1-1.2
Acides aliphatiques dont acide quinique	1.0-2.0 0.4	1.0-4.6 1.0
Acides chlorogéniques totaux	7.0-12.0	0.2-4.6
Oligosaccharides dont saccharose (ou sucrose)	5.0-7.0 4.0	0.0-3.5 0.0
Polysaccharides totaux	37.0-47.0	--
Protéines	11.0-14.0	13.0-15.0
Acides aminés libres	2.0	0.0
Lipides totaux	8.0-13.0	8.3-16.0
Minéraux dont potassium	3.5-4.5	4.6-5.0
Eau	5-12	0-5



Photo 3 : Les grains verts du café Robusta (Lim, 2012).

1-6- Les effets du café sur l'organisme

1-6-1-Les effets sur le système nerveux central

En réalité, la caféine ne représente que 2,4% d'un Robusta, malgré cette faible proportion, la caféine demeure la substance la plus remarquable du café si l'on considère ses effets sur l'organisme (**Lim, 2012**). En effet, elle est capable comme d'autres substances qui sont considérées comme des drogues, telles que l'alcool ou la nicotine, de traverser la barrière hémato-encéphalique.

La caféine est un alcaloïde de la famille des méthylxanthines, qui agit comme psychostimulant. Mais les intoxications graves à la caféine sont rares, peu décrites, avec un taux de mortalité de 50 % pour des doses supérieures à 10 g (**Dusart, et al., 2015**).

D'après **Lim, (2012)** a découvert que les cafés torréfiés sont riches en antioxydants lipophiles et en lactones d'acide chlorogénique et pourraient protéger les cellules neuronales contre le stress oxydatif, en inhibant les voies de signalisation ERK1/2 et JNK.

1-6-2-Les effets sur le système cardiovasculaire

La caféine agit comme antagoniste compétitif des récepteurs de l'adénosine. Elle accroît la libération d'adrénaline ce qui peut entraîner une accélération du rythme cardiaque (**Dusart, M et al., 2015**).

L'étude de Lim en 2012, sur les effets antihypertenseurs et du mécanisme des acides chlorogéniques, a déclaré que la consommation alimentaire de CGA pourrait être un moyen de prévention et un traitement d'hypertension artérielle.

1-6-3-Les effets sur le reste de l'organisme

Les acides chlorogéniques présents au café seraient efficaces pour réduire la pression artérielle, l'inflammation systémique, le risque de diabète de type 2 grâce à une protéine de transfert lipidique de *Coffea Canephora* s'est inhiber l'activité de la α -amylase chez les mammifères. et l'agrégation plaquettaire, ainsi que le cancer. Dans de nombreuses études sur des modèles animaux et *in vitro*, le kahweol / cafestol s'est révélé protéger contre les effets mutagènes / cancérogènes de plusieurs agents cancérogènes tels que les amines hétérocycliques (**Lim, 2012**).

Chapitre II : l'effet de la torréfaction sur quelques propriétés phytochimiques du café robusta

2-1-Introduction

La torréfaction est un procédé qui consiste à traiter les grains de café vert par la chaleur sèche à des températures supérieures à 180-200 °C, tout en permettant au café d'acquérir l'essentiel de ses propriétés goût, arôme et couleur, par le biais de la réaction de Maillard (**Fujioka & Shibamoto, 2008**).

Les résultats d'étude de **Hećimović et al., (2011)**, ont été révélés que les antioxydants phénoliques naturellement présents dans le café sont fortement dégradés pendant le processus de torréfaction. Cette diminution des composés polyphénoliques est associée à la dégradation de l'acide chlorogénique, qui influence la capacité antioxydante du café torréfié. Cependant, la teneur en antioxydants et l'efficacité du café torréfié peuvent être maintenues, voire améliorées, par la formation de composés ayant une activité antioxydante, tels que les produits de réaction de Maillard. Certains dérivés de polyphénols, tels que les phénylindanes formés lors de la torréfaction, présentent une activité antioxydante très élevée (**Hećimović et al., 2011**).

2-2- La réaction chimique du café durant la torréfaction

Sous l'effet de la chaleur, certaines composantes disparaissent tandis que d'autres se combinent. Cette transformation chimique en chaîne a été découverte par deux chimistes Maillard et Strecker.

-La réaction de Maillard :

La réaction de Maillard est l'ensemble des interactions résultant de la réaction initiale entre un sucre réducteur et un groupement aminé sous l'effet de la chaleur, qui va amener une caramélisation. Cette caramélisation se caractérise par le changement de la pigmentation et a pour effet de donner au café tous ses arômes. Elle peut aussi donner naissance à des composés cancérigènes et réduire la valeur nutritionnelle des aliments en dégradant des acides aminés essentiels et le saccharose. La température, le temps, la teneur en eau ainsi que la concentration et la nature des précurseurs influencent cette réaction (**Machiels D., Istasse L. 2002**).

On peut subdiviser la réaction de Maillard en trois étapes principales (**figure 2**) :

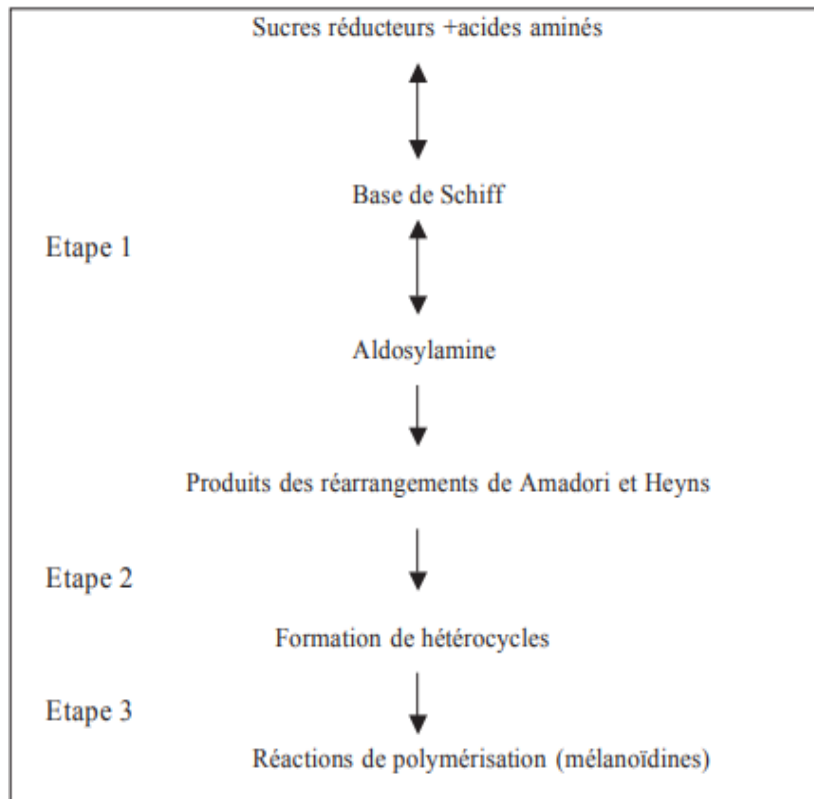


Figure 2 : Principales étapes de la réaction de Maillard (**Machiels D., Istasse L. 2002**).

Chapitre III : Stress oxydatif et métabolites secondaires

3-1-Introduction

Élément indispensable à notre vie, à notre développement, à notre capacité d'adaptation est l'oxygène. Il est également à l'origine de toxicité, d'acidité, d'altération au travers du stress oxydant. De nombreuses molécules biologiques (lipides, protéines, glucides, acides nucléiques) peuvent être « oxydées » par les espèces radicalaires générées lors d'un stress oxydant (**Durand, D et al., 2013**). Une consommation riche en antioxydants, par une alimentation équilibrée, est associée à la prévention des nombreuses maladies dégénératives de nos sociétés modernes caractérisées par le stress, le tabagisme, la sédentarité. L'augmentation de l'apport nutritionnel en antioxydants visera donc essentiellement à prévenir ces maladies (**Koechlin-Ramonatxo, C. 2006**).

3-2-Le stress Oxydant

Au sein de l'organisme, il existe un équilibre entre production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et capacité antioxydante intracellulaire conduisant ainsi à une bonne régulation de l'état redox des cellules (**Durand, D et al., 2013**). Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépassent leurs capacités antioxydantes (**Favier, A. 2006**).

La production d'ERO peut être faible et de courte durée, dans ce cas la réponse antioxydante est suffisante pour assurer un retour rapide à un équilibre redox de la cellule (**figure 3**). En revanche, lors d'agression plus intense et prolongées, la production d'ERO est supérieure à la capacité antioxydante, dans ce cas ce déséquilibre prolongé conduit à une situation de stress chronique comme c'est le cas dans de nombreuses pathologies (diabète, cancer, pathologies articulaires, les maladies cardiovasculaires...) (**Durand, D et al., 2013**).

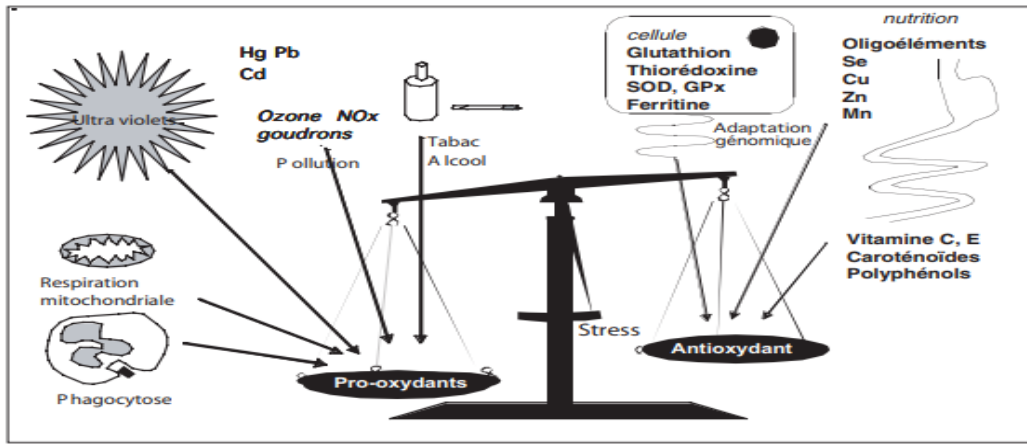


Figure 3 : La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, A. 2006).

3-3-Les radicaux libres

Il s'agit d'un atome ou d'une molécule neutre ou chargé qui possède un électron célibataire sur son orbite externe. Des intermédiaires réactionnels très réactifs, instable et de durée de vie très courte.

La production de radicaux libres est largement physiologique, Ils proviennent de la chaîne respiratoire, du NADPH, l'activité de la xanthine oxydase, les enzymes de la voie de l'acide arachidonique (lipooxygénase, cyclo-oxygénase), les enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P450) et du peroxysome (Durand, D et al., 2013). Les principales espèces radicalaires centrées sur l'oxygène sont les suivants :

$O_2^{\circ -}$	Radical superoxyde
HO_2°	Radical perhydroxyle
$^{\circ}OH$	Radical hydroxyle
ROO°	Radical peroxyde
RO°	Radical alkoxyde

D'après (Durand et al., 2013), les ERO peuvent oxyder un substrat selon trois modes d'action :

- arrachement d'un électron, ex.: $^{\circ}OH + Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + \bar{O}H$;
- arrachement d'un atome d'hydrogène sur un substrat organique RH, ex.: $^{\circ}OH + RH \rightarrow R^{\circ} + H_2O$ (réaction qui a lieu au cours de la lipoperoxydation);
- addition sur une double liaison, ex.: $^{\circ}OH + >C=C< \rightarrow >C-C(OH)<$.

Et parmi les cibles majeures de l'ERO : L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial. Les radicaux O_2^σ et OH° provoquent des lésions de l'ADN. Ceux-ci peuvent entraîner la modification des bases puriques et pyrimidiques. Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont pas réparées entraînent à long terme des altérations géniques : cassures chromosomiques, mutations, délétions, amplifications, à l'origine d'un dysfonctionnement au niveau du métabolisme protéique (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

3-5-Les antioxydants

Un antioxydant est une substance capable même à faible concentration d'inhiber l'oxydation d'un substrat (**Berger, 2006**). Notre organisme est équipé de tout un système complexe de défenses antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques, localisé dans les compartiments intra et extracellulaire. **Durand et al., (2013)** ont classé les antioxydants selon leur origine, les antioxydants endogènes de type enzymatique sont plutôt impliqués dans la neutralisation des ERO et les antioxydants non enzymatiques d'origine exogène. Ce sont des donneurs de proton ou d'électron (**figure 4**).

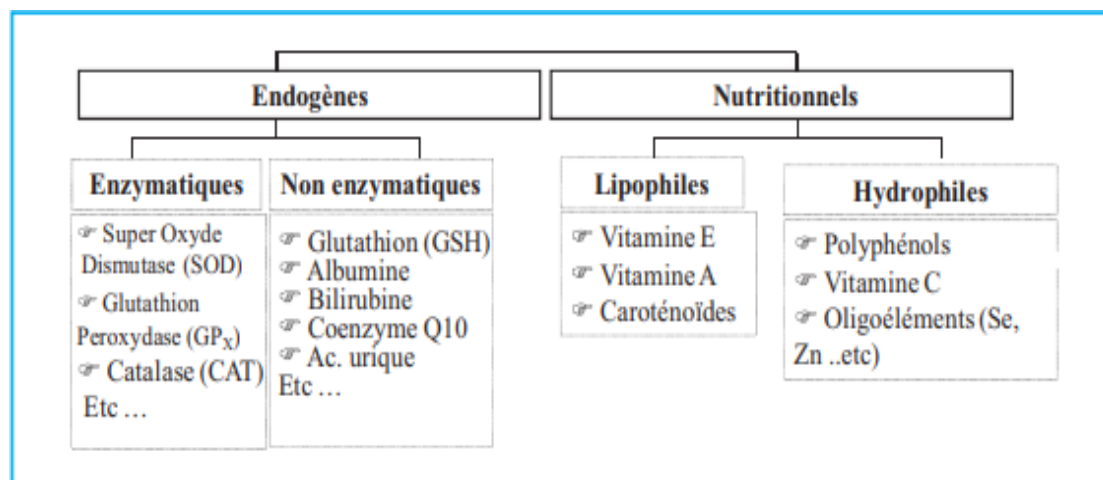


Figure 4 : Différentes sources d'antioxydants dont dispose l'organisme pour répondre aux situations de stress oxydant(**Durand, D et al., 2013**).

D'après **Berger, (2006)**, le mécanisme d'action des antioxydants peut être direct ou indirect, en tant que partie de la structure d'enzymes et/ou cofacteurs d'enzymes antioxydantes, comme dans le cas des éléments traces. Les mécanismes les plus fréquents sont :

- L'interruption de la spirale oxydative (vitamines C et E, NADPH, glutathion) ;
- La prévention des dégâts par la mise à disposition d'électrons (céruloplasmine, vitamine C, superoxydedismutase, GSHPx) ;
- La réparation des molécules de DNA (Zn, acide folique, niacine).

MATERIEL ET METHODES



Matériel et méthodes

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche des produits naturels (LAPRONA), Département de Biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie (SNV) et sciences de la terre et de l'univers (STU), Université Abou BekrBelkaid-Tlemcen.

Cette étude comporte deux volets :

- Une quantification de quelques classes phénoliques dans les deux extraits des grains verts et torréfiés de café Robusta,
- Une évaluation de l'activité antioxydante de ces mêmes extraits.

1-Matériel

-Matériel végétal

Les graines vertes et torréfiées de café Robusta, ont été fournies par la société Boulila situé à Nedroma. Il s'agit de graines importées du Vietnam et stockées au niveau de cette même société.



Photo 4: Grains verts et torréfiés de café Robusta (*Coffea Canephora*).

2-Méthodes

2-1-Préparation des extraits

Après le raffinage du matériel végétal, deux extraits ont été préparés par décoction à l'aide de 100ml d'eau pour 10g de grains verts et un autre 100ml d'eau pour 10g de grains torréfiés à 230°C pendant 15 min. Les deux préparations subissent par la suite une macération à température ambiante pendant 4h, on filtre, les filtrats ont été évaporé à sec dans une étuve a 40°C.



Décoction

Macération

Filtration

Extraits secs

Photo 5 :Les étapes de la préparation des extraits du café Robusta.

Le rendement en extrait sec après évaporation est calculé selon le rapport suivant :

$$\text{Rdt}\% = \frac{(P1-P2)}{P3} \times 100$$

P1 : poids de ballon après évaporation.

P2 : poids de ballon avant évaporation (ballon vide).

P3 : poids de matière végétale de départ.

2-2-Dosage des composés phénoliques

2-2-1-Dosage des polyphénols totaux

- **Principe**

La méthode la plus utilisée pour l'évaluation quantitative des composés phénoliques dans les extraits est basée sur l'oxydation de ces composés par le réactif de Folin-Ciocalteu. C'est un mélange de complexes d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et l'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$). Cette oxydation entraîne la formation d'un nouveau complexe bleu qui absorbe à 750 nm. Ce dosage est effectué par la comparaison de la densité optique observée à celle obtenu par un étalon d'acide gallique de concentration connue (**Boizot et al., (2006)**).

- **Mode opératoire**

Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode décrite par (**Vermeris et Nicholson, (2006)**). Un volume de 100 μl de l'extrait est mélangé avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium à 2% fraîchement préparée, le tout est agitée à l'aide d'un vortex. Après 5min, une prise de 100 μl du réactif de Folin-Ciocalteu est ajoutée au mélange. Après 30 min d'incubation à température ambiante, la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 750 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations (0 à 500 µg/ml) dans les mêmes conditions de travail que les extraits. Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg EAG/g MS).

2-2-2-Dosage des flavonoïdes totaux

- **Principe**

La quantification des flavonoïdes est faite selon une méthode colorimétrique décrite par (**Dewanto et al., (2002)**) basée sur l'oxydation des flavonoïdes par deux réactifs incolores, le nitrite de sodium (NaNO_2) et le chlorure d'aluminium (AlCl_3). Elle entraîne la formation d'un complexe brunâtre qui absorbe à 510 nm. Ce dosage est effectué par la comparaison de la densité optique observée à celle obtenue par un étalon de catéchine de concentration connue.

- **Mode opératoire**

Une prise de 250 µl d'extrait diluée est additionnée de 75 µl d'une solution de NaNO_2 à 5%. Après incubation de 6 min à température ambiante, 150 µl d'une solution de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 10% fraîchement préparée sont ajoutés au mélange. Après 5 min de repos à température ambiante, 500 µl de soude (NaOH , 1M) sont apportés au mélange. Et le volume final est porté à 2,5 ml avec de l'eau distillée. La lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 510 nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée par la catéchine à différentes concentrations (0 à 500 µg/ml) dans les mêmes conditions que les extraits. Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS).

2-2-3-Dosage des tanins condensés

- **Principe**

Les tanins condensés se dépolymérisent en présence d'acide sulfurique, et par réaction avec la vanilline, se transforment en anthocyanidols de couleur rouge, mesurables à 500 nm par spectrophotométrie.

- **Mode opératoire**

Une prise de 50 µl d'extrait est ajoutée à 3ml de vanilline à 4% et 1,5 ml d'acide sulfurique concentré. Après homogénéisation, le mélange est incubé à température ambiante pendant 15 min. L'absorbance est mesurée contre un blanc à 500 nm. Les teneurs en tanins condensés déterminées en se référant à une gamme étalon de catéchine (0 à 500 µg/ml), sont exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/ g MS) (Sun et al.,1998).

2-3-Etude de l'activité antioxydante

2-3-1-Capacité antioxydante totale

- **Principe**

Cette méthode est basée sur la réduction du molybdène (VI) en molybdène (V) par l'extrait de plante. Cette réduction induit à pH acide, la formation du complexe phosphate/Mo (V) de couleur verte qui absorbe à 695 nm.

- **Mode opératoire**

Une prise de 100 µl d'extrait est combinée dans un tube avec 1ml de solution composée d'acide sulfurique (0,6 N), de phosphate de sodium (28 mM) et de molybdate d'ammonium (4 mM). Après incubation à 95°C pendant 90 mn et un repos de 6 mn à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm contre un blanc contenant du méthanol à la place de l'extrait.

Comme pour les polyphénols totaux, l'activité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/ gMS) (Prieto et al., 1999).

2-3-2-Piégeage du radical DPPH

- **Principe**

Le DPPH° (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. La capacité de réduction du DPPH est déterminée par la diminution de son absorbance maximale à cette longueur d'onde, induite par les antioxydants existants dans les extraits (**figure 5**).

Ceci se traduit par le changement de coloration du violet au jaune (**Haddouchi et al., 2016**)

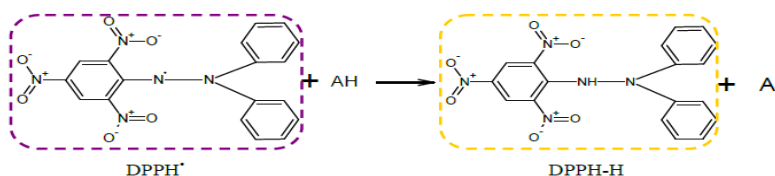


Figure 5: Forme réduite du radical DPPH

- **Mode opératoire**

Le protocole expérimental suivi est celui d'**Atoui et al. (2005)** : Un volume 50 µl de différentes concentrations des extraits, est ajouté à 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH° à 6.34×10^{-5} M (0.0025 g dans 100 ml méthanol). Pour chaque concentration un blanc est préparé. Le contrôle négatif est préparé, en parallèle, en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH° à la même concentration utilisée.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante, la réduction du DPPH° s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution. La lecture des absorbances est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à 515 nm. Le témoin positif utilisé est le butylhydroxyanisole (BHA). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition, calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, selon la formule :

$$PI = (D.O_{\text{témoin}} - D.O_{\text{extrait}} / D.O_{\text{témoin}}) \times 100$$

PI : pourcentage d'inhibition.

D.O témoin : absorbance du témoin négatif.

D.O extrait : absorbance de l'extrait.

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (CI₅₀). Une valeur de CI₅₀ faible correspond à une grande efficacité de l'extrait.

2-3-3-Pouvoir réducteur du fer

- **Principe**

Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) en fer ferreux (Fe²⁺) par les antioxydants présents dans l'extrait végétal. Le pouvoir réducteur de fer est déterminé selon la méthode décrite par **Oyaizu(1986)**.

- **Mode opératoire**

Un volume de 1 ml de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 2.5 ml de tampon phosphate 0.2 M à pH 6.6 et 2.5 ml d'une solution de $K_3Fe(CN)_6$ à 1% (m/v). Le mélange obtenu est incubé pendant 20 mn à 50°C, puis 2.5 ml d'acide trichloracétique à 10% (m/v) sont ajoutés pour arrêter la réaction. Après centrifugation à 650 g pendant 10 mn à température ambiante et 2.5 ml du surnageant sont additionnés de 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de $FeCl_3$ à 0.1% (m/v). La lecture de l'absorbance se fait à 700 nm contre un blanc. En parallèle le butylhydroxyanisole (BHA) à différente concentration a été utilisé comme contrôle positif dans les mêmes conditions opératoires. Les résultats permettent de calculer la concentration efficace (CE_{50}), concentration de l'extrait correspondante à une absorbance égale à 0.5, obtenue par l'interprétation de la courbe de régression linéaire ($D.O = f([])$).

RESULTATS



1-Les rendements des différents extraits

Les résultats des rendements obtenus et les caractéristiques des différents extraits de *coffea robusta* sont représentés dans le **tableau 2**.

Tableau 2 : Rendements et caractéristiques des différents extraits des *coffea robusta*

Extraits	Masse (g)	Aspect	Couleur	Rendement %	Solubilité
Café Robusta vert (CRV)	1,3728	poudre	vert	13,728	Eau-distillée
Café Robusta torréfié (CRT)	1,6373	poudre	marron	16,373	Eau-distillée

2-Dosage des composés phénoliques

2-1-Polyphénols totaux

Les résultats obtenus pour le dosage des polyphénols sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique (**Figure 6**) : $y=0,0015x-0,0091$, et le test a été réalisé en trois fois.

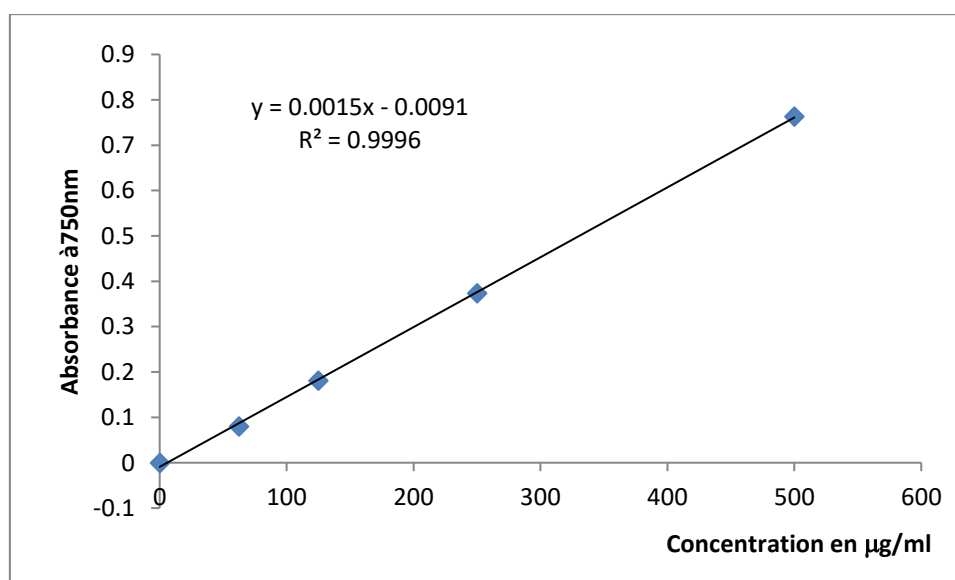


Figure 6 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique

Les résultats des taux en polyphénols pour les deux extraits de *coffea robusta* sont représentés dans la **figure 7**. Nous avons obtenu une valeur de 27,15mg EAG/g MS dans l'extrait de café vert et 25,34 mg EAG/g MS dans l'extrait de café torréfié. Selon les valeurs enregistrées nous avons remarqué que le café vert est le plus riche en polyphénols.

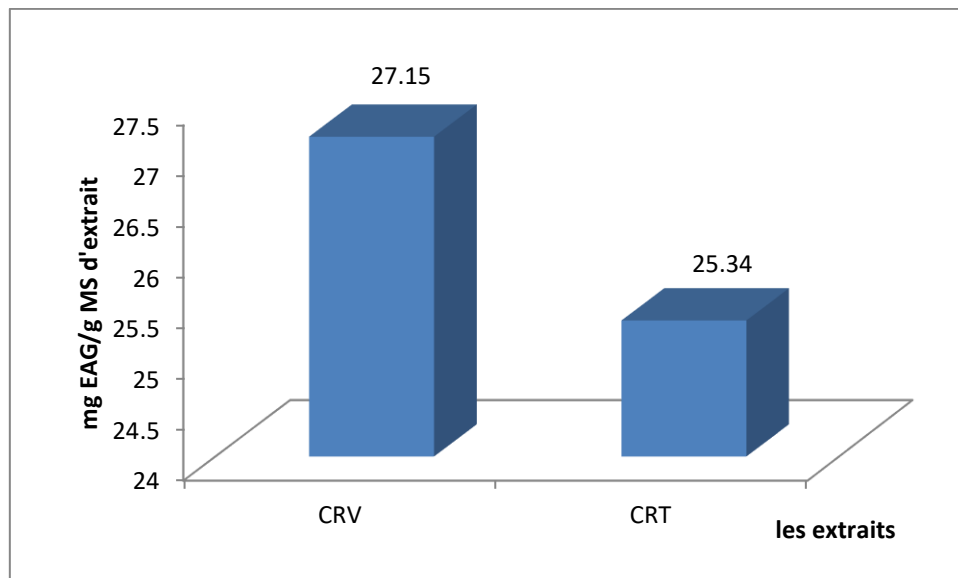


Figure 7 : Teneurs en polyphénols pour les deux extraits de *coffea robusta*

2-2-Flavonoïdes totaux

Les résultats obtenus pour le dosage des flavonoïdes totaux sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par la catéchine (**Figure 8**) $y=0,0027x+0,0059$, et Le test a été réalisé en trois fois.

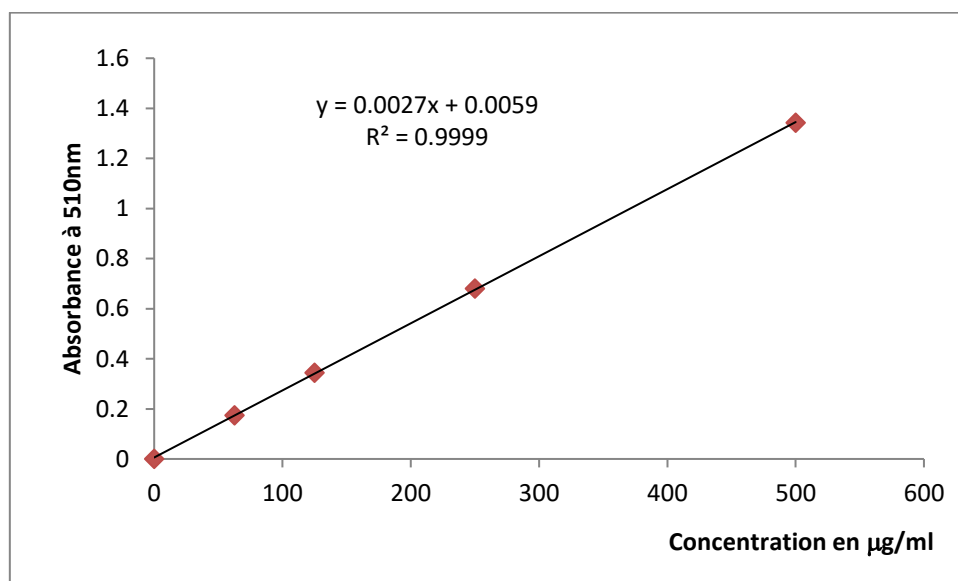


Figure 8 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

Les résultats des taux en flavonoïdes pour les deux extraits de *coffea robusta* sont représentés dans la **figure 9**. Nous avons obtenu une valeur de 21,56mg EC/g MS dans l'extrait de café vert et 13,35mg EC/g MS dans l'extrait de café torréfié. Le café vert est le plus riche en flavonoïdes totaux.

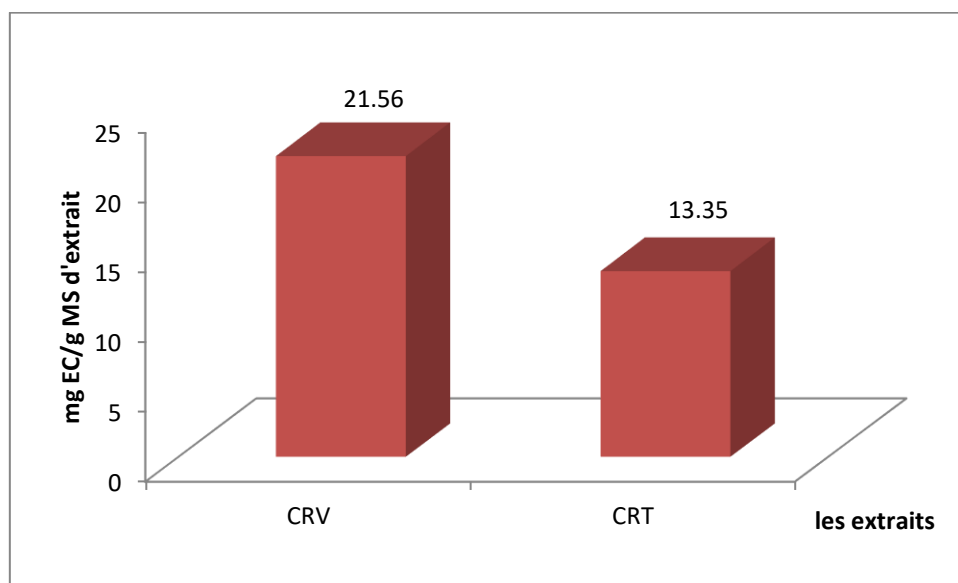


Figure 9 : Teneurs en flavonoïdes totaux pour les deux extraits de *coffea robusta*

2-3-Tanins condensés

Les résultats obtenus pour le dosage des tannins condensés sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière sèche (mg EAG/g MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par la catéchine (**Figure 10**) : $y=0.0003x+0.0010$. Le test a été réalisé en trois fois.

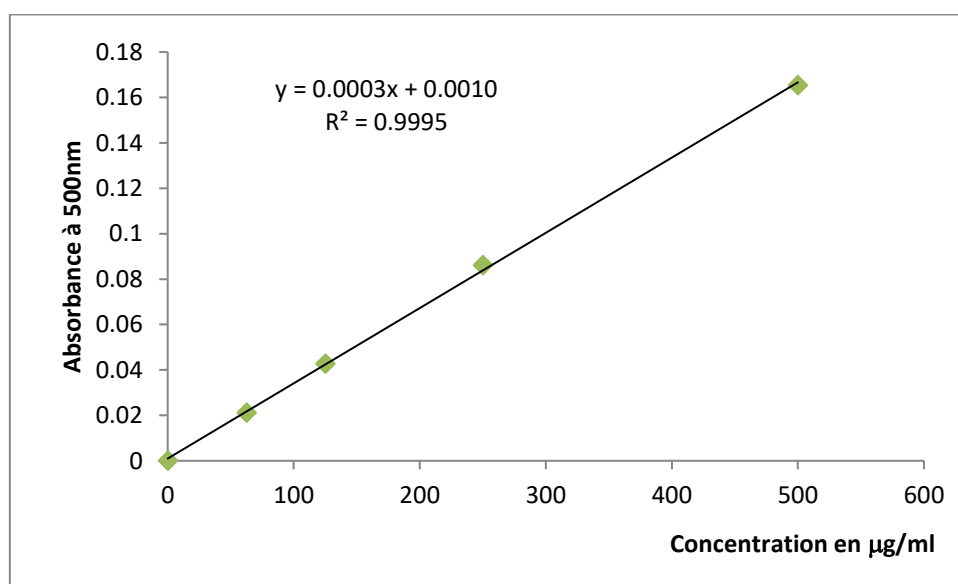


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

Les résultats des taux en tanins pour les deux extraits de *coffea robusta* sont représentés dans la **Figure 11**. Nous avons obtenu une valeur de 11,67mg EC/g MS dans l'extrait de café vert et 10,05mg EC/g MS dans l'extrait de café torréfié. Ce qui montre que le café vert renferme un taux plus élevé en tanins que le café torréfié.

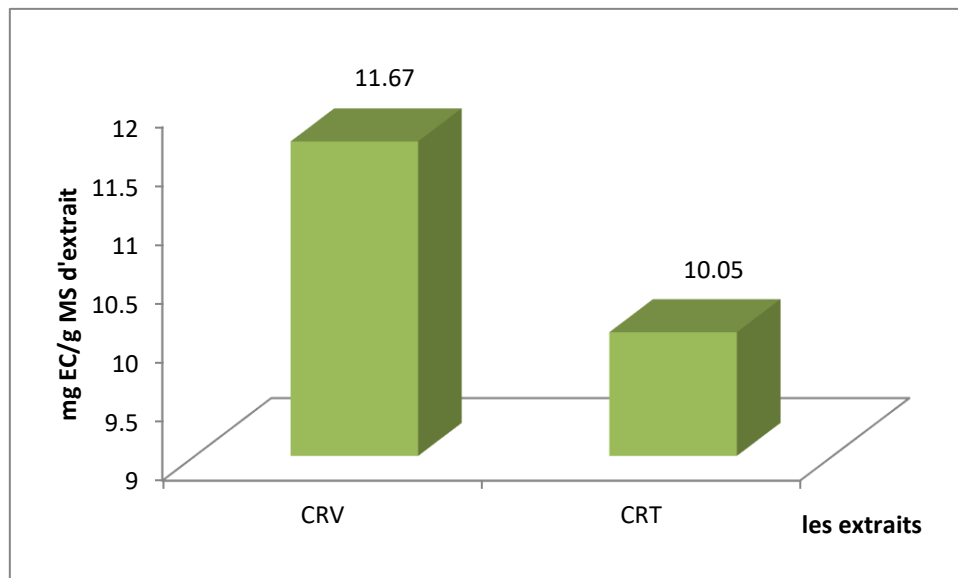


Figure 11 : Teneurs en tanins condensés pour les deux extraits de *coffea robusta*

3-Etude de l'activité antioxydante

3-1-Capacité antioxydante totale

Les résultats de la capacité antioxydante totale sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique (**Figure 12**) $y=0,0015x-0,0091$. Ce test a été réalisé en trois fois.

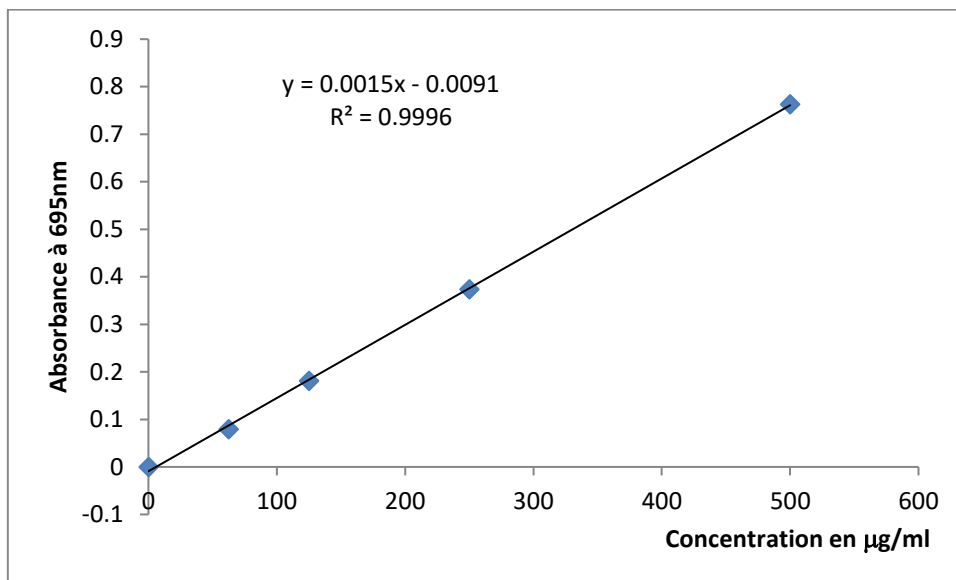


Figure 12 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats des taux de capacité antioxydante totale pour les deux extraits de *coffea robusta* sont représentés dans la **figure 13**. Nous avons obtenu une valeur de 20,22mg EAG/g MS dans l'extrait de café vert et 15,49 mg EAG/g MS dans l'extrait de café torréfié. Selon les valeurs enregistrées nous avons remarqué que le café vert a une capacité antioxydante totale plus que le café torréfié.

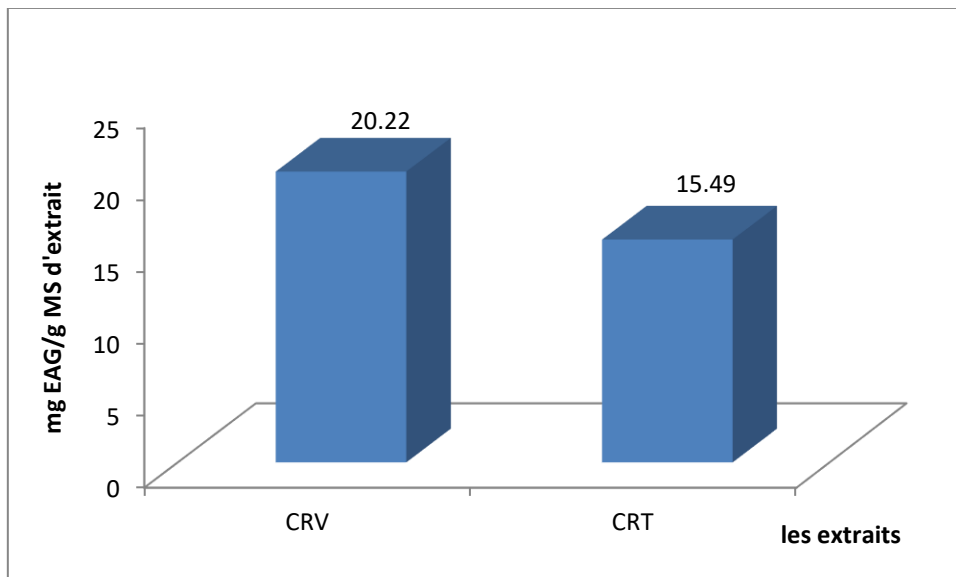


Figure 13 : Teneurs de capacité antioxydante totale pour les deux extraits de *coffea robusta*

3-2- Piégeage du radical DPPH

Nous avons étudié l'activité antioxydante des extraits verts et torréfiés du café robusta afin de localiser l'extrait qui présente le plus d'activité. Les valeurs des densités optiques obtenues ont permis de calculer les PI et de tracer des courbes (Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations), ayant une allure linéaire. À partir de ces courbes, nous avons déterminé la valeur de CI_{50} de chaque extrait, et ce test a été réalisé en trois fois.

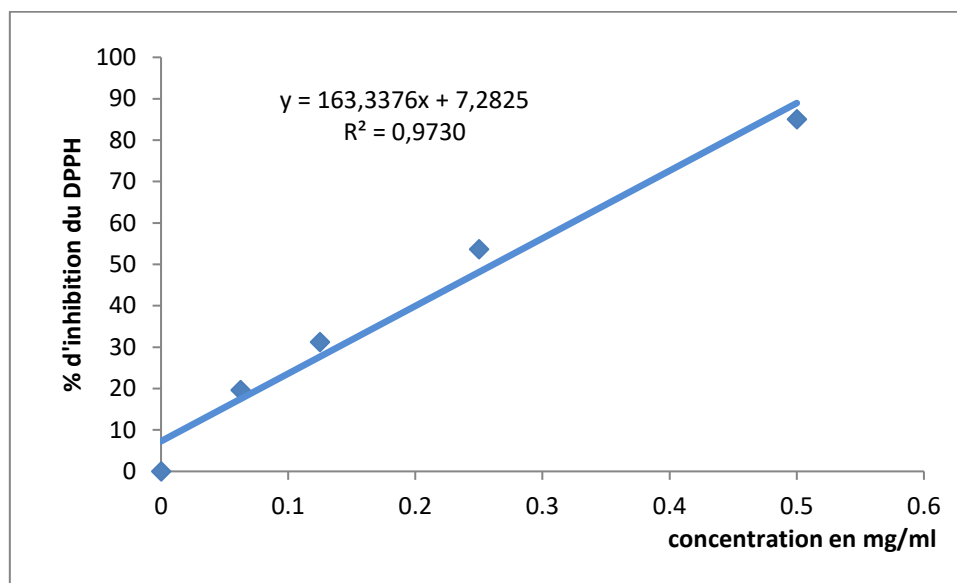


Figure 14 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations de BHA

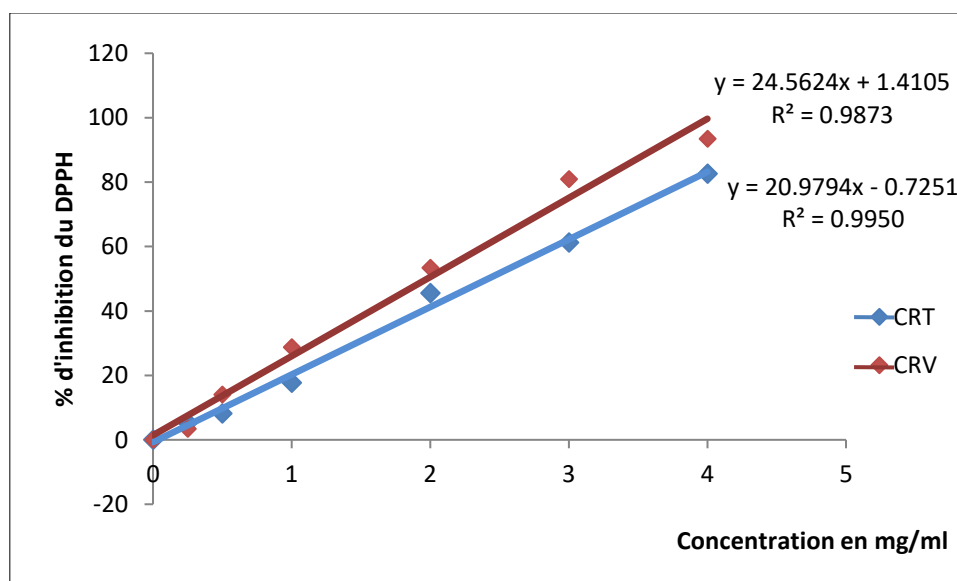


Figure 15 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de l'extrait des grains verts et torréfiés de *coffea robusta*

Nous constatons que le pourcentage d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration et à partir des équations des régressions linéaires des graphes représentés dans les **figures 14 et 15** nous avons calculé les CI_{50} des extraits de *coffea robusta*. Les valeurs des CI_{50} du BHA et les extraits du café vert et torréfié sont représentées dans le **tableau 3**.

Tableau 3 : Résultats des valeurs d' CI_{50} des différents extraits de *coffea robusta*

Extraits	BHA	Café Robusta vert (CRV)	Café Robusta torréfié (CRT)
CI_{50} (mg/ml)	0,2615	1,97	2,4178

D'après les valeurs obtenues nous avons remarqué que l'extrait du café vert présente une CI_{50} inférieure à celle de l'extrait du café torréfié ce qui fait il a une activité antioxydante importante que le café torréfié.

3-3-Réduction du Fer : FRAP

Les valeurs des densités optiques obtenues qui ont été réalisés en trois fois, ont permis de tracer des courbes pour chaque extrait. Les résultats représentés sur les **figures 16 et 17** nous ont montré que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation des concentrations utilisées. Les valeurs obtenues pour les extraits de *coffea robusta* sont comparées à celle de BHA

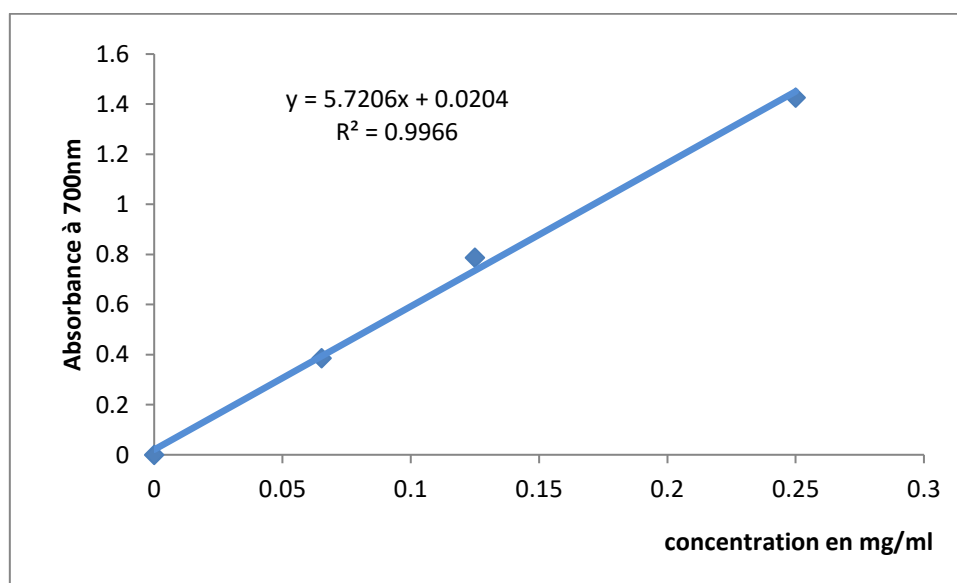


Figure 16 : Evolution des absorbance du fer réduit par le BHA

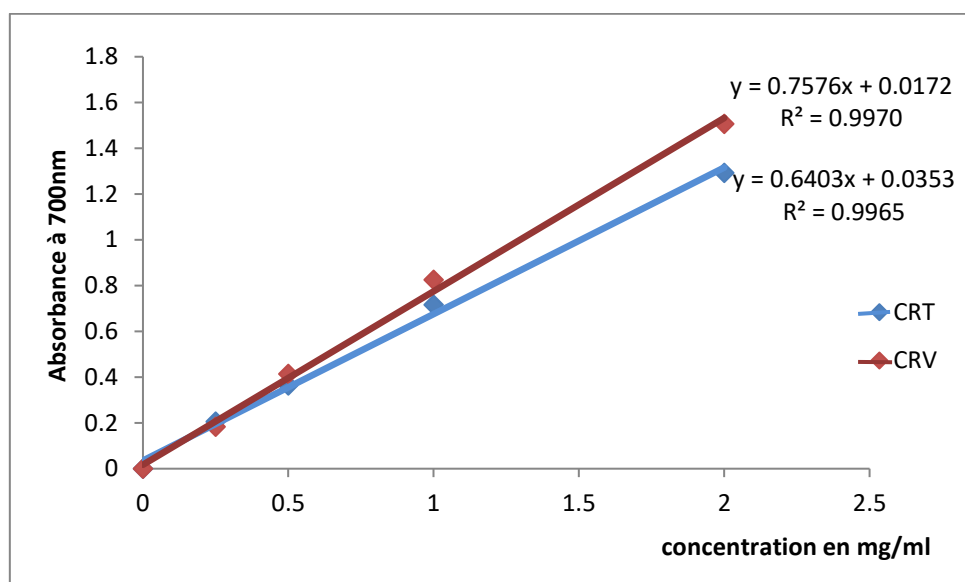


Figure 17 : Evolution des absorbance du fer réduit par l'extrait des grains verts et torréfiés de *coffea robusta*

Selon les valeurs de la CE_{50} nous remarquerons que les extraits des grains verts et torréfiés sont supérieurs à celui de BHA, du même que les extraits des grains verts sont relativement inférieurs par rapport aux extraits des grains torréfiés. Les valeurs de CE_{50} ont présenté dans le **tableau 4**.

Tableau 4 : CE_{50} des différents extraits de *coffea robusta*

Extraits	BHA	Café Robusta vert (CRV)	Café Robusta torréfié (CRT)
CE_{50} (mg/ml)	0,0837	0,6372	0,7257

DISCUSSION



Discussion

Notre étude rentre dans le cadre de la recherche de l'influence de la torréfaction sur les polyphénols antioxydants. Nous nous sommes intéressés aux gains verts et torréfiés du café *Robusta* « *Coffea Canephora* », une espèce est très connue dans le monde entier.

Nous avons dans un premier temps préparé, par décoction de 15min (sous reflux) suivie d'une macération de 4h, deux extraits aqueux des grains verts et torréfiés. L'extrait de grains de café torréfié a un rendement plus élevé (16,37%) que celui de grains de café vert (13,72%). D'après **Farah et al, (2006)**, il a été rapporté que la dégradation des acides phénoliques conjugués lors de la torréfaction, provoque l'augmentation des autres acides phénoliques libres, tels que les acides caféique et férulique.

L'estimation des teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins montre que l'extrait de grains verts est plus riche en ces composés par rapport à l'extrait de grains torréfiés. Nos valeurs sont proches de celles déterminées par **Mellouk et al, (2014)** sur le marc d'un mélange du café Robusta et Arabica par la méthode de Folin Ciocalteu qui ont trouvé des teneurs en composés phénoliques totaux de l'ordre de 28 mg EAG /g pour un extrait préparé par Soxhlet, et 30 mg EAG /g pour l'extrait préparé par décoction. Les polyphénols sont connus comme des composés thermolabiles. De nombreuses études ont démontré que le procédé de torréfaction conduit à la destruction de ces métabolites secondaires, en particulier l'acide chlorogénique, qui est un polyphénol majoritaire du café (**Belguidoum et al, 2014**).

L'effet de la torréfaction sur les teneurs en composés phénolique nous a poussés à rechercher l'activité antioxydante par trois méthodes. Le café vert a montré une capacité antioxydante totale plus importante que celle du café torréfié, avec les valeurs respectives de 20,22 mg EAG/g MS et 15,49 mg EAG/g MS.

Les grains du café vert « CRV » ont un pouvoir de piégeage du radical DPPH plus intéressant par rapport à l'extrait des grains de café torréfié « CRT » (IC_{50} CRV = 1,97 mg/ml et IC_{50} CRT = 2,4178 mg/ml), mais qui reste plus faible que celle du standard BHA (IC_{50} = 0,2615 mg/ml). La capacité des extraits à réduire le Fer est aussi plus importante pour l'extrait des grains verts (EC_{50} =0,6372 mg/ml) par rapport à celui des grains torréfiés (CE_{50} =0,7257 mg/ml) et elle est légèrement plus importante que celle du BHA (CE_{50} =0,837 mg/ml). Par contre, **Vignoli et al, (2011)** ont trouvé

une capacité à réduire le Fer plus importante ($CE_{50} = 0,0262$ mg/ml) que la notre dans un extrait éthanolique d'un mélange du café Robusta et Arabica torréfié.

Une étude a été effectuée en Côte d'Ivoire par **Nemlin et al., (2009)** a montré que le café vert provenant d'Abengourou a présenté des teneurs en acide chlorogénique élevées ce qui explique sa richesse en antioxydants. Les différences trouvées peuvent être expliquées par les différentes réactions chimiques et les modifications physiques qui se produisent lors de la torréfaction.

D'après **Adriene et al., (2013)**, lors de la torréfaction des graines, une partie des acides chlorogéniques qui contribuent également aux propriétés antioxydantes est transformée en d'autres substances qui se forment au cours de ce processus et qui sont liées à la couleur et à la saveur du café. Cette transformation diminue le potentiel antioxydant des graines vertes. **Moreira et al., (2017)** confirment que les teneurs de café Robusta vert en CGA ($9,397 \pm 0,346$ g/100 g) est plus importante que celle de café Robusta torréfié ($3,029 \pm 0,192$ g/100 g).

L'activité antioxydante est en corrélation avec les teneurs en composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes et tanins). Ces derniers peuvent être responsables de l'activité antioxydante et ont la capacité à céder un proton pour réduire le DPPH et de libérer un électron pour réduire le fer (**Haddouchi et al., 2016**).

CONCLUSION



Conclusion

La phytothérapie est la science qui ne cesse de s'étendre de nos jours pour ses vertus thérapeutiques. En effet, son importance s'accroît dans le domaine de la santé publique grâce à la diversité biologique des plantes médicinales, qui sont liées à un grand nombre de molécules bioactives synthétisées par la plante comme des agents médicinaux tels que les antioxydants.

Les antioxydants, utilisés pour prévenir les dommages oxydatifs causés par les radicaux libres, sont très présents dans divers domaines tels que l'alimentation et la médecine. Ainsi, les recherches sur les activités antioxydantes des plantes sont rapidement devenues un champ actif de la pharmacologie moderne.

Dans ce contexte, ce travail a pour but d'étudier les composés phénoliques et l'évaluation des propriétés antioxydantes des grains du café Robusta (*coffea Canephora*), vert et torréfié.

A la lumière des résultats obtenus nous avons pu conclure que :

- La torréfaction avait une influence significative sur les paramètres de notre étude : les rendements massiques et les teneurs en composés phénoliques (Polyphénols totaux, Flavonoïdes et tanins).
- Nous pouvons dire que les grains de café vert possèdent une activité antioxydante plus élevée par rapport aux grains de café torréfié. Les valeurs respectives obtenues sont :

- 20,22mg EAG/g MS et 15,49mg EAG/g MS pour la capacité antioxydante totale ;
- Des CI50 égales à 1,97 et 2,41mg/ml vis-à-vis du radical libre DPPH ;
- Des CE50 égale à 0,63 et 0,72 mg/ml pour la réduction du Fer.

Ces résultats ne sont qu'un premier pas dans la recherche des molécules biologiquement actives. Pour cela, nous envisageons de nombreuses perspectives :

- Elargir le panel des tests d'activité antioxydante par l'utilisation d'autres méthodes d'évaluation *in vitro* et *in vivo* ;
- Identifier les molécules actives par des méthodes spectrophotométriques et chromatographiques ;
- Exploiter ces molécules en biotechnologie (industries agroalimentaires et pharmaceutiques) en remplaçant les antioxydants synthétiques qui sont néfastes pour la santé humaine.
- Enfin, il est primordial d'étudier la cytotoxicité de ces molécules afin de confirmer ou d'infirmer l'activité attribuée à cette plante.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES



Références bibliographiques

- Adriene R. Lima, Rosemary G. F. A. Pereira, Sheila A. Abrahão, Márcio G. Zangeronimo, Fernanda B. A. Paula, Stella M. S. Duarte (2013).** Effect of decaffeination of green and roasted coffees on the *in vivo* antioxidant activity and prevention of liver injury in rats. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 23(3): 506-512.
- Atoui AK, Mansouri A, Boskou G, Kefalas P (2005).** Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89 :27-36.
- Belguidoum.K, Amira-Guebailia.H, Boulmouk.Y, Houache.O.(2014).**HPLC coupled to UV–vis detection for quantitative determination of phenolic compounds and caffeine in different brands of coffee in the Algerian market. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 45 1314–1320.
- Berger, M. M. (2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20(1), 48–53.
- Boizot, N., Charpentier, J.-P., 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, Numéro spécial 2006: Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, 79-82.
- Davis, A. P., Govaert, R., Bridson, D. M., Stoffelen, P. (2006).** An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea*(Rubiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 152(4).465–512.
- De Melo Pereira, G. V., de Carvalho Neto, D. P., Magalhães Júnior, A. I., do Prado, F. G., Pagnoncelli, M. G. B., Karp, S. G., & Soccol, C. R. (2020).** Chemical composition and health properties of coffee and coffee by-products. *Advances in Food and Nutrition Research*. 91: 65-96.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K.K., Liu, R.H. (2002).** Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50, 3010-3014.
- Dong W, Hu R, Chu Z, Zhao J, Tan L. (2017).**Effect of different drying techniques on bioactive components, fatty acid composition, and volatile profile of robusta coffee beans. *Food Chemistry*, 234(1):121-130.
- Durand, D., Damon, M., Gobert, M. (2013).** Le stress oxydant chez les animaux de rente : principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48(5), 218–224.

- Dusart, M., Tobarias, J., Benarous, L., Michelet, P., Gainnier, M. (2015).** Arrêt cardiaque et intoxication aiguë à la caféine, un évènement rare. *Anesthésie & Réanimation*, 1(4), 347–350.
- **Farah A, Donangelo CM.(2006).** Phenolics compounds in coffee. *Braz J Plant Physiol.*18:23–36.
- Favier, A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), 390–396.
- Fujioka, K., Shibamoto, T. (2008).** Chlorogenic acid and caffeine contents in various commercial brewed coffees. *Food Chemistry*, 106(1), 217–221.
- **Gomez, C., Dussert, S., Hamon, P., Hamon, S., Kochko, A., Poncet, V. (2009).** Current genetic differentiation of *Coffeacaneophora* Pierre ex A. Froehn in the Guineo-Congolian African zone: cumulative impact of ancient climatic changes and recent human activities. *BMC Evolutionary Biology* 9:1-19.
- **Haddouchi, F., Chaouche, T., Halla, N. (2016).** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d’Algérie. *Phytothérapie*, 1-9.
- 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.
- Houessou JK. (2007)** Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans le café : mise au point de méthodes analytiques et étude de l’étape de torréfaction. Ecole Doctorale ABIES, Paris Thèse.
- Koechlin-Ramonatxo, C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20(4), 165–177.
- **Larbi F. (2018).** Le café : la grande histoire de la boisson la plus consommée. *Quotidien national el Moudjahid*. Dimanche 05 avril 2020.
- Lim, T. K. (2012).** Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants, Volume 01, Fruits, Ed Springer, p 680-709.
- **Liu C., Yang N., Yang Q., Ayed C., Linforth R., Fisk ID, (2018).** Enhancing Robusta coffee aroma by modifying flavour precursors in the green coffee bean. *Food Chemistry*.281:8-17.
- **Machiels D., Istasse L. (2002).** La réaction de Maillard : importance et applications en chimie des aliments. *Annales de médecine vétérinaire*,146, 347-352.

- Mellouk, H., Haddoudi, M., Bejjany, B., Dani, A., Digua, K. (2014).** Valorisation du marc du café: extraction de l'huile et évaluation de son activité antioxydante. *Technologies de Laboratoire*, 8(36).
- **Moreira, A. S. P., Nunes, F. M., Simões, C., Maciel, E., Domingues, P., Domingues, M. R. M., & Coimbra, M. A. (2017).**Data on coffee composition and mass spectrometry analysis of mixtures of coffee related carbohydrates, phenolic compounds and peptides. *Data in Brief*, 13, 145–161.
- Nemlin G.J., Irie Z.B., Ban-Koffi L., Koffi N, LegnateY., Yoro G., N’Gbome A., Amani G. (2009).** Caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques du café robuste (*coffea canephora.*) en fonction des terroirs et des techniques culturales en Côte d’Ivoire. *Agronomie Africaine*, 21 (2): 185 – 195.
- Oyaizu M (1986).** Studies on products of the browning reaction prepared from glucose amine. *Japan Journal of Nutrition*,44:307–315.
- Pothier, J. (2014).** La classification botanique de Linné à la nouvelle classification des Angiospermes APG III. *La Phytothérapie heuropéenne*, (79), 24-29.
- Prieto P, Pineda M, Aguilar M (1999)** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269:337-341.
- Sun, B., Ricardo-da-Silva, J.M., Spranger, I., (1998).** Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4267-4274.
- 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.
- **Vermerris, W., Nicholson, R. (2006).** Phenolic compound Biochemistry. Springer, Dordrecht, The Netherland, 211-234.