

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie



MÉMOIRE

Présenté par : Senouci Bereksi Sanaa

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème

**Effet des microondes sur l'activité antioxydantes des graines vertes de
café**

Devant le jury composé de :

| | | | |
|---------------------|----------------------------|------------------------|-----------------------|
| Président | Mr.Azzi Rachid | Professeur | Université de Tlemcen |
| Examinatrice | Mlle MEZOUAR D. | Maitre de conference A | Université de Tlemcen |
| Encadrant | Mr.RAHMOUN Mohammed Nadjib | Professeur | Université de Tlemcen |

Année universitaire 2023 – 2024

Remerciements

Je remercie Allah le tout puissant et miséricordieux de m'avoir accordé la force, la santé, la patience et la volonté d'accomplir ce modeste travail, et d'aller jusqu'au bout de mes études.

Ma gratitude, mes remerciements les plus chaleureux s'adressent en premier lieu à Mr. Rahmoun Mohammed Nadjib, Professeur, au département de Biologie, à l'université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, qui a eu la gentillesse d'accepter de m'encadrer dans ce travail. Avec sa patience, sa générosité et surtout son expertise, il a d'abord su être un professeur exemplaire, qui m'inspire à donner le meilleur de moi-même, et à me motiver, mais aussi à m'orienter et m'encourager durant ce travail. Il a toujours contribué au bon déroulement de ce projet et su gérer toute contrainte, avec ces conseils et encouragements dans le moment difficiles. Je suis profondément reconnaissante de tout ce que j'ai appris sous sa direction et c'est grâce à son dévouement et son précieux soutien que le fruit de mes années d'études universitaires a vu jour aujourd'hui.

Je tiens également à remercier Mr. Aissaoui Mohammed qui m'a été d'une aide précieuse tout au long de ce travail. J'ai beaucoup appris non seulement de ses remarquables travaux de recherches antérieurs mais aussi à travers ses orientations, son savoir faire et ses conseils, et c'est grâce à ses encouragements et persévérance que j'ai pu réaliser ce travail.

Je tiens également à saisir cette occasion et adresser mes profonds remerciements et reconnaissances à tous mes professeurs et responsables du département de biologie pour la qualité de l'enseignement qu'ils nous ont prodigués et encouragés durant notre cursus universitaire passé à l'université Abou Bakr Belkaïd.

Je remercie également tout les membres responsables et ingénieurs du Laboratoire Antibiotiques Antifongiques: Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique pour leur aide et soutien au niveau du laboratoire de recherche.

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes précieux et chers parents, qui ont su être un modèle de patience et de courage tout au long de mon cursus universitaire.

A mon cher père Choukri pour son dévouement et ses encouragements. Merci d'avoir toujours su être le père exemplaire par votre présence, votre écoute attentive, vos conseils et surtout votre amour inconditionnelle. Je réalise que votre dévouement et encouragement ont été la clé de cette réussite, et je vous suis très reconnaissante.

A ma cher mère, Faiza, celle avec qui j'ai partagé tous mes moment de joie comme les moments de doutes, celle qui croyais en moi et m'encourageais jour après jour durant toutes ces années, et qui continue de le faire à ce jour. Votre présence et votre patience ont été une précieuse aide pour moi. Ce travail est vraiment le fruit de votre douceur, votre savoir et votre patience avec moi et je vous suis très reconnaissante.

Je vous dédie chaleureusement, chers parents, ce modeste travail qui n'aurait pas pu voir le jour sans votre présence, et je vous dédie également cette réussite qui est bel et bien la vôtre.

A mes chères sœurs, Soumia, Amel et Fatima, celles qui représentent le symbole de l'amour et la loyauté pour moi, celles qui m'inspirent à aller de l'avant et m'encouragent à tout moment. Je vous remercie pour tout l'amour et la bienveillance que vous m'avez apportée.

A mes chers beaux-frères Djamel et Fouad qui sont les frères que Dieu ne m'a pas donnée.

A mes adorables neveux et nièces Sirine, Yasmine, Mehdi, El Hadi, Rachad et Ziyad pour l'amour qu'ils me procurent chaque jour.

A mes chères cousines et meilleures amies Wafaa, Sihem, Houda, Hadjer, Leila, Maroua, Djihane, Malek, Nour, Hidayet, Rania Roumaïssa pour leur précieuse présence dans ma vie.

A mon meilleure ami et cher cousin Racim pour ses encouragement et aide précieuse, pour sa générosité et sa présence.

A ma très chère Tante Salima, ma deuxième maman, pour sa douceur et sa gentillesse.

A mes chers collègues et amis Nadir, Nassim, Ihab, Abdelmouhaimen, Meriem, Bouchra et Nabila, pour leurs appréciables aides et encouragements.

A Tout mes oncles et tantes, et toute ma chère famille.

Liste des abréviations

ABTS : 2,2'-azinobis- (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

APX : Ascorbate peroxydases

BHA : Butyl Hydroxy Anisole

BHT : Butyl Hydroxy Toluene

CAT : Capacité antioxydante totale

CI₅₀ : concentration inhibitrice à 50%

DHAR : Déhydroascorbate réductase

DPPH : (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

D.M.E : Distance Measurement Equipement

E : Extrait

EC₅₀ : Concentration effective à 50%

ERO : Espèces réactif de l'oxygène

FRAP : Ferric reducing antioxydant power

Fe²⁺ : Fer ferreux

Fe³⁺ : Fer ferrique

GHz : Gigahertz

GPOX : Gaïacol peroxydase

GPx : Glutathion peroxydases

GR : Glutathion réductases

I.L.S : Instrument Landing System

ICO : l'Organisation internationale du café

K₂S₂O₈ : Persulfate de potassium

KW : Kilowatt

MAE : Microwave asisted extraction

MDHAR : Monodéhydroascorbate réductase

Mt : Mégatonnes

MHz : Mégahertz

NaNO₂ : nitrite de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

Rpm : rotation par minute

SOD : Superoxyde dismutase

TCA : Acide trichloroacétique

V.O.R : VHF Omnidirectional Range

VMHD : Vacuum Microwave Hydro Distillation

W : Watt

µg EAA/mg E : d'extrait microgramme équivalent d'acide ascorbique par mg d'extrait

mg EAG/mg E : Microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait

µg EC/ µg E microgramme équivalent de catéchine par microgramme d'extrait

Liste des figures

| | |
|--|-----------|
| Figure 1: Les différentes espèces réactives de l'oxygène (Nzengue, 2008)..... | 7 |
| Figure 2 : Propriétés biologiques des polyphénols (Kumar et Pandey, 2013). | 15 |
| Figure 3 : Le caféier (Bouden, 2019). | 17 |
| Figure 4 : Graines de café verte de C.Arabica (Boudjellal et Mellouk, 2018). | 19 |
| Figure 5: Feuilles de C.arabica (Lim, 2013)..... | 20 |
| Figure 6 : Fleur du caféier (Lim, 2013). | 21 |
| Figure 7 : Caféier et cerise (fruit) de C. arabica (Benbabouche, 2013). | 21 |
| Figure 8: Coupe d'une cerise de café (fruit) (Benbabouche, 2013)..... | 22 |
| Figure 9 : Spectre des rayonnements électromagnétiques (Kingston et Haswell, 1997). | 27 |
| Figure 10 : Rendements des différents extraits des graines vertes de C.arabica | 42 |
| Figure 11 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux | 43 |
| Figure 12 : Les teneurs en polyphénols totaux en mg GAE/ mg d'extrait..... | 43 |
| Figure 13 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes totaux..... | 44 |
| Figure 14 : Les teneurs en flavonoïdes totaux en µg EC/ mg d'extrait..... | 45 |
| Figure 15 : Capacité antioxydante totale de l'acide ascorbique | 49 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 Espèces réactives de l'oxygène radicalaires et non radicalaires (Halliwell, 2006) | 6 |
| Tableau 2 : Enzymes antioxydantes | 11 |
| Tableau 3 : Les CI_{50} ($\mu\text{g/ mL}$) des différents extraits des graines vertes de <i>C. arabica</i> par la méthode du Piégeage du radicale libre DPPH. | 46 |
| Tableau 4 : Les CI_{50} ($\mu\text{g/ mL}$) des différents extraits des graines vertes de <i>C. arabica</i> par la méthode du Piégeage du radicale de l'ABTS. | 47 |
| Tableau 5 : Les EC_{50} ($\mu\text{g/ mL}$) des différents extraits des graines vertes de <i>C. arabica</i> par la méthode de FRAP. | 48 |
| Tableau 6 : La capacité antioxydante totale ($\mu\text{g EAA/mg E}$) des différents extraits des graines vertes de <i>C. arabica</i> | 50 |
| Tableau 7 : Tests de l'activité antioxydante par methodes de DPPH, ABTS, CAT, FRAP et les concentrations en polyphenols et flavonoides totaux des 8 extraits. | 54 |

Table des matières

| | |
|---|-----------|
| الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية | 1 |
| République Algérienne Démocratique et Populaire | 1 |
| Première partie | 4 |
| Synthèse bibliographique..... | 4 |
| Chapitre 1: Stress oxydatif et activité antioxydante..... | 5 |
| 1 Stress oxydatif..... | 5 |
| 1.1 Définitions des espèces réactives de l'oxygène | 5 |
| 2 Radicaux libres : | 5 |
| 3 Activités antioxydante | 8 |
| 3.1 Les Antioxydants | 8 |
| 3.2 Sources des antioxydants :..... | 9 |
| 3.2.1 Antioxydant naturels..... | 9 |
| 3.2.2 Antioxydants synthétiques..... | 9 |
| 3.3 Mécanismes de défenses contre les radicaux libres | 9 |
| 3.3.1 Systèmes de défenses endogènes (enzymatique et non enzymatique)..... | 9 |
| 3.3.2 Systèmes de défenses exogènes | 12 |
| 4 Activité antioxydantes des plantes médicinales | 14 |
| Chapitre 2 : Le caféier..... | 17 |
| 1 Généralités..... | 17 |
| 2 Taxonomie du caféier | 19 |
| 3 Morphologie du caféier | 20 |
| 4 Composition chimiques : | 22 |
| 4.1 Métabolites secondaires..... | 23 |
| 4.2 Métabolites secondaires des graines de café vertes..... | 23 |
| 5 Utilisation thérapeutique du caféier | 25 |
| Chapitre 3 : Les micro-ondes | 26 |
| 1 Généralité sur le fonctionnement des microondes | 26 |
| 1.1 Classification selon la vitesse d'ondes électromagnétiques | 26 |
| 1.2 Classification dans le spectre des ondes électromagnétiques..... | 26 |
| 2 Historiques..... | 27 |
| 3 Fonctionnement des microondes | 28 |
| 3.1 Interactions microondes-matières | 28 |
| 3.2 Utilisations des microondes | 30 |
| 4 Les effets nocifs potentiels du rayonnement microondes | 32 |

| | |
|---|-----------|
| Deuxième partie..... | 34 |
| Materiel et méthodes | 34 |
| 1 Materiel biologique..... | 35 |
| 2 Méthodes..... | 35 |
| 2.1 Préparations des extraits | 35 |
| 2.2 Etude de l'effet du micro-onde | 35 |
| 3 Dosage des métabolites secondaires | 36 |
| 3.1 Dosage des polyphénols totaux | 36 |
| 3.2 Dosage des flavonoïdes totaux | 36 |
| 4 L'activité antioxydante | 37 |
| 4.1 Piégeage du radicale libre DPPH | 37 |
| 4.2 Piégeage de l'ABTS | 37 |
| 4.3 Pourvoir réducteur du fer | 38 |
| 4.4 Capacité antioxydante totale | 38 |
| 5 Analyse statistiques..... | 39 |
| 5.1 L'analyse de la variance | 39 |
| Troisième partie : | 40 |
| Résultats et discussions..... | 40 |
| 1 Rendement des extraits..... | 41 |
| 2 Dosage des métabolites secondaires | 42 |
| 2.1 Dosage des polyphénols totaux | 42 |
| 2.2 Dosage des flavonoïdes totaux | 44 |
| 3 Etude de l'activité antioxydante | 45 |
| 3.1 Piégeage du radical libre DPPH | 45 |
| 3.2 Piégeage de l'ABTS | 46 |
| 3.3 Pouvoir réducteur du fer | 48 |
| 3.4 Capacité antioxydante totale | 49 |
| 4 Ensemble des résultats des différents tests (IC ₅₀ , EC ₅₀ , dosage des polyphénols totaux, dosage des flavonoïdes totaux) et de l'analyse de la variance par le test de Tukey | 50 |
| Discussion | 55 |
| Quatrième partie: | 59 |
| Conclusion et perspectives..... | 59 |
| Références bibliographiques | 62 |
| Références bibliographiques: | 63 |
| Annexes | 64 |

ملخص

الميكروويف هي موجات كهرومغناطيسية تُستخدم على نطاق واسع في مجالات متنوعة مثل الاتصالات والطب وطهي الطعام. يمكن لهذه الإشعاعات أن تؤثر على بنية ووظيفة الجزيئات النشطة بيولوجياً، لا سيما تلك التي تمتلك خصائص مضادة للأكسدة. تهدف أبحاثنا إلى دراسة تأثير الميكروويف على الجزيئات البيولوجية في بذور القهوة الخضراء من نوع *Coffea arabica* وخاصة الفلافونويدات والبوليفينولات، وكذلك على نشاطها المضاد للأكسدة.

تم تعريض ثمانية عينات من بذور القهوة *Coffea arabica* إلى تسلسلات وفترات زمنية مختلفة من التعرض للميكروويف. تم تحديد محتوى المركبات الفينولية والفلافونويدات باستخدام تقنيات الطيف الضوئي. وتم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام أربع طرق تعتمد على نقل الإلكترون الأحادي ونقل ذرة الهيدروجين (DPPH، FRAP، CAT و ABTS)

أظهرت تحاليل القدرة المضادة للأكسدة وقياسات المتابوليتات الثانوية نتائج معنوية. تم الحصول على أفضل عوائد الاستخراج باستخدام مستخلص E7 من ترشيح الماكيريشن المعالج بالميكروويف (30 ثانية / 340 واط) بنسبة 12.53٪، تليها المستخلصات E2 (الشاي بدون معالجة بالميكروويف)، E3 (مستخلص الشاي المعالج بالميكروويف (15 ثانية / 340 واط)) و E4 (مستخلص الشاي المعالج بالميكروويف (30 ثانية / 340 واط)) بنسبة 11.96٪. كان أعلى محتوى للبوليفينولات الكلية 749 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك / ميلليغرام للمستخلص (E7)، و 544.2 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك / ميلليغرام للمستخلص (E3). تم الحصول على أعلى محتوى للفلافونويدات الكلية من المستخلصات E7، E5 (المادة النباتية الجافة المعالجة بالميكروويف (15 ثانية / 340 واط) + الشاي) و E1 (الماكيريشن بدون معالجة بالميكروويف) بنسب (467.4848 ميكروغرام مكافئ كاتيشين / ميكروغرام، 455.5454 ميكروغرام مكافئ كاتيشين / ميكروغرام و 434.8333 ميكروغرام مكافئ كاتيشين / ميكروغرام) على التوالي.

أظهر مستخلص E7 أعلى نشاط مضاد للأكسدة بواسطة طرق ABTS ($IC_{50} = 0.06$ ميكروغرام / مل)، CAT (IC_{50}) = 0.26 ميكروغرام مكافئ حمض اسكوربيك / مل، و FRAP ($EC_{50} = 0.97$ ميكروغرام / مل)، بينما كان نشاط مستخلص E6 (المادة النباتية الجافة المعالجة بالميكروويف (30 ثانية / 340 واط) + الشاي) الأكثر إثارة بواسطة طريقة DPPH ($IC_{50} = 0.12$ ميكروغرام / مل).

يتطلب استخدام الميكروويف توقيتاً دقيقاً. فالتعرض القصير يعزز النشاط المضاد للأكسدة، بينما قد يؤدي التعرض الطويل إلى تدهور هذا النشاط.

الكلمات الرئيسية: *Coffea Arabica* الميكروويف، التوتر التأكسدي، النشاط المضاد للأكسدة، البوليفينولات، الفلافونويدات

Résumé

Les microondes sont des ondes électromagnétiques largement utilisées dans divers domaines tels que les communications, la médecine et la cuisson des aliments. Ces radiations peuvent affecter la structure et la fonctionnalité des molécules bioactives, notamment celles ayant des propriétés antioxydantes. Notre recherche a pour objectif l'étude de l'impact des microondes sur les molécules biologiques des graines vertes de *Coffea arabica*, en particulier les flavonoïdes et les polyphénols, ainsi que sur leur activité antioxydante.

Huit échantillons de graines de café *Coffea arabica* ont été exposés à différentes séquences et durées d'exposition aux microondes. Les teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes ont été déterminées par des techniques spectrophotométriques. L'activité antioxydante a été évaluée par quatre méthodes basées sur le transfert d'électron singulier et le transfert d'atome d'hydrogène (DPPH, FRAP, CAT et ABTS).

Les analyses du pouvoir antioxydant et des dosages en métabolites secondaires ont donné des résultats significatifs. Les meilleurs rendements d'extraction ont été obtenus avec l'extrait E7 d'une filtration de macération traité aux microondes (30s/340W) (12,53 %), suivi par les extraits E2 (infusion sans traitement aux microondes), E3 (extrait d'infusion traité aux microondes (15s /340W) et E4 (extrait d'infusion traité aux microondes (30s /340W) ; (11,96 %). Le taux le plus élevé de polyphénols totaux était 7490 µg EAG / mgE pour l'extrait (E7), et 544,2 µg EAG / mgE pour l'extrait (E3). La teneur la plus élevée en flavonoïdes totaux a été obtenue par les extraits E7, E5 (matière végétale sèche traité au microondes (15s /340W)+infusion) et E1(macération sans traitement au microondes) : (467,4848 µg EC/ µg, 455,5454 µg EC/ µg et, 434,8333 µg EC/ µg E respectivement).

L'extrait E7 a montré la meilleure activité antioxydante par les méthodes de l'ABTS ($CI_{50}=0,06$ µg/ mL), CAT ($CI_{50}=0,26$ µg EAA/mg) et FRAP ($EC_{50}=0,97$ µg/ mL), tandis que l'activité antioxydante de l'extrait E6 (matière végétale sèche traité au microondes (30s /340W)+infusion) par méthode de DPPH est la plus intéressante $CI_{50}=0,12$ µg/ mL.

L'usage des micro-ondes nécessite un timing précis. Une exposition courte améliore l'activité antioxydante, tandis qu'une durée prolongée peut conduire à une altération de cette activité.

Mots-clés : *Coffea arabica*, microondes, stress oxydatif, activité antioxydante, polyphénols, flavonoïdes,

Abstract

Microwaves are electromagnetic waves widely used in various fields such as communications, medicine and cooking food. These radiations can affect the structure and functionality of bioactive molecules, particularly those with antioxidant properties. Our research aims to study the impact of microwaves on the biological molecules of green *Coffea arabica* seeds, in particular flavonoids and polyphenols, as well as on their antioxidant activity.

Eight samples of *Coffea arabica* coffee seeds were exposed to different sequences and durations of microwave exposure. The contents of phenolic and flavonoid compounds were determined by spectrophotometric techniques. The antioxidant activity was evaluated by four methods based on singular electron transfer and hydrogen atom transfer (DPPH, FRAP, CAT and ABTS).

The analyses of antioxidant capacity and secondary metabolite assays yielded significant results. The highest extraction yields were obtained with extract E7 from maceration filtration treated with microwave (30s/340W) (12.53%), followed by extracts E2 (microwave untreated infusion), E3 (microwave-treated infusion extract (15s/340W)), and E4 (microwave-treated infusion extract (30s/340W); 11.96%). The highest total polyphenol content was 7490 µg EAG/mgE for extract E7, and 544.2 µg EAG/mgE for extract E3. The highest total flavonoid content was obtained by extracts E7, E5 (microwave-treated dry plant matter (15s/340W) + infusion), and E1 (maceration untreated by microwave): 467.4848 µg EC/µg, 455.5454 µg EC/µg, and 434.8333 µg EC/µg E respectively.

Extract E7 exhibited the best antioxidant activity by ABTS ($IC_{50} = 0.06 \mu\text{g/mL}$), CAT ($IC_{50} = 0.26 \mu\text{g EAA/mg}$), and FRAP ($EC_{50} = 0.97 \mu\text{g/mL}$) methods, while the antioxidant activity of extract E6 (microwave-treated dry plant matter (30s/340W) + infusion) by the DPPH method was most interesting with $IC_{50} = 0.12 \mu\text{g/mL}$

Using microwaves requires precise timing. A short exposure improves antioxidant activity, while a prolonged duration can lead to an alteration of this activity.

Keywords: *Coffea arabica*, microwaves, oxidative stress, antioxidant activity, polyphenols, flavonoids,

Introduction

Les microondes sont une forme de rayonnements électromagnétiques omniprésents dans notre environnement moderne. Elles sont couramment utilisées dans divers domaines, notamment les communications, la médecine et la cuisson des aliments, y compris en technologie alimentaire pour le traitement thermique des aliments. Cependant, leur impact potentiel sur les organismes vivants a suscité une attention croissante particulièrement en ce qui concerne leur effet sur la santé humaine et l'environnement (**Collin, 2007**).

Des études ont montré que l'exposition aux microondes peut induire des effets biologiques variés, dont certains peuvent être nuisibles. L'un des principaux mécanismes par lesquels les microondes peuvent causer des dommages est le stress oxydatif ou la dégradation des molécules antioxydantes (**Pall, 2016**).

Le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et la capacité de l'organisme à les neutraliser par ses systèmes antioxydants. Il est bien documenté que le stress oxydatif peut entraîner des dommages cellulaires et jouer un rôle dans diverses pathologies (**Halliwell, 2007**). Il est crucial de comprendre comment les traitements externes, comme l'exposition aux microondes, peuvent influencer les niveaux d'antioxydants et l'activité des composés bioactifs pour mieux prévenir les dommages cellulaires liés au stress oxydatif (**Daglia, 2012**).

Pour étudier l'impact des microondes, le stress oxydatif est souvent utilisé comme indicateur clé. En effet, la mesure des niveaux de stress oxydatif permet de mieux comprendre les effets des microondes sur les systèmes biologiques (**Zhang, et al. 2020**). Ce cadre théorique est essentiel pour explorer les effets spécifiques des microondes sur les organismes vivants, en particulier en termes de perturbation de l'équilibre redox cellulaire.

L'étude des effets des microondes sur les plantes, et plus particulièrement sur le caféier (*Coffea arabica*), offre une voie prometteuse pour approfondir cette recherche. Le caféier, spécifiquement l'espèce *Coffea arabica*, est reconnue pour ses propriétés antioxydantes en raison de sa richesse en composés phénoliques, flavonoïdes, alcaloïdes, vitamines et minéraux. Ces composés sont non seulement bénéfiques pour la santé humaine, mais jouent également un rôle crucial dans la protection de la plante contre divers stress environnementaux (**Bhupathiraju et al, 2012**).

L'objectif de ce travail est la recherche des effets des microondes sur l'activité antioxydante des graines de café de l'espèce *Coffea arabica*, connus par ces propriétés antioxydantes diverses à travers :

Premiere partie: Synthèse bibliographique

- Différents traitements aux microondes sur des extractions aqueuses
- Evaluation de l'activité antioxydante à l'aide de plusieurs méthodes impliquant le transfert d'atome d'hydrogène et le transfert d'électron unique.
- Le dosage quantitatif des molécules bioactives de graine verte de café *C.arabica*.

Premiere partie

Synthèse bibliographique

Chapitre 1: Stress oxydatif et activité antioxydante

1 Stress oxydatif

Depuis déjà plusieurs années, il y a un concept universel dans le monde des scientifiques et chercheurs qui ne cesse de faire son apparition sur plusieurs domaines scientifiques et de recherches, qui est celui du « stress oxydant », indiquant ainsi la situation d'une cellule incapable de contrôler l'excès de présences de radicaux oxygénés toxiques.

Dans des situations normales d'un organisme, de faibles quantités de radicaux libres sont constamment produites et régulées par des systèmes de défense adaptatifs. Cet équilibre entre les antioxydants et les pro-oxydants est donc maintenu. Cependant, un déséquilibre entre ces derniers peut entraîner un "stress oxydant". (Favier, 2003).

En présence de l'oxygène dans l'organisme, les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont formées, déclenchant ainsi la formation des radicaux libres. L'augmentation excessive de ces radicaux libres provoque donc le stress oxydatif (Sivanandham, 2011)

L'organisme devient donc incapable de se défendre contre les agressions des espèces réactives de l'oxygène (ERO) comme conséquence à un déséquilibre entre la production de ces substances et le degré de défenses des antioxydants ((Beaudeau *et al*, 2006 ; Kœchlin, 2006).

1.1 Définitions des espèces réactives de l'oxygène

L'oxygène représentant 21% de l'atmosphère, est essentiel pour l'organisme aérobie qui l'utilise pour oxyder les substrats riches en carbone et hydrogène. Ce processus produit des intermédiaires radicalaires très réactifs appelés espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces ERO incluent des radicaux comme l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et le radical hydroxyle ($\cdot OH$), ainsi que des espèces non radicalaire comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'oxygène singulet (1O_2) (Moller, 2001).

2 Radicaux libres :

On caractérise un radical libre par une espèce chimique qui contient un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe (Gueye, 2007), ce qui fait qu'elle possède le caractère de grande réactivité chimique (Dacosta, 2003).

Ils sont donc des espèces très instables qui réagissent avec d'autres molécules plus stables en leur arrachant un électron (se comporter comme un oxydant) , ou bien en leur cédant un

(agissant comme un réducteur) les transformant à leurs tour en espèces radicalaires tel le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et l'oxygène singulet (¹O₂) (Pincemail, 2003), qui sont appelés également espèces actives de l'oxygène, qui peuvent être des précurseurs des radicaux libres avec le nitroperoxyde (ONOO·) (Yoshikiwa *et al*, 2000; Helliwell et Whiteman, 2004).

La présence d'un électron célibataire confère au radicaux libres une grande réactivité qui varie en fonction de la nature du radical tels que le radical hydroxyle (·OH), l'anion superoxyde (O₂^{·-}) et l'oxyde nitrique (NO·). Ils peuvent donc être aussi bien des espèces oxydantes que réductrices. Ceci dit, leur mise en évidence au niveau des différents milieux biologiques est par conséquent difficile, principalement à cause de leur instabilité chimique (Bonfont-Rousselot *et al*, 2003) (Tableau 1).

Tableau 1: Espèces réactives de l'oxygène radicalaires et non radicalaires (Halliwell, 2006)

| ERO (radicalaire) A | Formule chimique |
|------------------------------|-------------------------------|
| Oxygène moléculaire | ³ O ₂ |
| Dioxygène singulet | ¹ O ₂ |
| Anion superoxyde | O ₂ ^{·-} |
| Radical hydroxyle | ·OH |
| Radical peroxyde | ROO· |
| Radical alkoxyde | RO· |
| Radical oxyde nitrique | NO· |
| Peroxinitrite | ONOO· |
| ERO (non radicalaire) | Formule chimique |
| Hydroperoxyde | ROOH |
| Hypochlorite | ClOH |
| Ozone | O ₃ |
| Peroxyde d'hydrogène | H ₂ O ₂ |

Les radicaux libres sont caractérisés par deux types de productions :

- **Une production exogène :**

La naissance des espèces réactives de l'oxygène est causée par l'effet de plusieurs facteurs dont l'organisme est exposé , tel que la pollution , la fumé en général et celle de la cigarette , la consommation d'alcool , les rayonnement ultraviolets , les radiations ionisantes (gamma , X)

, également certains médicaments tels que les anthracycline et l'oxyde d'azote toxique ($\text{NO}\cdot$), tout cela contribue à la production de ces radicaux libres [(Afonso et al., 2007); (Loïn, 2008); (Favier, 2003)].

- **Une production endogène :**

Sur un organisme vivant, dans les cellules aérobies, la chaîne respiratoire est essentielle pour le transport d'électrons et la production de l'énergie par la respiration oxydative. La dernière étape de cette chaîne respiratoire mitochondriale aboutit à la synthèse de l'eau à partir de l'oxygène. Cependant une réduction incomplète de l'oxygène peut survenir pour 1 à 2% de l'oxygène moléculaire entraînant la production de radicaux libres oxygénés dont la principale est l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$). Une grande partie de cet anion est convertie en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) grâce à l'enzyme superoxyde dismutase (Milane, 2004).

Le peroxyde d'hydrogène peut à son tour se décomposer par la réaction de Fenton en présence de cuivre cuivreux ou de fer ferreux, générant ainsi une espèce hautement réactive et de courte durée de vie qui est le radical hydroxyle ($\cdot\text{OH}$)

La chaîne de production de ces différentes espèces réactives de l'oxygène est décrite dans la figure suivante (Figure 1) :

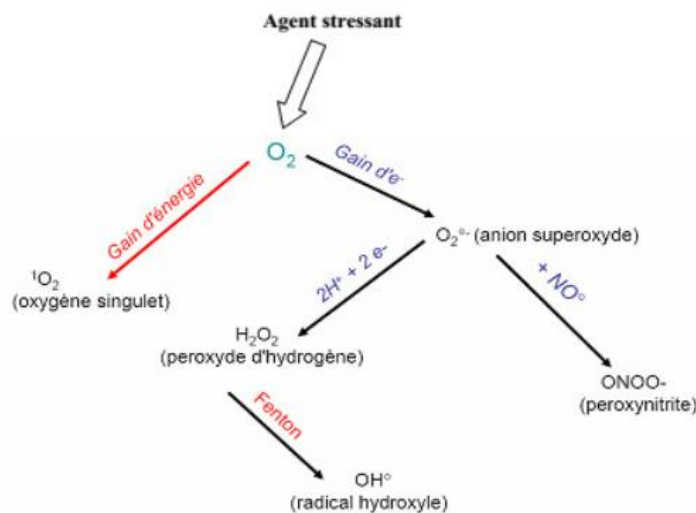


Figure 1: Les différentes espèces réactives de l'oxygène (Nzengue, 2008).

La présence des radicaux libre en excès dans l'organisme qui induit un stress oxydatif est à l'origine de plusieurs modifications au niveau de l'ADN génomique (Koechlin-Ramonatxo, 2006), mais aussi de l'apparition de plusieurs pathologies tels que le diabète, les maladies cardiovasculaires, neuro-dégénératives et le cancer (Pincemail et al, 2007).

L'électron non appariés des radicaux libres, attaquent la structure de certaines enzymes cellulaires et protéines de transport porteuses d'un groupement sulfhydryle, et par conséquence la protéine est alors dénaturée ou fragmentée (**Lacolley et al, 2007**).

La présence excessive des radicaux libres est responsable également de lésions secondaires dues aux caractères cytotoxiques et mutagène des métabolites libérés lors de l'oxydation des lipides (**Favier, 2003; Klaunig et al, 2010**).

Le stress oxydant à également des conséquences biologiques qui sont extrêmement variables selon le type de la cellule soit en augmentant la prolifération cellulaire, l'apoptose ou la nécrose. D'autres anomalies biologiques peuvent être provoquées tels que les mutations, la carcinogénèse et la mal formation des fœtus (**Favier, 2003 ; Helliwell et Gutteridge, 2007**).

C'est aussi avec l'âge qu'apparaissent la plupart des maladies induites par le stress oxydant, car le vieillissement est accompagné d'une diminution des défenses antioxydants et une augmentation de la production des radicaux libres mitochondriaux (**Sohal et al,2002**)

Le stress oxydant est également un facteur qui potentialise l'apparition de maladie multifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2006**).

3 Activités antioxydante

3.1 Les Antioxydants

Les radicaux libres sont naturellement présents dans un organisme vivant, vue leurs productions continue et spontanée par l'organisme lui-même. Les antioxydants à leurs tours sont des composée nécessaires pour le maintien d'un niveau non cytotoxique d'ERO en captant ces derniers, les éliminer ou bien en remplaçant les molécules altérées. C'est dont le déséquilibre ou le dysfonctionnement de ces systèmes antioxydants qui provoques des pathologies au niveau des tissus (**Garait, 2006**).

Depuis plusieurs années, les antioxydants one étés sujets d'intérêt et de recherches scientifiques dans plusieurs spécialités et domaines, puisqu'ils représentent des propriétés thérapeutiques. Plusieurs méthodes ont été développées, notamment pour leur extractions, identifications mais aussi leur quantification à partir de composés naturelles comme les plantes médicinales ou bien les produits agroalimentaires [(**Sanchez-Moreno, 2002**) ; (**Marc et al, 2004**) ; (**Huang et al, 2005**).

Les antioxydants sont un ensemble de molécules chimiques avec un potentiel protecteur des systèmes biologiques contre les effets néfastes du stress oxydants (**Helliwell et Whiteman, 2004**). Ils ont comme fonction l'inhibition directe de la production des ERO, la limitation de leur propagation ou leur destruction totale, pour obtenir des molécules plus stables (**Pincemail, 1999**).

3.2 Sources des antioxydants :

Les antioxydants peuvent être présents dans plusieurs sources différentes. On retrouve les antioxydants exogènes généralement dans des apports alimentaire (Vitamines, sels minéraux, flavonoïdes... etc.), ou bien les antioxydants endogènes, produits directement par l'organisme (Protéines, enzymes, acides uriques ... etc.) (**Jolivel, 2013**).

3.2.1 Antioxydant naturels

Ce sont essentiellement les micronutriments, par leurs mécanismes directs sur l'organisme ou bien à travers les enzymes qui en dépendent (**Zazzo, 2002**).

Ils sont classés en 3 groupes ; les vitamines, les composéé phénoliques et certains oligo-éléments.

3.2.2 Antioxydants synthétiques

- **Les médicaments**

Ce sont des constituants riches en antioxydants. Parmi les classes thérapeutiques qui ont été étudiées pour leurs teneurs en propriétés antioxydants, on retrouve les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les antihypertenseurs (**Yvan, 1997**).

- **Les gallates**

Les esters de l'acide gallique, dont les gallates de propyle (E310) sont les plus courants, appartiennent à la famille des gallates. Ces substances dérivent de l'acide gallique.

- **Butyl Hydroxy Toluene (BHT) et Butyl Hydroxy Anisole (BHA)**

Ils se distinguent comme étant parmi les antioxydants les plus performants pour inhiber l'oxydation des lipides, tout en présentant un cout modéré (**Yu et al, 2000**).

3.3 Mécanismes de défenses contre les radicaux libres

Bien qu'il soit souvent confronté à la présence de radicaux libres, notre organisme est bien capable de réagir contre leurs effets néfastes, par le biais de deux systèmes de défenses :

3.3.1 Systèmes de défenses endogènes (enzymatique et non enzymatique)

a. Systèmes de défenses enzymatiques :

Les enzymes endogènes, existants dans l'organisme, ont comme rôle de protéger les cellules des attaques des radicaux libres qui sont physiologiquement présents dans un métabolisme cellulaire,

Un système complexe et étroitement régulé d'enzymes antioxydants est présent dans divers compartiments cellulaires, assurant le maintien d'un niveau d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) viable pour l'organisme.

Les principales enzymes antioxydants sont représentées dans le tableau 2 :

Tableau 2 : Enzymes antioxydantes

| Enzymes antioxydants | Cible | Produit final | Localisation | Références |
|--|------------------|----------------|---|---|
| Superoxyde dismutase (SOD) | $O_2^{\bullet-}$ | H_2O_2 | Chloroplastes, mitochondries, peroxysomes, apoplaste, cytosol | Bowler <i>et al</i> , (1994) Arora <i>et al</i> , (2002) |
| Catalases (CAT) | H_2O_2 | H_2O | Peroxysomes, cytosol | Halliwell (2006) Pitzschke <i>et al</i> , (2006) |
| Ascorbate peroxydases (APX) | H_2O_2 | H_2O | Chloroplastes, mitochondrie, peroxysomes, apoplaste, cytosol | Raven <i>et al</i> , (2004) Asada (2006) |
| Gaïacol peroxydase (GPOX) | H_2O_2 | H_2O | Parois, mitochondrie, cytosol, vacuoles | El Mansouri <i>et al</i> , (1999) Quiroga <i>et al</i> , (2000) |
| Glutathion peroxydases (GPx) | H_2O_2 , ROOH | H_2O_2 , ROH | Cytosol, chloroplastes, mitochondrie, apoplaste, peroxysomes | Milla <i>et al</i> , (2003) |
| Glutathion réductases (GR) | H_2O_2 | H_2O_2 | Cytosol, mitochondrie, stroma, peroxysome | Mittler <i>et al</i> , (2004) Mishra <i>et al</i> , (2006) |
| Monodéhydroascorbate réductase (MDHAR) | MDA | Ascorbate | Stroma des plastes | Mittler <i>et al</i> , (2004) |
| Déhydroascorbate réductase (DHAR) | DHA | Ascorbate | Cytosol, Plaste | Mittler <i>et al</i> , (2004) |

Ces enzymes interviennent de manière synergique dans une série de réactions en chaîne impliquant le superoxyde et le peroxyde d'hydrogène, aboutissant finalement à la formation d'eau et de dioxygène moléculaire (**Lehucher *et al*, 2001**).

b. Systèmes de défenses non enzymatiques :

Il se compose d'autres molécules naturelles de l'organisme :

- **Le glutathion (GSH) :**

Un tripeptide (Glutamate-Cystéine-Glycine) qui neutralise les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sous l'action de la glutathion peroxydase (Gpx), formant du glutathion oxydé (GSSG). C'est la fonction thiol (SH) de la cystéine qui est responsable de capter les radicaux libres, principalement le radical hydroxyle ($\cdot\text{OH}$) (Helliwell et Gutteridge, 2007).

- **L'acide urique**

C'est un antioxydant qui agit contre le ($\cdot\text{OH}$), ayant le rôle de chélateurs de métaux de transitions (fer et cuivre), et par conséquent il permet l'inhibition de la réaction de Fenton (Nakazawa et al,1996). L'acide urique est considéré comme l'un des antioxydants les plus puissants présents dans le plasma, contribuant à 35-60% de sa capacité antioxydante totale (Johnson et al,2009).

3.3.2 Systèmes de défenses exogènes

Ces composés ne sont pas synthétisés naturellement par l'organisme, leur apport est donc extérieur par l'alimentation. Parmi les antioxydants exogènes on retrouve l'ascorbate (vitamine C), les tocophérols, les caroténoïdes, et les polyphénols de certains fruits et légumes (persil, oignon, cerises,), ces derniers ont des effets protecteur important *in vivo* [(Van Acker et al,1996) ; (Gardès et al, 2003) ; (Helliwell et Gutteridge, 2007)].

- **L'acide ascorbique (Vitamine C)**

Est reconnue comme l'antioxydant le plus crucial dans les liquides extracellulaires. Elle agit efficacement en neutralisant les ions superoxydes, le peroxyde d'hydrogène, l'hypochlorite, les radicaux hydroxyles et peroxydes, ainsi que l'oxygène singulet. Son mécanisme antioxydant repose sur sa capacité à réagir avec les radicaux peroxydes aqueux, formant le radical ascorbyle. En capturant ces radicaux avant qu'ils n'initient la peroxydation lipidique, la vitamine C protège les biomembranes et les lipoprotéines. (Delattre et al, 2005).

- **le Tocophérol (La vitamine E)**

Constituée des tocophérols α , β , σ , γ , parmi lesquels les isomères α - et γ -tocophérols sont biologiquement importants. Leur nature hydrophobe leur permet de se loger dans les membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils agissent comme des protecteurs en réagissant avec les radicaux peroxydes pour former un radical tocophéryle, empêchant alors la propagation de la peroxydation lipidique (**Haleng et al, 2007**).

- **Les caroténoïdes**

Un autre antioxydant, dont le β -carotène est le précurseur, neutralisent les molécules d'oxygène singulet générées par les rayonnements solaires. Leurs longues chaînes carbonées riches en doubles liaisons les rendent également efficaces dans la capture des radicaux peroxydes. Une seule molécule de caroténoïde peut piéger beaucoup d'espèces radicalaires avant d'être éliminée (**Stahl et Sies, 1997**).

- **D'autres antioxydants**

Les flavonoïdes, des polyphénols abondamment présents dans le règne végétal, jouent plusieurs rôles essentiels tels que des antioxydants, des agents antimicrobiens, des photorécepteurs, des attracteurs visuels et des répulsifs. Leur potentiel antioxydant a été largement étudié in vitro, mais leur efficacité in vivo reste moins documentée en raison de la méconnaissance de leur absorption chez l'homme. La plupart des flavonoïdes ingérés sont dégradés en acides phénoliques, certains conservant néanmoins leur activité anti-radicalaire (**Avila-Villarreal et al, 2013**).

Les xanthones, des composés polyphénoliques, présentent des effets antimicrobiens, anticancéreux en inhibant la topoisomérase II cytotoxique qui inhibe la mono-amino-oxydase. Ils sont également reconnus pour leurs propriétés antioxydantes. Des études ont démontré leur capacité à inhiber la peroxydation des lipides et à piéger efficacement les radicaux libres, notamment les anions superoxydes (**Anderson et al, 1996**).

Les tannins sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, agissant par la capture des radicaux libres et l'inactivation des ions pro-oxydants (**Lim et al, 2007**).

En outre, des propriétés antioxydantes sont également associées à divers acides aminés tels que la méthionine, la taurine, la glutamine et la N-acétylcystéine, ainsi qu'à des nutriments comme la vitamine B6 et le coenzyme Q10.

Les protéines telles que la ferritine, l'albumine et la bilirubine sont également impliquées dans ces processus protecteurs contre l'oxydation.

4 Activité antioxydantes des plantes médicinales

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est étroitement liée au développement des sociétés à travers les âges. Dans toutes les régions du monde, ces plantes ont joué un rôle essentiel dans la médecine, la parfumerie et la cuisine (**Janssen et al, 1987**) avec une reconnaissance ancienne de leurs propriétés antimicrobiennes, mais ce n'est qu'au début du 20^{ème} siècle que ces propriétés avaient touchés l'esprit curieux des scientifiques et chercheurs (**Benayad, 2008**).

L'intérêt pour l'utilisation médicinale des plantes connaît actuellement une résurgence, surtout dans les pays occidentaux où la phytothérapie est de plus en plus considérée comme une méthode de prévention des maladies, avant d'être un moyen curatif (**Bruneton, 1987**).

En Afrique, cette tendance est en partie due à l'inaccessibilité et aux coûts élevés des soins de santé modernes, ainsi qu'à la confiance persistante dans la médecine traditionnelle, largement utilisée pour les soins de santé primaires selon l'Organisation mondiale de la santé. (**OMS, 2002**).

En Algérie, un pays doté d'une biodiversité florale exceptionnelle, la médecine traditionnelle conserve sa pertinence, même si elle ne s'aligne pas nécessairement avec la phytothérapie moderne (**Ferhat et al, 2010**). Actuellement, les plantes ont démontré leur efficacité thérapeutique avérée et leurs bienfaits indéniables pour la santé. (**Newman et al, 2000**).

Les plantes médicinales, constituées de substances végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, ont depuis longtemps joué un rôle crucial pour l'humanité. Elles ont la capacité de synthétiser de nombreuses molécules organiques complexes, souvent dotées d'activités biologiques potentielles. En plus de leurs applications médicinales, ces plantes peuvent également être utilisées à des fins alimentaires, condimentaires ou hygiéniques (**Debuigne G, 1974**).

L'industrie pharmaceutique a de plus en plus recours aux plantes au cours de ces dernières années. Il est actuellement difficile de vivre dans un monde sans la quinine, dérivée du genre *Cinchona*, utilisée pour traiter la malaria, sans la dioxine du genre *Digitalis*, bénéfique pour le cœur, ou encore sans l'éphédrine du genre *Ephedra*, présente dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes (**Iserin, 2001**).

Ces plantes représentent une source immense de composés potentiels, attribuables aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structures chimiques et possèdent un large éventail d'activités biologiques (Seidel, 2005).

Les métabolites secondaires ou principes actifs, sont des molécules issues des métabolites des végétaux, classés en trois grandes catégories chimiques : les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpénoïdes (Badiaga, 2011). Bien que non directement essentielles à la vie des plantes, ces molécules jouent un rôle crucial dans leur survie. Ils sont présents dans toutes les parties des plantes, réparties en fonction de leurs rôles défensives, ce qui diffère d'une plante à une autre (Merghem, 2009).

Les composés phénoliques sont de plus en plus considérés comme des agents prometteurs dans la prévention et le traitement des maladies liées au stress oxydatif. Leur potentiel bénéfique a été largement étudié au cours des dernières décennies, révélant diverses bioactivités, notamment leurs propriétés antioxydantes et divers effets biologiques tels que leur action antidiabétique, anticancéreuse, anti-inflammatoire, cardio-protectrice, antivirale, antiasthmatique, antiseptique, hépato-protectrice, antifongique, antibactérienne et antivirale (Figure 2) (Kumar Pandey, 2013).

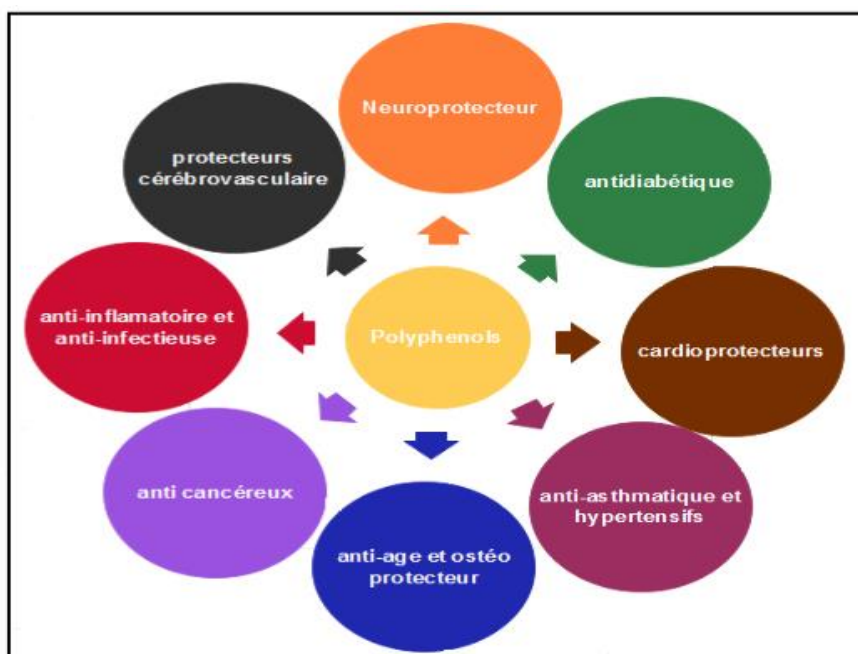


Figure 2 : Propriétés biologiques des polyphénols (Kumar et Pandey, 2013).

La nature de la chaîne substituée du cycle benzénique des polyphénols confère à la fonction phénol une acidité plus prononcée que les groupes alcooliques, facilitant ainsi la libération d'un

proton H^+ pour former l'ion phénoxy. Cette caractéristique chimique confère aux composés phénoliques leur capacité antioxydante. En réagissant avec les radicaux libres, ils stabilisent les lipides sous forme d'hydroperoxydes ROOH, empêchant ainsi la propagation des réactions d'oxydation. **(Fidelis, 2001).**

Les composés phénoliques, grâce à leur capacité antioxydante, exercent un rôle important que ce soit en tant que composants de l'alimentation, ingrédients médicamenteux ou additives dans l'industrie agroalimentaire. De plus, ils agissent également dans les plantes pour neutraliser les radicaux libres induits par le stress. Par exemple, les flavonoïdes contribuent à réguler l'état d'oxydation dans les mitochondries et influencent l'expression des gènes codant pour certaines superoxyde-dismutases mitochondriales, enzymes protectrices qui dégradent les anions superoxydes. **(Macheix et al, 2005)**

Les polyphénols expriment principalement leurs propriétés antioxydantes de plusieurs manières :

- Ils piègent directement les espèces réactives de l'oxygène (ERO) en stabilisant ces dernières par le transfert d'électrons ou de protons du polyphénol vers les ERO. **(SHERWIN, 1976).**
- Ils inhibent la formation des ERO en supprimant certaines enzymes ou en chélatant les ions métalliques nécessaires à leur production. Les interactions entre les polyphénols et les protéines, ainsi que leur capacité à chélater les métaux, sont des mécanismes impliqués dans cette inhibition. **(Sandhar et al, 2011).**
- Ils protègent les systèmes de défense antioxydants de l'organisme en piégeant les radicaux libres et en activant d'autres antioxydants présents dans le corps. Cette activité antioxydante contribue également à une meilleure circulation sanguine, à la coordination du système immunitaire et à la modulation de la communication cellulaire. **(El Haci, 2015).**
- Ils fournissent des atomes d'hydrogène disponibles dans leurs groupes phénoliques pour former des composés stables, favorisant ainsi la formation de complexes stables avec le fer et réduisant le Fe^{+3} en Fe^{+2} . **(Sandhar et al, 2011).**

En résumé, les polyphénols agissent par piégeage direct, inhibition de la formation des ERO, protection des systèmes antioxydants, et réduction des oxydants, exprimant ainsi leur potentiel antioxydant et leurs multiples bienfaits pour la santé.

Chapitre 2 : Le caféier

1 Généralités

Les *Rubiaceae*, est une famille de végétaux, appartenant à la classe des Angiosperme, qui se composent généralement de 13 000-14 000 espèces pour environ 670 genres d'arbustes ou arbres et qui sont réparti géographiquement dans les zones tropicales du globe.

C'est une famille composée de trois grand groupes essentiels ; les Cinchonoideae, les Rubioideae et les Ixoroideae. Parmi les genres essentiels de ce dernier groupe nous citons le genre *Coffea* et *Gardenia*. (Mouly, 2008).

Le genre *Coffea* regroupe environ 125 espèces dont *Coffea arabica* (Arabica) et *Coffea canephora* (Robusta) qui figurent parmi les espèces les plus connues et consommées, dominant ainsi la production de café et représentant respectivement environ 70 % et 30 % (Lashermes et al,2008).

Ces espèces sont des variétés importantes qui dérivent d'une des plantes la plus commercialisée de la famille des *Rubiaceae* : le caféier (Figure 3) :



Figure 3 : Le caféier (Bouden, 2019).

Cultivé dans environ 85 pays tropicaux et subtropicaux, la culture du caféier est une activité majeure dans de nombreux pays à travers le monde, couvrant une superficie totale de 10 millions d'hectares qui est répartie principalement en Amérique du Sud, avec 42% de la surface totale, notamment au Brésil, en Colombie et au Venezuela. En Amérique centrale, environ 14% de la superficie est dédiée à la culture du café, pour le Mexique, le Guatemala et la République dominicaine. En Afrique, elle occupe environ 34% de la superficie, comprenant la Côte d'Ivoire,

l'Éthiopie et l'Ouganda, tandis que le reste est réparti entre le Vietnam, l'Inde et les Philippines. Le Brésil se distingue en tant que premier pays exportateur de café, suivi du Vietnam et de la Colombie, selon les données de l'Organisation internationale du café de 2010. **(ICO, 2010)**.

À l'origine, le caféier est natif du Yémen et de la province éthiopienne de Kaffa, où le terme "café" aurait pris naissance. Ce mot dérive de "kahwah" en arabe, désignant une boisson fermentée préparée à partir de feuilles de café, de miel et d'eau. Par la suite, cette plante a été introduite dans d'autres régions telles que l'Inde et l'Indonésie **(Bouhenniche, 2018)**

Pendant les 18^e et 19^e siècles, seule l'espèce *Coffea arabica* était cultivée. Cependant, cette variété s'est avérée très vulnérable aux parasites, en particulier à la rouille orangée. Pour pallier ce problème, d'autres espèces de café, telles que *Coffea canephora* ont été naturellement cultivées localement en Afrique au cours du 19^e siècle. **(Dussert et al, 2003)**.

La production commerciale de café repose principalement ces deux espèces : le *Coffea arabica* (Liné) et le *Coffea canephora* (Pierre).

Le *C. arabica* est largement considéré comme l'espèce la plus importante en raison de sa qualité supérieure, caractérisée par une faible teneur en caféine et un arôme raffiné, représentant 65 % de la production mondiale **(Thomas, 1942; Anthony et al, 1987)**.

Cette espèce prospère dans des environnements caractérisés par des altitudes allant de 1000 à 2000 mètres, des précipitations annuelles situées entre 1 200 et 1 800 mm, ainsi que des températures oscillant entre 18 et 21 °C **(Alègre, 1959)**.

Cette variété de café représente plus de 60 % de la production mondiale de graines de café (Le *C. arabica*) **(Figure 4)**. Elle est largement cultivée en Afrique, en Asie et principalement en Amérique. Parmi ses principales variétés figurent le bourbon, le typica, le maragogype et le moka **(Clifford et Willson, 1985 ; Lambard, 2003 ; Jeszka-Skowron et al, 2016)**.

La plante du caféier, donne naissance à des graines de café vertes qui proviennent de la cerise du café (fruit du caféier).



Figure 4 : Graines de café verte de *C.Arabica* (Boudjellal et Mellouk, 2018).

De nos jours, le café est l'une des boissons la plus consommée au monde. De plus, la production de grains de café progresse chaque année passant de 6,8 Mt par an en 2000 à près de 10Mt par an en 2021 (Torga et Spers, 2020).

La plupart des mélanges de café disponibles dans le commerce sont en réalité des combinaisons d'arabica et de robusta. Ces deux types de café présentent des différences notables non seulement dans leurs caractéristiques botaniques, chimiques et gustatives, mais également dans leur valeur commerciale ; l'arabica, en particulier, est plus coûteux en raison de sa qualité supérieure (Lim, 2013).

2 Taxonomie du caféier

450 genres et 6500 espèces dérivent du caféier, appartenant à la famille des Rubiacées (Patay et al, 2016b). Sa classification botanique est comme suit (Anthony et al, 2010) :

Domaine : *Eukaryota*
Règne : *Plantae*
Sous règne : *Tracheobionta*
Division : *Magnoliophyta*
Classe : *Magnoliopsida*
Sous classe : *Asteridae*
Ordre : *Rubiales*
Famille : *Rubiaceae*
Genre : *Coffea*

3 Morphologie du caféier

Le caféier, un arbuste ligneux tropical, atteint généralement une hauteur de 3 à 12 m à l'état sauvage sans être taillé (Clay 2004 ; Mengistu 2007).

Le système racinaire du caféier est principalement concentré dans les 60 premiers centimètres de la couche de sol, bien qu'il puisse s'étendre jusqu'à 3 m de profondeur (Rena et DaMatta 2002). Presque toutes les espèces de caféiers ont des feuilles persistantes, qui restent sur la plante après la maturité ou la période de croissance. (Vieira 2008). Les caféiers ont généralement un seul tronc principal, mais peuvent également être cultivés en utilisant un système de troncs multiples (Kimani et al, 2002).

En agriculture, les deux espèces *C. canephora* et *C. arabica* sont maintenues à des hauteurs gérables, généralement inférieures à 2 à 3 mètres, avec une ou plusieurs tiges. La croissance du caféier se caractérise par une forme dimorphique : les tiges principales, ou axes orthotropes, poussent verticalement, tandis que les branches, ou axes plagiotropes, s'étendent horizontalement.

Les feuilles d'un vert foncé, se disposent en opposition deux par deux le long de la tige, présentant une surface supérieure brillante, allongée et effilée, mesurant de 7 à 20 cm de long et 2,5 à 6,5 cm de large chez *Coffea arabica* (Figure 5) (Coltro et al,2006 ; Murthy et Naidu, 2012 ; Lim, 2013).



Figure 5: Feuilles de *C.arabica* (Lim, 2013).

La multiplication horticole de la plante est relativement aisée. Elle peut fleurir une ou deux fois par an suivant la région où elle est cultivée, généralement entre janvier et avril après une période de stress hydrique suivie d'une pluie d'au moins 10 mm, pour donner des fleurs à courts pédoncules qui sont dotées d'un calice rudimentaire à cinq pétales, d'une corolle blanche et d'anthères relativement courtes (Cheney 1925; Free, 1993 ; Vieira 2008). (Figure 6)



Figure 6 : Fleur du caféier (Lim, 2013).

Le caféier est une plante à jours courts (Masarirambi et al, 2009), nécessitant une période d'obscurité pour initier la floraison (Glimn-Lacy et al, 2006).

A la fin de la période de floraison, les fruits parviennent à maturité en 7 à 9 mois pour le *C. arabica* et en 9 à 11 mois pour le *C. canephora*, selon la variété et les conditions environnementales. Cela donne naissance à une cerise de forme ovoïde au stade mature. Elles peuvent être de couleurs verte, rouge ou jaune suivant le stade de maturité et la variété en question (Eira et al, 2006), (Figure 7) :



Figure 7 : Caféier et cerise (fruit) de *C. arabica* (Benbabouche, 2013).

Les graines de café provenant des cerises de caféier (**Figure 8**) ne conservent pas leur viabilité de manière classique lorsqu'elles sont déshydratées ou stockées à basse température. La viabilité des graines de *C. arabica* diminue rapidement après 4 à 6 mois à température ambiante. Toutefois, un stockage à court terme (jusqu'à 3 ans) est envisageable dans des conditions de conservation appropriées et contrôlées (**Eira et al, 2006**).

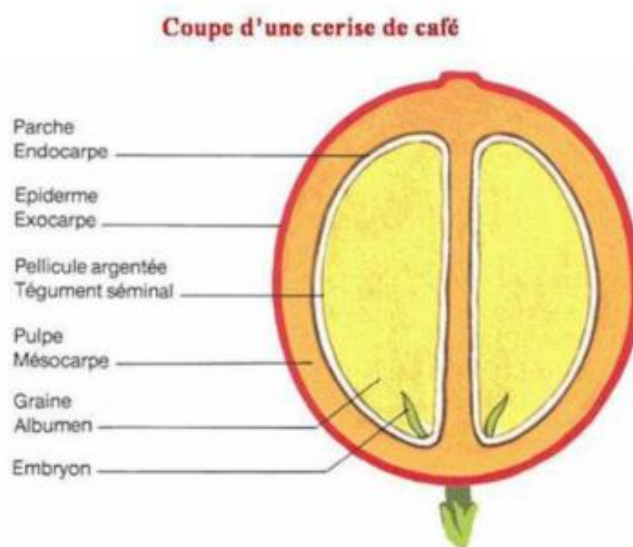


Figure 8: Coupe d'une cerise de café (fruit) (Benbabouche, 2013).

4 Composition chimiques :

La composition chimique du caféier et de ses extraits fait objets d'étude et d'intérêt de plusieurs chercheurs à travers le monde durant cette dernière année (**Tantin, 2016**).

Le café renferme une diversité de composés bioactifs, dont la composition peut varier significativement (**Bouhenniche, 2018**).

Parmi ces compositions on cite :

- L'eau : d'une proportion qui varie selon l'échantillon, a un rôle crucial dans la conservation. (**Christèle, 2006**).
- La caféine : le composé bioactif principal du café, c'est un alcaloïde qui agit comme stimulant métabolique et a aussi le rôle d'insecticide naturel des graines (**Fredholm et al, 1999**).
- Les acides : les graines de café ont le caractère acides, grâce à la diversité des types d'acides qu'elles en contiennent (aliphatiques, chlorogéniques, alicycliques et phénoliques), ceci dit leur pH moyen est de 5,5 (**Mouhammedi, 2016 ; Bouhenniche 2018**).

- Les glucides : composés de quantité variables de glucides solubles (monosaccharides, oligosaccharides et polysaccharides) et de glucides insolubles retrouvés dans les parois végétales (hémicellulose, helocellulose) **(Bouhenniche 2018)**.
- Les lipides : on retrouve les triglycérides, les acides gras libres, les esters de diterpènes, les diterpènes libres, les triterpènes, les stérols **(Mouhammedi, 2016)**
- Les vitamines : essentiellement les vitamines de type B ; B1 (thianine), B2 (riboflavine), B3 (acide nicotinique), B5 (acide pantothénique) et B12 (cyanocobalamine), avec la vitamine C également (acide ascorbique) **(Benmeddour, 2020) ; (Azzizi, 2017)**.
- Les fibres : ont un rôle primaire dans la viscosité du café, c'est un groupe de polysaccharides a un poids moléculaire supérieur composé de la cellulose, L'arabinogalactane et le galactomannanes. **(Bouhenniche 2018)**.
- Les minéraux : potassium, le magnésium, le calcium, le sodium, le fer **(Affonso et al, 2016)**.

4.1 Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des composés à structure chimiques très complexe et diversifiée. Ils sont donc classés selon cette structure chimique en trois principales classes : les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpènes **(Pasdeloup, 2018)**.

Dans cette partie, nous citerons seulement les métabolites secondaires possédant une activité antioxydante, notamment les composés phénoliques : les acides phénoliques et les flavonoïdes.

4.2 Métabolites secondaires des graines de café vertes

Les acides chlorogéniques, la caféine, la trigonelline, les fibres solubles et les diterpènes de la fraction lipidique, sont parmi les métabolites secondaires les plus importants, présents dans le café vert. Ce sont les composés les plus susceptibles d'avoir des effets bioactifs. De plus, ils peuvent jouer un rôle significatif dans le développement de l'arôme de la boisson une fois qu'elle a été torréfiée **(Farah, 2012)**.

Parmi les composés phénoliques les plus importants retrouvés dans les graines de café vertes on cite :

a. Les acides chlorogéniques

Ce sont parmi les composés les plus importants des composés phénoliques, qui dérivent de l'estérification des acides trans-cinnamiques (caféique, férulique et p-coumarique) avec l'acide quinique.

Les sous-classes des acides caféoylquiniques, acides dicaffeoylquiniques, acides feruloylquiniques et en petites fractions, les acides p-coumaroylquiniques et les acides caféoyl-feruloylquiniques ; sont les principales qui dérivent de l'acide chlorogénique dans le café vert. Environ 80 % de la quantité totale d'acides chlorogéniques se compose d'acides caféoylquiniques parmi ces catégories. (Clifford et al, 2003) ; (Farah et al, 2005). Les acides chlorogéniques, peuvent apporter de l'astringence, de l'amertume et de l'acidité au café. Cependant, des niveaux élevés de certains de ces acides, tels que les acides caféoylquinique et feruloylquinique, peuvent conduire à une saveur désagréable, en raison de l'oxydation et de la formation de produits de dégradation avant la torréfaction (Farah et al, 2006). Ces acides chlorogéniques peuvent également servir de précurseurs à d'autres composés (phénols et cathécolds) pendant la torréfaction, ces acides peuvent engendrer des arômes désagréables qui impactent négativement les sensations gustatives du café (Trugo, 2003).

b. Les lignanes

C'est un composé phénolique retrouvé dans le café qui a des propriétés antioxydantes, qui jouent un rôle contre les maladies cardiovasculaire et cancers (Milder et al, 2005).

c. Les anthocyanines

Des traces de composés phénoliques mineurs, incluant des anthocyanines ont été détectées dans les graines de café vert. Ces composés sont rapportés comme étant des résidus provenant de la pulpe des fruits de café. (Farah, 2006).

Les fruits du café Arabica sont réputés pour leur qualité supérieure par rapport à ceux du Robusta. Ils contiennent naturellement moins de caféine et présentent une richesse en divers sels minéraux tels que le magnésium, le fer et la vitamine B3, ce qui leur confère une bonne valeur nutritionnelle. De plus, leur profil aromatique diversifié contribue à leur qualité organoleptique (Coltro et al, 2006).

La quantité et la qualité de la composition chimique du café peut être différentes suivant les conditions climatiques dans lequel il a été cultivé, la qualité du sol, la condition d'emballages et stockage et aussi le différent facteur génétique et physiologique (Farah, 2012).

5 Utilisation thérapeutique du caféier

Actuellement, le café est reconnu comme un aliment très exploité dans plusieurs procédés, en grande partie grâce à sa richesse en composés aux propriétés antioxydantes et autres bienfaits biologiques **(Yeretzian et al, 2003)**.

Les diverses parties du café ont été traditionnellement employées en médecine pour traiter différentes affections **(Patay et al, 2016a)**. Par exemple, les feuilles fraîches de café étaient appliquées directement pour soulager les maux de tête et la fièvre, en ayant un effet sur la production de prolactine **(Ross, 2005 ; Patay et al, 2016a)**.

De plus, ces feuilles étaient utilisées comme laxatif et pour soulager les douleurs d'estomac. **(Patay et al, 2016a)**.

La boisson du café à beaucoup de bienfaits sur la santé, avec ses actions stimulantes, elle donne de l'énergie et améliore la concentration. Son effet antioxydant a un effet protecteur contre le cancer et d'autres maladies **(Brada et Boudjemaa, 2019)**.

Une consommation de caféine faible à modérée est généralement liée à une augmentation de la vigilance, à une meilleure capacité d'apprentissage, à des performances physiques améliorées et à une bonne humeur. Cependant, des doses élevées peuvent entraîner des effets négatifs chez certaines personnes sensibles, tels que l'anxiété, la tachycardie et l'insomnie **[(Toci et al, 2006) ; (Ogita et al, 2003) ; (Farah et al, 2006 ; (Clifford, 2000)]**.

La caféine est l'un des composés qu'on peut trouver dans l'industrie pharmaceutique également, dans quelques médicaments tel que le paracétamol ou dans des antalgiques et les antigrippines **(Fredholm et al, 1999)**.

Chapitre 3 : Les micro-ondes

1 Généralité sur le fonctionnement des microondes

Le terme microondes est un terme principalement utilisé pour définir des rayonnements électromagnétiques non ionisantes qui se compose d'un champ électrique et d'un champ magnétique, avec une longueur d'onde allant de 1cm jusqu'à 1m, de fréquences de 300 MHz à 300 GHz. (MHz : Mégahertz = 10^6 Hz ; GHz : Gigahertz = 10^9 Hz) (Collin, 2007).

C'est le même domaine qu'on trouve dans les téléphones portables, de la Wifi, des radars, des émissions dans les fours microondes et des communications par satellites (Élie, 2016-2017).

La fréquence f d'une onde, est directement relié à sa longueur d'ondes λ_o dans l'air ou dans le vide par l'équation suivante : $\lambda_o = c/f$ ou $c = 3 \cdot 10^8$ m/s. Elle correspond à la vitesse des rayonnements électromagnétique dans l'air ou le vide, de sorte que (Paul, 1996) :

- A 300 MHz, la longueur d'ondes est $\lambda_o = 1$ m.
- A 300 GHz, la longueur d'onde est $\lambda_o = 1$ mm

1.1 Classification selon la vitesse d'ondes électromagnétiques

Les microondes sont donc classées selon leurs vitesses d'ondes électromagnétiques comme suit (Paul, 1996) :

- Décimétriques entre 300 MHz ($\lambda_o = 10$ dm) et 3GHz ($\lambda_o = 1$ dm).
- Centimétriques entre 3GHz ($\lambda_o = 10$ cm) et 30 GHz ($\lambda_o = 1$ cm).
- Millimétriques entre 30GHz ($\lambda_o = 10$ mm) et 300 GHz ($\lambda_o = 1$ mm).
- Les ondes submillimétriques vers 1 000 GHz ($\lambda_o = 0.3$ mm).
- Les ondes métriques 100 MHz ($\lambda_o = 3$ m).

1.2 Classification dans le spectre des ondes électromagnétiques

Les microondes sont classées parmi les hyperfréquences, positionnées entre les ondes radios et l'infrarouge dans le spectre des rayonnements électromagnétiques (Figure 9)

Ceci dit, ils ont une fréquence plus élevée que les ondes radio et une longueur d'onde plus courte que l'infrarouge.

Ils se situent donc dans la partie inférieure du spectre des ondes électromagnétiques en termes de fréquences, tandis que les ondes visibles de l'optique se trouvent dans la partie supérieure.

Pour les applications industrielles, les microondes domestiques et industrielles sont couramment utilisées à la fréquence de 2,45 GHz (correspondant à une longueur d'onde de 12,2 cm) pour minimiser les risques d'interférences avec les radiocommunications et les radars (Kingston et Haswell, 1997).

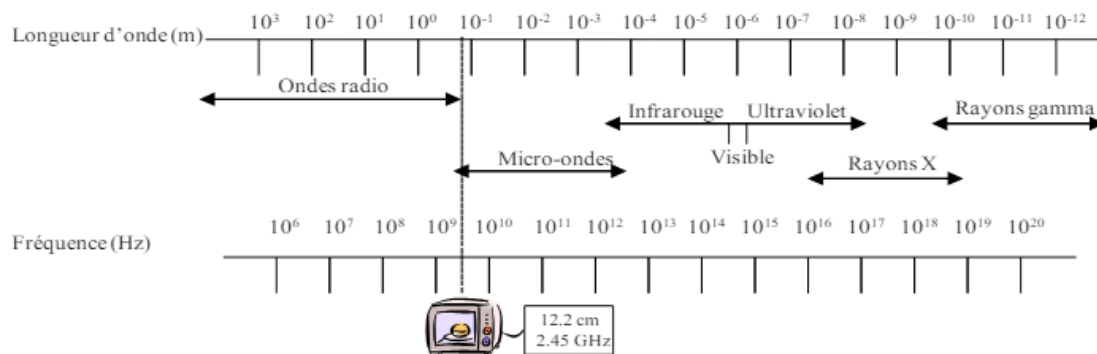


Figure 9 : Spectre des rayonnements électromagnétiques (Kingston et Haswell, 1997).

2 Historiques

Le théoricien fondateur de l'électromagnétisme moderne et des bases théoriques des microondes est James Clerk Maxwell. Dans l'année 1860, il a formulé les célèbres équations de Maxwell, publiées en 1873 dans son « *Traité sur l'électricité et le magnétisme* ».

En 1888, Heinrich Hertz a été le premier à produire et détecter expérimentalement des ondes électromagnétiques à une fréquence d'environ 1 GHz. Ces ondes sont souvent appelées "ondes hertziennes" et par la suite, en 1897 Lord Rayleigh a démontré théoriquement la possibilité de propager des ondes dans des tuyaux métalliques creux à section rectangulaire ou circulaire, connus sous le nom de guides d'ondes.

C'est à la suite des travaux de Hertz que la radioélectricité a connu un développement significatif (Paul, 1996).

Le micro-onde est une invention attribuée au Dr Percy LeBaron Spencer, survenue en 1946. Cette découverte est survenue fortuitement alors qu'il travaillait sur un projet lié au radar. Cette observation a conduit à la reconnaissance de la technologie sous-jacente des micro-ondes. Initialement, les applications commerciales ont connu des difficultés, mais avec la découverte

ultérieure de la capacité des fours à microondes à chauffer les aliments, des unités domestiques ont été développées et mises en vente (**Gallawa, 2007**).

En effet, depuis 1960, cette technologie s'est solidement établie dans divers domaines tels que la synthèse organique (**Franke, 1996**), l'analyse des moisissures, l'environnement, l'agroalimentaire, le séchage, la médecine et l'extraction (**Lau, 2002**).

3 Fonctionnement des microondes

Un grand nombre d'expériences ont été menées à divers niveaux d'organisation biologique, allant du niveau moléculaire au niveau pluricellulaire, afin de comprendre les mécanismes d'interaction entre les microondes et les organismes vivants (**Dardalhon, 1986**).

Les recherches principales se sont concentrées sur l'étude de la manière dont les microondes interagissent avec les structures cellulaires pour comprendre leur impact sur les organismes vivants. De nombreuses études ont examiné si les microondes à faible puissance peuvent influencer le matériel génétique, les enzymes, les mitochondries, les membranes ou le cytoplasme. On a également examiné la possibilité que les microondes amplifient l'action d'autres agents connus pour altérer l'ADN. Certains travaux se sont penchés sur des effets spécifiques liés à la fréquence des ondes millimétriques, tandis que d'autres ont exploré des effets spécifiques d'origine thermique, en lien notamment avec l'utilisation croissante des microondes pour produire une hyperthermie localisée dans le traitement des tumeurs cancéreuses.

Les résultats de ces études sont souvent utilisés comme référence pour établir des normes de sécurité (**Dardalhon, 1986**).

3.1 Interactions microondes-matières

Le chauffage par microondes se produit lorsque l'énergie d'une onde électromagnétique se transforme en chaleur à l'intérieur du matériau lui-même (**Loupy, 2006**). A des fréquences de 300 MHz à 300 GHz le rayonnement a une faible pénétration dans les métaux et autres matériaux conducteurs, préférant se refléter. Cependant, il produit une action thermique notable dans les milieux contenant des éléments liquides (tels que l'eau) et/ou organiques, où il est absorbé par les mouvements moléculaires (translation, vibration et rotation). Ainsi, les aliments ou les liquides sont chauffés ou cuisent dans un four à microondes grâce à ce phénomène d'absorption. (**Élie, 2016-2017**).

Le traitement des produits liquides par microondes est dû à son effet de chauffage, provoqué par la rotation dipolaire du solvant dans le champ micro-ondes. Cette rotation élève la

température du solvant, augmentant ainsi la solubilité du composé recherché. Ce chauffage se produit lorsque les molécules du solvant polaire ne parviennent pas à s'aligner rapidement sur le champ électrique de haute fréquence des micro-ondes, entraînant une dissipation de l'énergie absorbée sous forme de chaleur (**Al-Harabsheh et Kingman, 2004**).

Quand les microondes pénètrent dans un milieu, elles induisent une rotation rapide des molécules polaires. Les frictions résultantes de cette rotation génèrent de la chaleur. Les molécules polaires sont celles qui possèdent des pseudo-charges électriques différentes à chaque extrémité ; c'est le cas de la molécule d'eau, qui constitue une part importante des aliments et des environnements biologiques. En effet, les atomes d'hydrogène portent une pseudo charge positive tandis que l'atome d'oxygène porte une pseudo charge (**Elie, 2004**).

En présence d'un champ électrique continu, les molécules d'eau qui présentent une distribution aléatoire de leurs orientations, s'alignent avec ce champ, ce phénomène est connu sous le nom de polarisation de Debye. Dans le cas d'un champ électrique alternatif de fréquence f , les dipôles s'orientent dans la direction du champ pendant la première moitié du cycle, se désorientent lorsque le champ s'annule, puis se réorientent dans la direction opposée pendant la seconde moitié. Ce phénomène est connu sous le nom de rotation dipolaire (**Metaxas et Meredith, 1983**). Lorsqu'elles sont exposées à une onde électromagnétique, elles oscillent en synchronisation avec le champ électrique ondulatoire à des fréquences inférieures à environ 1 GHz. Au-delà de cette fréquence, un phénomène de relaxation moléculaire se produit, sous le nom de la relaxation de Debye. Les molécules oscillent alors avec un décalage par rapport au champ électrique de l'onde, à tout moment, l'orientation polaire des molécules d'eau est décalée avec l'orientation du champ électrique de l'onde, ce qui entraîne des pertes diélectriques et un dégagement de chaleur (**Élie, 2016-2017**).

Le facteur de pertes diélectriques ϵ_r mesure la capacité d'un matériau à convertir l'énergie électromagnétique en chaleur, représentant ainsi la composante absorbante de la permittivité. Les substances avec un facteur de pertes supérieur à 1, comme l'eau liquide, les liquides aqueux et les solvants polaires, sont efficaces pour se chauffer sous l'effet des micro-ondes. Les solvants peu polaires, tels que l'acétate d'éthyle, ont des facteurs de pertes entre 0,1 et 1, et présentent une chauffe moins efficace. En revanche, les gaz, les molécules apolaires, les métaux qui réfléchissent les ondes, ainsi que les matériaux non polarisables comme le quartz et le téflon, sont peu sensibles aux microondes et ont des facteurs de pertes quasiment nuls (**Farhat, 2010**).

Lorsque les ondes électromagnétiques rencontrent un matériau, une partie est réfléchiée en surface tandis que le reste pénètre à l'intérieur. Cette énergie se transforme en chaleur et décroît

exponentiellement en profondeur. La profondeur de pénétration (exprimé en mètre) est donc essentielle pour le chauffage par microondes car elle reflète le rapport entre les dimensions du matériau et la longueur d'onde dans le milieu (**Datta et Anantheswaran, 2001**).

Pour comprendre comment les ondes électromagnétiques interagissent avec un matériau, il est important d'examiner comment les dimensions du matériau se comparent à la longueur d'onde dans le milieu. Les matériaux peu sensibles aux microondes permettent une pénétration en profondeur, tandis que ceux qui absorbent bien ces ondes ont une faible profondeur de pénétration. Par exemple, à 25°C et une fréquence de 2450 MHz, la profondeur de pénétration dans l'eau est de 3,4 cm, tandis que dans l'éthylène glycol, elle est de 1,3 cm. De plus, cette profondeur varie avec la température en raison des propriétés diélectriques du matériau. Par exemple, pour l'eau, elle passe de 2,7 cm à 15°C à 14 cm à t 95°C (**Farhat, 2010**).

3.2 Utilisations des microondes

Même si l'utilisation des microondes revêt une grande importance, leur champ d'application et de technologie s'étend bien au-delà, touchant divers domaines de recherche fondamentale et appliquée, ainsi que plusieurs dispositifs pratiques variés (**Collin, 2007**).

Les microondes sont largement utilisées dans de nombreuses applications, notamment dans la cuisine pour chauffer et cuire les aliments rapidement. Elles sont également employées dans les télécommunications, les radars, la médecine (radiologie diagnostique et thérapie oncologique), ainsi que dans divers domaines industriels tels que le séchage et le traitement thermique des matériaux. En recherche scientifique, les microondes sont utilisées pour diverses applications telles que l'extraction de composés chimiques, l'étude des interactions moléculaires et cellulaires, et même dans la synthèse de matériaux. (**Collin, 2007**).

Parmi ses diverses applications nous citons :

a. Le chauffage industriel et domestique

Le four à microondes domestique utilisé dans les foyers fonctionne à une fréquence de 2 450 MHz et utilise un tube magnétron d'une puissance variant entre 500 et 1000 W. Pour des applications de chauffage industriel telles que le séchage des grains, la fabrication de produits en bois et en papier, ainsi que le durcissement des matériaux, les fréquences de 915 et 2 450 MHz sont spécifiées (**Collin, 2007**), ce qui offre une rapidité et une uniformité supérieures par rapport aux méthodes traditionnelles de chauffage (**Paul, 1996**). De plus, les microondes sont également utilisées dans le domaine médical pour l'hyperthermie ou le traitement des cancers par chauffage localisé des tumeurs (**Collin, 2007**).

b. Accélérateurs de particules

De l'appellation générale de "klystrons", sont des tubes spécialement conçus pour les microondes qui peuvent générer des puissances très élevées (100kW en régime permanent) et fournir l'énergie nécessaires aux particules pour les accélérer à des vitesses relativistes qui se rapproche de 3.10^8 m/s. Des superklystrons sont également utilisés dans les dispositifs de fusion thermonucléaire contrôlée, afin de produire dans un espace confiné, les températures de plusieurs dizaines de millions de degrés requises pour la fusion des atomes d'hydrogène (**Paul, 1996**).

c. L'électronique

Il est désormais possible de créer des circuits et dispositifs très performants pour les microondes, accomplissant les grandes fonctions de l'électronique classiques comme l'oscillation, l'amplification, le mélange et la multiplication de fréquence. Cela a été rendu possible par la conception de diodes et transistors spécifiques, ainsi que des composants passifs appropriés. Par l'intégration hybride ou monolithique, la miniaturisation de ces circuits les rend particulièrement adaptés aux technologies spatiales (**Paul, 1996**).

d. Les radars

Telles que le radar de suivi des missiles, le radar de contrôle de tir, le radar de détection météorologique, le radar de contrôle du trafic aérien dans les aéroports, etc., représentent une utilisation significative des fréquences micro-ondes. Cette utilisation découle principalement de la nécessité d'avoir des antennes qui dirigent pratiquement toute la puissance d'émission dans un faisceau étroit, similaire à celui produit par un projecteur optique (**Collin, 2007**).

e. Radionavigation

Dans le domaine de l'aviation, en plus du radar, plusieurs systèmes permettent de repérer et guider les avions tels que le V.O.R (VHF Omnidirectional Range), pour indiquer a direction, le D.M.E (Distance Measurement Equipment) pour la mesure de la distance ainsi que l'I.L. S (instrument Landing System) pour un atterrissage automatique des avions (**Paul, 1996**).

f. Les communications par satellites

Les fréquences microondes sont de plus en plus utilisées dans les liaisons de communication, appelées liaisons micro-ondes. Ces liaisons utilisent des tours élevées avec des antennes réflectrices ou de type lentille comme stations de relais pour transmettre des signaux le long de chemins en ligne de mire. Elles sont couramment utilisées par les autorités routières, les

entreprises de services publics et les réseaux de télévision. De plus, les satellites sont utilisés comme stations relais micro-ondes, qui permettent la transmission de programmes de télévision en direct d'un pays vers un autre. De nombreux satellites ont été mis en orbite dans le but de faciliter les communications, ainsi que pour surveiller et recueillir des données sur les conditions atmosphériques et météorologiques. (Collin, 2007).

g. Extractions de molécules bioactives

L'extraction assistée par microondes (MAE), suscitent également un intérêt croissant en tant qu'alternatives aux méthodes conventionnelles d'extractions de molécules bioactives dans le domaine de la biochimie. Parmi tant d'autres, celle-là est la technique la plus simple et la plus économique pour l'extraction de nombreux composés dérivés des plantes (Zhang et al, 2005).

Golmakani et al, (2008) ont décrit leur réussite à avoir utilisé un four à microondes pour extraire des molécules bioactives et principes actifs à partir des plantes. Parmi les procédés d'extraction par microondes les plus connus, on reconnaît l'hydrodistillation par microondes sous vide pulsé, du nom commun Vacuum Microwave Hydro Distillation (VMHD), qui est un procédés d'extraction des huiles essentielles, grâce au rayonnement microondes d'une séquence de mis sous vide et une énergie constante (Chouitah, 2012).

4 Les effets nocifs potentiels du rayonnement microondes

Les effets nocifs potentiels du rayonnement micro-ondes ont été largement étudiés, notamment en ce qui concerne son impact sur la santé humaine et l'environnement. Parmi les principales conclusions de recherches récentes sur les effets des microondes nous citons :

a. Stress oxydatif et neurodégénérescence :

Une étude sur des rats exposés à un rayonnement de 3,5 GHz a révélé une augmentation du stress oxydatif et de la dégénérescence des neurones dans l'hippocampe, indiquant un risque plus élevé de maladies neurodégénératives en cas d'exposition prolongée aux micro-ondes. (Hashish et al, 2013).

D'autres études ont montré que le stress oxydatif peut entraîner divers problèmes de santé, notamment des dommages cellulaires et des maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer. (Pall, 2016).

b. Risques de cancer :

Une étude approfondie publiée dans *Environmental Research* a révélé qu'une proportion importante d'études (73,6 %) indiquait des effets sur la santé liée à l'exposition aux rayonnements micro-ondes, notamment un risque accru de cancer. **(Meo et al, 2022)**.

Le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) a classé les champs électromagnétiques de radiofréquences comme potentiellement cancérigènes pour l'homme (groupe 2B), sur la base d'un risque accru de gliome, un type malin de cancer du cerveau, associé à l'utilisation de téléphones sans fil. **(Georgiou et al, 2015)**.

c. Syndrome des microondes :

Les personnes vivant à proximité des stations de base 5G ont signalé des symptômes tels que des maux de tête, de la fatigue, des troubles du sommeil et des troubles cognitifs, collectivement appelés « syndrome des micro-ondes ». Ces symptômes s'améliorent souvent lorsque l'exposition est réduite **(Oberfeld, 2004)**.

Des études ont également lié ces symptômes à une exposition prolongée aux rayonnements micro-ondes provenant de diverses sources, suggérant une corrélation directe entre l'exposition aux rayonnements et ces problèmes de santé **(Hyland, 2001)**.

d. Impact sur la fertilité :

Des recherches ont montré que le rayonnement micro-ondes peut affecter la fertilité masculine en réduisant le nombre et la motilité des spermatozoïdes et en augmentant la fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes **(Agarwal et al 2009)**.

Des effets similaires ont été observés sur la fertilité féminine, des études indiquant des impacts potentiels sur la fonction ovarienne et le développement fœtal dus à l'exposition aux micro-ondes **(Elhassani, 2010) ; (Blake.B, and Henry Lai, 2010)**.

e. Effets environnementaux :

Le rayonnement micro-ondes affecte non seulement les humains mais aussi la faune. Des études ont montré un déclin de la diversité biologique autour des tours de téléphonie cellulaire, affectant diverses espèces de plantes et d'animaux.

Cet impact écologique souligne les risques environnementaux plus larges liés à une exposition généralisée aux rayonnements micro-ondes **(Balmori, 2009)**.

Deuxième partie

Matériel et méthodes

Cette partie de notre travail a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche « Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique », Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd-Tlemcen.

1 Matériel biologique

Notre étude a porté sur les graines vertes de la plante *Coffea arabica*, originaire du Brésil. Les graines ont été fournies par la société Africafé durant le mois de Mars 2024. Elles ont été conservées dans le laboratoire à la température ambiante et à l'abri de la lumière.

2 Méthodes

2.1 Préparations des extraits

Une quantité de 20 g des graines vertes de *C. arabica* finement broyées a été traitée par deux méthodes d'extraction, une macération et une infusion, dans 200 mL d'eau distillée, pendant une heure. Après une première filtration, centrifugation pendant 10 min à 3500 RPM, puis une deuxième filtration au papier filtre, les filtrats ont été récupérés dans des boîtes de Pétris et évaporés à sec dans une étuve à 38° pendant 24h.

Le rendement pour l'ensemble des fractions a été calculé selon la formule suivante:

$$\text{rendement}\% = \frac{m_0}{m_1} \times 100$$

m_0 : Masse en gramme de l'extrait brut évaporé ;

m_1 : Masse en gramme de la matière végétale initiale.

2.2 Etude de l'effet du micro-onde

8 extraits ont été récupérés de chaque extraction dont 2 mg de chaque extrait obtenu a été solubilisé dans 1mL d'eau distillée, puis traités différemment au microonde de la manière suivante :

E₁ : Macération, Sans traitement au micro-onde

E₂ : Infusion, Sans traitement au micro-onde

E₃ : Infusion + Traitement au micro-onde (15s / 340 W)

E₄ : Infusion + Traitement au micro-onde (30s / 340 W)

E₅ : Matière végétale sèche + Traitement au micro-onde (15s / 340 W) + Infusion

E₆ : Matière végétale sèche + Traitement au micro-onde (30s / 340 W) + Infusion

E₇ : Matière végétale sèche + Macération + traitement au micro-onde (30s / 340 W)

E₈ : Matière végétale sèche + traitement au micro-onde (30s / 340 W) + Macération

3 Dosage des métabolites secondaires

3.1 Dosage des polyphénols totaux

L'estimation de la concentration des composés phénoliques a été réalisée en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu telle que décrite par **Vermerris et Nicholson, (2006)**. Elle repose sur la capacité des phénols oxydés présents dans les extraits à réduire le Folin-Ciocalteu en un mélange d'oxydes de tungstène et de molybdène, ce qui génère une couleur bleue. L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration des composés phénoliques oxydés, et son absorbance est mesurée dans la longueur d'onde de 725 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une quantité de 0,1 mL de chaque extrait a été mélangée avec 2 mL d'une solution de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 2 %. Après 5 min, 0,1 mL du réactif de Folin-Ciocalteu (1 N) fraîchement préparé a été rajouté au mélange. L'ensemble a été incubé à l'obscurité pendant 30 min, puis la lecture contre un blanc a été réalisée à 725 nm. La courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions par l'acide gallique aux concentrations allant de 100 à 1000 µg/mL. Les résultats obtenus ont été exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/ mg E).

3.2 Dosage des flavonoïdes totaux

L'estimation des flavonoïdes totaux a été effectuée à l'aide de la méthode spectrophotométrique utilisant le Trichlorure d'aluminium et de la soude. Cette méthode repose sur l'oxydation des flavonoïdes, formant un complexe de couleur rose dont l'absorbance est mesurée dans la plage visible à 510 nm. (**Yazdanparast et Ardestani, 2007**).

Dans un tube à essai, 250 µL de chaque extrait ont été mélangés avec 1 mL d'eau distillée et 75 µL d'une solution de nitrite de sodium (NaNO₂) à 15%. Après 6 min, 75 µL de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 10% ont été ajoutés. Après 6 min, 1 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH)

à 4% a été additionnés et le mélange a été ajusté avec l'eau distillée à 2,5 mL. Après 15 min, la lecture a été effectuée à 510 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

La courbe d'étalonnage a été effectuée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine à différentes concentrations allant de 100 à 1000 µg/ mL. Les taux en flavonoïdes ont été exprimés en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait (µg EC/ mg E).

4 L'activité antioxydante

4.1 Piégeage du radical libre DPPH

En utilisant le procédé décrit par **Blois, (1958)**, l'activité de piégeage des radicaux libres des différents extraits de graines vertes de *C. arabica* a été mesurée par DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). Cette méthode repose sur la réduction du DPPH par les antioxydants présents dans les extraits, entraînant un changement de la couleur violette vers le jaune dont l'absorbance est lue à 517 nm.

Dans une microplaque stérile 96 puits, une quantité de 40 µL des 8 extraits à différentes concentrations a été mélangées avec 160 µL d'une solution de DPPH (0,1 mM) fraîchement préparée dans du méthanol. En parallèle, un contrôle négatif a été préparé en mélangeant 40 µL d'eau distillée à 160 µL de la solution de DPPH. Après 30 minutes, l'absorbance a été mesurée à 517 nm en utilisant un lecteur de microplaques à 96 puits (**Enspire Perkin Elmer**).

Le pourcentage de réduction de DPPH a été calculé avec la formule:

$$\text{Pourcentage d'inhibition du DPPH (\%)} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{d'extrait}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

Pour chaque extrait, les CI_{50} ont été calculées graphiquement à partir d'une courbe logarithmique représentant le pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits testés. La CI_{50} correspond à la concentration de l'échantillon nécessaire pour réduire de 50% les radicaux DPPH.

4.2 Piégeage de l'ABTS

Selon la méthode décrite par **Re et al., (1999)** l'activité de piégeage du radical 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS^{•+}) a été évaluée, en préparant un mélange de l'ABTS (7 mM) en solution aqueuse avec du persulfate de potassium (K₂S₂O₈) (2,45 mM). La solution mère d'ABTS a été maintenue à l'abri de la lumière pendant 12 à 16 heures avant son utilisation.

Dans une microplaque stérile 96 puits, 60 µL de cette solution a été mélangée avec 40 µL des extraits à différentes concentrations, une incubation de 10 minutes a été effectuée, suivie de la mesure de l'absorbance à 734 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (Enspire Perkin Elmer).

Le pourcentage de réduction a été calculé à l'aide de l'équation suivante:

$$\text{Pourcentage d'inhibition de l'ABTS (\%)} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{d'extrait}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

Les CI_{50} ont été calculées graphiquement pour chaque extrait à partir d'une courbe logarithmique du pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits testés. C'est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical ABTS.

4.3 Pouvoir réducteur du fer

Le pouvoir réducteur du fer a été réalisé dans le but d'évaluer la capacité des extraits à réduire le Fe^{3+} présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en Fe^{2+} avec une lecture effectuée à 700 nm (**Oyaizu, 1986**).

A l'aide d'une microplaque, 10 µL de chaque extrait à différentes concentrations ont été mélangés avec 40 µL du tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 50 µL de solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ (1%). Après 20 min d'incubation à 50°C, 50 µL d'acide trichloroacétique (TCA, 10%), 40 µL d'eau distillée et 10 µL de solution de $FeCl_3$ (0,01%) ont été ajoutés.

La lecture de l'absorbance contre le blanc a été effectuée à 700 nm en utilisant un lecteur de microplaques à 96 puits (Enspire Perkin Elmer). Une augmentation de l'absorbance indique une augmentation du pouvoir réducteur des extraits. Les résultats ont été exprimés sous forme d' EC_{50} , calculées graphiquement pour chaque extrait à partir de l'équation d'une courbe linéaire. Elle correspond à la concentration effective de l'échantillon à 50% de réduction.

4.4 Capacité antioxydante totale

C'est un test qui repose sur la réduction du molybdène (Mo^{6+}) en molybdène (Mo^{5+}) par les extraits des plantes.

À pH acide, cette réduction provoque la formation du complexe phosphate/ Mo^{5+} qui présente une couleur verte, comme décrit par **Prieto et al, (1999)**.

0,1 mL de l'extrait a été additionné à 1 mL de la solution composée d'acide sulfurique (0.6 N), de phosphate de sodium (Na_3PO_4 , 28 mM) et de molybdate d'ammonium ($(\text{NH}_4)_6 \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 4 mM). Après incubation à 95°C pendant 90 min, l'absorbance a été mesurée à 695 nm contre un blanc.

L'activité antioxydante totale a été exprimée en mg équivalent acide ascorbique par gramme d'extrait (mg EAA/g E).

5 Analyse statistiques

5.1 L'analyse de la variance

L'analyse de la variance (ANOVA), souvent abrégée en "test de l'ANOVA", est une technique statistique utilisée pour comparer les moyennes de trois groupes ou plus afin de déterminer s'ils sont statistiquement différents les uns des autres. C'est une méthode couramment utilisée dans de nombreux domaines, y compris les sciences biologiques.

Lorsqu'il y a une variable indépendante (appelée facteur) avec plusieurs niveaux catégoriels et une variable dépendante continue, l'ANOVA à un facteur est employée. Son but est d'évaluer s'il existe des différences notables entre les moyennes des groupes constitués par les différents niveaux du facteur.

Pour interpréter les résultats, on analyse la valeur du test F et on la compare à un seuil de signification prédéterminé, habituellement $\alpha = 0,05$. Si la valeur de p associée au test F est inférieure à α , cela signifie qu'il existe des différences significatives entre les moyennes des différents groupes.

Après avoir observé une différence significative avec l'ANOVA, nous avons procédé à des tests post hoc pour identifier les écarts spécifiques entre les groupes. À cet effet, nous avons employé le test de Tukey pour effectuer plusieurs comparaisons.

Troisième partie :
Résultats et discussions

1 Rendement des extraits

Les graines vertes de *Coffea arabica* ont été traitées par différentes méthodes d'extractions pour obtenir 8 différents extraits , à savoir une macération et une infusion ; avec différents traitements au microondes de la matières végétales (E5,E6,E8) , différents traitement au microondes de l'extrait (après l'extraction) (E3 , E4) , une macération dont la solution a subi un traitement au microondes avant l'évaporation à sec (E7) et aussi sans traitement au microondes (E1 , E2).

Après une évaporation à sec dans une étuve à 38°C, les différents rendements d'extraction ont été calculés à partir de la matière végétale sèche des graines vertes de *Coffea arabica*. Les résultats obtenus sont représentés dans la **figure 10**.

On constate que l'extrait 7, obtenus à partir d'une macération dont la solution a subi un traitement au microondes avant l'évaporation à sec, a montré le rendement la plus élevé d'une valeur de 12,53 % , qui se rapproche de la valeur des rendements des extrait 2 , 3 et 4 qui est de 11,96 % , ces derniers ayant été obtenus à partir d'une infusion.

Pour les extrait dont la matière végétal a été traitée par les microondes a différentes durées (E5, E6 et E8), les rendements sont plus faibles calculés a des valeurs de 10,47 % pour E5 traité a une durée de 15s au microonde, suivi de 8,43 % et 8,22 % pour E6 et E8 respectivement, ayant été traités par une durée de 30s aux microondes.

On note que l'extrait 1 a le rendement le plus faible à 1,61%, obtenu à partir d'une macération sans aucun traitement au microonde.

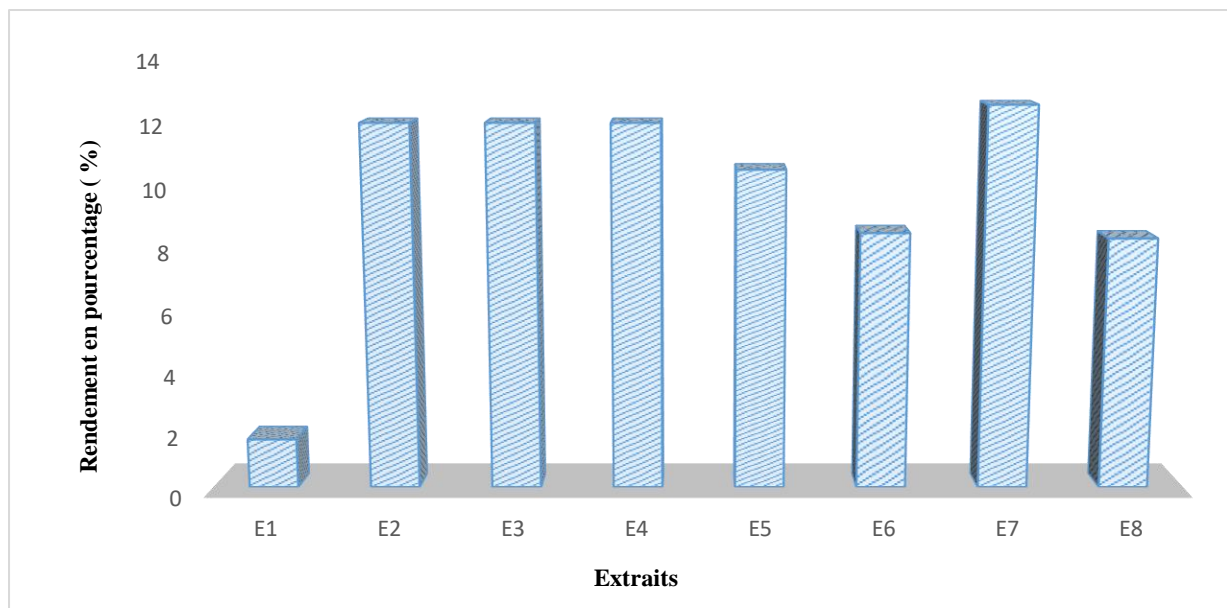


Figure 10 : Rendements des différents extraits des graines vertes de C.arabica

2 Dosage des métabolites secondaires

2.1 Dosage des polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux sont obtenues en utilisant l'équation de régression linéaire $y = 1,5896x$ (figure 11). Les valeurs obtenues sont exprimées en milligramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait. Les résultats sont regroupés dans la figure 12.

On constate que l'extrait 7 a la teneur totale en polyphénol la plus élevée d'une valeur de 749 μg EAG/ mg d'extrait par rapport aux autres extraits, suivi de l'extrait 3 qui porte une teneur en polyphénols totaux un peu plus faible d'une valeur de 544,2 μg EAG/ mg d'extrait.

En effet, les extraits E8, E1, E2 et E6 sont plus faibles en teneur totale en polyphénols par des valeurs moyennes décroissantes qui se classent comme suit : 441,8 μg EAG/ mg d'extrait, 414,7 μg EAG/ mg d'extrait, 399,4 μg EAG / mg d'extrait et 383 μg EAG/ mg d'extrait, respectivement.

Ces valeurs sont suivies de l'extrait 4 d'une teneur totale en polyphénols d'une valeur de 344,45 μg EAG/ mg E, et en dernier, l'extrait 5 qui présente une très faible teneur en polyphénols totaux d'une valeur minimale de 277,3 μg EAG/ mg E.

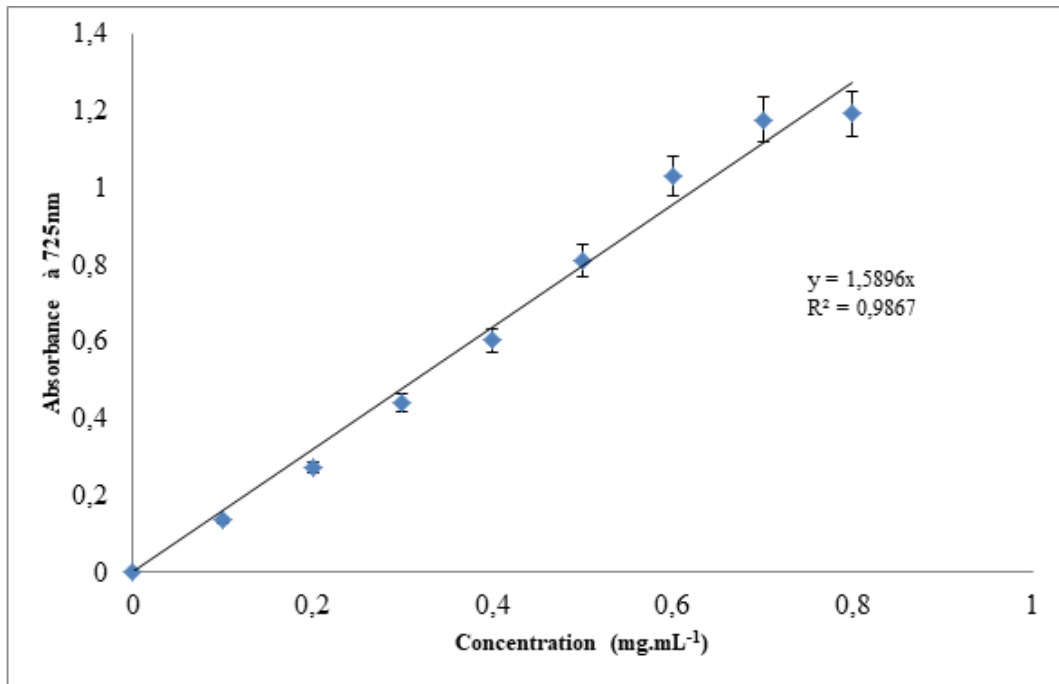


Figure 11 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

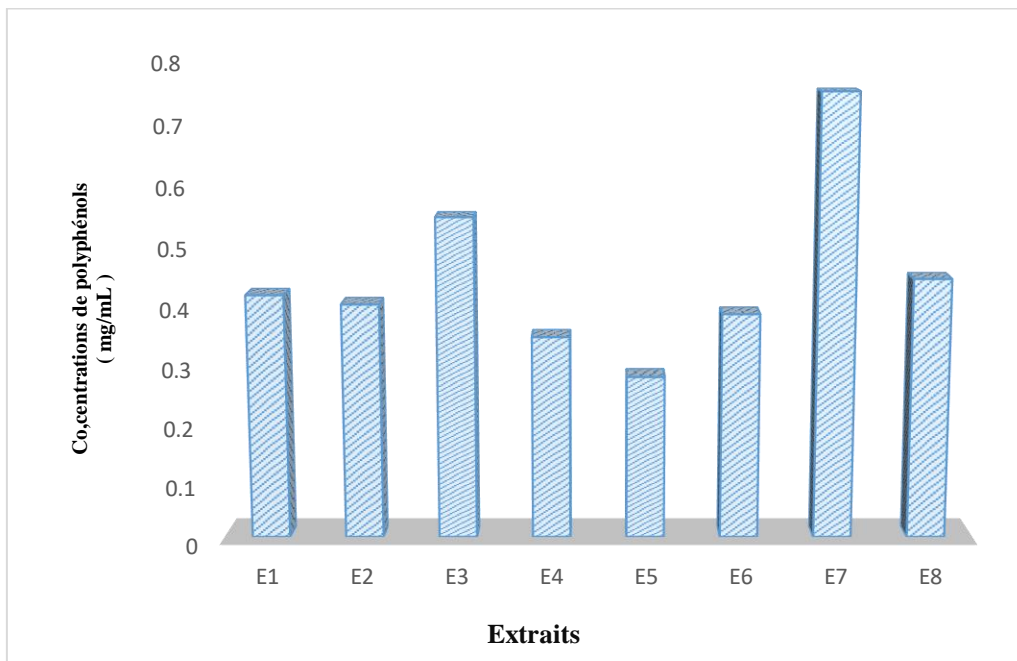


Figure 12 : Les teneurs en polyphénols totaux en µg EAG / mg d'extract.

2.2 Dosage des flavonoïdes totaux

Les teneurs en flavonoïdes totaux des différents extraits des graines vertes de *C.arabica* sont obtenues en utilisant l'équation de régression linéaire $y = 0,0022x + 0,0016$ (figure 13). Les valeurs obtenues sont exprimées en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EC/ mg E}$). Les résultats sont regroupés dans la figure 13.

On observe que les extraits E7, E5 et E1 présentent une forte teneur en flavonoïdes totaux par rapport aux autres extraits, d'une valeur de 467,4848 $\mu\text{g EC/ mg E}$, 455,5454 $\mu\text{g EC/ mg E}$ et, 434,8333 $\mu\text{g EC/ mg E}$ respectivement, suivi de l'extrait E2 d'une teneur totale en flavonoïdes plus faible de 297,4848 $\mu\text{g EC/ mg E}$.

La teneur en flavonoïdes totaux diminue pour les extraits E3, E8 et E4, pour des valeurs en ordre décroissant de 255,5 $\mu\text{g EC/ mg E}$, 240,3484 $\mu\text{g EC/ mg E}$, 231,6515 $\mu\text{g EC/ mg E}$ respectivement.

L'extrait 6, présentant une teneur totale en flavonoïdes d'une valeur de 196,5151 $\mu\text{g EC/ mg E}$, représente l'extrait le plus faible en teneur en flavonoïdes totaux.

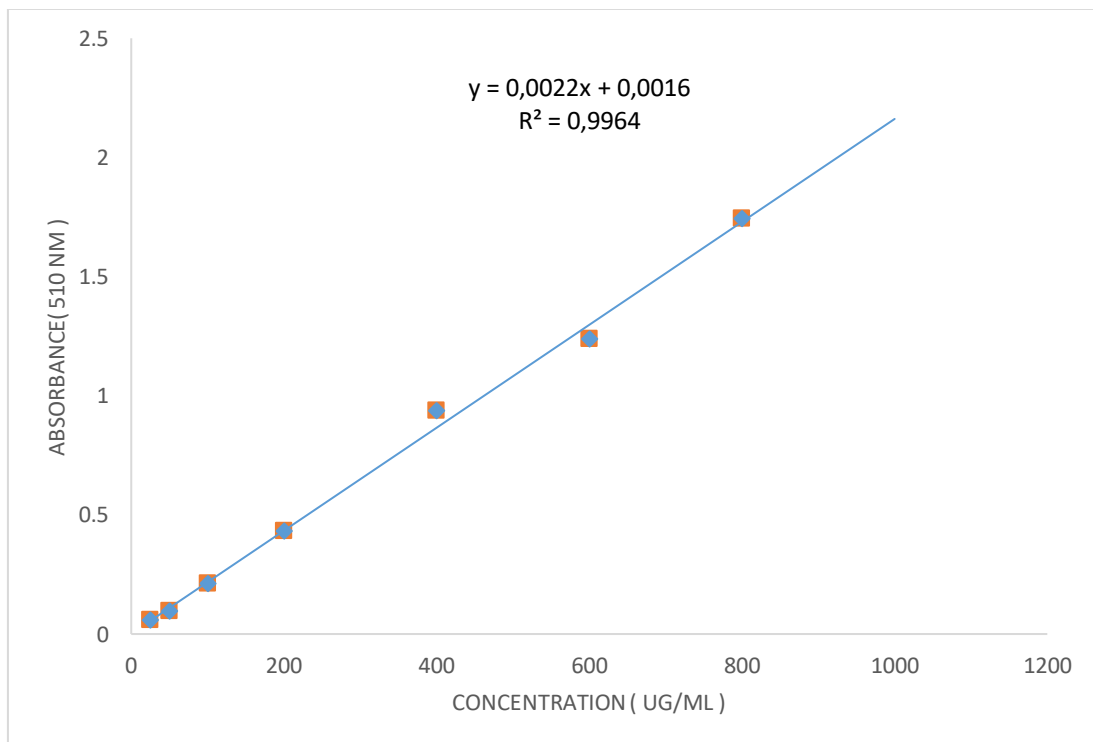


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

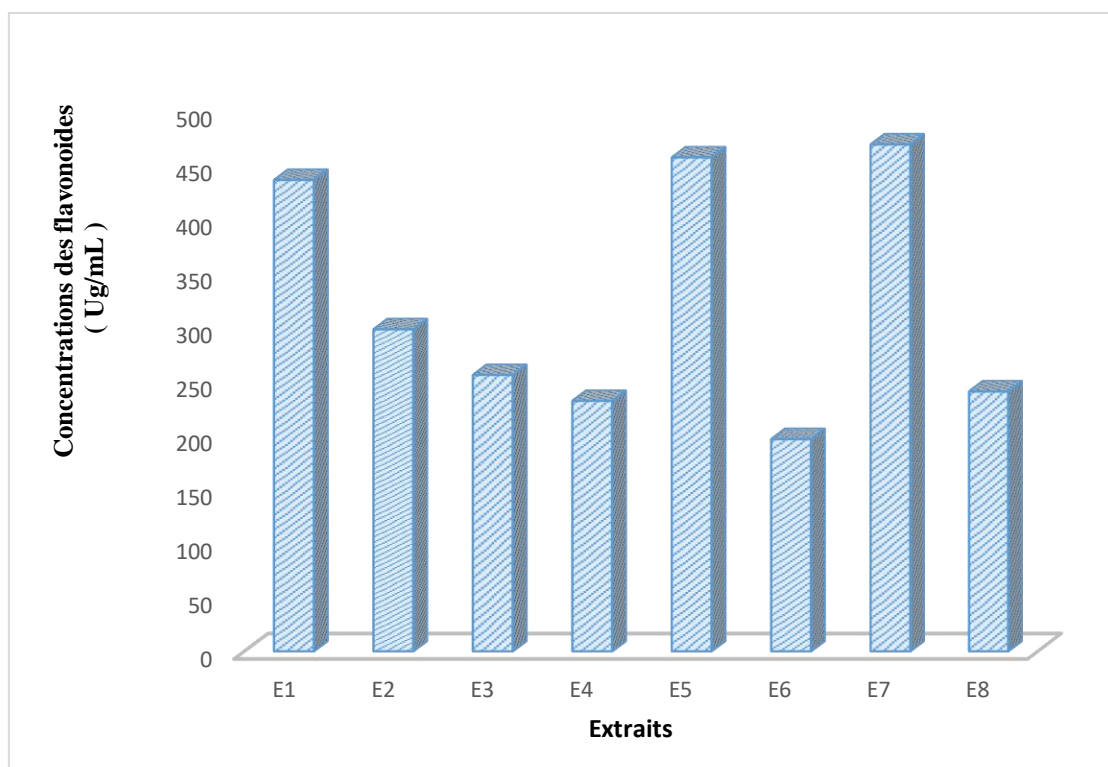


Figure 14 : Les teneurs en flavonoïdes totaux en $\mu\text{g EC/ mg d'extract}$.

3 Etude de l'activité antioxydante

Les activités antioxydantes des extraits de *C. arabica* ont été évaluées par 4 méthodes différentes : le DPPH, ABTS, pouvoir réducteur du fer (FRAP) et de la capacité antioxydante totale (CAT). Les résultats de tous les tests sont exprimés en termes de CI_{50} et EC_{50} . Ceci dit, l'efficacité de l'activité antioxydante est inversement proportionnelle aux valeurs de CI_{50} et EC_{50} .

3.1 Piégeage du radical libre DPPH

L'évaluation de l'activité antiradicalaire a été effectuée par l'utilisation de la méthode du piégeage du radical libre DPPH des extraits des plantes. Cette technique est favorisée car elle est simple à l'analyse et la réalisation, et représente une stabilité de la forme radicalaire (Murugan et Parimelazhagan, 2014).

A partir des résultats obtenus, nous constatons une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des 8 extraits (Annexe). Nous avons obtenu des courbes logarithmiques par lesquelles nous avons calculé les valeurs des concentrations nécessaires pour réduire 50% du radical libre DPPH (CI_{50}). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 3.

Nous constatons que les meilleures extraits à présenter une meilleure capacité à réduire le radical libre sont les E6, E2 et E3 avec des CI_{50} minimales de 0,12 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0,15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et 0,16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectivement. Pour les extraits E7, E5 et E8 nous remarquons que leurs valeurs de CI_{50} se rapprochent et sont plus élevées par rapport au extraits précédents (0,22 ; 0,23 ; 0,24 $\mu\text{g}/\text{mL}$) suivie par l'extrait E1 (0,30 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

On note que l'extrait E4 a une faible capacité à piéger le DPPH avec une CI_{50} maximale de 0,52 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Tableau 3 : Les CI_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$) des différents extraits des graines vertes de *C. arabica* par la méthode du Piégeage du radicale libre DPPH.

| Extraits | CI_{50} |
|--|-----------|
| Macération, Sans traitement aux micro-ondes | 0,30 |
| Infusion, Sans traitement aux micro-ondes | 0,15 |
| Infusion + Traitement aux micro-ondes (15s / 340 W) | 0,16 |
| Infusion + Traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) | 0,52 |
| Matière végétale sèche + Traitement aux micro-ondes (15s / 340 W) + Infusion | 0,23 |
| Matière végétale sèche + Traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) + Infusion | 0,12 |
| Matière végétale sèche + Macération + traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) | 0,22 |
| Matière végétale sèche + traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) + Macération | 0,24 |

3.2 Piégeage de l'ABTS

L'ABTS est un radical qui se distingue par sa réactivité supérieure par rapport au DPPH, impliquant un transfert d'électrons. Sa polyvalence accrue découle de sa capacité à se dissoudre à la fois dans l'eau et dans les solvants organiques, permettant ainsi d'évaluer l'activité de piégeage pour les extraits à la fois hydrophiles et lipophiles.

Les résultats sont obtenus par des pourcentages d'inhibition du radical ABTS des extraits des graines vertes de *C. arabica* en fonction des concentrations (**annexe**). Une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibition du radical ABTS en fonction des concentrations des extraits est notée, puis nous avons calculé les valeurs des concentrations nécessaires pour diminuer 50% du taux du radical libre ABTS (CI₅₀). (**Tableau 4**).

Les CI₅₀ de tous les extraits obtenus sont de valeurs minimales allant de 0,06 µg/ mL jusqu'à 0,14 µg/ mL. Les extraits E5 et E7 représentent les meilleures capacités à piéger l'ABTS à radicaux libres avec une CI₅₀ minimale de 0,06 µg/ mL, suivi de l'extrait E8 et E6, a des valeurs inférieurs a 0,10 µg/ mL.

Les extraits E1 et E3 présentent des CI₅₀ égale à 0,10 µg/ mL, suivi des extrait E2 et E4 avec des CI₅₀ plus élevées égales à 0,14 µg/ mL. Ils représentent donc une réduction moins importante de l'ABTS.

Tableau 4 : Les CI₅₀ (µg/ mL) des différents extraits des graines vertes de *C. arabica* par la méthode du Piégeage du radical de l'ABTS.

| Les extraits | CI ₅₀ |
|--|------------------|
| Macération, Sans traitement aux micro-ondes | 0,10 |
| Infusion, Sans traitement aux micro-ondes | 0,14 |
| Infusion + Traitement aux micro-ondes (15s / 340 W) | 0,10 |
| Infusion + Traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) | 0,14 |
| Matière végétale sèche + Traitement aux micro-ondes (15s / 340 W) + Infusion | 0,06 |
| Matière végétale sèche + Traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) + Infusion | 0,08 |
| Matière végétale sèche + Macération + traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) | 0,06 |
| Matière végétale sèche + traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) + Macération | 0,07 |

3.3 Pouvoir réducteur du fer

L'évaluation de l'activité réductrice du fer repose sur la capacité des extraits à convertir le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} . Ainsi, cette réduction est directement liée à l'augmentation de la concentration de nos extraits, qui peut être mesurée à la longueur d'onde de 700 nm (Oyaizu, 1986).

Les résultats sont obtenus sous forme de valeurs qui nous permettent de tracer une courbe linéaire pour chaque extrait (annexe) et la valeur des EC_{50} sont représentées sur le tableau 5.

Selon les valeurs des EC_{50} , nous constatons que les extraits E7 (0,97 $\mu g/ mL$), E2 (1 $\mu g/ mL$) et E8 (1,01 $\mu g/ mL$) montrent les concentrations effectives à 50% les plus faibles, ceci leur confère le caractère des meilleures réducteur du fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} .

Les extraits E3 (1,37 $\mu g/ mL$, E4 (1,41 $\mu g/ mL$) et E1 (1,59 $\mu g/ mL$) sont d'une réduction moyenne du fer ferrique Fe^{3+} , tandis que les extraits E5 (2 $\mu g/ mL$) et E6 (2,14 $\mu g/ mL$), de leur valeurs les plus élevées des EC_{50} , sont les moins intéressants quant à la réduction du fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} .

Tableau 5 : Les EC_{50} ($\mu g/ mL$) des différents extraits des graines vertes de *C. arabica* par la méthode de FRAP.

| Les extraits | EC_{50} |
|--|-----------|
| Macération, Sans traitement aux micro-ondes | 1,59 |
| Infusion, Sans traitement aux micro-ondes | 1,00 |
| Infusion + Traitement aux micro-ondes (15s / 340 W) | 1,37 |
| Infusion + Traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) | 1,41 |
| Matière végétale sèche + Traitement aux micro-ondes (15s / 340 W) + Infusion | 2,00 |
| Matière végétale sèche + Traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) + Infusion | 2,14 |
| Matière végétale sèche + Macération + traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) | 0,97 |
| Matière végétale sèche + traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) + Macération | 1,01 |

3.4 Capacité antioxydante totale

La capacité antioxydante totale est une méthode basée sur la réduction du (Mo^{6+}) au (Mo^{5+}) par les composés antioxydants et la formation d'un complexe vert (phosphate/ Mo^{5+}) à pH acide. Elle est exprimée en μg équivalent acide ascorbique par mg d'extrait (**Figure 15**). Les résultats de la capacité antioxydante totale de l'ensemble de nos extraits sont représentés dans le **tableau 6**.

l'extrait E7 ($0,26 \mu\text{g}$ EAA/mg d'extrait) présente la capacité la plus élevée à réduire le molybdène, ensuite les extrait E8, E1 , E3 , E6 , E4 et E2 ont un pouvoir de réduction moins élevé que l'extrait 7 avec un ordre décroissant de valeur de $0,21 \mu\text{g}$ EAA/mg E , $0,20 \mu\text{g}$ EAA/mg E , $0,19 \mu\text{g}$ EAA/mg E , $0,18 \mu\text{g}$ EAA/mg E (E6 et E4) et $0,16 \mu\text{g}$ EAA/mg E respectivement. Ceci dit l'extrait 5, avec une valeur minimale de $0,08 \mu\text{g}$ EAA/mg E représente une très faible capacité antioxydante totale et donc une réduction moins importante du molybdène.

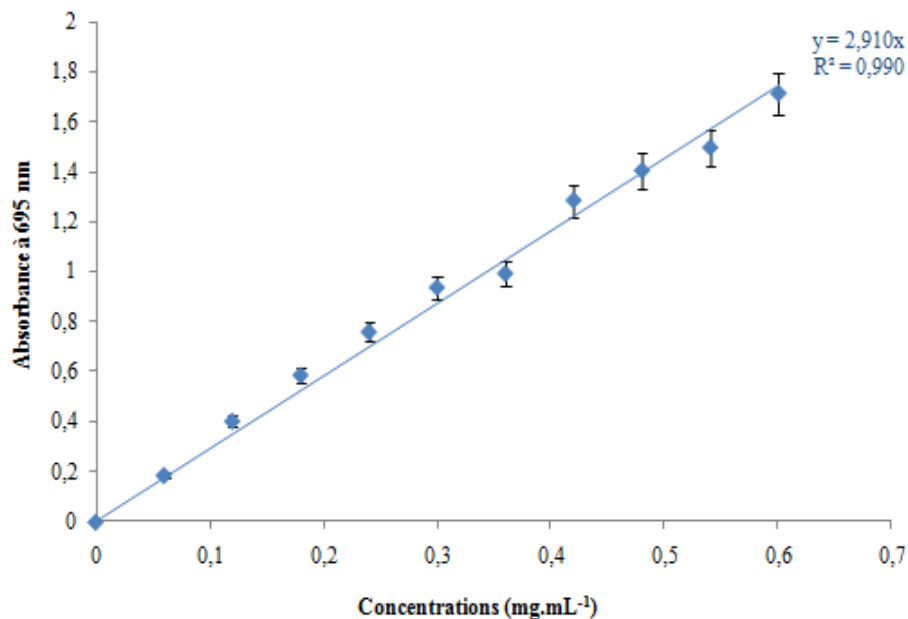


Figure 15 : Capacité antioxydante totale de l'acide ascorbique

Tableau 6 : La capacité antioxydante totale ($\mu\text{g EAA/mg E}$) des différents extraits des graines vertes de *C. arabica*.

| Les extraits | Valeur CAT |
|--|------------|
| Macération, Sans traitement aux micro-ondes | 0,20 |
| Infusion, Sans traitement aux micro-ondes | 0,16 |
| Infusion + Traitement aux micro-ondes (15s / 340 W) | 0,19 |
| Infusion + Traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) | 0,18 |
| Matière végétale sèche + Traitement aux micro-ondes (15s / 340 W) + Infusion | 0,08 |
| Matière végétale sèche + Traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) + Infusion | 0,18 |
| Matière végétale sèche + Macération + traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) | 0,26 |
| Matière végétale sèche + traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) + Macération | 0,21 |

4 Ensemble des résultats des différents tests (IC_{50} , EC_{50} , dosage des polyphénols totaux, dosage des flavonoïdes totaux) et de l'analyse de la variance par le test de Tukey

Pour chaque extrait de traitements différents aux microondes, des résultats significatifs et différents ont été constaté comme suit (**Tableau 7**) :

- **Macération, Sans traitement aux micro-ondes E1 / Infusion, Sans traitement aux micro-ondes E2**

Ces résultats nous indiquent les différences significatives entre les méthodes d'extractions. Pour les extrait E1 et E2, obtenus à partir d'une macération (E1) et une infusion (E2) on constate une meilleure activité antioxydante par le test de l'ABTS (c) et celui de la CAT, accompagnée d'un taux de flavonoïdes totaux significativement élevé pour l'extrait obtenus à partir d'une macération (E1). Ceci dit, la technique d'infusion a donné des résultats significatifs pour l'activité antioxydante par la méthode de DPPH et celle de FRAP. Le dosage des polyphénols totaux pour les deux extrait E1 et E2 est resté constant

- **Infusion, Sans traitement aux micro-ondes E2 / Infusion + Traitement aux micro-ondes (15s / 340 W) E3 / Infusion + Traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) E4 :**

Ces résultats nous démontrent la différence entre des extraits non traités et ceux traités aux microondes à différentes durées, obtenus à partir d'une infusion.

Pour les extraits E2, E3 et E4 qui ont été traités aux microondes, on constate que les valeurs de l'IC₅₀ du DPPH (b,c / b, c / a) et l'EC₅₀ du FRAP (c / b, c / b, c) ont augmenté d'une manière significative sous l'effet des microondes, en parallèle le dosage des flavonoïdes totaux à lui aussi diminué. Ceci dit, l'utilisation des microondes à différentes durées de traitement a donc une influence sur l'activité antioxydante, notamment sur les flavonoïdes d'une manière spécifique.

Un taux élevé des polyphénols totaux est constatée après le traitement aux microondes de 15s avec une diminution des IC₅₀ de l'ABTS, indiquant une meilleure activité antioxydante pour E3 (a, b, c) par rapport à E2 (a) pour le test de l'ABTS tandis qu'après un traitement de 30s, le taux des polyphénols totaux a diminué significativement en parallèle d'une augmentation de l'IC₅₀ de l'ABTS (E3 ; a, b)

- **Matière végétale sèche + Traitement aux micro-ondes (15s / 340 W) (E5) + Infusion / Matière végétale sèche + Traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) + Infusion (E6)**

Ces résultats nous montrent l'influence du traitement aux microondes à différentes durées des matières végétales sèches avant l'extraction par infusion.

On constate que le taux des flavonoïdes totaux a fortement diminué après le traitement aux microondes de l'extrait E6 par rapport à l'extrait E5, avec une augmentation des valeurs de l'IC₅₀ de l'ABTS (E5 : c / E6 : a, b, c) et l'EC₅₀ du FRAP (E5 : a / E6 : a, b), ce qui indique une diminution de l'activité antioxydante par ces méthodes.

En parallèles les résultats montrent également un dosage de polyphénols totaux qui augmente, avec une meilleure activité antioxydantes des tests de DPPH et CAT, le traitement aux microondes a donc eu un effet positif sur ces derniers.

- **Matière végétale sèche + Traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) + Infusion E6 / Matière végétale sèche + traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) + Macération E8**

Ces résultats nous ont permis de déterminer une meilleure méthode d'extraction après un traitement aux microondes de la matière végétale sèche.

Une valeur d'IC₅₀ minimale est indiquée pour l'extrait E6 traduite par une meilleure activité antioxydante par la méthode de DPPH pour l'infusion, alors qu'on constate une valeur élevée des flavonoïdes totaux et des polyphénols totaux, des IC₅₀, EC₅₀ pour la méthode de CAT et FRAP respectivement.

Pour l'extrait 8 nous avons obtenus à partir d'une macération, une meilleure activité antioxydante et une bonne teneur en métabolites secondaires (flavonoïdes, composés phénoliques). On note que l'activité antioxydante par l'ABTS est restée constante.

- **Macération, Sans traitement aux micro-ondes E1 / Matière végétale sèche + Macération + traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) E7**

Ces résultats nous montrent les changements apparents après un traitement aux microondes, d'une extraction par macération, ce traitement ayant été effectué sur la solution de l'extraction par macération avant d'être introduit dans l'étuve pour l'évaporation à sec.

On remarque que le traitement aux microondes de la solution de macération donne des résultats plus significatifs avec des différences remarquables. La valeur des CI₅₀, EC₅₀ des différentes méthodes de DPPH, ABTS, FRAP et CAT indiquent une meilleure activité antioxydante, avec un taux élevés de dosages des polyphénols totaux et flavonoïdes totaux. Cela indique que le traitement aux microondes de la macération a eu un effet positive, voir bénéfique pour les différentes activités antioxydantes, notamment sur les molécules bioactives de nos extraits.

- **Macération, Sans traitement aux micro-ondes E1 / Matière végétale sèche + traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) + Macération E8 :**

Ces résultats nous indiquent les différences entre une matière végétale non traité aux microondes, et celle ayant subi un traitement aux microondes avant une extraction par macération.

Des différences significatives ont été obtenues pour l'extrait E8 en ce qui concerne l'activité antioxydante par les méthodes de DPPH, ABTS, et FRAP, ceci concorde avec les meilleurs dosages en polyphénols totaux, tandis que l'extrait E1 montre le meilleur dosage des

flavonoïdes totaux. Ceci dit l'activité de la CAT est resté constante pour les deux différents extraits.

- **Matière végétale sèche + Macération + traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) E7 / Matière végétale sèche + traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) + Macération E8**

Ces résultats nous montrent des différences entre la macération traitée aux microondes et une matière végétale sèche traitée aux microondes avant l'extraction par macération.

L'extrait 7 révèle les meilleures activités antioxydantes notamment pour les méthodes de DPPH, FRAP et CAT. Pour la technique de l'ABTS les résultats sont constants entre les deux extraits. On constate également que les taux des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux sont significativement élevés pour l'extrait 7, cela nous démontre que le traitement aux microondes d'une solution de macération donne un meilleur rendement en ce qui concerne l'activité antioxydantes et les molécules bioactives des extraits.

A partir de la totalité de ces résultats , l'extrait 7 dont la solution de macération avait été traité par microonde d'une durée de 30s a 340 W, comparé au reste des extraits, représente les meilleures valeurs des CI_{50} pour l'ABTS , et la CAT , et celles des EC_{50} pour le FRAP, ainsi qu'un taux élevé de dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes totaux.

La meilleure valeur de l' CI_{50} par la méthode de DPPH a été constatée pour l'extrait E6 indiquant la meilleure activité antioxydante par cette méthode.

Tableau 7 : Tests de l'activité antioxydante par méthodes de DPPH, ABTS, CAT, FRAP, l'analyse de la variance et les concentrations en polyphénols et flavonoïdes totaux des 8 extraits.

| | CI ₅₀ (DPPH) | CI ₅₀ ABTS | CI ₅₀ CAT | EC ₅₀ FRAP | [PP] (mg/mL) | [FLAV] (Ug/mL) |
|--|-------------------------|-------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------|-------------------|
| E1 : Macération, Sans traitement aux micro-ondes | 0,30 ^b | 0,10 ^c | 0,20 | 1,59 ^{b, c} | 0,41 | 434,83 |
| E2 : Infusion, Sans traitement aux micro-ondes | 0,15 ^{b, c} | 0,14 ^a | 0,16 | 1,00 ^c | 0,40 | 297,48 |
| E3 : Infusion + Traitement aux micro-ondes (15s / 340 W) | 0,16 ^{b, c} | 0,10 ^{a, b, c} | 0,19 | 1,37 ^{b, c} | 0,54 | 255,50 |
| E4 : Infusion + Traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) | 0,52 ^a | 0,14 ^{a, b} | 0,18 | 1,41 ^{b, c} | 0,34 | 231,65 |
| E5 : Matière végétale sèche + Traitement aux micro-ondes (15s / 340 W) + Infusion | 0,23 ^{b, c} | 0,06 ^c | 0,08 | 2,00 ^a | 0,28 | 455,55 |
| E6 : Matière végétale sèche + Traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) + Infusion | 0,12 ^c | 0,08 ^{a, b, c} | 0,18 | 2,14 ^{a, b} | 0,38 | 196,52 |
| E7 : Matière végétale sèche + Macération + traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) | 0,22 ^{b, c} | 0,06 ^c | 0,26 | 0,97 ^c | 0,75 | 467,48 |
| E8 : Matière végétale sèche + traitement aux micro-ondes (30s / 340 W) + Macération | 0,24 ^{b, c} | 0,07 ^{b, c} | 0,21 | 1,01 ^{b, c} | 0,44 | 240,35 |
| P-values | P=5,1378E-06 | P=0,00029 | P=0,000349 | P=0,00115697 | - | - |

NB: Les moyennes qui ne partagent pas une lettre sont significativement différents.

Discussion

Cette étude menée sur les graines vertes de l'espèce de café *C. arabica*, à travers des traitements et expérimentations différentes, nous avons obtenu des résultats variables et significatifs en ce qui concerne les méthodes d'extractions avec leurs rendements les plus intéressants, les activités biologiques de cette plante, notamment l'activité antioxydante étudiée à travers divers méthodes très utilisées en biochimie appliquée, les composés biologiquement actifs de cette plante comme les polyphénols et flavonoïdes et en dernier l'étude de l'effet du four à microondes sur différentes activités biologiques et métabolites secondaire de *C.arabica*.

L'extrait E7 dont la macération avait été traité aux microondes (30s /340 W) représente des résultats très intéressants comparés à l'extrait E1 (macération sans microondes), avec un meilleur rendement d'extraction et un dosage de polyphénols et flavonoïdes totaux supérieur au reste des extraits obtenus. L'extrait E7 montre également les meilleures valeurs CI_{50} pour l'ABTS et la CAT, ainsi que les meilleures valeurs d' EC_{50} pour le FRAP. Ces observations suggèrent que l'utilisation des micro-ondes a eu un impact positif sur l'activité antioxydante de l'extrait traité ainsi que sur la concentration des molécules bioactives présentes dans celui-là.

Cela peut être dû aux caractéristiques principales des microondes, qui combinent les avantages de la macération traditionnelle (temps de contact prolongé avec le solvant) avec les effets accélérateurs et améliorateurs de solubilité des microondes. Ceci dit le traitement par microondes peut chauffer la solution d'extraction, ce qui augmente la solubilité des composés bioactifs dans le solvant. Cela permet une meilleure diffusion des composés à partir de la matière végétale vers le solvant. Ce qui conduit à des rendements d'extraction plus élevés et à des concentrations accrues de composés bioactifs tels que les polyphénols et les flavonoïdes. Certains travaux de recherche suggèrent que les microondes pourraient en fait préserver certains composés phytochimiques comparés à d'autres méthodes de traitement thermique plus agressives. (Yang et al, 2011)

L'influence des microondes sur la quantité de flavonoïdes dans une matière végétale peut varier notamment en fonction des caractéristiques intrinsèques de la matière végétale et les conditions spécifiques de traitement par microondes (temps, puissance, méthode d'exposition). Ils peuvent induire des changements physico-chimiques dans les tissus végétaux en raison de l'énergie thermique générée, par exemple influencer la structure chimique des composés présents dans la matière végétale ou bien provoquer des ruptures de liaisons faibles ou modifier la solubilité

des composés. Cela pourrait potentiellement dégrader certains composés bioactifs, y compris les flavonoïdes, surtout à des températures élevées ou lors d'une exposition prolongée, et augmenter ou diminuer ainsi l'extraction de certains constituants par rapport à une macération simple. **(Vorobiev et Lebovka 2012)**.

Les solvants couramment utilisés en Extraction Assistée par Microondes (MAE) sont principalement des solvants à forte constante diélectrique. Les solvants polaires, caractérisés par un dipôle permanent, absorbent fortement les micro-ondes, contrairement aux solvants apolaires qui ont une faible constante diélectrique. Toutefois, la sélectivité de l'extraction et la capacité du milieu à interagir avec les microondes peuvent être ajustées en utilisant des mélanges de solvants ou des solvants apolaires purs. Dans certains cas, la matrice végétale elle-même peut interagir avec les microondes, qui irradient sélectivement les composés polaires présents dans divers types de tissus. **(Corder et al, 2006)**. Cela se traduit par les différences entre une macération simple (E1), une macération a solvant aqueux ayant subi un traitement aux microondes (E7) et une matière végétale traitée aux microondes avant la macération (E8), dont le milieu qui a été traité aux microondes est moins polaire (matière végétale).

Etant donné que l'extrait E7 a montré la meilleure activité antioxydante et la bonne teneurs en molécules bioactives, par rapport à l'extrait d'une macération aqueuse simple E1 d'une part, et que l'extrait E8 n'est pas significativement différent de l'extrait E7 en ce qui concerne l'activité antioxydante et les teneurs en composé phénoliques, à l'exception des dosages des flavonoïdes totaux d'une autre part, la séquence d'application des microondes est donc un facteur cruciale pour l'extraction des molécules bioactives et aussi leurs activités biologiques.

La méthode d'extraction liée à l'utilisation des microondes sur les différents extraits et matières végétale a aussi donné des résultats significatifs. On observe qu'une macération simple (E1) de notre matière végétale sèche, est bien meilleure qu'une infusion simple (E2), avec une teneur en flavonoïdes totaux plus élevée, une quantité de polyphénols similaire, une meilleure activité antioxydante par la méthode de l'ABTS et CAT.

D'autres résultats de notre étude mènent à des conclusions similaires. L'extrait E6 (infusion) bien qu'il est doté de la meilleure capacité antiradicalaire du DPPH, les meilleures teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux ainsi que l'activité antioxydante des méthodes FRAP et CAT sont attribués à l'extrait E8 (macération).

La macération implique généralement un temps d'extraction plus long que l'infusion. Ce temps prolongé permet aux solvants (comme l'eau ou l'alcool) de pénétrer plus profondément dans les

matières végétales, facilitant ainsi l'extraction de composés actifs qui peuvent être moins solubles ou nécessiter plus de temps pour se libérer. On peut aussi suggérer que la macération permet une meilleure extraction de composés thermolabiles : Certains composés actifs dans les plantes sont sensibles à la chaleur et peuvent être dégradés lors de l'infusion, qui implique l'utilisation d'eau chaude. En revanche, la macération se fait à température ambiante ou à froid, préservant ainsi ces composés thermolabiles.

Cependant, les différences significatives observées dans les résultats des extraits E3 et E4 démontrent l'influence négative que peut avoir un traitement aux microondes à différents temps de traitements, sur une extraction végétale, étant donné sur les molécules bioactives que sur l'activité antioxydante. Dans ces deux différentes analyses, le temps de traitement différents des deux extraits est un facteur déterminant ces altérations et différences significatives. Ceci dit, la diminution des taux des polyphénols totaux et les flavonoïdes totaux sont proportionnelles à une augmentation significative des CI_{50} de l'activité du test de DPPH, cela induit une influence sur l'activité antioxydante qui est devenu faible après le traitement aux microondes (E4).

Une augmentation significative observé entre le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait E2 (sans traitement aux microondes) et l'extrait E3 (traitement à 15s), est proportionnelle à une augmentation de l'activité antioxydante par la méthode de l'ABTS. Elle est suivie d'une diminution significative des deux paramètres (activité antioxydante et dosage des polyphénols) après un traitement de 30 secondes aux microondes sur l'extrait E4, ce qui en témoigne de cette influence négative après une durée de traitement prolongée.

Certaines études indiquent que l'exposition aux microondes peut occasionnellement accroître l'activité antioxydante en libérant une quantité accrue de composés phénoliques et d'autres antioxydants dans les extraits végétaux. Toutefois, ces effets peuvent varier en fonction de plusieurs facteurs : l'intensité, la durée et la fréquence spécifiques de l'exposition aux microondes, ainsi que des propriétés chimiques des composés végétaux concernés. **(Bhupathiraju et al, 2012).**

Par leurs effets thermiques, et la chaleur qui persiste et se propage après une durée de traitement prolongée, les microondes génèrent de la chaleur par agitation moléculaire, ce qui peut conduire à une augmentation de la température de la matière végétale. Cette chaleur peut dénaturer les protéines et altérer la structure des composés thermosensibles. Donc, les polyphénols et flavonoïdes sont des composés connus comme étant thermosensibles. Une exposition excessive

à la chaleur des microondes peut entraîner leur dégradation. Cela explique pourquoi une augmentation initiale de l'extraction est observée avec un court traitement, suivie d'une diminution avec un traitement prolongé (**Sadeghi et Shawrang, 2007**).

Dans la présente étude, une augmentation initiale de l'extraction des polyphénols a été observée avec un traitement court aux micro-ondes (15 secondes), suivie d'une diminution significative avec un traitement prolongé (30 secondes). Ce schéma est en accord avec la sensibilité thermique connue de ces composés et souligne l'importance d'optimiser les conditions d'extraction pour maximiser le rendement sans compromettre l'intégrité des composants bioactifs.

Une étude menée par **Spigno et De Faveri (2009)** a rapporté que bien qu'un traitement bref aux microondes améliorait l'extraction des polyphénols des marcs de raisin, un traitement prolongé entraînait une diminution marquée du contenu en polyphénols et de l'activité antioxydante.

Un autre mécanisme possible est proposé : les divers effets des microondes affaiblissent de manière synergique les forces intramoléculaires et intermoléculaires antérieures, y compris la liaison hydrogène, la liaison disulfure et les interactions hydrophobes, ce qui conduit à la formation d'une nouvelle structure par réarrangement des forces moléculaires. (**Zhu et al, 2018**). On suggère alors par cela que la structure chimiques de certaines molécules bioactives ont été modifié soit par rupture de liaisons non covalentes ou bien par changement de conformation, ce qui influence sur leurs divers activités antioxydantes. La mésomérie joue souvent un rôle crucial dans la stabilisation de structures moléculaires spécifiques qui influencent les propriétés biologiques et chimiques des composés. Ainsi, l'application des micro-ondes peut altérer cette mésomérie, entraînant des modifications des propriétés physiologiques des composés bioactifs.

Quatrième partie: Conclusion et perspectives

Les activités biologiques des végétaux sont sujettes de plusieurs recherches dans le monde, de par leurs utilisations et bienfaits divers pour l'homme. L'utilisation des microondes domestiques est un facteur crucial qu'on retrouve également dans ces différentes études, ayant un rôle important dans la variation des molécules bioactives ainsi que leurs activités

biologiques. Dans la présente étude, nous avons pu déterminer certaines de ces effets sur les graines vertes de l'espèce *C.arabica*.

Les microondes ayant été utilisés directement sur un milieu aqueux de l'extraction par méthode de macération (E7), donne une meilleure activité antioxydante et une teneur de polyphénols et flavonoïdes totaux supérieur. Cela indique également que cette séquence d'utilisation des microondes donne les meilleurs résultats d'extraction. Le choix de la séquence de l'utilisation des microondes est donc un facteur important pour l'extraction des molécules biologiques ainsi que leurs quantités et activités biologiques.

Les extraits obtenus par la méthode de macération (E1 comparé à E2, E8 Comparé à E6) démontrent une meilleure activité antioxydante ainsi que des dosages de polyphénols et flavonoïdes totaux plus élevés. L'utilisation combinée de macération et de microondes est particulièrement efficace pour maximiser l'extraction des composés bioactif ayant une bonne activité antioxydante.

Les résultats soulignent l'équilibre délicat nécessaire lors de l'utilisation de traitements aux microondes pour l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes. Bien qu'une exposition brève puisse améliorer l'efficacité de l'extraction, un traitement prolongé peut entraîner une dégradation significative de ces composés thermosensibles. Par conséquent, une optimisation minutieuse des paramètres de traitement aux micro-ondes est essentielle pour maximiser les bénéfices de ces composés bioactifs pour les applications alimentaires et pharmaceutiques.

En intégrant ces perspectives, cette recherche enrichit les connaissances actuelles et ouvre de nouvelles voies pour une utilisation efficace et durable des microondes dans l'extraction et l'exploitation des propriétés bénéfiques des plantes pour la santé humaine et l'innovation industrielle.

Pour approfondir cette étude, il serait intéressant de:

- Etudes approfondies sur les interactions spécifiques entre les microondes et les constituants bioactifs des plantes.

Quatrième partie: Conclusion et perspectives

- Etudes des effets d'un traitement prolongé sur les molécules bioactives.
- Tester d'autres activités biologiques combinées aux effets des microondes tout en élargissant leur application dans divers domaines scientifiques et industriels.
- Elargissement de l'application des microondes dans divers domaines scientifiques et industrielles.

Références bibliographiques

Références bibliographiques:

A

Aissaoui, M. (2021). *Recherche des composés à activités biologiques à partir des graines vertes de Coffea canephora et Coffea Arabica* (Thèse de doctorat, Université Aboubekr Belkaïd, Tlemcen). <http://dspace1.univ-tlemcen.dz/handle/112/16989>

Alègre, C. (1959). Climats et caféiers d'Arabie. *Agronomie Tropicale*, 14, 23–58.

Al-Harahsheh, M., & Kingman, S. W. (2004). Microwave-assisted leaching—a review. *Hydrometallurgy*, 73, 189–203.

Alzand, K. I., & Mohamed, M. A. (2012). Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Antioxidant activity. *J. Pharm. Res.*; 5: 4013-4020.

Affonso, R. C. L., Voytena, A. P. L., Fanan, S., Pitz, H., Coelho, D. S., Horstmann, A. L., Pereira, A., Uarrota, V. G., Hillmann, M. C., Calbusch, L. A. V., Ribeiro-do-Valle, R. M., & Maraschin, M. (2016). Phytochemical Composition, Antioxidant Activity, and the Effect of the Aqueous Extract of Coffee (*Coffea arabica* L.) Bean Residual Press Cake on the Skin Wound Healing. *Oxid Med. Cell. Longev.*; 2016: 1923754.

Ahamet S. (2003) Etude phytochimique et des activités biologiques de *Balanites aegyptiaca* L. (Balanitaceae). Thèse Pharmacie : Bamako; 117.

Anderson, C. M., Hallberg, A., & Hogberg, T. (1996). Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. *Adv Drug Res.*, 28, 65-180.

Anthony, F., Berthaud, J., Guillaumet, J. L., & Lourd, M. (1987). Collecting wild *Coffea* species in Kenya and Tanzania. *Plant Genet Res Newsl*, 69, 23–29.

Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C., Masella R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann. Ist. Super. Sanità*; 43: 348-361.

Agarwal.F, (2009), "Effect of mobile telephones on sperm quality: a systematic review and meta-analysis," *Environmental International*.

Avila-Villarreal, G., Hernández-Abreu, O., Hidalgo-Figueroa, S., Navarrete-Vázquez, G., Escalante-Erosa, F., Peña-Rodríguez, L. M., Villalobos-Molina, R., & Estrada-Soto, S. (2013).

Antihypertensive and vasorelaxant effects of dihydrospinochalcone-A isolated from *Lonchocarpus xuul* Lundell by NO production: Computational and ex vivo approaches. *Phytomedicine*, 20, 1241–1246.

Azzizi, H., & Elouedjedi Talet, G. (2017). Effets de la consommation du café sur le statut oxydant/antioxydant des étudiants de l'Université de Tlemcen. Mémoire de Master, Université de Abou Bekr Belkaid.

B

Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de Docteur. Université de Bamako, Mali et Université Blaise Pascal – Clermont Ferrand II, France.

B. Balmori, (2009), "Electromagnetic pollution from phone masts: effects on wildlife," *Pathophysiology*.

Benbabouche, B. (2013). Contribution à l'étude qualitative des cafés de consommation commercialisés dans la région de Tlemcen. Mémoire de Master, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.

Bencheikh, S. (2017). Etude de l'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium* ssp *Aurasianum Labiatae*. Thèse de Doctorat, Université Kasdi Merbah Ouargla.

Benmeddour, D. (2020). Enquête sur la récupération spécifique et la valorisation du marc de café. Mémoire de Master, Université l'Arbi Ben M'heddi Oum El Bouaghi.

Bennefont-Rousselot, D., Therond, P., & Delattre, J. (2003). Radicaux libres et antioxydants. In Flammarion Médecine-Sciences (Ed.), *Radicaux libres et antioxydants* (pp. 59-81).

Benmeddour, D. Enquête sur la récupération spécifique et la valorisation du marc de café, mémoire de Master, Univ l'Arbi Ben M'heddi Oum El Bouaghi 2020.

Bennefont-Rousselot, D., Beaudoux, J.-L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier Edition TEC & DOC éditions médicales internationales.

Bhupathiraju S.N., Pan A., Malik V.S., Manson J.E., Willett W.C., Van Dam R.M., Hu F.B. (2012). Caffeinated and caffeine-free beverages and risk of type 2 diabetes. *Am. J. Clin. Nutr.*; 97:155-66.

Blé, K. B., Trebissou, J. N. D., Bidie, A. P., Assi, Y. J., Zirihi-Guede, N., & Djaman, A. J. (2015). Étude ethnopharmacologique des plantes antipaludiques utilisées chez les Baoulé-N'Gban de Toumodi dans le Centre de la Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 85, 7775–7783.

Blake.B Levitt and Henry Lai, (2010), "Biological effects from exposure to electromagnetic radiation emitted by cell tower base stations and other antenna arrays," *Environmental Reviews*.

Boizot N. et Charpentier J.P. (2006) Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *INRA - Amélioration Génétique et Physiologie Forestières*; 79-82.

BOUHENNICHE, Imène, & ZERGUI, Afaf. (2018). Contribution à la valorisation des déchets de cafés commercialisés dans la région d'Ain Defla. Mémoire de Master, Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana.

Bouden, H., & Kadri, A. (2019). Contrôle de qualité du café et du safran. Mémoire de Master, Université Blida 1.

BRADA, M. I., & BOUDJEMAA, M. I. (2019). La place du café dans l'alimentation des Algériens.

Bruneton, J. (1987). *Éléments de phytochimie et de pharmacognosie*. Tec & Doc Lavoisier.

Bruneton, J. (1993a). *Plantes Médicinales: Phytochimie, Pharmacognosie (2ème éd.)*. Lavoisier.

Bruneton, J. (1993b). *Plantes Médicinales: Phytochimie, Pharmacognosie (2ème éd.)*. Lavoisier.

Bruneton J. (1999) *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. (3ème édition). Lavoisier Tec et Doc.Paris ; 1120.

Boros, B., Jakabová, S., Dörnyei, Á., Horváth, G., Pluhár, Z., Kilár, F., & Felinger, A. (2010). Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*, 1217, 7972–7980.

Boudjellal, N, A. Mellouk, Réalisation d'une préparation alimentaire à base de café et de graines de lupinus Albus, mémoire de Master, Univ de Djillali Bounama de Khemis- Miliana 2018.

C

Cetkovic G., Canadanovic B.J. Djilas S., Savatovic S., Mandic R and Tumbas V. (2008) Assessment of polyphenolic content and in vitro antiradical characteristics of apple pomace. *Food Chemistry* ; 109:340-347

Cheney, R. H. (1925). *Coffee*. The New York University Press, New York.

Clay, J. (2004). *Coffee*. In *World agriculture and the environment* (pp. 69–91). Island Press.

Clifford, M. N. (2000). Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1033–1043.

Clifford, M. N., Johnston, K. L., Knight, S., & Kuhnert, N. (2003). The characterisation by LC-MSn of coffee seed caffeoylferuloylquinic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2900–2911. <https://doi.org/10.1021/jf020780b>

Clifford, M. N., & Willson, K. C. (1985). *Coffee: Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage*. Croom Helm.

Collin, R. E. (1992). *Foundations for Microwave Engineering*, Second Edition.

Collin, R. E. (2007). *Foundations for microwave engineering*. John Wiley & Sons.

Coltro, L., Mourad, A., Oliveira, P., Baddini, J., & Kletecke, R. (2006). Environmental Profile of Brazilian Green Coffee. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 11(1). <https://doi.org/10.1065/lca2006.01.230>

Corder, R., Mullen, W., Khan, N.Q., Marks, S.C., Wood, E.G., Carrier, M.J. and Crozier, A. (2006) Oenology: Red wine procyanidins and vascular health. *Nature*, 444(7119), 566-566.

Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.

Combes, P. F. (1996). *Micro-ondes - Cours et exercices avec solutions, Lignes, guides et cavités, tome 1*. Edition Dunod.

Christèle, B. (2006). Extraction concentration et caractérisation des composés polyphénoliques du café vert.

Chouitah, O. (2012). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*. Université d'Oran.

D

Dacosta Yves. (2003) Les phytonutriments bioactifs. Paris; 317.

Davis, A. P., Mieulet, D., Moat, J., Sarmu, D., & Hagggar, J. (2021). *Nature Plants*, 7, 413–418.

Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 174-181.

DARDALHON SAMSONOFF, M. I. C. H. E. L. E. (1986). *Etude des effets biologiques des microondes à faibles et forts niveaux de puissance chez les microorganismes et les cellules de mammifères* (Doctoral dissertation, Paris 7).

Datta, A. K., & Anantheswaran, R. C. (2001). *Handbook of Microwave Technology for Food Applications*. Marcel Dekker.

Debuigne, G. (1974). *Larousse des plantes qui guérissent*.

Douris, P. C., Elokda, A. S., Handrakis, J. P., Principal, S., Rondo, E., Bovell, J., Coughlin, W. P., Mastroianni, C. N., Wong, M. J., & Zimmerman, T. (2009). Martial art training enhances the glutathione antioxidant system in middle-aged adults. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 23(5), 1518-1523.

Dussert, S., Lashermes, P., Anthony, F., Montagnon, C., Trouslot, P., et al. (2003). Coffee (*Coffea canephora*). In P. Hamon, M. Seguin, X. Perrier, & J.-C. Glaszmann (Eds.), *Genetic diversity of cultivated tropical plants* (pp. 239–258). Science Publishers Inc.

E

Eira, M. T. S., Amaral da Silva, E. A., de Castro, R. D., Dussert, S., Walters, C., et al. (2006). Coffee seed physiology. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18, 149–163.

Élie, F. (2004). Polarité de l'eau et modèle quantique des molécules. Récupéré sur <http://fred.elie.free.fr>

Élie, F. (2016-2017). Rayonnements micro-ondes: temps de relaxation de Debye.

EL-HACI, I. A. E. (2015). Étude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales endémiques du sud algérien. Thèse de doctorat, Université Abou-Baker-Belkaid Telemcen, Algérie.

Elhassani. M.A, (2010) "Effect of electromagnetic waves from mobile phones on female fertility," African Journal of Reproductive Health.

Eszka-Skowron M., Sentkowska A., Pyrzyńska K., De Peña M.P. (2016). Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts: influence of green coffee bean preparation. *Eur. Food Res. Technol.*; 242: 1403-1409.

F

Farah, A. (2010). Vapo-diffusion assistée par micro-ondes : conception, optimisation et application (Thèse de doctorat, Université d'Avignon; École nationale d'ingénieurs de Gabès, Tunisie).

Farah, A., de Paulis, T., Trugo, L. C., & Martin, P. R. (2005). Effect of roasting on the formation of chlorogenic acid lactones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1505–1513. <https://doi.org/10.1021/jf040397c>

Farah, A., de Paulis, T., Trugo, L. C., & Martin, P. R. (2006). Chlorogenic acids and lactones in regular and water-decaffeinated arabica coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(1), 374–381. <https://doi.org/10.1021/jf0515233>

Favier, A. (2003). Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108–115.

Fidelis, T. (2001). Valorisation des polyphénols végétaux dans l'alimentation.

Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2010). Citrus d'Algérie: les huiles essentielles et leurs procédés d'extractions. (Ed) OPU Alger.

Fouche. G; Marquet et Hambuchers A. (2000) Les plantes médicinales, médicament, observation du monde des plantes. *Biochemistry* ; 13 : 645-652.

Franke, M., & Winek, C. L. (1996). Extraction of selected drugs from serum using microwave irradiation. *Forensic Science International*, 81, 51-59.

Fredholm, B. B., Bättig, K., Holmén, J., Nehlig, A., & Zvartau, E. E. (1999). Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacological Reviews*, 51(1), 83–133.

G

Gadjev, I., Stone, J. M., & Gechev, T. S. (2008). Programmed cell death in plants: New insights into redox regulation and the role of hydrogen peroxide. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 270, 87-144.

Gallawa, J. C. (2007). *The Complete Microwave Oven Service Handbook*. Microtech, Florida.

Garait, B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin. Thèse de doctorat en biologie cellulaire, Université Joseph Fourier. P 195.

Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D; (2003) Espèces réactives de loxygène. Comment loxygène peut-il devenir toxique ? *L'actualité chimique*; 91-96.

Georgiou, P. et al. (2015), "Oxidative stress-induced biological damage by low-level EMFs: mechanism of free radical pair model," *Research on Chemical Intermediates*.

German, J. B. (1999). Food processing and lipid oxidation. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 459, 23-50.

Glimn-Lacy, J., & Kaufman, P. B. (2006). *Botany illustrated: Introduction to plants, major groups, flowering plant families*. 2nd ed. Springer Science.

Gueye P.M. (2007) Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-erythrocytaire sur le globule rouge Thèse de Doctorat Université Louis Pasteur Strosbourg; 247.

H

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*, 62, 628-638.

Halliwell, B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, 141(2), 312-322.

Hans W.K. (2007) 1000 Plantes aromatiques et médicinales. Terre édition .France Toulouse; 336

Hashish M.S. et al, (2013), "Effect of electromagnetic field emitted from mobile phone on the levels of monoamine neurotransmitters in four different areas of rat brain," *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*.

Hellsten, Y., Svensson, M., Sjödin, B., Smith, S., Christensen, A., Richter, E. A., & Bangsbo, J. (2001). Allantoin formation and urate and glutathione exchange in human muscle during submaximal exercise. *Free Radical Biology & Medicine*, 31(11), 1313-1322.

Helliwell B and Whiteman M., (2004) Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture. *British Journal of pharmacology*; 142: 15-26 39.

Helliwell B. and Gutteridge J.M.C. (2007) *Free Radicals in Biology and Medicine*. 4th ed. Oxford university Press; 20-31

Huang D.and Prior R.L. (2005) The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 53: 1841-1856.

Hyland .G.J, (2001), "The physiological and environmental effects of non-ionising electromagnetic radiation," *European Parliament, Directorate-General for Research*, 2001.

I

ICO. (2010). International Coffee Organization - What's New. <https://www.ico.org/>

Iserin, P. (2001). *Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, préparation, soins*. 2e édition. Dorling Kindersley Limited, Londres.

J

Jolivel, A. (2013). *Glutathion : antioxydant, détoxiquant, immunostimulant*. Nature Algue.

Johnson, R. J., Sautin, Y. Y., Oliver, W. J., Roncal, C., Mu, W., Gabriela Sanchez-Lozada, L., Rodriguez-Iturbe, B., Nakagawa, T., & Benner, S. A. (2009). Lessons from comparative physiology: Could uric acid represent a physiologic alarm signal gone awry in western society? *Journal of Comparative Physiology B*, 179(1), 67-76.

K

Khanbabaee, K., & van Ree, T. (2001). Tannins: Classification and definition. *Natural Product Reports*, 18, 641–649.

Kimani, M., Little, T., & Vos, G. M. J. (2002). Introduction to coffee management through discovery learning. CABI Bioscience, African Regional Centre, Nairobi, Kenya.

Kingston, H. M., & Haswell, S. J. (1997). *Microwave-Enhanced Chemistry Fundamentals, Sample Preparation, and Applications*. American Chemical Society, Washington.

Klaunig, J. E., Kamendulis, L. M., & Hocevar, B. A. (2010). Oxidative stress and oxidative damage. *Toxicologic Pathology*, 38, 96–109.

Klein, A. M., Steffan-Dewenter, I., Buchori, D., Coltro, L., Mourad, A., Oliveira, P., Baddini, J., & Kletecke, R. (2006). Environmental profile of Brazilian green coffee (6 pp). *International Journal of Life Cycle Assessment*, 11, 16-21.

Kumar, S., & Pandey, A. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 162750. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>

L

Lambard, Ch. (2003). « Le café de la terre à la tasse ». Centre de Caféologie, Bordeaux.

Lau, M. H., & Tang, J. (2002). Pasteurization of pickled asparagus using 915 MHz microwaves. *Journal of Food Engineering*, 51, 283–290.

Lau, M. H., Tang, J. (2002). Pasteurization of pickled asparagus using 915 MHz microwaves. *Journal of Food Engineering*, 51, 283–290.

Lashermes, P., Carvalho Andrade, A., & Etienne, H. (2008). Genomics of coffee, one of the world's largest traded commodities. In P. H. Moore & R. Ming (Eds.), *Genomics of tropical crop plant* (Chap. 9).

Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125, 288–306.

Lehucher M.P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker.P., Durand. P and Prost M. (2001) Stress oxydant et pathologies humaines. *Press Med*; 30:1076-1081.

Lim, T. K. (2013). *Coffea canephora*. In *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants*. Springer, Netherlands, pp. 680-709.

Lim, T. K. (2013). *Coffea arabica*. In *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 5, Fruits*, pp. 614–679. Springer Science + Business Media.

Liu, R., Zhou, J. L., & Wilding, A. (2004). Microwave-assisted extraction followed by gas chromatography–mass spectrometry for the determination of endocrine disrupting chemicals in river sediments. *Journal of Chromatography A*, 1038, 219–226.

Loupy. (2006). *Microwaves in Organic Synthesis*, 2nd édition, Tome I et II. Wiley-VCH, Weinheim.

M

Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. Lausanne: Presses Polytechniques et Universitaires Romandes.

- Masarirambi, M. T., Chingwara, V., & Shongwe, V. D. (2009). The effect of irrigation on synchronization of coffee (*Coffea arabica* L.) flowering and berry ripening at Chipinge, Zimbabwe. *Physics and Chemistry of the Earth*, 34(13–16), 786–789.
- Mak S., Egri Z., Tanna G., Colman R and Newton G.E. (2002). Vitamin C prevents hyperoxiamediated vasoconstriction and impairment of endothelium-dependant vasodilatation. *American Journal Physiology*; 282: 21-23.
- Marc F. Davin A., Deglene B L et Ferrand C. (2004) Methodes d'evaluation du potentiel antioxydant dans les alients. *Erudit. Médecine sciences*; 20 (4): 458-463
- Mengistu, T. M. (2007). *Presence and frequency of occurrence of plant parasitic nematodes on coffee (Coffea arabica L., Rubiaceae) in Ethiopia and the importance of endophytic microorganisms for biocontrol*. Cuvillier Verlag, Göttingen, Germany.
- Meo, M. et al (2022), "Extensive review on the health effects of wireless radiation," *Environmental Research*.
- Milder, I. E. J., Arts, I. C. W., van de Putte, B., Venema, D. P., & Hollman, P. C. H. (2005). Lignan contents of Dutch plant foods: A database including lariciresinol, pinoresinol, secoisolariciresinol and matairesinol. *British Journal of Nutrition*, 93(3), 393–402. <https://doi.org/10.1079/BJN20051371>.
- Moller, I. M. (2001). Plant mitochondria and oxidative stress: Electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52, 561–591.
- Mouhammedi, I. (2016). Corrélation entre la consommation du café et les marqueurs oxydants chez les femmes, mémoire de Master, Univ Abou Bekr Belkaid Tlemcen.
- Moure A et CRUZ J. M. (2001) Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*; 72: 145-171.
- Murthy, P. S., & Naidu, M. M. (2012). Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—a review. *Resources, Conservation and Recycling*, 66, 45–58.

Murugan, R., & Parimelazhagan, T. (2014). Comparative evaluation of different extraction methods for antioxidant and anti-inflammatory properties from *Osbeckia parvifolia* Arn.–An in vitro approach. *Journal of King Saud University - Science*, 26, 267-275.

Merghem, R. (2009). *Eléments de biochimie végétale*. Ed. Bahaeddine. Constantine, Algérie.

Metaxas, A. C., & Meredith, R. J. (1983). *Industrial Microwave Heating*. Peter Peregrinus Ltd, London, United Kingdom.

N

Nakazawa H. and C. Genka C. (1996) Pathological aspects of active oxygens / free radicals. *Japanese journal of physiology* ; 46: 15-32.

Neve J., Vermongen F et Carpentier Y.A. (1989) Valeurs usuelles du sélénium et de la glutathion peroxydase dans une population Belge. *Ann Biol Clin*; 47 : 43-138.

Norman Krinsky. (2001) Carotenoids as antioxidants. *Nutrition*; 17 : 815-817.

N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G. N., Traoré, D., & Aké-Assi, L. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sci. Nat.*, 6, 1-15.

Newman, M. E. (2000). Models of the small world. *Journal of Statistical Physics*, 101(3), 819-841.

O

Oberfeld.M, (2004), "The microwave syndrome: a preliminary study in Spain," *Electromagnetic Biology and Medicine*.

Ogita, S., Uefugi, H., Yamaguchi, Y., Koizumi, N., & Sano, H. (2003). Producing decaffeinated coffee plants. *Nature*, 423(6942), 823. <https://doi.org/10.1038/423823a>

Oyaizu, M. (1986). Study on products of browning reactions: Antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315.

P

Pall, M. "Microwave frequency electromagnetic fields (EMFs) produce widespread neuropsychiatric effects including depression," *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 2016.

Parras P., Martinez-Tomé M., Jiménez A. M., Murcia M. A. (2007). Antioxidant capacity of coffees of several origins brewed following three different procedures.

Paweł G., Krzysztof D., Aleksander S., Jolanta T., Michał M., Krzysztof P. (2015). Contribution of phenolic acids isolated from green and roasted boiled-type coffee brews to total coffee antioxidant capacity. *Eur. Food Res. Technol.*; 233: 258–264 *Food Chem.*; 102: 582–592.

Patay, E. B., Bencsik, T., & Papp, N. (2016). Phytochemical overview and medicinal importance of *Coffea* species from the past until now. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(11), 1127–1135.

Pasdeloup Grenez, E. (2018). *Phytothérapie - exemples de pathologies courantes à l'officine : Fatigue, Insomnie, Stress, Constipation, Rhume, Douleur et Inflammation*. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Lille, pp. 38, 45, 46.

Pincemail, J., Lecomte, J., Collart, E., Castiaux, J. P., & Defraigne, J. O. (2003). Stress oxidant, antioxidant et exercice physique. *Médecine Interne*, 8, 56-59.

Pincemail, J., Meuriss, M., Limet, R., & Defraigne, J. O. (1999). Mesure et utilisation des antioxydants en médecine humaine. *MEDISPHERE*, 1-4.

Pol, N, Le café: les effets bénéfiques et néfastes sur la santé, mémoire pour l'obtention le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Univ de Lorraine 2013.

R

Rakotonanahary, M. (2012). *Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état*. Université Joseph Fourier, pp. 16, 19, 27, 28.

Rena, A. B., & DaMatta, F. M. (2002). O sistema radicular do cafeeiro: morfologia e ecofisiologia. In L. Zambolim (Ed.), *O estado da arte de tecnologias na produção de café* (pp. 11–83). Viçosa: UFV.

Ross, I. A. (2005). *Coffea arabica L.* In M. Ross (Ed.), *Medicinal Plants of the World* (pp. 155-195). New Jersey: Humana Press Inc.

S

Sadeghi, A. A., & Shawrang, P. (2007). Effects of microwave irradiation on ruminal protein degradation and intestinal digestibility of cottonseed meal. *Livestock Science*, 106(2-3), 176-181

Sandhar, H. K., Kumar, B., Prasher, S., & Tiwari, P. (2011). A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. *International Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 25-41.

Sanchez Moreno.C. (2002) Review. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*; 8:121-137.

Seidel, V. (2005). Initial and Bulk Extraction. In S. D. Sarker, Z. Latif, & A. I. Gray (Eds.), *Natural products isolation* (pp. 27-37). Humana Press (Totowa).

Sherwin, E. R. (1976). Antioxidants for vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 53(6 Part 2), 430-436.

Spigno, G. and De Faveri, D.M. (2009) Microwave-Assisted Extraction of Tea Phenols: A Phenomenological Study. *Journal of Food Engineering*, 93, 210-217. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.01.006>.

Stahl, W., & Sies, H. (1997). Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes*, 46(Suppl 2), S14-18.

Sadeghi, A. A., & Shawrang, P. (2007). Effects of microwave irradiation on ruminal protein degradation and intestinal digestibility of cottonseed meal. *Livestock Science*, 106(2-3), 176-181

T

Thomas, A. S. (1942). The wild arabica coffee on the Boma Plateau, Anglo-Egyptian Sudan. *Empire Journal of Experimental Agriculture*, 10, 207–212.

Toci, A., Farah, A., & Trugo, L. C. (2006). Efeito do processo de descafeinação com diclorometano sobre a composição química dos cafés arábica e robusta antes e após a torração. *Química Nova*, 29, 965-971.

Torga, G. N., & Spers, E. E. (2020). Coffee Consumption and Industry Strategies in Brazil. In *Elsevier* (pp. 21–49).

Trugo, L. C. (2003). Coffee Analysis. In B. Caballero, L. C. Trugo, & P. M. Finglas (Eds.), *Encyclopedia of Food Science and Nutrition* (2nd ed., Vol. 2, p. 498). Oxford Academic Press.

Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2, 1231-1246.

V

Van A., Berg D.J., Tromp M.N.J.L., Griffioen D.H., Bennekom W.P., der Vijgh W.J.F and Bast A. (1996) Structural aspect of antioxidant activity of flavonoids. *Free Rad. Biol. Med* 20: 331-34.

Vorobiev, E., & Lebovka, N. (2012). Microwave-assisted extraction of flavonoids: A review. *Food Chemistry*, 135(3), 1638-1654. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.044>

Vermerris, W., & Nicholson, R. (2006). Isolation and identification of phenolic compounds biochemistry. Springer, Dordrecht. pp. 35-62, 151-191.

Vasconcelos, S. M. L., Goulart, M. O. F., Moura, J. B. F., Manfredini, V., Benfato, M. S., & Kubota, L. T. (2007). Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Quim Nova*, 30(5), 1323-1338.

Vieira, H. D. (2008). Chapter 1. Coffee: the plant and its cultivation. In R. M. Souza (Ed.), *Plant-parasitic nematodes of coffee*. Springer Science, Dordrecht, the Netherlands, pp. 3-18

Y

Yang, X., Jin, Z., & Xu, X. (2011). Microwave-assisted extraction of polyphenols from pine sawdust waste: Effects of extraction parameters on the extraction performance. *Industrial Crops and Products*, 33(3), 759-764. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.01.019>

Yamashita, K., Tanaka, T., & Hayashi, M. (2005). Use of isopropyl alcohol as a solvent in Ti(O-i-Pr)₄-catalyzed Knöevenagel reactions. *Tetrahedron*, *61*, 7981-7985.

Yeretzian, C., Jordan, A., & Lindinger, W. (2003). Analysing the headspace of coffee by proton-transfer-reaction mass-spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*, *223–224*, 115–139.

Yinyang, J., Mpondo Mpondo, E., Tchatat, M., Ndjib, R. C., Mvogo Ottou, P. B., & Dibong, S. D. (2014). Les plantes à alcaloïdes utilisées par les populations de la ville Douala (Cameroun). *J. Appl. Biosci.*, *78*, 6600–6619.

Yvan T. (1997) Pharmacologie 8ème édition. Masson. Paris. Milan. Barcelone; 388.

Z

Zadernowski, R., Czaplicki, S., & Naczka, M. (2009). Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (*Garcinia mangostana*). *Food Chem.*, *112*, 685-689.

Zazzo J.F. (2002) Oxidative stress during acute inflammatory and critical states. Implications for Clinical Practice. *Nutrition clinique et métabolisme*; *16*: 268-274

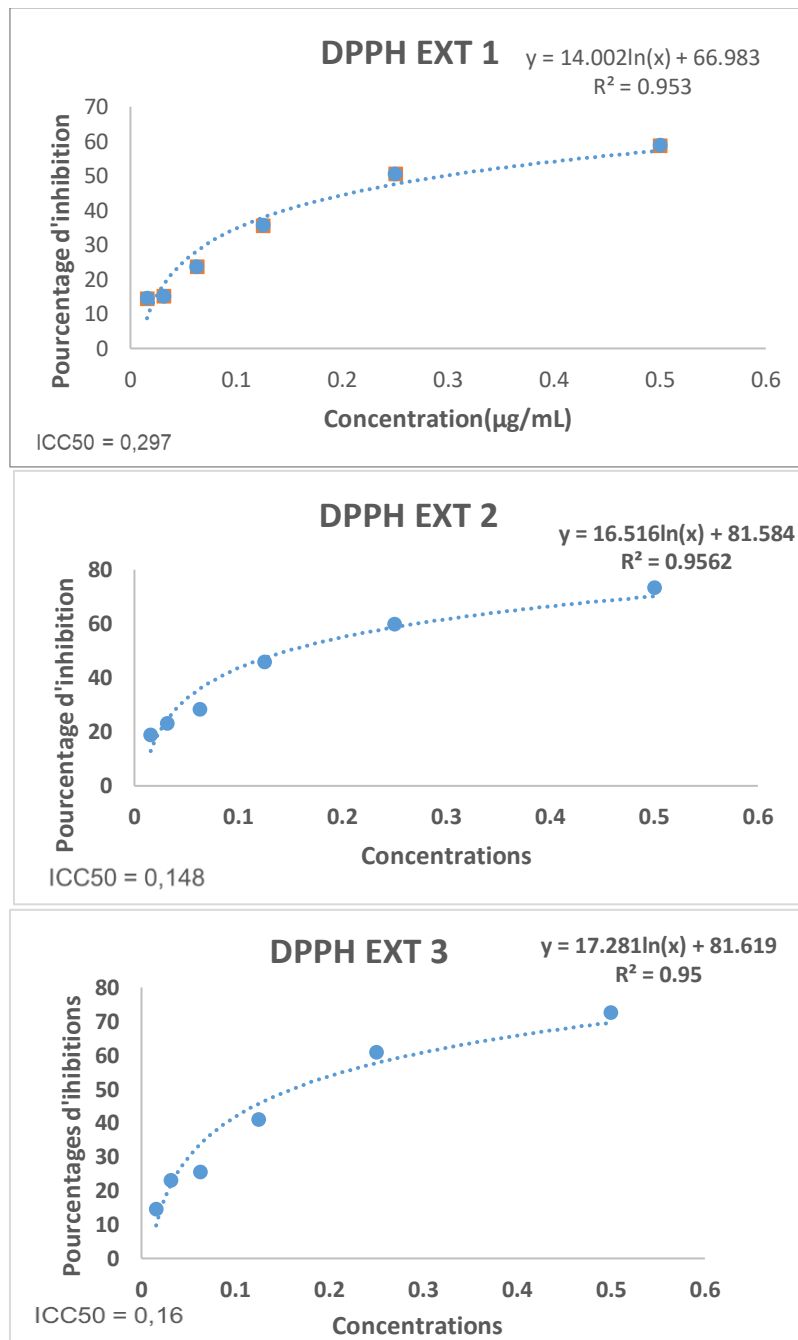
Zhang, F., Chen, B., Xiao, S., & Yao, S. (2005). Optimization and comparison of different extraction techniques for sanguinarine and chelerythrine in fruits of *Macleaya cordata* (Willd). *Sep. Purif. Technol.*, *42*, 283–290.

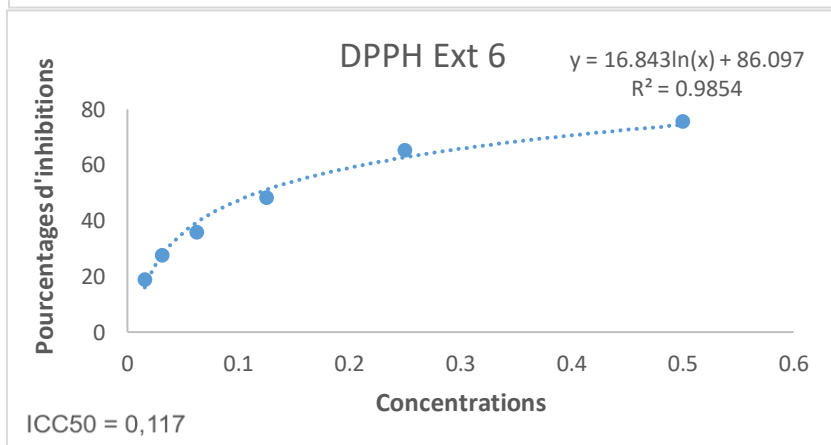
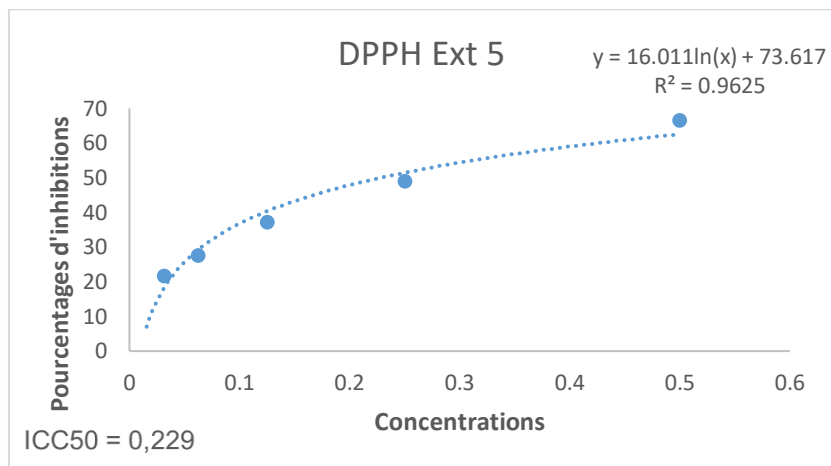
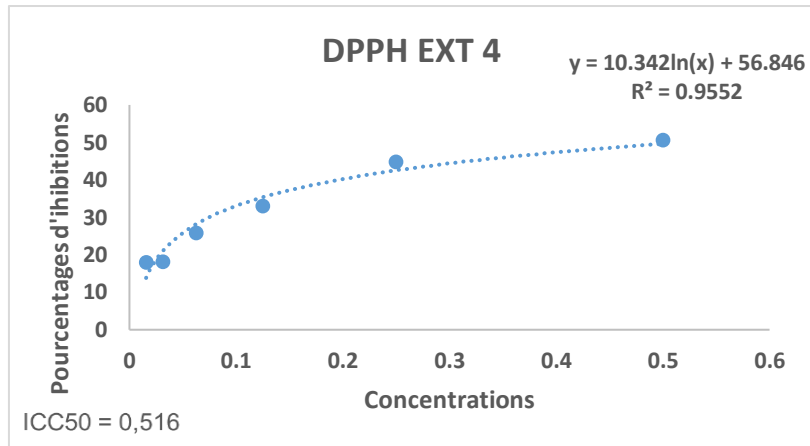
Zhang, M., et al. (2020). Microwave-assisted extraction of bioactive compounds from plant materials. *Trends in Analytical Chemistry*, *122*, 115705

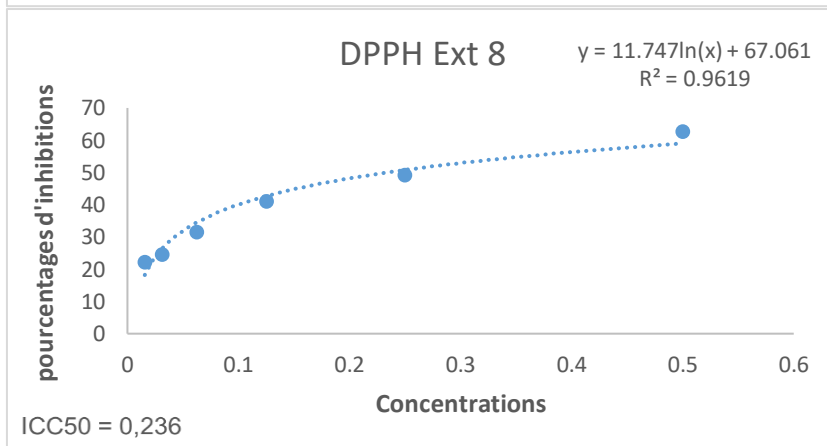
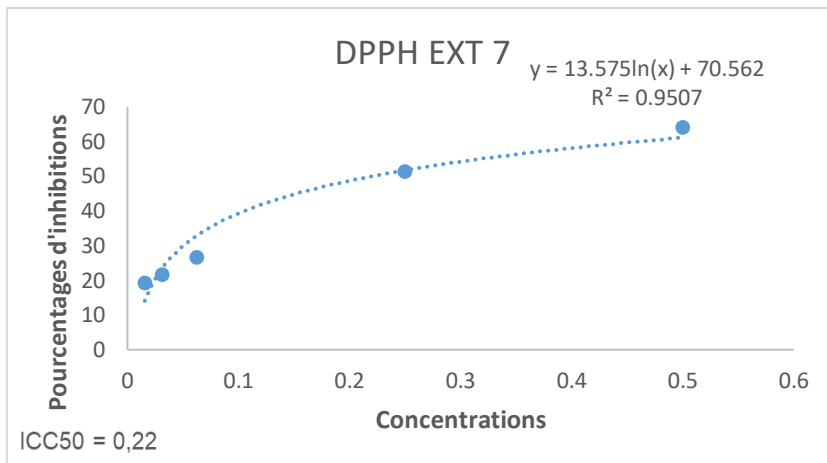
Zhu, Y., Vanga, S. K., Wang, J., & Raghavan, V. (2018). Effects of ultrasonic and microwave processing on avidin assay and secondary structures of egg white protein. *Food Bioprocess Technol.*, *11*(11), 1974-1984.

Annexes

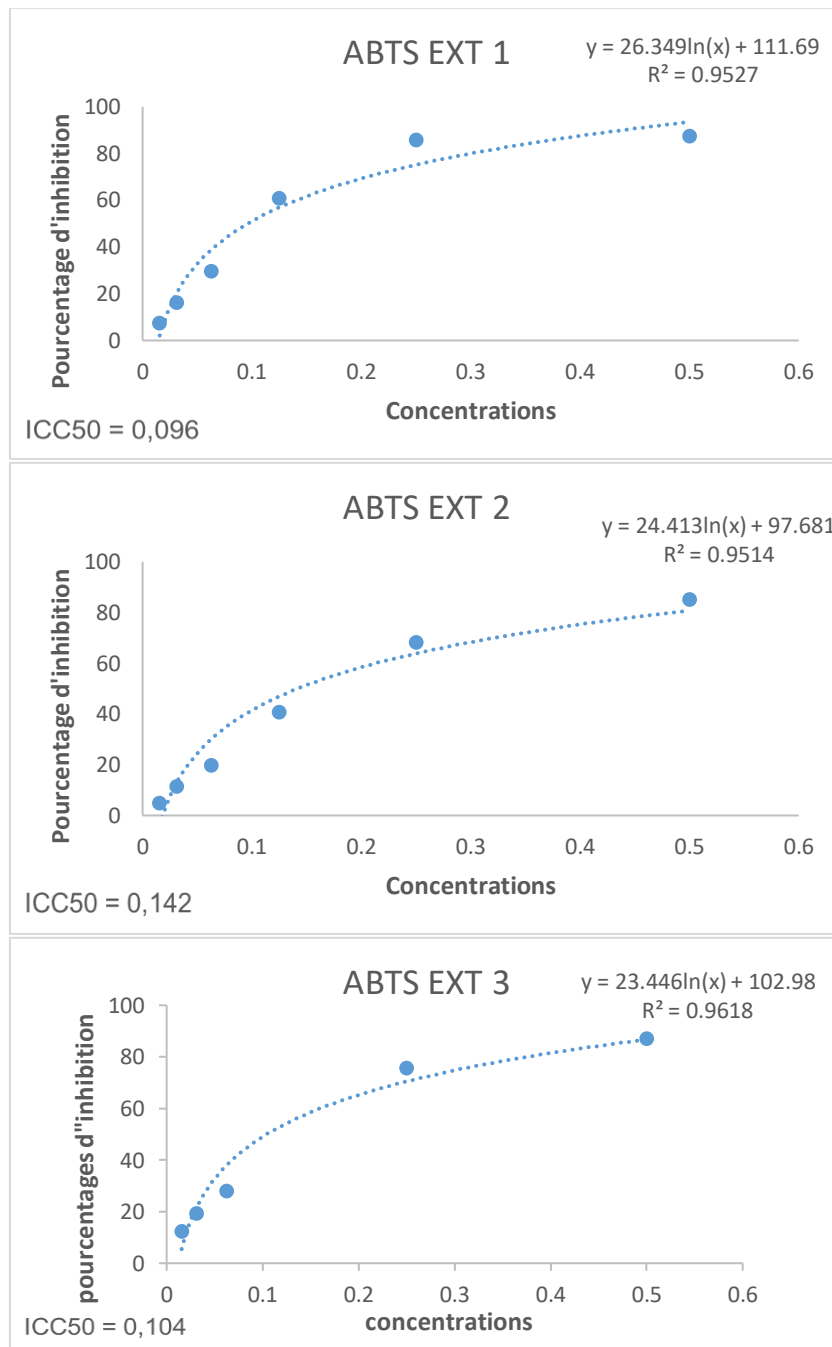
Evolution des pourcentages d'inhibitions du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits des graines vertes de *C. arabica*

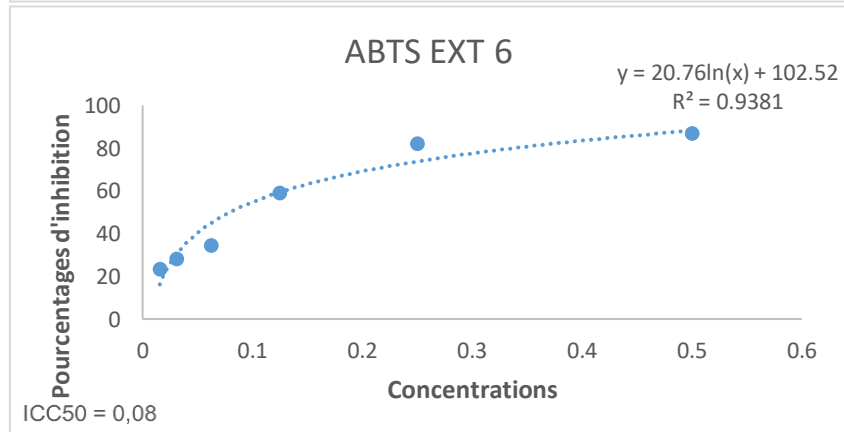
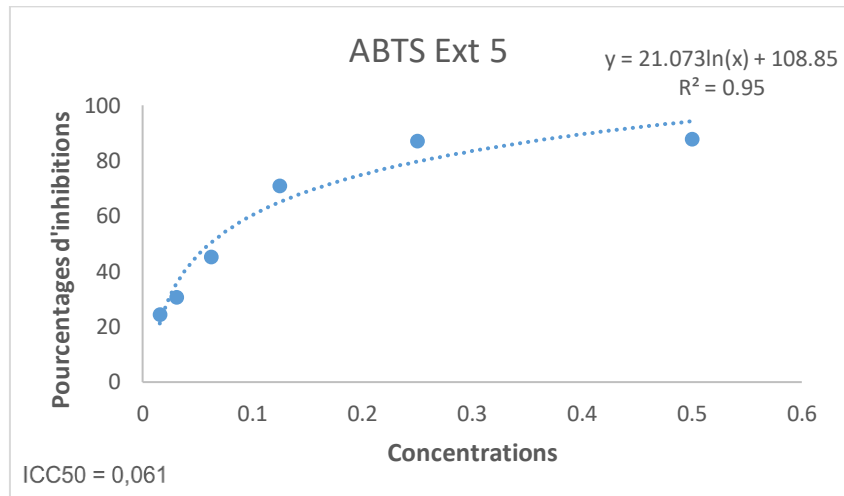
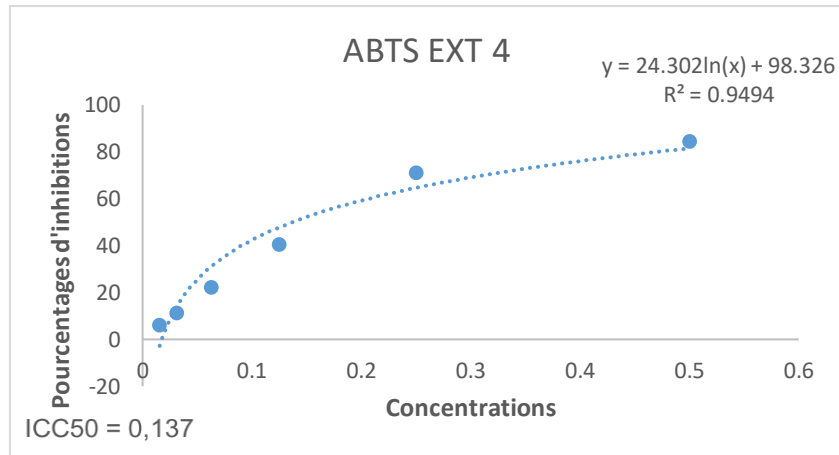


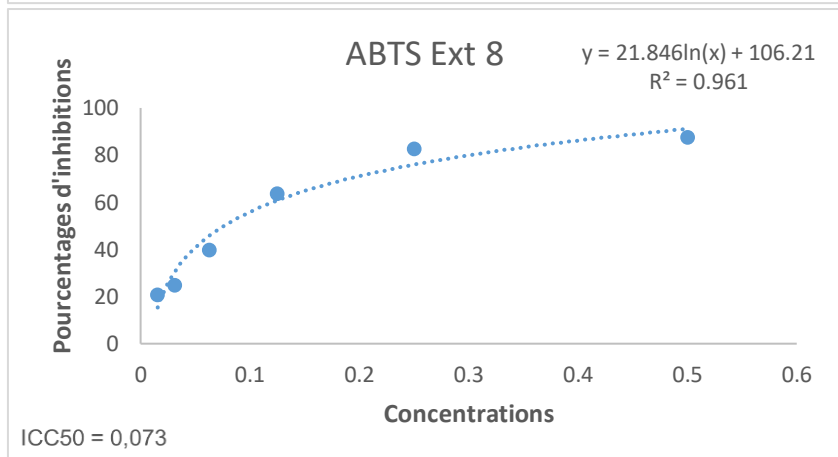
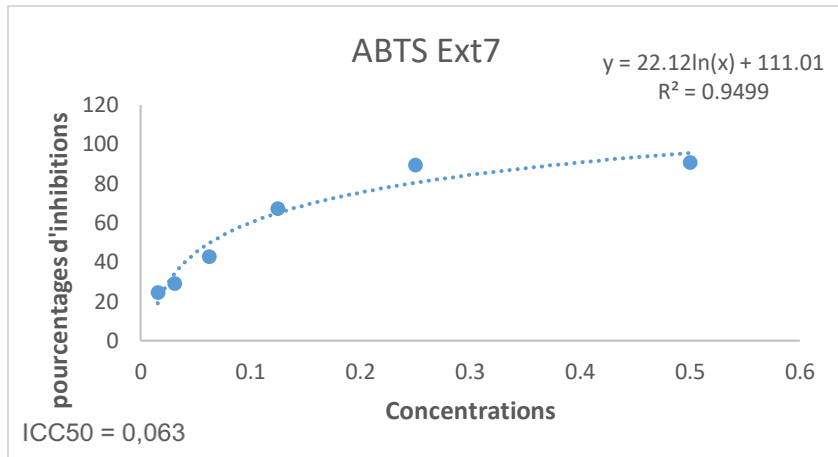




Evolution des pourcentages d'inhibition du radical ABTS en fonction des concentrations des extraits des graines vertes de *C. arabica*







Evolution des absorbances du milieu réactionnel en fonction des concentrations des extraits des graines vertes de *C. arabica*

