

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
CENTRE UNIVERSITAIRE SALHI AHMED – NAAMA



INSTITUT DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES
DÉPARTEMENT des Sciences de la Nature et de la Vie
Laboratoire de recherche :



Gestion durable des ressources naturelles dans les zones arides et semi-aride

MÉMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de **Master Académique** en :

Sciences Biologiques

Option : Biodiversité et Physiologie Végétale

Intitulé :

Valorisation de marc de café par l'éco-extraction des biomolécules d'intérêts : identification et analyse physico-chimiques

Présenté par :

- BENDIMIA Yassine
- LAZGHEM Abdelfettah

Devant le Jury :

<i>Pr. GHERIB Mohammed</i>	<i>Professeur</i>	<i>Centre Universitaire Naâma</i>	<i>Président</i>
<i>Dr. Ferrah Nacer</i>	<i>MCA</i>	<i>Centre Universitaire Naâma</i>	<i>Encadreur</i>
<i>Dr. Bourahla Laame</i>	<i>MCB</i>	<i>Centre Universitaire Naâma</i>	<i>Examineur</i>

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

*Avant tout, nous remercions **DIEU** tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir notre travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadrant **M.Ferrah Nacer** d'avoir accepté de diriger avec beaucoup d'attention et de soin ce mémoire.*

Nous lui sommes très reconnaissants pour sa disponibilité, son soutien permanent, sa gentillesse, sa compréhension et surtout ses qualités humaines.

Nos profonds remerciements pour votre aide durant ces mois de travail.

Aux membres de jury, messieurs :

Pr. Gherib Mohammed & Dr. Bourahla Laame

Qui ont eu la gentillesse d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer notre travail.

<< Bendimia.Y & Lazghem.A>>



Dédicace

Ce travail, et bien au-delà, je le dédie à

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Mes sœurs Zahra, Asma, et Mes frères Abessamed, Amine et Mustapha pour leurs soutien et leurs présences que dieux vous garde pour moi

A Riyadh, Zaki, Adel, Aziz et Badri merci pour votre présence et votre aide et ton soutien moral.

*À tous ceux et toutes celles
Qui m'ont accompagné et soutenu
Durant la réalisation de ce travail*



Dédicace



Ce travail, et bien au-delà, je le dédie à

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Ma sœur Yasmine, et Mes frères Mohamed Laarbi, Saïf din, Ayoub et Yassine pour leurs soutien et leurs présences que dieux vous garde pour moi

A Meftah, Habib, Mustapha et Sid Ahmed merci pour votre présence et votre aide et ton soutien moral.

*À tous ceux et toutes celles
Qui m'ont accompagné et soutenu
Durant la réalisation de ce travail*

Lazghem Abdelfatah



Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

INTRODUCTION GENERALE

CHAPITRE 01: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I. Introduction	4
1. Procédures d'extractions	4
2. Méthodes d'extractions	4
2.1. Définitions	4
2.2. Extraction par solvant.....	4
2.3. Facteurs influençant les performances de l'extraction	5
2.3.1. Taille des particules	5
2.3.2. La nature du solvant	5
2.3.3. La nature du soluté	5
2.3.4. La température.....	6
2.3.5. Le temps d'extraction	6
2.4. Les techniques d'extraction par solvants.....	6
2.4.1. Extraction par Soxhlet	6
2.4.2. Clevengel (hydrodistillation).....	7
2.4.3. Macération.....	8
II. plante médicinales	8
1. Introduction	8
2. Définition.....	9
3. Principaux groupes	9
3.1. Composés phénoliques	9
3.1.1. Les principales classes des composés phénoliques	10
3.1.2. Les acides phénoliques	11
3.1.3. Flavonoïdes.....	12
3.1.4. Les tanins.....	12
3.1.5. Alcaloïdes.....	13
III. Application des biomolécules d'intérêts.....	13
1. Introduction	13
2. Définition.....	14
3. Activité antioxydant	14

3.1. Test DPPH.....	15
---------------------	----

CHAPITRE 02 : MATÉRIELS ET MÉTHODES 16

I. Matériel végétal.....	17
1. Préparation de l'échantillon pour l'extraction.....	18
2. Matériel d'extraction (L'extracteur de Soxhlet).....	18
2.1. Principe.....	18
2.2. Mode opératoire.....	19
3. Chromatographie sur couche mince	21
3.1. Mode opératoire.....	22
4. La mesure de PH	23
4.1. But	23
5. La mesure de la conductivité.....	23
5.1. But	24
6. Test de révélation des composés aromatiques.....	24
7. Screening phytochimique	25
7.1. Saponines.....	25
7.1.1. Principe.....	25
7.1.2. Mode opératoire.....	25
7.2. Tannins	26
7.2.1. Principe.....	26
7.2.2. Mode opératoire.....	26
8. Evaporation rotative (Rota-vapeur).....	26
8.1. Principe.....	26
8.2. Mode opératoire.....	27
II. Activités biologiques.....	28
1. Évaluation de l'activité antioxydant.....	28
1.1. Test de DPPH	28
1.1.1. Principe.....	28
2. Préparation de la solution méthanolique pour le test DPPH.....	29
3. Préparation des extraits.....	29
3.1. Mode opératoire.....	30
3.1.1. Étude de l'activité antioxydant par piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle).....	30
3.1.1.1. Calcul des pourcentages d'inhibition	30
3.1.1.2. Calcul des concentrations inhibitrices à 50% (IC50).....	31
CHAPITRE 03 : RESULTATS ET DISCUSSIONS	32
1. Analyse phytochimique des extraits de marc de café.....	33

2. Chromatographie sur couche mince	33
3. La mesure de PH	35
4. La mesure de la conductivité.....	36
5. Les composé aromatique.....	36
6. Analyse phytochimique des extraits de marc de café.....	39
6.1. Saponines.....	39
6.2. Tannins	40
7. Evaporation rotative (Rota-vapeur).....	41
8. Activités biologiques.....	42
8.1. Activité antioxydant	42
8.1.1. Test de DPPH	42
Conclusion.....	51

Références bibliographique

ملخص

Résumés

Abstract

Liste des abréviations

µl : microlitre.

A : absorbance.

AQ : extrait aqueux.

CCM : chromatographie sur couche mince.

CI50 : concentration inhibitrice médiane.

cm : centimètre.

g : gramme.

h : heure.

HE : huile essentielle.

I : indice de mousse

DPPH : 2,2-dipheyl-1-picrylhrazyl

E/Me : extrait méthanolique.

Kg : kilogramme.

Mg : milligramme.

ml : millilitre.

Mm : millimètre.

nm : nanomètre.

Liste des figures

Figure 01 : Extraction par solvant avec Soxhlet	7
Figure 02 : Schéma et appareils d'Hydrodistillation.	8
Figure 03 : Structure du noyau phénol (SARNI-MANCHADO et al., 2006).....	10
Figure 04 : Structures chimiques des acides phénoliques.	12
Figure 05 : Structures chimiques des sous-classes des flavonoïdes (KANTI BHOOSHAN PANDEY et al., 2009).....	13
Figure 06 : Structures chimiques des sous-classes des tanins (DERBEL et al., 2005).....	13
Figure 07 : Poudre de marc de café utilisé dans ce travail.	20
Figure 08: Dispositif de l'extraction Soxhlet.	21
Figure 09: L'extrait de marc de café par soxhlet avec différents solvants.	23
Figure 10 : La chambre noire pour la révélation des substances sur CCM (Lampe UV 365nm et 254nm).	24
Figure 11 : La mise en contact des plaques CCM avec le solvant polaire.....	25
Figure 12 : appareil de pH-mètre utilisé dans ce travail.	26
Figure 13 : appareil de conductimètre électrique.	27
Figure 14 : Préparation d'un testes saponosides.....	28
Figure 15 : Dispositif d'évaporation rotatif.....	30
Figure 16: Récupération de l'extrait brut de marc de café.....	31
Figure 17: Le 2,2-diphenyle-1-picrylhydrazyle (DPPH).	31
Figure 18 : réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl) (Congo, 2012).	32
Figure 19 : Préparation de la solution méthanolique de DPPH.	32
Figure 20 : Préparation des extraits.	33
Figure 21 : Analyse spectrophotométrique UV-visible à 517 nm.	34
Figure 22: extraction par Soxhlet de l'extrait méthanoïque.....	35
Figure 23 : représente le spectre de l'extrait aqueux par UV-Visible.....	39
Figure 24 : représente le spectre de l'extrait méthanolique par UV-Visible.	40
Figure 25 : représente le spectre de l'extrait dichloromethane par UV-Visible.....	41
Figure 26 : teste phytochimique sur les tannins des différents extraits obtenus.	43
Figure 27 : Effet de la concentration d'extrait aqueux brute sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH	45

Figure 28 : Effet de la concentration d'extrait méthanolique brute sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH	45
Figure 29 : Effet de la concentration d'extrait de dichlorométhane brute sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH	46
Figure 30 : Effet de la nature d'extrait sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH.....	48
Figure 31 : Effet de la concentration d'extrait aqueux sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH	49
Figure 32 : Effet de la concentration d'extrait méthanolique sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH	50
Figure 33 : Effet de la concentration d'extrait dichlorométhane sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH	51
Figure 34 : Effet de la concentration de différents d'extrait (aqueux, méthanolique et dichlorométhane) sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH.	

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les principales classes de composés phénoliques dans les plantes	11
Tableau 02 : Le différent extrait utilisé dans les plaques CCM.....	25
Tableau 03 : protocole de révélation des composés aromatique.....	27
Tableau n°4 : Les résultats et les révélations des plaques CCM.....	37
Tableau n°5 : les mesures de PH du déférent extrait.	38
Tableau n°6 : les mesures de conductivité du déférent extrait.....	38
Tableau n°7 : teste phytochimique sur les saponines des déférents extraits obtenus.....	42
Tableau n°8 : Rendements et caractéristiques des différents extraits de marc de café.	44
Tableau n°9: les différents extraits sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH.....	47
Tableau n°10: la concentration d'extrait aqueux sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH.....	48
Tableau n°11: concentration d'extrait méthanolique sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH	49
Tableau n°12: la concentration d'extrait dichlorométhane sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH	50
Tableau n°13: Pouvoir d'inhibition IC50.....	52



INTRODUCTION
GENERALE

Depuis le début du XIXe siècle, la production de café n'a cessé d'augmenter. Plus de 8,5 millions de tonnes par an (Stanislav et al. 2014). A ce titre, c'est le produit le plus important sur le marché agricole mondial et le+ deuxième boisson la plus consommée après l'eau. Sa consommation mondiale en 2019-2020 a atteint 169 millions de sacs de 60 kg, l'Europe représentant environ un tiers de la consommation mondiale (Zengin et al., 2020). Près de 50% du café produit dans le monde est utilisé pour préparer du café moulu (Rama Lakshmi et al., 2009). Environ 90 % du café est rejeté sous forme de déchets et de sous-produits agricoles au cours du processus de fabrication (Iriundo-DeHond et al., 2019). Ce déchet est appelé marc de café.

Le marc de café est un déchet organique riche en molécules bioactives et en matière organique. De nombreuses études ont été menées sur le marc de café et ses potentiels effets valorisants, notamment dans le cadre de l'énergie verte (biodiesel) (Kondamudi et al., 2008). De plus, il existe d'autre étude sur la valorisation du marc de café comme une source appréciable de la matière grasse (Hadouddi et al., 2014).


Notre travail est consisté à Valorisation de marc de café par l'éco-extraction des biomolécules d'intérêts : identification et analyse physico-chimiques.

Ce travail est développé dans 3 chapitres suivants ;

- **Le premier chapitre** est consacré à une synthèse bibliographique sur :
 - ✓ Les procédés d'extraction des huiles grasses et les méthodes d'analyses physico-chimiques.
 - ✓ Composition chimique des plantes médicinales.
 - ✓ Aperçu sur les activités biologiques : antioxydant.

- **Le deuxième chapitre** aborde le matériel et les méthodes utilisés. Il est consacré à une étude expérimentale, sur :
 - ✓ L'extraction par soxhlet ;
 - ✓ Analyse phytochimique des extraits de marc de café
 - ✓ Évaluation de l'activité antioxydant des extraits de marc de café.

- **Le troisième chapitre** est consacré à la présentation des résultats obtenus qui seront interprétés et discutés, et on finalise ce travail par une conclusion générale et perspectives.



CHAPITRE 01 :
SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Introduction

L'extraction par solvants est une procédure très ancienne. Elle est largement utilisée dans les industries, notamment agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique, pour extraire à partir des plantes et de certains organes d'animaux des produits alimentaires et pharmaceutiques ou pour récupérer de l'huile dans des tourteaux appauvris, comme le grignon d'olive.

Le premier brevet utilisant un solvant organique pour extraire des graisses a été réalisé par E. Deisse en 1855 (Hamsi N., 2013).

1. Procédures d'extractions

La procédure d'extraction a été choisie sur la base des propriétés physico-chimiques relatives aux composés destinés à l'extraction. Deux procédures d'extraction sont couramment utilisées (Handa SS et al., 2008) : (Jones WP et Kinghorn AD 2005).

- Extraction au contact du solvant : L'échantillon de plante broyée est mis en contact avec du solvant dans un mélangeur, et l'extrait est filtré. Le filtrat peut être séché sous pression réduite puis remis en solution dans le solvant.
- Extraction continue avec des solvants de polarité croissante : des solvants apolaires aux solvants polaires pour assurer une extraction optimale des composés de polarités différentes.

2. Méthodes d'extractions

2.1. Définitions

L'extraction est une opération qui consiste à isoler certains composés d'organismes végétaux à l'aide de diverses techniques. (S. S. Herodez et al., 2003).

2.2. Extraction par solvant

C'est une opération de transfert ou d'échange de matière, entre une phase solide qui contient la matière à extraire et une phase liquide qui constitue le solvant d'extraction. L'opération fait souvent appel d'un point de vue technologique, à la diffusion d'un liquide au sein d'un solide.

La technique de l'extraction par solvant consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules. L'extraction s'arrête au moment où s'établit un équilibre entre les deux phases. Cependant, si le solvant est régénérable, la diffusion se poursuit jusqu'à épuisement de la

phase solide (Dibert K et al., Cros E. 1989). Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'eau, l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol et l'acétone. Une série de processus successifs a lieu, traduisant le mécanisme d'extraction. Il s'agit essentiellement de la diffusion du solvant au sein de la matière solide, la dissolution du soluté dans le solvant, et enfin, le transfert par convection ou diffusion du soluté vers la masse restante du solvant.

2.3. Facteurs influençant les performances de l'extraction

Le processus d'extraction est affecté par plusieurs facteurs caractérisant la matière solide, le soluté et le solvant. Il dépend aussi des conditions opératoires (LALOU A. 1995).

2.3.1. Taille des particules

La taille et la structure de l'échantillon jouent un rôle important dans l'extraction. Plus la matière est divisée finement plus la surface de contact solide-liquide est importante. En effet, la surface de contact entre le solide et le liquide augmente lorsque la taille de la particule diminue, ce qui favorise la pénétration du solvant dans la matière à extraire et fait augmenter la vitesse d'extraction (Bucic-Kojic A et al., 2007).

2.3.2. La nature du solvant

Pour l'extraction des huiles végétales issues des graines oléagineuses et des tourteaux, le choix d'un bon solvant est l'une des préoccupations majeures. Il se fait selon plusieurs critères (AGUILLRA J.M. 2003).

- La régénération du solvant si celui-ci doit être réemployé ;
- Ses propriétés physiques : En plus de la densité et d'être autorisé, le solvant choisi devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination.
- Le solvant doit être sélectif, posséder une grande capacité de dissolution, une faible viscosité et être, si possible, non toxique, ininflammable, non explosif et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait.

2.3.3. La nature du soluté

Le soluté à extraire contenue dans le corps solide influe considérablement sur la vitesse d'extraction.

2.3.4. La température

Il est difficile de cerner l'influence de la température sur l'extraction. Dans la plupart des cas, les gammes élevées de température sont favorables au rendement d'extraction et ceci pour plusieurs raisons (Hamsi N. 2013).

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

2.3.5. Le temps d'extraction

C'est un facteur qui doit être pris en considération dans l'extraction de la matière végétale (Iboukhoulef H et al., 2006) ; (Meziane S et al., 2006). En général, l'augmentation du temps d'extraction augmente le rendement de la matière à extraire.

2.4. Les techniques d'extraction par solvants

Il existe plusieurs techniques d'extraction à partir des sources végétales. Parmi les techniques classiques utilisées depuis longtemps, on citera l'extraction par soxhlet. C'est une technique qui permet d'avoir de meilleurs rendements.

2.4.1. Extraction par Soxhlet

Un extracteur Soxhlet est un récipient en verre pour une extraction solide-liquide efficace. L'appareil porte le nom de son inventeur : Franz von Soxhlet.

Dans le système Soxhlet figure 01, le matériel végétal est placé dans une cartouche puis rempli de solvant frais condensé à partir d'un flacon de distillation. Lorsque le liquide atteint le niveau de débordement, le siphon aspire la solution de la cartouche et la renvoie dans le ballon de distillation, ramenant le soluté extrait dans le liquide. Dans le ballon, le soluté (soluté) est séparé du solvant par distillation. Cette opération est répétée jusqu'à ce que l'extraction soit complète (Luque-Garcia J.L et Luque de Castro M.D. 2004).

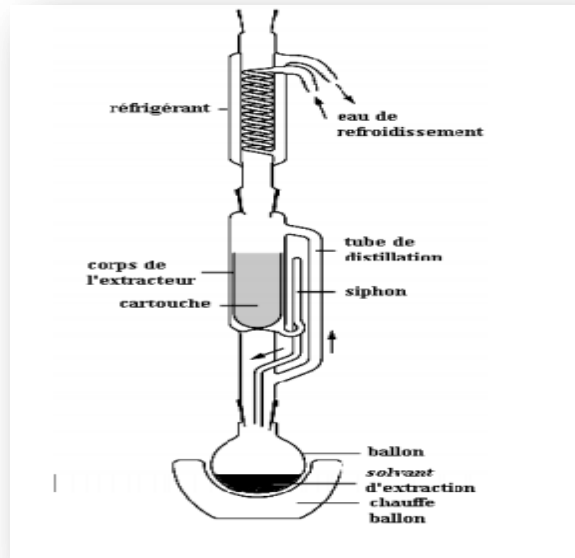


Figure 01 : Extraction par solvant avec Soxhlet

2.4.2. Clevengel

C'est une méthode basée sur l'hydrodistillation dans laquelle la matière végétale est en contact direct avec l'eau. Lorsque les légumes sont broyés, on parle de turbo distillation.

Selon (Bruneton. 1999), l'hydrodistillation consiste à immerger directement la matière végétale (entière ou éventuellement broyée) à traiter dans un alambic rempli d'eau puis à la faire bouillir. Les vapeurs hétérogènes se condensent sur les surfaces froides et les huiles essentielles sont séparées par des différences de densité. Les inconvénients de cette méthode sont : la calcination de la matière végétale, entraînant des modifications de la composition et des propriétés chimiques de l'huile essentielle, l'impossibilité de contrôler la température du récipient (eau + organes végétaux) contenant le mélange et des modifications de l'odeur, de la couleur et composition de l'huile essentielle lors de la distillation (Chalchat et al., 1997).

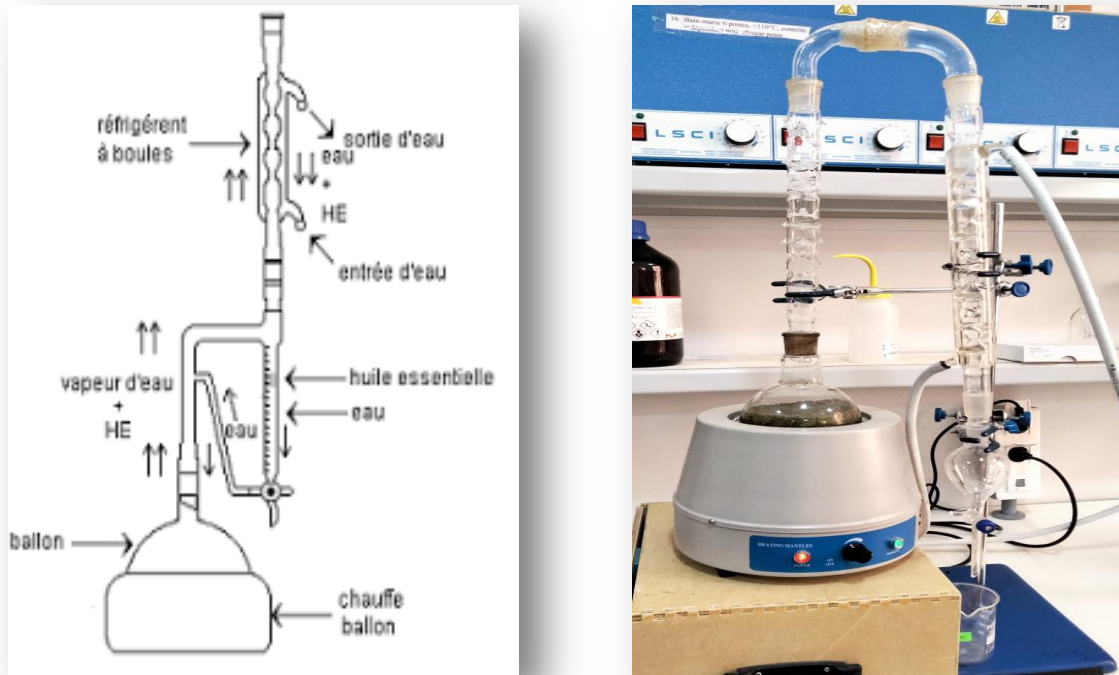


Figure 02 : Schéma et appareils d'Hydrodistillation.

2.4.3. Macération

Dans ce processus, le médicament brut est placé dans un récipient avec le solvant et on laisse reposer à la température ambiante pendant une période d'au moins 3 jours en agitant fréquemment jusqu'à ce que la matière soluble soit dissoute. Le mélange est alors tendu, le marc (la matière solide humide) est pressé, et les liquides combinés sont clarifiées par filtration ou décantation après repos (Handa Sukhdev Swami et al., 2008).

II. Plante médicinale

1. Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles comme remède à diverses maladies humaines. Ces plantes doivent leur pouvoir thérapeutique à des substances, dites alors actives, qu'elles renferment. Pour l'évaluation de l'activité biologique de ces plantes, il est impératif de recourir à des tests biologiques appropriés et à des méthodes de screening chimique (Tyihák *et al.*, 2007). Dans la plupart des cas, l'activité biologique des métabolites secondaires est reconnue bien avant la détermination de leurs structures chimique (Sofowora, 2010). Il est néanmoins important de noter que la nature active de ces composés peut engendrer des effets bénéfiques, aussi bien que des effets néfastes, sur les organismes vivants.

2. Définition

C'est une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains (ZEGHAD. N ,2009)

3. Principaux groupes

Les métabolites secondaires sont classés en trois grands groupes : les composés phénoliques, terpènes et alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Mansour, 2009).

3.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandues dans le règne végétal. Ils sont présents dans tous les fruits et légumes (Waksmundzka-Hajnos et Sherma, 2011). Plus de 8000 structures ont été identifiées à partir de simples molécules comme les acides phénoliques, jusqu'aux les substances hautement polymérisées comme les tanins (Dai et Mumper, 2010). Ces molécules constituent la base des principes actifs trouvées au niveaux des plantes médicinales. Ils possèdent un effet antioxydant, antibactérien et antifongique et ils sont des protecteurs contre l'apparition de certains cancers (Macheix et al., 2005). En effet, une alimentation équilibrée fournit à l'homme environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E (Scalbert et al., 2005). Les polyphénols peuvent se regrouper en deux grands groupes ; les non flavonoïdes dont les principaux composés sont les acides phénoliques, stilbènes, lignanes, lignines et coumarines (Hoffmann, 2003), et les flavonoïdes dont on caractérise principalement les flavones, flavanones, flavonols, isoflavonones, anthocyanines, proanthocyanidines et flavanols (Pincemail et al., 2007).

Le « phénol » est l'élément structural fondamental qui les caractérise. Ils peuvent avoir la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones **Figure 03**, auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (BRUNETON, 1999 ;BALASUNDRAM et al., 2006).

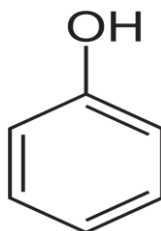


Figure 03 : Structure du noyau phénol (SARNI-MANCHADO et al., 2006).

3.1.1. Les principales classes de ces composés sont représentées dans le tableau 01

Tableau 01 : Les principales classes de composés phénoliques dans les plantes (Thayumanavan et Sadasivam, 2003).

Les classes	n de carbones	squelette de base de carbone	exemples
1- phénols simples	6	C6	le catechol, l'hydroquinone, phloroglucinol
2- acétophénones Phénylacétique	8	C6-C2	4-hydroxyacétophénone, p-hydroxyphénylacétate, caféique, férulique
3- hydroxycinnamates	9	C6-C4 C6-	umbelliferone
Isocoumarines	9	C3	aesculéine
Chromons	9	C6-C3	bergénine, eugenin
4-hydroxybenzoates	7	C6-C1	salicylique, gallique
5-Naphtoquinones	10	C6-C3	juglone, plumbagine

6-xanthones	13	C6-C1- C6	Mangiférine
7-stilbènes	14	C6- C2-- C6	resvératrol
Anthraquinones	14	C6- C2-- C6	émodine
8-flavonoïdes	15	C6-C3- C6	cyanidin
Isoflavonoïdes	15	C6- C3- C6	génistéine
9 - lignanes	18	(C6-C 3)2	Pinorésinol
10 - bioflavonoïdes	30	(C6-C 3- C6)2	Amentoflavone
11 – 11 - hydrolysable Tanins	n	(C6-C 1)n : GLc	Gallotannins
12 - tanins condensés	n	(C6-C 3- C6)n	les polymères de catéchine
13 - lignines	n	(C6-C 3)n	lignines guaiacyle
14 - mélanines catéchol		(C6) n	

3.1.2. Les acides phénoliques

Peuvent être divisés en deux catégories en fonction de leur structure : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique **Figure 04** (KANTI BHOOSHAN PANDEY et al., 2009).

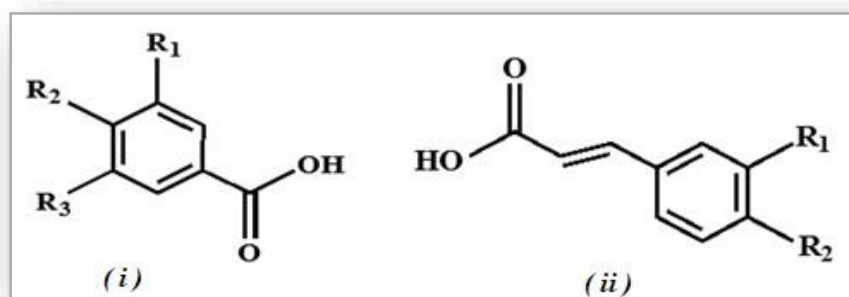


Figure 04 : Structures chimiques des acides phénoliques.

(i) : acide hydroxy-benzoïque ; (ii) : acide cinnamique (KANTI BHOOSHAN PANDEY et al. 2009).

3.1.3. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules polysubstituées omniprésentes dans les plantes composées des acides aminés aromatiques phénylalanine, tyrosine et acide malonique. La structure de base des flavonoïdes est le cycle flavan, qui se compose de 15 atomes de carbone disposés en trois cycles (C6-C3-C6), appelés cycle A, cycle B et cycle C (Stalikas, 2007). Les flavonoïdes jouent un rôle très important dans la croissance, la floraison, la fructification et la défense des plantes contre les maladies et les micro-organismes. Ils jouent également un rôle important dans la santé humaine. Par exemple, ils sont efficaces contre l'inflammation chronique, les maladies allergiques, les maladies coronariennes et le cancer. (Ebadi, 2001 ; Ghedira, 2005). **Figure 05** (GHEDIRA, 2005 ; KANTI BHOOSHAN PANDEY et al.,2009).

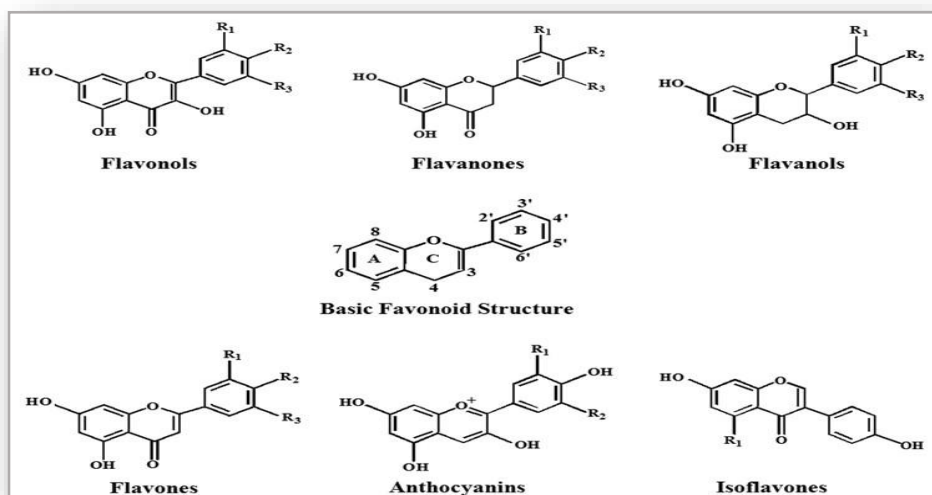


Figure 05 : Structures chimiques des sous-classes des flavonoïdes (KANTI BHOOSHAN PANDEY et al., 2009).

3.1.4. Les tanins

Sur le plan structural, sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés **Figure 06** (LINDEN et LORIENT, 1994).

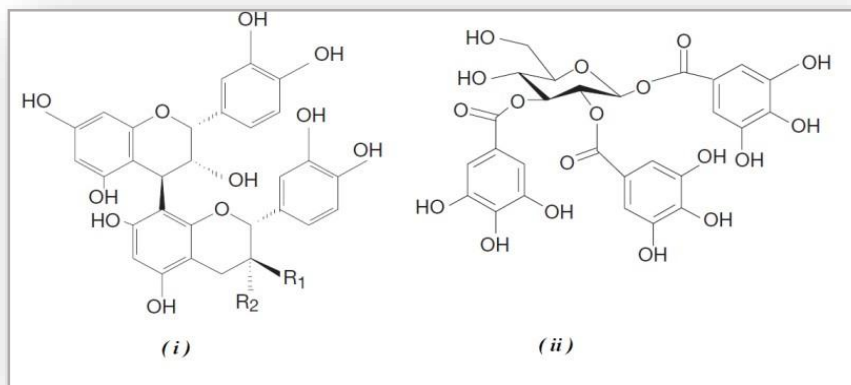


Figure 06 : Structures chimiques des sous-classes des tanins (DERBEL et al., 2005)

- (i) proanthocyanidines (un tanin condensé) ;
(ii) 1,2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose (un tanin hydrolysable)

3.1.5. Alcaloïdes

Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et médecine (Raven et al., 2000). Ce sont des substances organiques azotées, à propriétés basiques ou amers et ayant des propriétés thérapeutiques ou toxiques (Dellile, 2007). Les alcaloïdes sont utilisées comme anti-cancer, sédatifs et pour leur effet sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) (Iserin et al., 2007).

III. Application des biomolécules d'intérêts

1. Introduction

Plusieurs pathologies telles que l'arthrose, l'asthme, le cancer, le diabète, les maladies cardiaques, l'athérosclérose (Codoñer-Franch et al., 2011 ; Sarr et al., 2015). Selon (Pousset 2006), auraient comme origine les radicaux libres. Cependant, pour prévenir ces maladies, les produits naturels joueraient un rôle important de part la richesse qu'ils ont en antioxydants. En outre, comme les prestations de santé mais aussi les médicaments coutent cher, en plus d'autres facteurs d'ordre socio-économiques, les populations utilisent des plantes médicinales comme remèdes (Agban et al., 2013). De nos jours, 80% de la population ont au moins une

fois recours à la phytothérapie (Arbonnier, 2002). Une attitude qui peut être également liée à la culture et à la civilisation ancestrales, est basée partiellement ou entièrement sur la phytothérapie et ce grâce à l'efficacité, de l'accessibilité et de la disponibilité des plantes médicinales (Akharalyi et al., 2010).

2. Définition

Afin de lutter contre différents types d'agression, certains tout organisme développe un ou des systèmes de défense naturel(s) dont les antioxydants définis en 1990 (Halliwell 1990). Les antioxydants sont des molécules qui inhibent voire retardent les phénomènes d'oxydation à très faible concentration dans le milieu où ils se produisent (acides aminés, lipides, protéines, glucides, ADN) en augmentant le temps après oxydation. Un changement détectable dans le produit (Tessier et Marconnet, 1995)

L'organisme est doté d'un système de défense complexe antioxydant soit enzymatiques soit non enzymatiques qu'on trouve au niveau intra et extracellulaires (Mette et Berger, 2006).

L'un des mécanismes les plus importants de l'intervention antioxydant est l'interruption des réactions d'oxydation, qui par définition font partie d'une réaction redox qui transfère des électrons d'une substance à un oxydant. Cette réaction produit des radicaux libres, qui peuvent conduire à une réaction en chaîne destructrice. Les antioxydants peuvent arrêter ces réactions par oxydation avec des radicaux libres qui inhibent leurs effets. Ces propriétés sont communes aux thiols et aux phénols (Mette et Berger, 2006).

3. Activité antioxydant

Quand les antioxydants sont présents à une faible concentration au vu du substrat oxydable, stoppent ou retardent l'opération d'oxydation. Par conséquent, le redox cellulaire s'équilibre. La capacité antioxydante des molécules s'évalue ou bien *in vivo*, c'est-à-dire dans les organismes ou bien *in vitro* et cela en recourant à des tests mimant le phénomène physiologique. Ces antioxydants peuvent agir selon deux mécanismes majeurs (Prior, R.L et al., 2005) soit par transfert d'atome d'hydrogène, soit par transfert d'électron. Deux tests au moins sont recommandés afin de confirmer une activité antioxydante, et ceci à cause des propriétés physico-chimiques, l'état d'oxydation des substrats ou du type de test employé. (Prior, R.L et al., 2005 ; Frankel, E.N. et Meyer, A.S. 2000) Ainsi, avons-nous opté pour deux

tests chimiques : le test évaluant le piégeage des radicaux libres et employant le 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle sous sa forme radicalaire (DPPH), impliquant le transfert d'atome d'hydrogène et le transfert d'électron, et le test déterminant le pouvoir réducteur antioxydant (FRAP, Ferric Reducing Antioxydant Power).

3.1. Test DPPH

Le DPPH (2,2 diphényle-1-picrylhydrazyle) représente le test le plus utilisé dans l'évaluation directe et rapide de l'activité antioxydante du fait de sa stabilité sous forme de radicaux libres et de sa simplicité d'analyse. Il absorbe la lumière visible aux longueurs d'onde de 515 à 520 nm (B Bozin, N et al., 2008) Le protocole expérimental suivi pour étudier l'activité de piégeage des radicaux libres du DPPH a été décrit par (N Benhammou, F et al., 2007)

On a déterminé l'activité antiradicalaire avec le test DPPH grâce à la méthode de (Molyneux 2003). On a testé la référence (acide ascorbique) et les extraits aux concentrations suivantes (250 - 125 - 62,5 - 31,25 - 15,62 - 7,81 µg/ml) ; l'absorbance a ensuite été mesurée à 517 nm après 30 min d'incubation dans l'obscurité. Trois essais ont été réalisés pour chaque concentration de produit testé. L'activité antioxydant associée au piégeage des radicaux libres DPPH' a été exprimée en pourcentage d'inhibition (PI) en utilisant la formule suivante : $PI = 100(Ac - At) / Ac$, Ac : absorbance DPPH At : absorbance échantillon La CI50 : concentration de l'échantillon nécessaire pour neutraliser 50% des radicaux libres. A été obtenue en utilisant le logiciel Stratigraphiques Plus 5.0.

CHAPITRE 02 :
MATERIELS
ET
METHODES

Le présent travail a été effectué au niveau de laboratoire de biochimie ; institut des Sciences et technologies ; Centre Universitaire SALHI Ahmed De Naâma.

Ce travail consiste à extraire les molécules bioactives par solvant, qui a fait l'objet de notre étude.

L'extraction est suivie par la détermination quelques caractéristiques physico-chimiques de l'extrait de Marc du café. Notre but a été de contribuer à l'amélioration de la connaissance en termes de l'activité biologique notamment l'activité antioxydant des substances extraites à partir la valorisation du « marc de café ».

Pour bien mener cette étude, il était indispensable d'avoir le matériel de manipulation suivant :

- **Matériel** : Balance analytique, Tubes à essais, Pipette, Pipette pasteur, Micropipette, Chronomètre (T, H%), Étuve, Soxhlet, Rota-vapeur, Cartouche filtrante, Bécher, Ballon, Eprouvette graduée, Agitateur.
- **Réactifs** : L'eau distillée, Méthanol, Dichlorométhane, DPPH (2,2 diphényle-1-picrylhydrazyle), n-butanol, acide acétique, FeCl₃.
- **La matière végétale** : marc de café.

I. Matériel végétal

Nous avons ramené le marc de café, marque El Merouane provenant de la cafétéria El Firas dans la commune de Mécheria wilaya de Naama.



Figure 07 : Poudre de marc de café utilisé dans ce travail.

1. Préparation de l'échantillon pour l'extraction

Le marc de café a été récolté à la fin de la journée. Nous l'avons ensuite séché et tamisé avant de l'exposer au soleil à une température moyenne pendant 10 jours. La matière végétale a subi un suivi journalier, pour éviter la dégradation des échantillons ou la contamination par des champignons.

2. Matériel d'extraction (L'extracteur de Soxhlet)

2.1.Principe

Un extracteur Soxhlet est un récipient en verre utilisé en chimie analytique et en chimie organique pour l'extraction continue par solvant de produits chimiques contenus dans des poudres solides. Le principe est le même que pour toute extraction. Des extractions continues extensives doivent être effectuées pour obtenir une séparation satisfaisante.

L'extracteur de Soxhlet est un appareil spécialement conçu pour l'extraction continue solide-liquide.

Le solvant (5 à 10 fois la quantité d'échantillon solide à extraire) est porté à ébullition puis condensé à l'aide d'un condenseur à bulbe dans une jarre à siphon contenant les solides à extraire, conditionnés dans un tube en papier épais. Le contact du solvant avec le produit extrait se poursuit au fur et à mesure que le solvant s'accumule dans le réservoir, et lorsque le solvant atteint un certain niveau, il active le siphon et retourne dans le ballon transportant la substance dissoute. Ce cycle est répété plusieurs fois, selon la facilité de diffusion du produit dans le solvant (Penchev, 2010).

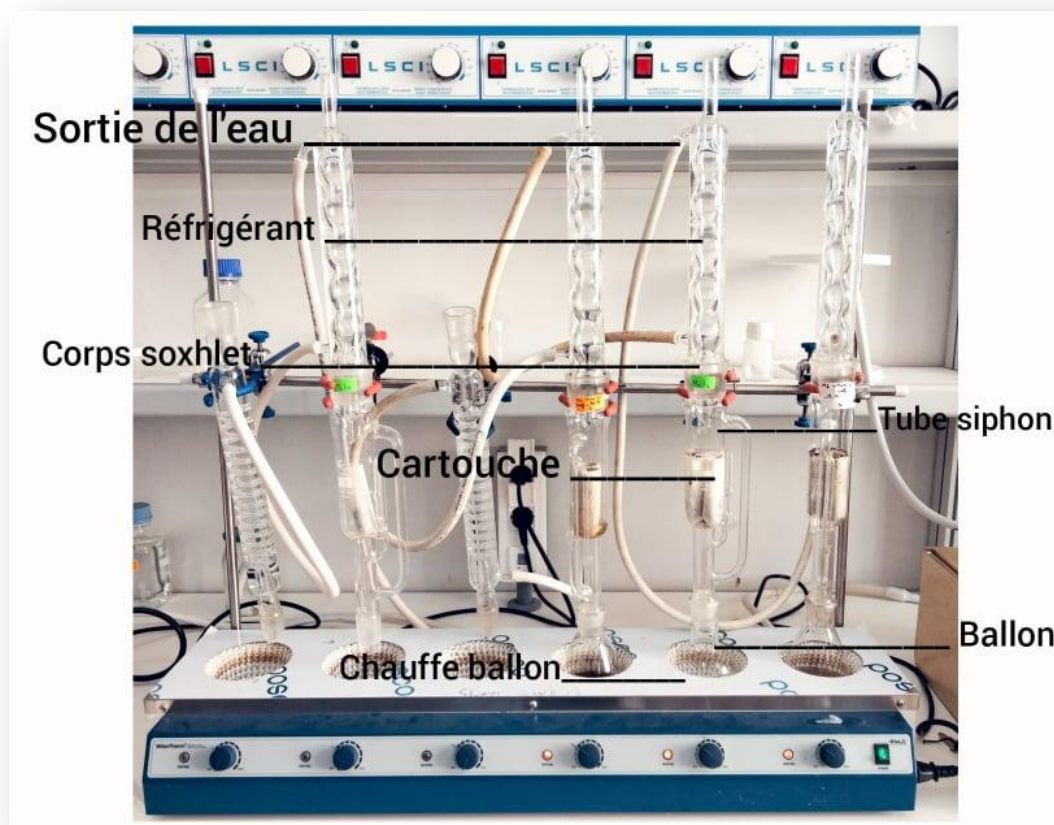


Figure 08 : Dispositif de l'extraction par soxhlet.

2.2.Mode opératoire

Nous avons extrait marc de café en trois étapes :

Etape 01 : extraction par l'eau distillée

18.5g de la poudre de marc de café est mise dans une cartouche déposée dans le Soxhlet avec par-dessus un réfrigérant que porte un ballon qui contient 150ml de solvant d'extraction qui est l'eau distillée. Au chauffage, le solvant s'évapore, s'intensifie dans le réfrigérant, va dans l'extracteur, rend solubles les principes actifs puis revient dans le ballon de récupération : l'opération est répétée maintes fois jusqu'à le total épuisement de l'échantillon (au-delà de 6 cycles, il y a épuisement. Fin de l'extraction.).

Etape 02 : extraction par Méthanol.

18.5g de la poudre de marc de café est mise dans une cartouche déposée dans le Soxhlet avec par-dessus un réfrigérant que porte un ballon qui contient 150ml de solvant d'extraction qui

est méthanol. Au chauffage, le solvant s'évapore, s'intensifie dans le réfrigérant, va dans l'extracteur, rend solubles les principes actifs puis revient dans le ballon de récupération : l'opération est répétée maintes fois jusqu'à le total épuisement de l'échantillon (au-delà de 6 cycles, il y a épuisement. Fin de l'extraction.).

Étape 03 : extraction par dichlorométhane.

18.5g de la poudre de marc de café est mise dans une cartouche déposée dans le Soxhlet avec par-dessus un réfrigérant que porte un ballon qui contient 150ml de solvant d'extraction qui est dichlorométhane. Au chauffage, le solvant s'évapore, s'intensifie dans le réfrigérant, va dans l'extracteur, rend solubles les principes actifs puis revient dans le ballon de récupération : l'opération est répétée maintes fois jusqu'à le total épuisement de l'échantillon (au-delà de 6 cycles, il y a épuisement. Fin de l'extraction.).

La séparation de différents extraits du marc de café avec plusieurs solvants est réalisée à l'aide du Rota-vapeur pour éliminer le solvant. Enfin l'extrait final est stocké pour des éventuelles applications de l'activité anti-oxydante et pour de différentes caractérisations physico-chimiques.



Figure 09 : L'extrait de marc de café par soxhlet avec différents solvants.

3. Chromatographie sur couche mince

La CCM est une technique analytique basée sur le partage des solutés entre un adsorbant fixe insoluble (phase stationnaire) et une phase liquide (phase mobile). Chaque soluté est entraîné par la force de rétention de l'adsorption et de la phase mobile. L'équilibre qui en résulte se traduit par une migration différentielle des solutés des échantillons analysés, permettant leur séparation (Richard et Thurston, 1986).



Figure 10 : La chambre noire pour la révélation des substances sur CCM (Lampe UV 365nm et 254nm).

3.1. Mode opératoire


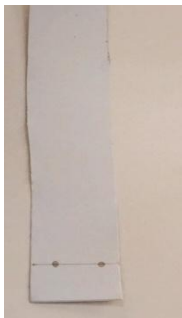
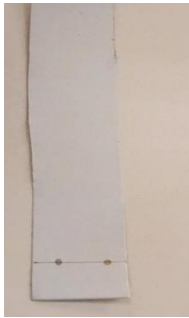
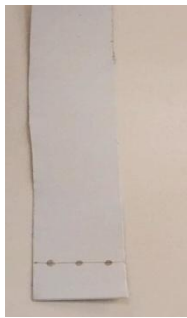
Nous avons pris des plaques CCM et nous y avons précisé une ligne de 2cm pour mettre des points aux diverses solutions utilisées avec différents polarités.

Nous avons ramené des Éprouvettes et nous avons collé du papier filtre sur les côtés pour remplir le milieu avec la solution qu'on ajoute qui est (L'eau distillée + n-butanol + acide acétique).



Figure 11 : La mise en contact des plaques CCM avec le solvant polaire

Tableau 02 : Le différent extrait utilisé dans les plaques CCM.

Les plaques				
L'extrait	Extrait aqueux	Extrait dichlorométhane	Extrait méthanol	Adroite (extrait aqueux) Au milieu (extrait dichlorométhane). À gauche (extrait méthanol).

Nous avons laissé les différentes plaques en contact avec le solvant jusqu'à le trait final de la plaque pour la détection de différents trainés sur les plaques CCM par la chambre noire. La laisserons remonter et nous la consulterons avec l'appareil ccm.

4. La mesure de PH

Le ph renvoie au fait que les ions hydrogènes sont concentrés dans une solution. L'importance de cette mesure tient à ceci que le ph assure un nombre important des équilibres physico-chimiques.

La valeur du PH peut nous donner une prévision générale sur les familles chimiques qui existe dans l'extrait.



Figure 12 : appareil de pH-mètre utilisé dans ce travail.

4.1. But

Utiliser un pH-mètre pour mesurer le pH d'un échantillon.

5. La mesure de la conductivité

Cette opération consiste à savoir dans à quel degré une eau peut conduire un courant électrique. Elle varie tributairement de la température. Elle est liée à la concentration et à la nature des substances dissoutes. En général, lorsque la conductivité est plus importante, cela veut dire que l'extrait est très riche de composés polaires.

. La conductivité est mesurée en micro siemens par cm ($\mu\text{S}/\text{cm}$).

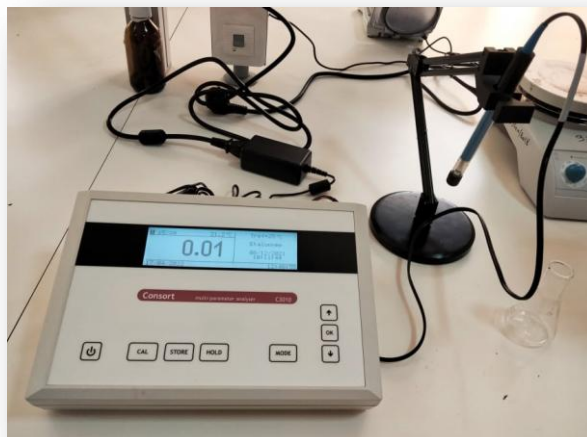


Figure 13 : appareil de conductimètre électrique.

5.1. But

Mesurer des solutions avec un appareil conductimètre électrique. Unité de mesure ($\mu\text{S}/\text{cm}$).

6. Test de révélation des composés aromatiques

Nous avons ramené trois bécher la capacité de chaque bécher est 50ml. Nous avons préparé une solution 20 fois dilué.

Tableau 03 : protocole de révélation des composés aromatique.

Les bécher	L'extrait	L'eau distillé
1 ^{er} Bécher	Extrait aqueux : 1ml +	19ml
2 ^{eme} Bécher	Extrait méthanol : 1ml +	19ml
3 ^{eme} Bécher	Extrait dichloromethane : 1ml +	19ml

Nous avons mis la solution diluée dans une cuve et l'analyse est effectuée par spectrophotomètre UV-Visible.

7. Screening phytochimique

Le screening photochimique est un moyen pour mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans des extraits des plantes.

7.1.Saponines

7.1.1. Principe

Suivant le protocole de (BentabetLasgaa N, 2015), nous avons pris 3 tubes dans lesquels nous avons mis 9ml d'eau distillée avec 1ml de l'extrait. Nous avons agité le tout pendant 2mn et avons observé le résultat obtenu.

7.1.2. Mode opératoire

En 3 tubes, nous avons ajouté 1ml de l'extrait avec 9ml de l'eau distillée. On l'a mélangé pendant 2mn et nous avons vu le résultat.



Figure 14 : Préparation d'un testes saponosides.

7.2. Tannins

7.2.1. Principe

Selon le même protocole (BentabetLasgaa N, 2015), En 3 tubes, nous avons ajouté 1ml de l'extrait avec 1ml de l'eau distillée + 1 à 2 gouttes de solution de $FeCl_3$ diluée à 1%. On l'a mélangé pendant 2 à 4mn et nous avons vu le résultat.

7.2.2. Mode opératoire

En 3 tubes, nous avons ajouté 1ml de l'extrait avec 1ml de l'eau distillée + 1 à 2 gouttes de solution de $FeCl_3$ diluée à 1%. On l'a mélangé pendant 2 à 4mn et nous avons vu le résultat.

8. Evaporation rotative (Rota-vapeur)

8.1. Principe

L'évaporateur rotatif s'utilise en chimie dans la distillation rapide des solvants et ce en vue d'une concentration partielle d'une solution ou d'une concentration à sec d'une suspension.

Le principe du dispositif repose sur une simple distillation sous vide, qui permet une élimination rapide, bien que partielle, de grandes quantités de solvant. La solution est brassée dans un ballon adapté pour éviter l'ébullition de bulles trop grosses ou mousseuses, augmenter la surface en contact avec l'air et éviter que la solution ne soit aspirée lors de la chute de pression (elle repose contre les parois du ballon du fait de force centrifuge). La pression est ensuite réduite, généralement à l'aide d'une pompe à eau, et la solution est chauffée en fonction du solvant à éliminer pour compenser le caractère endothermique de la réaction.



Figure 15 : Dispositif d'évaporation rotatif des extraits.

8.2. Mode opératoire

Une fois l'extrait récupéré du marc de café, il est placé dans un flacon spécialement conçu pour le séparer du solvant (méthanol). Essorer 2h à 60°C. Le résidu séché a été dissous dans 3 ml de méthanol, qui a été utilisé comme extrait de méthanol brut pour l'évaluation de l'activité antioxydant.

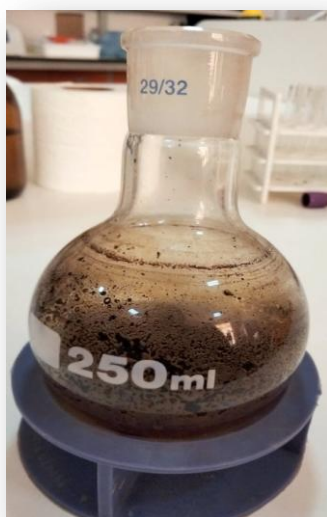


Figure 16 : Récupération de l'extrait brut de marc de café.

II. Activités biologiques

1. Évaluation de l'activité antioxydant

8.3. Test de DPPH

Le composé 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle (DPPH) a été l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques (Blois, 1958 ; Brand-Williams et al., 1995). Il a un électron non apparié sur l'azote de l'atome de pont (Popovici et al., 2009).

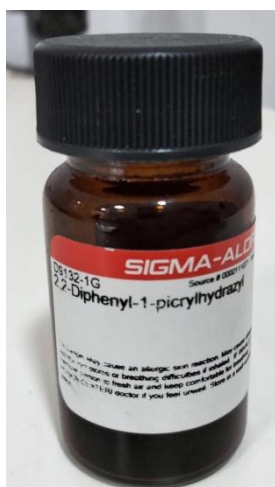


Figure 17 : Le 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle (DPPH).

8.3.1. Principe

La réduction du radical libre DPPH° (2,2'-diphényle-1-picrylhydrazyle) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV- Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants (Molyneux, 2004). En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH. (2.2 Diphenyle 1 picrylhydrazyle) de couleur violette se réduit en 2.2 Diphényle 1 picrylhydrazine de couleur jaune (**Fig. 18**) (Maataoui *et al.*, 2006).

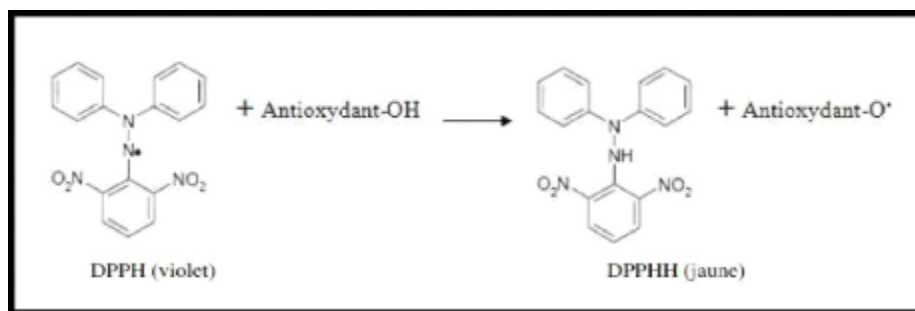


Figure 18 : réaction de test DPPH (2.2 diphényles 1 picrylhydrazyl) (Congo, 2012).

2. Préparation de la solution méthanolique pour le test DPPH

La solution méthanolique de DPPH (0.0020 %) à été préparé à partir de 0.0020 g de DPPH à dans 50 ml de méthanol puis bien homogénéiser à l'aide d'un vortex. Par la suite une lecture d'absorbance à toà été réalisé par spectrophotomètre à 517 nm.

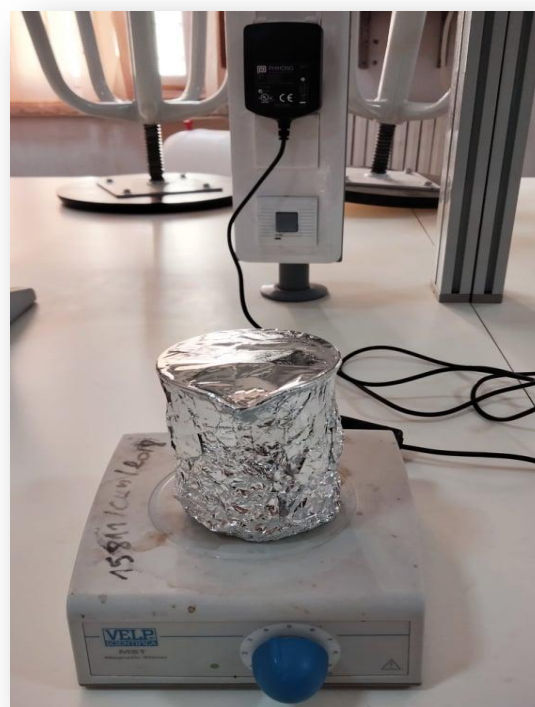


Figure 19 : Préparation de la solution méthanolique de DPPH.

3. Préparation des extraits

Cette opération se compose en 2 étapes :

1^{ère} étape : on a utilisé l'extrait directement avec plusieurs répétition 50 ; 100 ; 150.

2eme étape : on a dilué les extraits par une série de dilutions de l'ordre 1/1 ; 1/2 ; 1/4 ; 1/8 ; 1/16 ; 1/32 à été préparés avec le méthanol.

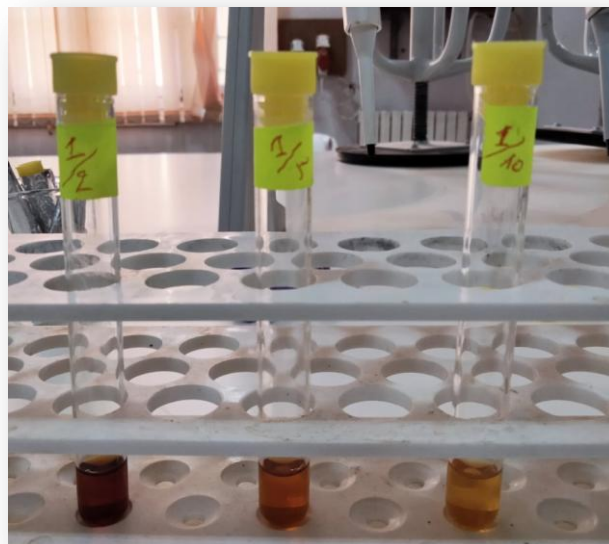


Figure 20 : Préparation des extraits.

3.1. Mode opératoire

3.1.1. Étude de l'activité antioxydant par piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle)

Pour mesurer la capacité qu'ont les molécules antioxydants à réduire le radical DPPH (couleur violette), on recourt à ce test. La forme réduite du DPPH (couleur jaune) n'absorbe plus à 517nm, s'explique par une absorbance diminuée.

En mélangeant 50 μ L des différentes concentrations de l'extrait Aqueux (2.5, 5, 10, 20, 40, 80mg/ml) également l'extrait méthanolique (5, 10, 20, 40, 80, 160mg/ml) et l'extrait dichloromethane (3.25, 6.5, 13, 26, 52, 104) sont ajoutés à 1,950mL de la solution méthanolique du DPPH. À 6,34.10⁻⁵M.

En mélangeant 50 μ L de méthanol avec 1.950ml de la solution de méthanol du DPPH, on obtient le blanc réactif. Après avoir fait une incubation dans l'obscurité durant 30mn et à température ambiante, on lit les absorbances à une longueur d'onde estimée à 517nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Méthanol est utilisé comme contrôle négatif.

3.1.1.1. Calcul des pourcentages d'inhibition

Les pourcentages d'inhibition sont calculés par la formule suivante :

Ac : absorbance du contrôle

At : absorbance du test effectué

$$PI = 100(Ac - At) / Ac$$

3.1.1.2. Calcul des concentrations inhibitrices à 50% (IC50)

La IC50 ou concentration inhibitrice à 50 %, renvoie à la concentration évaluée nécessaire à la réduction de 50% de radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement par les progressions exponentielles des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'extrait testé (Scherer et Godoy, 2009).



Figure 21 : Analyse spectrophotométrique UV-visible à 517 nm.

CHAPITRE 03 :
RESULTATS
ET
DISCUSSIONS

1. Analyse phytochimique des extraits de marc de café

La procédure d'extraction est effectuée sur un montage multiposte de Soxhlet, afin de récupérer les molécules d'intérêt avec l'utilisation de plusieurs solvants.

La **figure.22**, illustre le déroulement de procédure d'extraction par la méthode Soxhlet

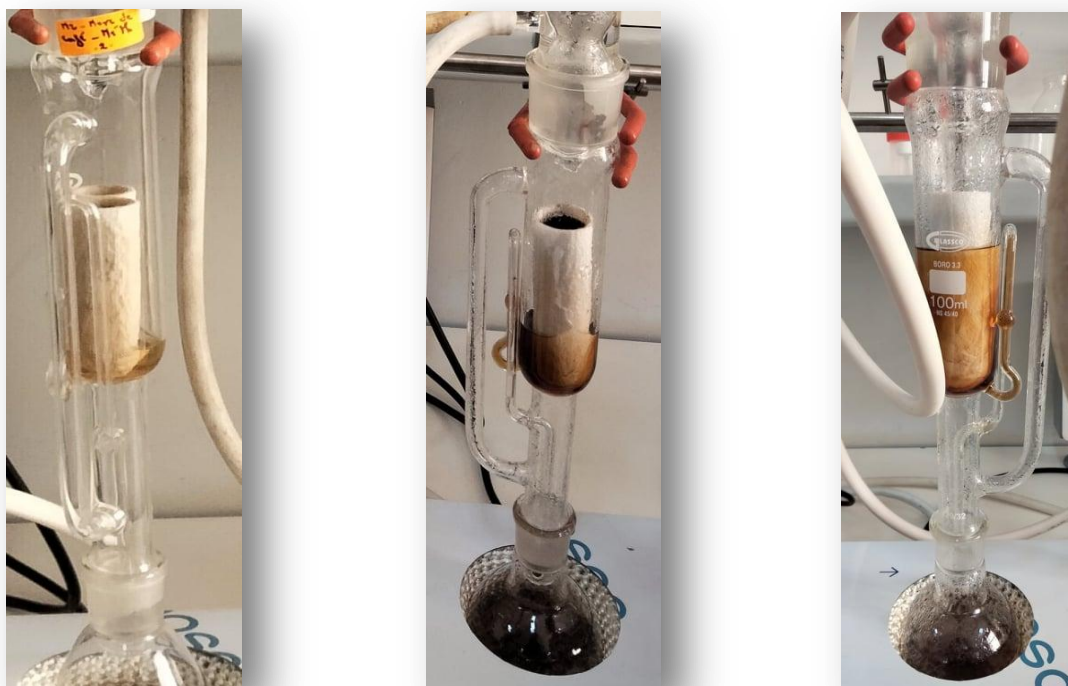


Figure 22 : extraction par Soxhlet de l'extrait méthanoïque.

Les tests phytochimique ont été réalisés sur différents extraits préparés à partir de marc de café, en utilisant des solvants de polarités différentes et des réactifs spécifiques de révélation.

2. Chromatographie sur couche mince

Après l'opération des extractions des échantillons de différents extraits Aqueux, Méthanolique, dichloromethane. Entité pris pour faire le teste chromatographie sur couche mince. Donc on a utilisé le solvant polaire que représente un mélange entre l'acide acétique, n-butanol et L'eau distillée respectivement avec le pourcentage 20%, 30%, 50%. Les résultats et les révélations était fait sur deux lampes UV respectivement à 254nm et 365nm. Les résultats obtenus sont mentionnés dans les figures ci-dessous.

D'après ces figures en remarque de longue traînée sur les plaques CCM cela veut dire la présence de plusieurs famille chimique dans l'extrait aqueux, également la détection de l'extrait méthanolique a présente une traînée donc même l'extrait méthanolique présent plusieurs familles chimiques dans notre extrait.

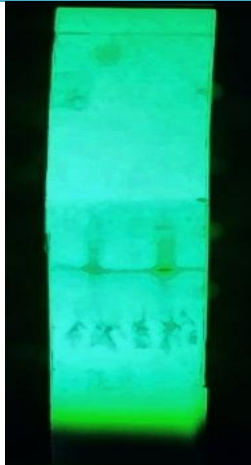
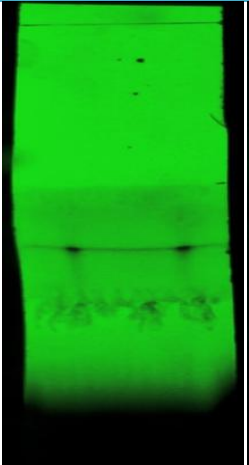
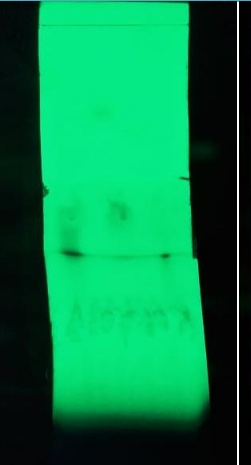


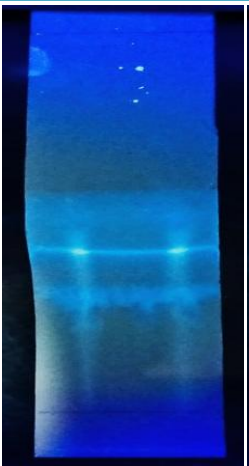
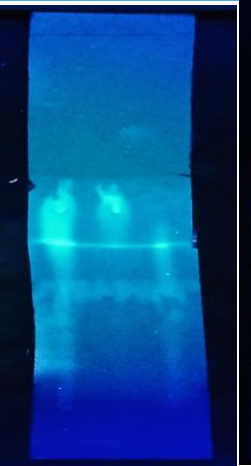
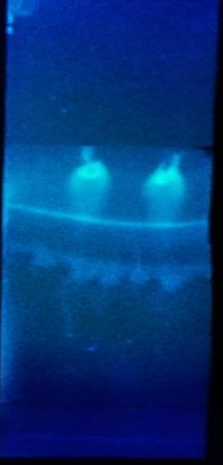
Les points mentionnés cela veut dire la révélation CCM dans tout les extraits a montrés la présence des composes aromatique que sont détectés sur les lampes UV.

Egalement même l'extrait dichlorométhane a présentés plusieurs traînées donc la présence de plusieurs familles chimiques en peut déduire qu'il ya une richesse en matière de substance aromatique

Extrait aqueux a présentés une distance de migration de 10.3 cm, par contre la distances de migration de l'extrait méthanolique est 10.7 cm, et la distances de migration de l'extrait dichloromethane est 10.1 cm, et la distances de migration de trois extrait égale 10.8 cm.

Nous résumons les résultats dans le tableau ci-dessous :

Tableau n°4 : Les résultats et les révélations des plaques CCM.

Extraits	Aqueux (AQ)	Méthanol	Dichlorométhane	Les trois extraits	
254nm					
Plaques + Lampes	365nm				
Distances de migration	10.3 cm	10.7 cm	10.1 cm	10.8Cm	

3. La mesure de PH

Après l'extraction on a prise extrait et le pH on à mesurer l'acidité des différents extraits obtenus, l'extrait aqueux, méthanol, dichlorométhane.

Les valeurs de PH obtenues sont respectivement :

Tableau n°5 : les mesures de PH du déférent extrait.

Extrait	Aqueux (AQ)	Méthanol	Dichlorométhane
PH	6.501	5.091	6.25

4. La mesure de la conductivité

Egalement après l'extraction, on a mesuré la conductivité électrique des déférents extrait obtenue, l'extrait aqueux, méthanol, dichloromethane.

Donc nos mesures les mesures obtenues sont respectivement :

Tableau n°6 : les mesures de conductivité du déférent extrait.

Extrait	Aqueux (AQ)	Méthanol	Dichlorométhane
Conductivité	763 $\mu\text{S}/\text{cm}$	241 $\mu\text{S}/\text{cm}$	0.56 $\mu\text{s}/\text{cm}$

5. Les composer aromatique

Après l'extraction la même chose on a prise des échantillons des déférents extraits aqueux, méthanol, dichloromethane. Les échantillons sont subis est l'analyse un dosage spectrophotométrique sur l'appareille de UV-Visible.

On a obtenu le spectre suivant représente le dosage spectrophotométrique de l'extrait aqueux par UV-Visible. Donc après on a obtenu une bonde large Aix alentours de longueur d'onde de 330 nm cela veut dire la présence ce l'indique la présence de plusieurs substance aromatique dans notre extrait aqueux.

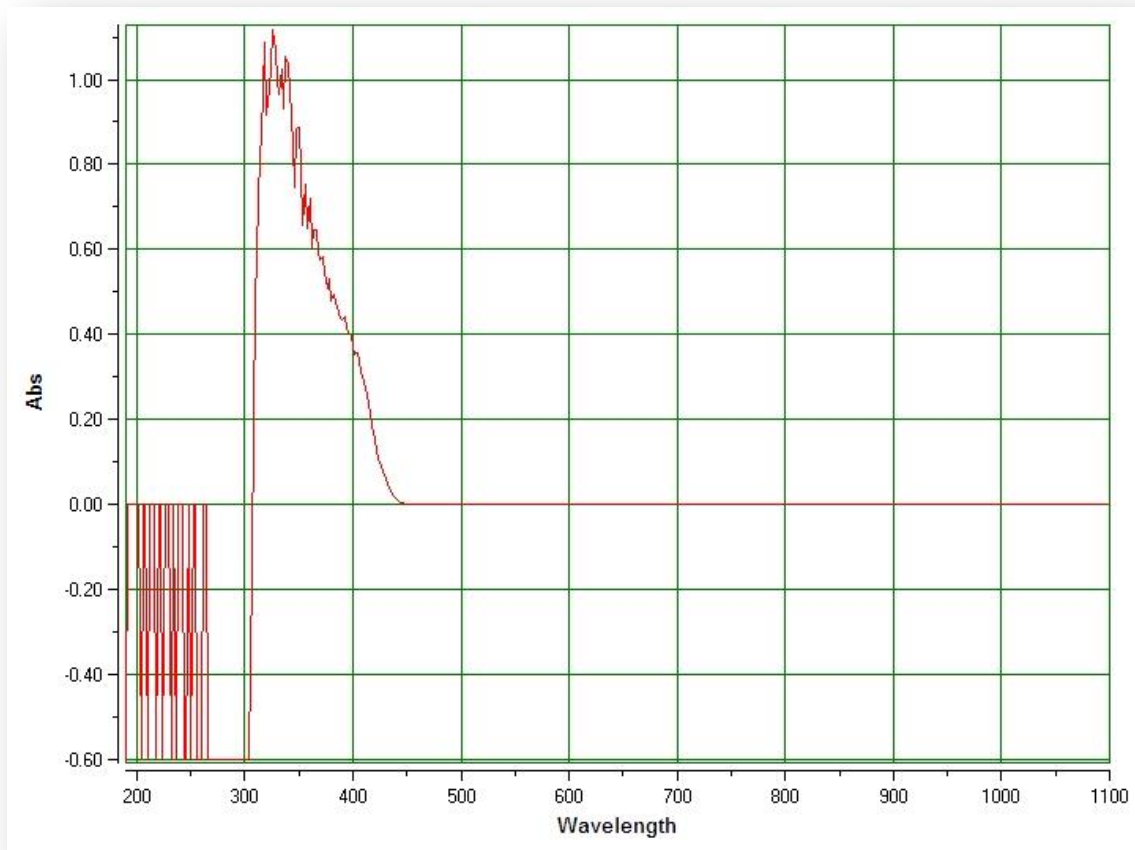


Figure 23 : Spectre de l'extrait aqueux de marc de café par UV-Visible.

Également la même chose pour l'extrait méthanolique on a prise un échantillon pour un dosage spectrophotométrique, la figure ci-dessous obtenue représente le spectre de notre extrait méthanolique par UV-Visible. On a obtenu une large bande d'absorption autour de 320 nm, donc la même chose l'extrait méthanolique présence des espèces aromatique plus précisément on peut dire que l'extrait méthanolique est très riche en matière de polyphénols.

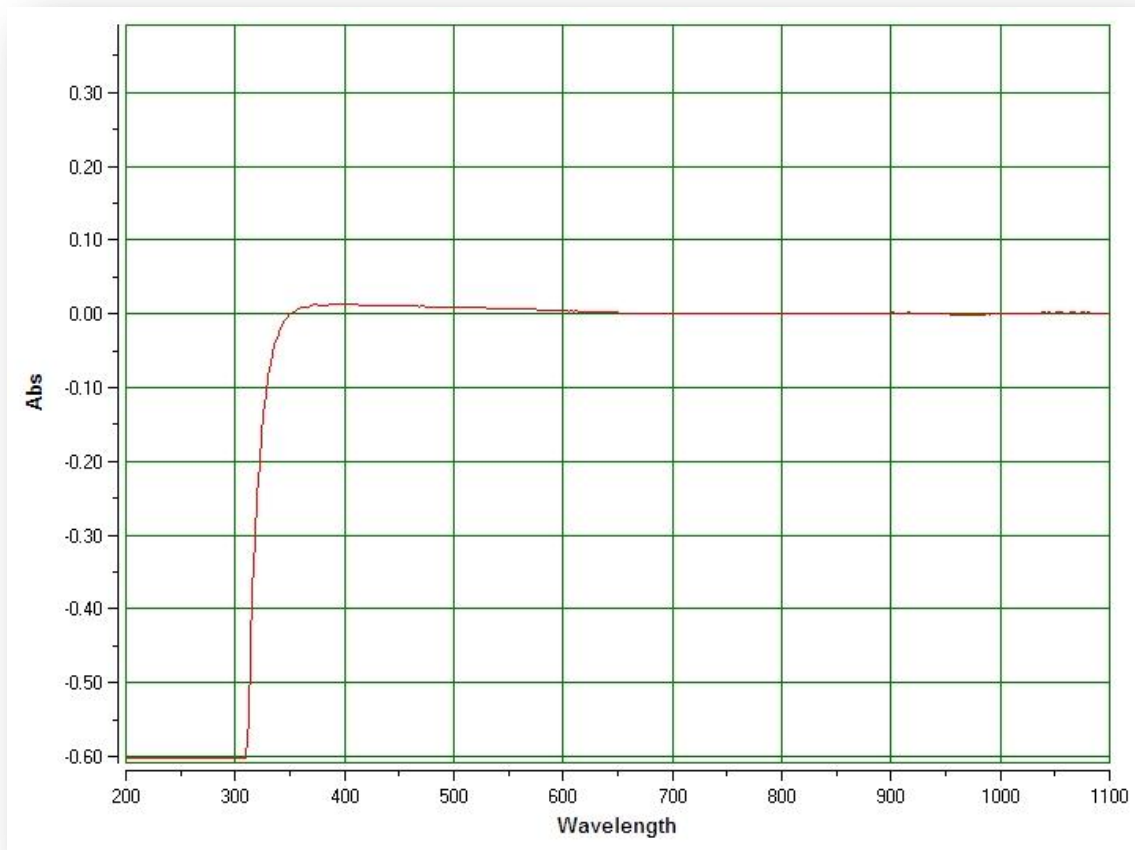


Figure 24 : Spectre de l'extrait méthanol de marc de café par UV-Visible.

Également la même chose pour le troisième extrait dichloromethane on a obtenu deux bandes larges respectivement Aix alentours de 320 nm et 340 nm. La même chose l'extrait de dichloromethane présente d'onde confirme la présence des composés phénolique, généralement les composés phénoliques présente une large bande Aix alentours de 320 nm par UV-Visible.

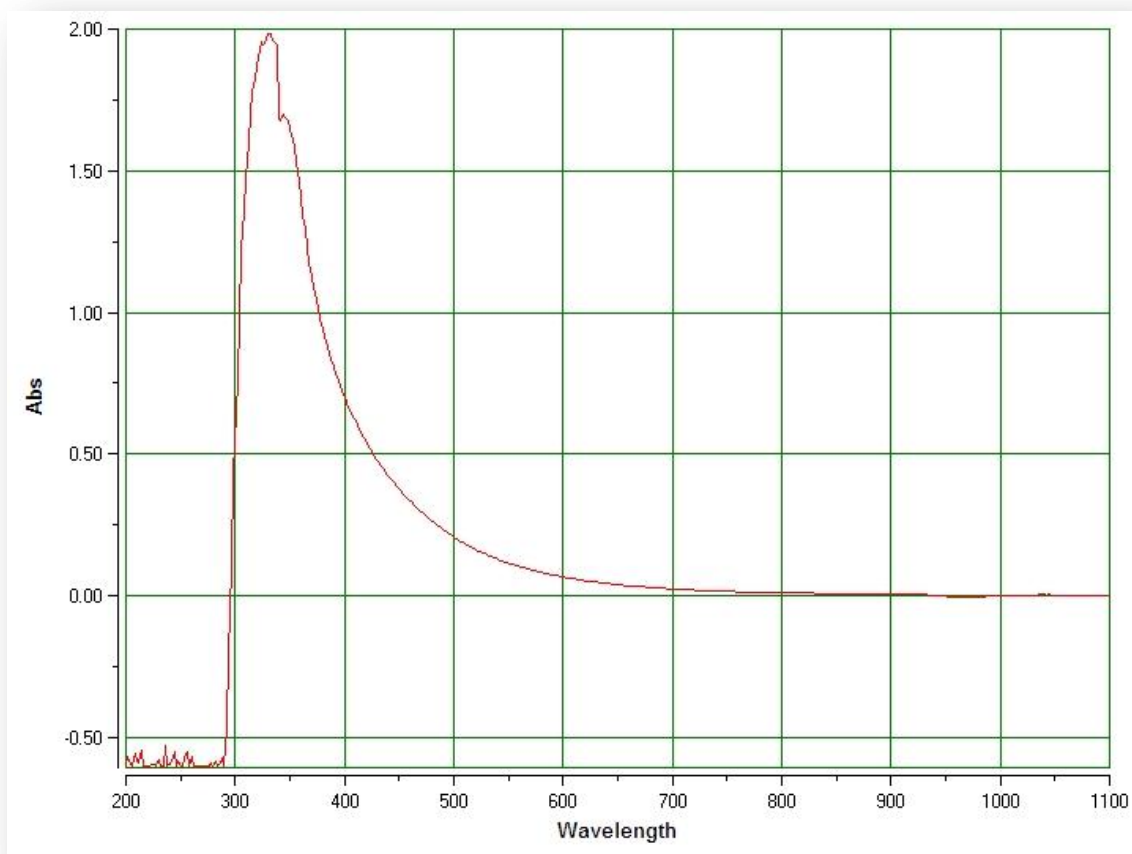





Figure 25 : Spectre de l'extrait dichlorométhane de marc de café par UV-Visible.

6. Analyse phytochimique des extraits de marc de café

6.1. Saponines

Tableau n°7 : teste phytochimique sur les saponines des différents extraits obtenus.

Extraits	Aqueux (AQ)	Méthanol	Dichlorométhane
Les composés			
Saponines			
	++++	-	+++

++++ : Fortement positif ; ++ (+) : Moyennement positif ; - : Négatif.

D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus, nous avons noté que le marc de café, est très riche en saponine surtout pour l'extrait aqueux et l'extrait Dichlorométhane, par contre on note aussi l'absence des saponines dans l'extrait méthanolique.

6.2. Tannins

Après on a effectuée le teste phytochimique sur les tannins. Donc on a prise 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution FeCl₃ diluée à 1% à 1 ml de chaque extrait, on a obtenu une couleur vert foncé ce que confirme la présence des tannins respectivement dans l'extrait aqueux et dans l'extrait méthanolique, par contre on remarque aussi l'absence des tannins dans l'extrait dechlorométhane.

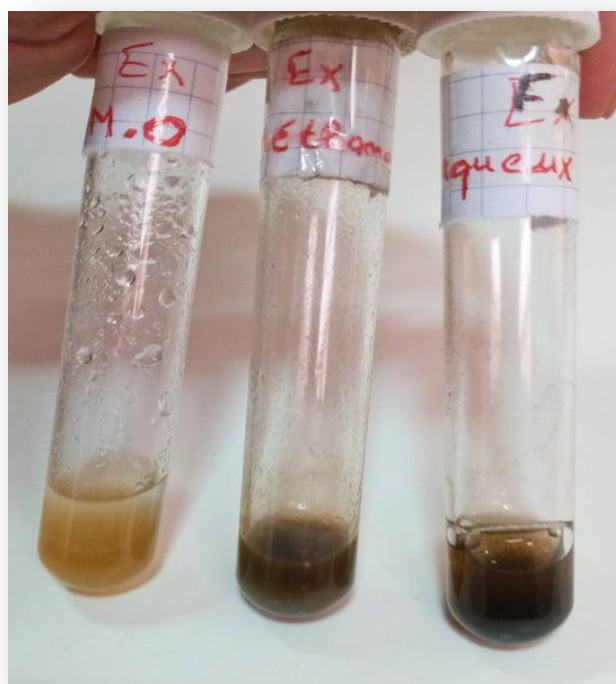


Figure 26 : teste phytochimique sur les tannins des différents extraits obtenus.

7. Evaporation rotative (Rota-vapeur)

Les extraits obtenus ont subi une séparation par le rota-vapeur. Après la séparation on a calculé le rendement d'extraction en présence des différents solvants, d'après Les résultats des rendements et caractéristiques des différents extraits de marc de café sont représentés dans le tableau n°8. Nous constatons que le rendement le plus élevé est celui de l'extrait méthanol (2.60 %) suivi par l'extrait de dichlorométhane (1.56 %) et l'extrait aqueux (1.30 %).

Tableau n°8 : Rendements et caractéristiques des différents extraits de marc de café.

Extraits	Masse initiale (g)	Masse de l'extrait (g)	Aspect	Couleur	Rendement%
Aqueux (AQ)	18.5	0.2398	Poudre	Marron foncé	1.30
Méthanol	18.5	0.4815	Poudre	Marron	2.60
Dichlorométhane	20	0.3122	Poudre	Jaune	1.56

8. Activités biologiques

8.1. Activité antioxydant

8.1.1. Test de DPPH

Les résultats des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH à différentes concentrations d'extraits aqueux de l'huile de marc de café sont regroupés dans les figures.27 ; 28 et 29.

Il ressort de ces résultats que l'extrait aqueux de marc de café présente un pouvoir d'inhibition très important sur le radical libre DPPH comparable avec des antioxydants de référence. Le pourcentage de cet extrait aqueux est de 85% à une concentration de 80 mg/mL. Alors que le pouvoir d'inhibition diminue avec la diminution de concentration jusqu'à 9%, avec une concentration d'extrait aqueux de l'ordre de 2.5 mg/mL. De même, la capacité antioxydant de l'extrait aqueux de l'huile de marc sur le radical libre de DPPH a été déterminée par le calcul des IC₅₀ qui correspond à la concentration de l'extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH (tableau N°13). Le pouvoir d'inhibition IC₅₀ pour l'extrait aqueux est de l'ordre de 15 mg/mL.

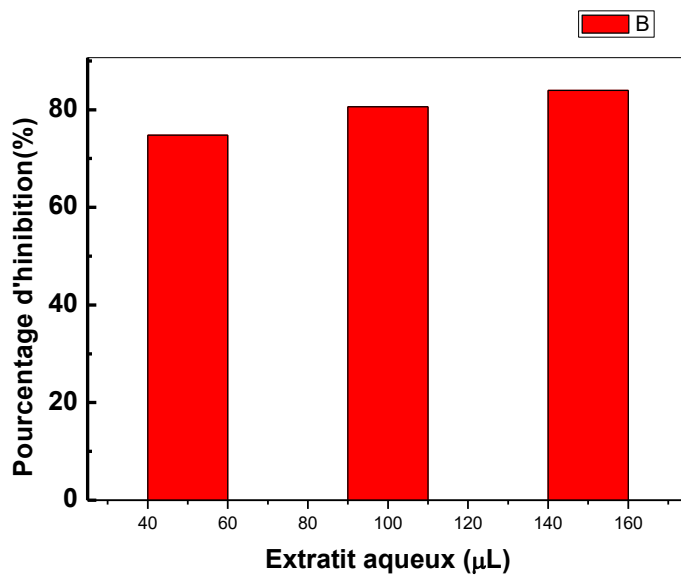


Figure 27 : Effet de la concentration d'extrait aqueux brute sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH

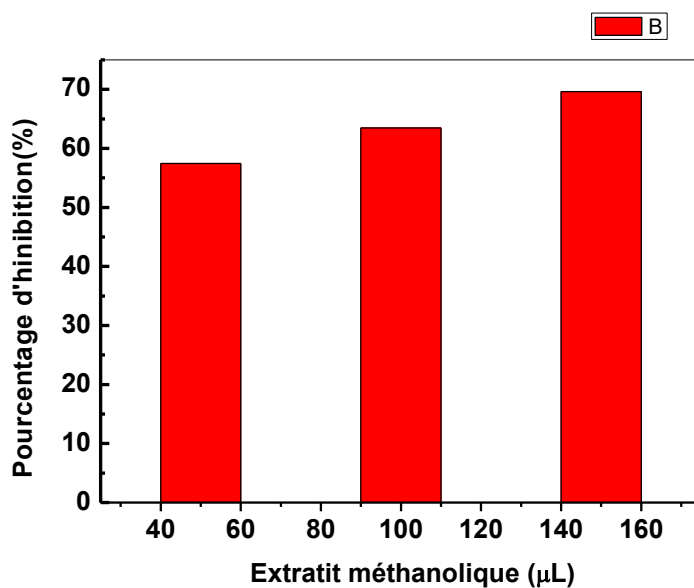


Figure 28 : Effet de la concentration d'extrait méthanolique brute sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH

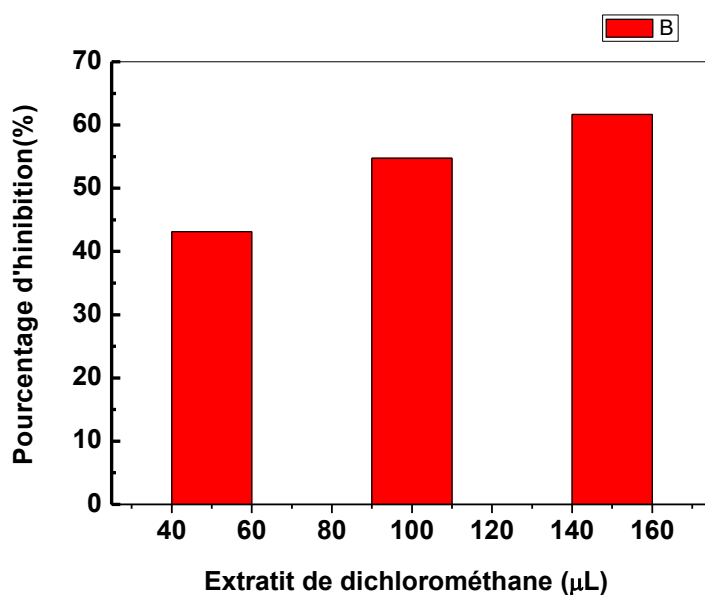


Figure 29 : Effet de la concentration d'extrait de dichlorométhane brute sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH

L'effet de la nature de l'extrait de marc de café sur le pouvoir d'inhibition de radical libre de DPPH est présenté sur la figure.30. L'étude comparative des trois extraits de marc de café (extrait aqueux, extrait méthanolique et l'extrait de dichlorométhane), montre que l'extrait aqueux présente le meilleure pouvoir d'inhibition (85%) par rapport aux autres extraits : extrait méthanolique (66%) et l'extrait de dichlorométhane (57%).

Tableau n°9 : les différents extraits sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH

Colonne1	Colonne2	Colonne3	Colonne4	Colonne5	Colonne6
DPPH : volume		DPPH = 0,644		La moyenne	PI
Extrait aqueux					
50	0,161	0,172	0,154	0,16233333	74,7929607
100	0,125	0,131	0,119	0,125	80,5900621
150	0,092	0,112	0,106	0,10333333	83,9544513
Extrait méthanol					
50	0,272	0,281	0,269	0,274	57,4534161
100	0,236	0,229	0,241	0,23533333	63,4575569
150	0,195	0,204	0,188	0,19566667	69,6169772
Extrait dechlorométhane					
50	0,342	0,382	0,375	0,36633333	43,115942
100	0,295	0,288	0,291	0,29133333	54,7619048
150	0,254	0,248	0,239	0,247	61,6459627

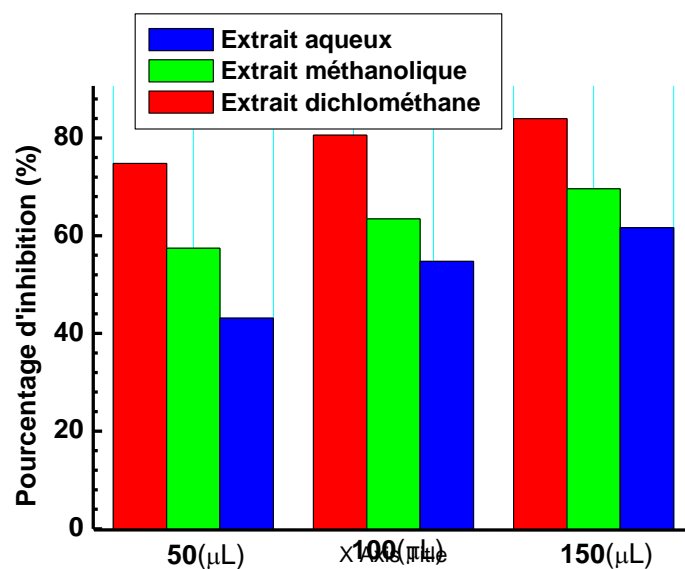


Figure 30 : Effet de la nature d'extrait sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH.

Tableau n°10 : la concentration d'extrait aqueux sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH

Extrait Aqueux	A0= 0,644					
Dilution	1 1	1 2	1 4	1 8	1 16	1 32
	0,1	0,16	0,21	0,36	0,42	0,53
	80 mg/ml	40 mg/ml	20 mg/ml	10 mg/ml	5 mg/ml	2,5 mg/ml
PI (%)	84,472049	75,155279	67,391304	44,099378	34,782608	17,701863
	7	5	3	9	7	4

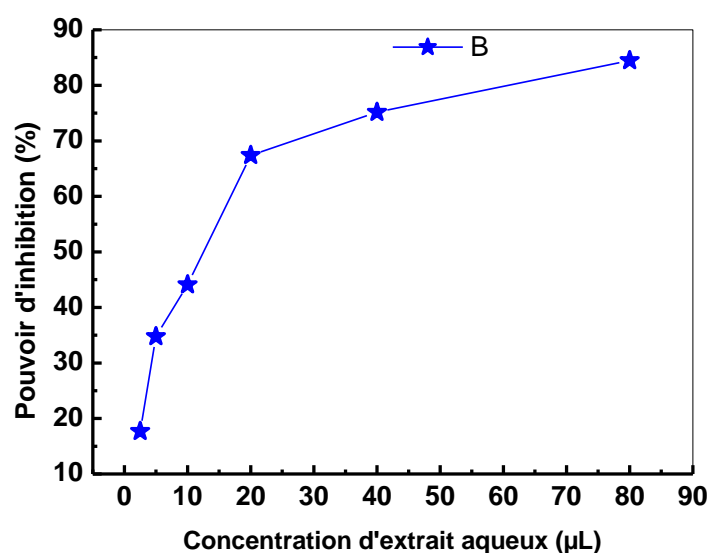


Figure 31 : Effet de la concentration d'extrait aqueux sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH

L'effet de la concentration sur l'évolution du pouvoir d'inhibition est représenté sur les figures .31 ; 32 et 33. De même, l'évolution le pouvoir d'inhibition de l'extrait de marc de café sur différents solvants, montre toujours que l'extrait aqueux présente le meilleur pouvoir d'inhibition de radical libre de DPPH par rapport aux autres extraits méthanolique et

dechlorométhane. On remarque clairement que le pouvoir d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration de différents extraits.

Tableau n°11 : concentration d'extrait méthanolique sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH

Extrait Méthanol A0= 0,644						
Dilution	1 1	1 2	1 4	1 8	1 16	1 32
	0,22	0,35	0,44	0,49	0,53	0,59
	160 mg/ml	80 mg/ml	40 mg/ml	20 mg/ml	10 mg/ml	5 mg/ml
PI (%)	65,838509 3	45,652173 9	31,677018 6	23,913043 5	17,701863 4	8,3850931 7

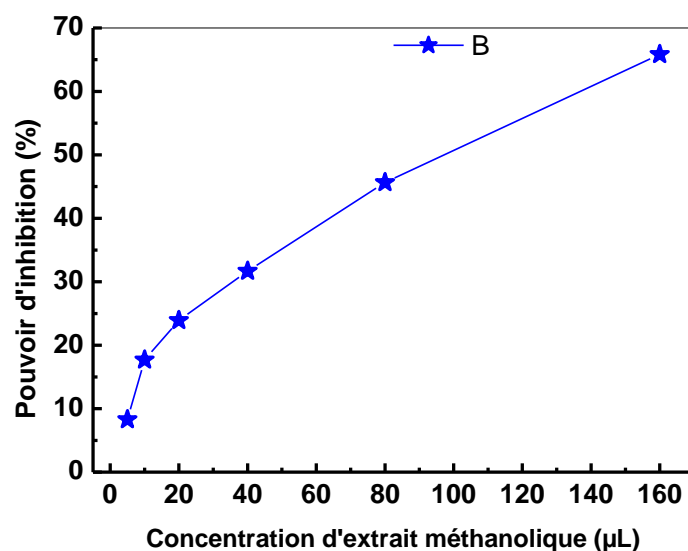


Figure 32 : Effet de la concentration d'extrait méthanolique sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH

Tableau n°12 : la concentration d'extrait dichlorométhane sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH

Extrait Dichlorométhane A0= 0,644						
Dilution	1 1	1 2	1 4	1 8	1 16	1 32
	0,28	0,36	0,42	0,51	0,57	0,6
	104 mg/ml	52 mg/ml	26 mg/ml	13 mg/ml	6,5 mg/ml	3,25 mg/ml
PI (%)	56,521739	44,099378	34,782608	20,807453	11,490683	6,8322981
	1	9	7	4	2	4

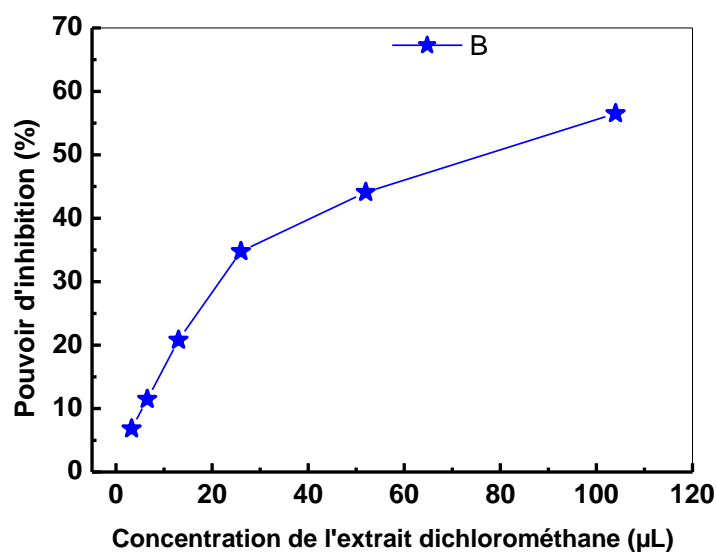


Figure 33 : Effet de la concentration d'extrait dichlorométhane sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc du café sur le radical libre de DPPH

La figure .34 montre que le pouvoir d'inhibition pour l'extrait aqueux augmente rapidement lorsque la concentration de l'extrait augmente de 2.5 mg/mL jusqu'à 80 mg/mL. On peut dire que l'extrait aqueux présente une activité antioxydant forte et rapide même à faible concentration.

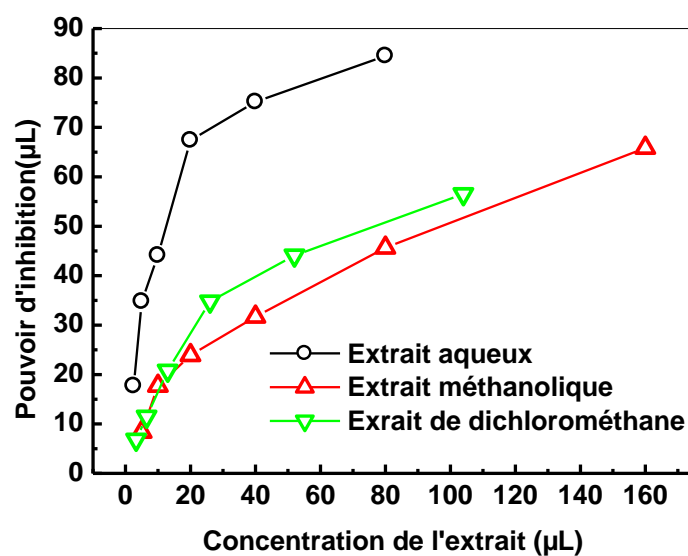


Figure 34 : Effet de la concentration de différents d'extrait (aqueux, méthanolique et dichlorométhane) sur le pouvoir d'inhibition de l'huile du marc de café sur le radical libre de DPPH.

Tableau n°13 : Pouvoir d'inhibition IC50.

Nature de l'extrait	Pouvoir d'inhibition IC50
Extrait aqueux	15mg/mL
Extrait méthanolique	85mg/mL
Extrait de dichlorométhane	95mg/mL



CONCLUSION ET
PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce présent travail porte sur l'étude des extraits de marc de café en tenant compte plusieurs facteurs phytochimiques et physico-chimiques, ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante des composés bioactifs présent dans les extraits aqueux, méthanolique et dichlorométhane de marc de café.

L'huile étudiée est extraite à partir du marc de café en utilisant la procédure d'extraction par soxhlet.

Le rendement d'extraction de cette huile s'est avéré important pour la méthode utilisée. En effet on atteint un rendement de 1,30% pour l'extrait aqueux et 2,60% pour l'extrait méthanolique et 1,56% pour l'extrait dichlorométhane.

La révélation chromatographie sur couche mince pour l'ensemble des extraits montre la présence de plusieurs trainés, ce qui confirme que les extraits sont riches en molécules aromatiques polaires et apolaires, dans les extraits de marc de café.

Les tests phytochimiques réalisée sur les extraits de marc de café montrent qu'ils sont riches en composés suivantes : polyphénols, tanins et saponosides.

L'activité antioxydant des extraits de marc de café *vis-à-vis* le radical libre DPPH, ont montré des activités anti radicalaires très intéressantes exprimées par une CI50 égales à 15mg/ml, 85mg/ml et 95mg/ml, respectivement pour les extraits aqueux, méthanolique et dichlorométhane.

Le rendement de l'activité antioxydante atteint 85%, 66% et 57% respectivement pour les extraits aqueux, méthanolique et dichlorométhane.

Enfin, on peut conclure que le marc de café est très riche en substances bioactifs qui peuvent être valorisé dans le domaine pharmaceutique, agroalimentaire et cosmétique.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

AGUILLRA J.M. (2003). *Solid-liquid extraction*. Food Sciences and Technology, 128, pp 35-55.

Aruoma, O.L. (1996) Assessment of potential prooxidant and antioxidant actions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73, 1617-1625.

Bucic-Kojic A., Planinic M., Tomas S., Bilic M ET Velic D. (2007). *Study of solid liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds*. Journal of Food Engineering, 82:236-242.

Bruneton J. (1999) Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3^{ème} Ed Tec&Doc. Paris.

BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K., ET SAMMAN, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agro industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. 99: 191–203.

BRUNETON, J. (1999). Phytochimie. Plantes médicinales. Pharmacognosie. 3eme édition, Paris, France. pp: 125165.

B. Bozin, N. Mimica-Dukic, I. Samojlik, A. Goran and R. Igic, Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae), *Food Chemistry*, 111: (2008) P. 925-929.

Bassène E. 2012. *Initiation à la Recherche sur les Substances Naturelles : Extraction-Analyse-Essais Biologiques*. Presse Universitaire de Dakar : Dakar ; 17 ,94- 96, 140 p.

BentabetLasgaa N. Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes *Fredoliaaretioides* et *echiumvulgare* de l'ouest algérien. These de doctorat 2015, P 20-21. Available on: www.phytojournal.com/archives/2017/vol6issue2/.../6-1-53-637.pdf

Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

Chalchat et al., 1997 Chalchat J.K., Carry L. P., Menut C., Lamaty G., Malhuret R. and Chopineau J. (1997) – Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. *J. Essent. Oil Res.*, 9: 67-75.

Codoñer-Franch P, Valls-Belles V, Arilla- Codoñer A, Alonso-Iglesias E. 2011. Oxidant mechanisms in childhood obesity: the link between inflammation and oxidative stress. *Translational Res.*, 158(6): 369-384. DOI:10.1016/j.trsl. 2011.08.004.

CONGO M., 2012. Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliferative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica L.* (Salvadoraceae).Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso : 42p.

Dibert K., Cros E. (1989). *Solvent extraction of oil and chlorogenic acid from green coffee Part II: Kinetic data. Journal of Food Engineering.* 10(3): 199-214.

DAI J. and MUMPER R J., 2010 - Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propreties. *Molecules*, 15(10): 7313-52.

DERBEL, S., et GHEDIRA, K. (2005). Phytothérapie et nutrition: Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*. 1: 28-34.

DELILLE L., 2007 - Les plantes médicinales d'Algérie. Éd. BERTI, Alger, 122 P.

Ebadi M. (2001) *Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine*. CRC Pres LLC.

Frankel, E.N. and Meyer, A.S. (2000) The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(13), 1925-1941.

Fatima KHOLKHAL1*, Hamadi Abderrahmane LAZOUNI1, Mourad BENDAHOUE2, Ikram BOUBLENZA2, Sari Daoudi CHABANE2 et Tarik CHAOUCHI 1Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA), Université de Tlemcen, Algérie 2Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à l'environnement (LAMAABE), Université de Tlemcen, Algérie *Afrique SCIENCE 09(1) (2013) 151 – 158* ISSN 1813-548X, <http://www.afriquescience.info>.

Ghedira k. (2005) Les flavonoïdes: Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. 3(4): 162-169.

Haddoudi, M., Mellouk, H., Bejjany, B., Dani, A., et Digua, K. (2014) Valorisation Du Marc De Café : Extraction De L'huile Et Évaluation De Son Activité Antioxydante. *Les Technologies De Laboratoire*. P. 29-37.

Hamsi N. (2013). *Contribution à l'étude de l'optimisation de l'extraction solide-liquide des lipides par Soxhlet du caroubier (Ceratonia siliqua) de la région de Tlemcen*. University Abou Bakkr Belkaid -TLEMCEM.56p

Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD (2008) Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre for Science and High Technology,

Hamsi N. (2013). *Contribution à l'étude de l'optimisation de l'extraction solide-liquide des lipides par Soxhlet du caroubier (Ceratonia siliqua) de la région de Tlemcen*. University Abou Bakkr Belkaid -TLEMCEM.56p.

Handa Sukhdev Swami, Khanuja Suman Preet Singh, Longo Gennaro, Rakesh Dev Dutt. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International centre for science and high technology, Trieste, 2008, 21-25.

HOFFMANN D., 2003 - Medical Herbalism: The Science and Practice of Herbal Medicine. Ed. Inner Traditions / Bear & Co, 90 p.

HEIM K., TAGLIAFERRO A. and BOBILYA D., 2002 - Flavonoids antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 572-584.

HOPKINS W.G., 2003 - Physiologie végétale. Ed.Boeck et Lancier SA, Paris, 514 p.

Halliwell B., Gutteridge JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. (1990) *Methods Enzymol*, 186, 1-85.

Iriondo-DeHond, A., Garcia, N. A., Fernandez-Gomez, B., Guisantes-Batan, E., Escobar, F. V., Blanch, G. P., ... & del Castillo, M. D. (2019) Validation of coffee by products as novel food ingredients. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 51, 194-204.

ISERIN P., 2001 - Encyclopédie des plantes médicinales. Ed.Larousse-Bordas, Paris: 275 p.

Iboukhoulef H., Meziane S., Kadi H. (2006). *Influence du carbonate de sodium anhydre sur l'extraction de l'huile à partir d'un grignon d'olive humide*. *Déchets Sciences ET technique*, 42. 29-31.

Jones WP, Kinghorn AD (2005) Extraction of plant secondary metabolites. In: Sarker SD, Latif Z, Gray AI (Eds) *Natural Products Isolation*, vol 20. *Methods in Biotechnology*. Humana Press, Totowa, pp 323-351.

Kondamudi, N., Mohapatra, S. K., and Misra, M. (2008) Spent coffee grounds as a versatile source of green energy. *Journal of agricultural and foodchemistry*, 56(24), 11757-11760.

KANTI BHOOSHAN PANDEY et SYED IBRAHIM RIZVI. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2 : 5, 270- 278 ; November / December ; 2009. Landes Bioscience.

KLAAS C.A., WAGNER G., LAUFER S., SOSA S., LOGGIA R.D., BOMME U., PAHL H.L. and MERFORT I., 2002 - Studies on the anti-Inflammatory Activity of Phytopharmaceuticals prepared from Arnica flowers. *Planta Med*, 68: 385-391.

LALOU A. (1995). *Mise au point d'un procédé d'extraction des hémicelluloses à partir d'un substrat végétale lingo-cellulosique : application au cas des coques de tournesol*. These de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse.

Luque-Garcia J.L and Luque de Castro M.D. (2004). *Ultrasound-assisted Soxhlet extraction: An expeditive approach for solid sample treatment-Application to the extraction of total fat from oleaginous seeds*. *Journal of Chromatography A* 1034: 237-242.

LINDEN et LORIENT, D. (1994). Pigments et arômes in *Biochimie agro-industrielle : valorisation alimentaire de la production agricole*. Ed: Masson. 338-340.

Meziane S., Kadi H., Lamrous O. (2006). *Kinetics study of oil extraction from olive; foot cake*. *Grasas Y Aceites*, 57 (2), 175-179.

MANSOUR A., 2009 - Investigation phytochimique de l'extrait n-butanol de l'espèce *centaurea africana*. Mémoire de magister, Univ. Constantine, 8 p.

MACHEIX J.J., FLEURIET A. et JAY-ALLEMAND C., 2005 - Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechnologiques et universitaires romandes, France, 192 p.

Mette M. Berger Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. (2006) *Nutrition clinique et métabolisme*, 20, 48-53.

Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26(2): 211-219.

Molyneux P., 2004- The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* 26, 211-219.

MAATAOUI B S., HMYENE A., HILALI S., 2006. Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal.* (1):3-8.42.

N. Benhammou, F. Atik Bekkara and K.T. Panovska, Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* Desf. *Advances in Food Science (AFS)*, 29(23), (2007) P.155-161.

PINCEMAIL J., DEGRUNE F., VOUSURE S., MALHERBE C., PAQUOT N. and DEFRAIGNE J.O., 2007 - Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition clinique et métabolisme*, 21 : 66–75.

Prior, R.L., Wu, X. and Schaich, K. (2005) Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290-4302.

PENCHEV, Petko Ivanov. *Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions*. 2010. These de doctorat.

POPOVICI C., SAYKOVA I., TYLKOWSKI B., 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie Industriel.

Ramalakshmi, K., Rao, L.J.M., Takano-Ishikawa, Y. et Goto, M. (2009) Bioactivities of low-grade green coffee and spent coffee in different in vitro model systems. Food Chemistry, vol. 115. P. 79-85.

RAVEN P.H., EVERT R.F. AND EICHHORN S.E., 2000 - Biologie végétale. Ed.Boeck Supérieur, Etats Unis, 944 p.

Richard, J. L., & Thurston, J. R. (Eds.). (1986). Diagnosis of Mycotoxicoses. Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-009-4235-6>.

Stanislav Obruca., Sinisa Petrik., Pavla Benesova., Zdenek Svoboda. , Libor Eremka., Ivana Marova. (2014) Utilization of oil extracted from spent coffee grounds for sustainable production of polyhydroxyalkanoates, Appl Microbiol Biotechnol. DOI 10.1007-s00253-014-5653-3. 36.

S. S. Herodez, M. Handling, M. Skergeta and Zeljko Knez, Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves, Food Chemistry, 80 (2003) 275– 282.

SCALBERT A., MANACH C., MORAND C. and RÉMÉSY C., 2005 - Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 45 : 287– 306.

SARNI-MANCHADO, P., et CHEYNIER, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Tec et Doc Lavoisier. pp : 02-11.

Stalikas C D (2007) Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci.* 2007, 30, 3268–3295

Sarr SO, Fall AD, Gueye R, Diop A, Diatta K, Diop N, NDiaye B, Diop YM. 2015. Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 9(3): 1263-1269. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v9i3.11>

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 (3) : 121-137.

Tyihák E., Móricz Á M and Ott P.G. (2007) Biodetection and Determination of Biological Activity of Natural Compounds in Thin Layer Chromatography in

Phytochemistry. *CRC Press*. Sofowera A. (2010) Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Karthala, *Economie et Développement*. Paris: 384p.

Thayumanavan B and Sadasivam S. (2003) Molecular Host Plant Resistance to Pests. CRC Pres LLC.

Tessier F., Marconnet P. Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. (1995) *Science & Sports*.10, 1-13.

WAKSMUNDZKA-HAJNOS M. and SHERMA J., 2011 - High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical science. Chromatographic Science Series, 102: 477-478.

W-ERDMAN J., BALENTINE J.D., ARAB L., BEECHER G., DWYER J.T., FOLTS J., HARNLY., HOLLMAN J.P., L-KEEN C., MAZZA G., MESSINA M., SCALBERT A., VITA J., WILLIAMSON G. and BURROWES J., 2005 - Flavonoids and heart health: Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop. Washington. Journal of Nutrition, (3) 137: 718-737.

Zengin, G., Sinan, K. I., Mahomoodally, M. F., Angeloni, S., Mustafa, A. M., Vittori, S., and Caprioli, G. (2020) Chemical Composition, Antioxidant and Enzyme Inhibitory Properties of Different Extracts Obtained from Spent Coffee Ground and Coffee Silverskin. Foods, 9(6). P. 713.

ZEGHAD. N ,2009. *Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne*. Mémoire de magister. Université Mentouri de Constantine.

ملخص

تعتبر القهوة ثاني مشروب يتم تناوله بعد الماء. يتم تحضيره عبر تقطير مسحوق القهوة في وجود الماء. ينتج عن هذه العملية انحلال المركبات القابلة للذوبان في الماء مثل (حمض الكافيك). ومع ذلك يبقى الجزء المحب للدهون في البقايا تسمى نفل القهوة. التي بدورها تعتبر نفايات عضوية غنية بالمركبات العضوية، على وجه الخصوص المواد الحيوية والدهنية.

يتم تجميع هذه النفايات العضوية من خلال استخداماتها في عدة مجالات مختلفة مثل صناعة مستحضرات التجميل و الأغذية، وإنتاج السماد و الكربون المنشط و الوقود الحيوي، واستخدامات أخرى.

يمكن استخلاص هذه الزيوت بعدة طرق، نهتم في هذه المذكرة بالاستخلاص الصلب السائل الذي أعطى مردودا جيدا.

كذلك في سياق هذه الدراسة قمنا بتحليل فيزيوكيميائية على مستخلصات نفل القهوة، و تحاليل أخرى العلاج بالنباتات منها مضادات الأكسدة حيث اظهرت هذه الدراسة نتائج محفزة.

كلمات رئيسية: استخلاص - نفل القهوة - مضادات الأكسدة - تحاليل فيزيوكيميائية - الكيمياء النباتية

Résumé

Le café est considéré comme le deuxième boisson consommée après l'eau, on le prépare en distillant la poudre du café dans l'eau. De cette opération résulte la dilution des composants solubles comme (l'acide caféique). En revanche, les composés lipophiles demeurent dans le résidu nommé marc de café, qui représente des déchets organiques riches en composés organiques et biomolécules, et notamment, les matières vitales et grasses.

Ces déchets peuvent être valorisés dans de nombreux domaines. Par exemple, dans les industries cosmétiques ou alimentaires, et dans la production des engrais et du carbone actif, et comme des biocarburants ...

On peut extraire ces huiles de différentes manières. Nous intéressons dans ce travail à l'extraction par soxhlet des huiles contenu dans le marc de café. L'extraction montre la présence des rendements remarquable en matière des huiles essentiels.

Également nous avons réalisé des analyses physico-chimiques sur les extraits du marc du café, et des analyses phytothérapeutiques. Cette étude a montré que nos huiles extraites montrent un pouvoir anti-oxydant remarquable avec le test DPPH.

Mots clés : extraction - marc du café - antioxydants - analyses physico-chimiques - phytochimie - test DPPH.

Abstract

Coffee is the second beverage consumed after water. It is prepared by distilling coffee powder in the presence of water. This process results in the dissolution of water-soluble compounds (such as caffeic acid). However, the lipophilic part remains in the residue called coffee grounds. This in turn is considered organic waste rich in organic compounds, especially biological and mental substances.

These organic wastes are valued through their uses in several different fields such as the cosmetics and food industry, the production of fertilizers, activated carbon, biofuels and other uses.

These oils can be extracted in several ways, in this note we are interested in solid-liquid extraction, which gave a good yield.

Also, within the framework of this study, we carried out physic-chemical analyzes on extracts of coffee-bagasse, and other phytotherapeutic analyzes, in particular on antioxidants, because this study showed stimulating results.

Keywords: extraction - coffee grounds - antioxidants - physic-chemical analyzes – phytochemistry - test DPPH.