



République Algérienne Démocratique et Populaire

UNIVERSITE ABOU BAKR BELKAID TLEMCEM



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire des Produits Naturels

**Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de MASTER en
Biologie**

Filière : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Option : Toxicologie Industrielle et Environnement

Intitulé du Thème

**Contribution à l'étude de l'effet de la torréfaction sur
quelques propriétés du café Arabica**

Présenté par :

- **Mr GHAFfour Mohamed**



Soutenu le : 23/09/2020 devant le jury composé de :

Présidente : Mme HADDAM Nahida

Maître de conférences A

Encadreur : Mr CHAOUche Mohamed Tarik

Maître de conférences A

Examineur: Mr BENYOUB Noredine

Maitre assistant A

Année Universitaire : 2019-2020



Remerciements

Avant toute chose, je tiens à remercier « **Allah** » qui m'a donné la force et la volonté pour terminer ce modeste travail. Je remercie tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail. Je les remercie du fond du cœur.

Mon infinie gratitude s'adresse à **Mr CHAUCHE Mohamed Tarik** pour son encadrement, son orientation, ses conseils et la disponibilité qu'il m'a témoigné pour me permettre de mener à bien ce travail.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à **Mme HADDAM Nahida** qui a accepté de présider le jury de soutenance, pour tout ce qu'elle a pu nous apprendre ; qu'elle trouve ici l'expression de mon profonde et sincère reconnaissance.

Mr Benyoub Noredine pour m'avoir fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.

Je tiens aussi à remercier **Mme. CHAUCHE Farah** pour son soutien permanent ainsi que sa disponibilité pour l'achèvement de ce travail m'ont été très favorable. Qu'elle trouve ici l'expression de toute ma reconnaissance et mon profond respect.

Enfin, je remercie l'ensemble des membres du laboratoire de recherche des produits naturels (**LAPRONA**), Département de Biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie (**SNV**) et sciences de la terre et de l'univers (**STU**), Université **Abou BekrBelkaid-Tlemcen** qui m'ont énormément aidé dans la partie pratique.





Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père **Sidi Mohamed**.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureux : mon adorable mère **Fadéla**.

A ma chère sœur **Bouchra** et son mari **Abdeldjalil**, sans oublier mes chers frères **Nour El Yakine**, **Mouad**, et **Ilyes** qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leur offre la chance et le bonheur.

A mes **grands-parents**, mes **oncles** et mes **tantes**. Que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

A tous les cousins, les voisins et les amis que j'ai connu jusqu'à maintenant.

Merci pour leurs amours et leurs encouragements.

Sans oublier la promotion Master2 Toxicologie 2020.

Mr GHAFFOUR Mohamed



Tables des matières

REMERCIEMENTS

DEDICACES

LISTE DES PHOTOS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

RESUME

ABSTRACT

ملخص

INTRODUCTION GENERALE.....	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	2
Chapitre 1 : Présentation du café Arabica.....	2
1-1) Histoire du café en Algérie.....	2
1-2) Origine du <i>coffea arabica</i>	2
1-3) Botanique.....	3
1-3-1) Caféier/Cerise (Arabica).....	3
1-3-2) L'anatomie d'une cerise de café.....	4
1-4) Culture.....	5
1-5) Torréfaction.....	5
1-5-1) Réaction de Maillard.....	6
1-5-2) Les étapes de la réaction de Maillard.....	6
1-6) Composition des grains de café Arabica.....	6
1-6-1) La caféine.....	7
1-7) Les effets de café sur l'organisme.....	8
1-7-1) Les effets sur le système cardiovasculaire.....	8
1-7-2) Les effets sur le système nerveux central.....	8
1-7-3) Les effets sur le reste de l'organisme.....	9
Chapitre 2 : Stress oxydatif et métabolites secondaires.....	10
2-1) Introduction.....	10
2-2) Stress oxydant.....	10
2-3) Les radicaux libres.....	11
2-4) Les antioxydants.....	11
MATERIEL ET METHODES.....	13
Matériel	13
- Matériel végétal.....	13
Méthodes.....	13
2-1) Préparation des extraits.....	13
- Calcul des rendements.....	13
2-2) Dosage des composés phénoliques.....	13
2-2-1) Dosage des polyphénols totaux	14
2-2-2) Dosage des flavonoïdes.....	14

2-2-3) Dosage des tanins condensés.....	14
2-3) Etude de l'activité antioxydante.....	15
2-3-1) Capacité antioxydante totale.....	15
2-3-2) Piégeage du radical DPPH.....	15
2-2-3) Pouvoir réducteur du fer (FRAP).....	16
RESULTATS.....	17
1) Les rendements des différents extraits.....	17
2) Dosage des composés phénoliques.....	17
2-1) Polyphénols totaux	17
2-2) Flavonoïdes.....	18
2-3) Tanins condensés.....	19
3) Etude de l'activité antioxydante.....	20
3-1) Capacité antioxydante totale.....	20
3-2) Piégeage du radical DPPH.....	21
3-3) Pouvoir réducteur du fer (FRAP).....	22
DISCUSSION.....	24
CONCLUSION.....	26
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	27

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : (a) Un exemple de caféier (*Coffea arabica*), (b) Les fruits de caféier (*Coffea arabica*)

Photo 2 : Les grains torréfiés du café Arabica

Photo 3: Grains verts et torréfiés de café Arabica (*Coffea Arabica*).

LISTE DES FIGURES

Figure1: Coupe de la cerise du café

Figure 2 : Le fruit du caféier, la drupe

Figure 3: L'aspect des graines du café au cours de la torréfaction à différents degrés

Figure 4 : Le stress oxydant induit par un déséquilibre entre pro-oxydant et système Antioxydant

Figure 5 : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant

Figure 6 : Les principales modifications biochimiques et métaboliques cellulaires conséquence d'un stress oxydant

Figure7 : Forme radicalaire est réduite du DPPH

Figure 8 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique

Figure 9 : Teneurs en polyphénols pour les deux extraits de *coffea arabica*

Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

Figure 11 : Teneurs en flavonoïdes totaux pour les deux extraits de *coffea arabica*

Figure 12 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

Figure 13 : Teneurs en tanins condensés pour les deux extraits de *coffea arabica*

Figure 14 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Figure 15 : Teneurs de capacité antioxydante totale pour les deux extraits de *coffea arabica*

Figure 16 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations de BHA

Figure 17 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de l'extrait des grains verts et torréfiés de *coffea arabica*

Figure 18 : Evolution des absorbance du fer réduit par le BHA

Figure 19 : Evolution des absorbance du fer réduit par l'extrait des grains verts et torréfiés de *coffea arabica*

LISTE DES TABLEAUX

Tableau1 : Composition des grains de café vert et torréfié selon la variété (en pourcentage massique par rapport à la matière sèche)

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

Tableau 3 : Résultats des valeurs d'CI50 des différents extraits de *coffea arabica*

Tableau 4 : CE50 des différents extraits de *coffea arabica*

LISTE DES ABREVIATIONS

AlCl₃ : chlorure d'aluminium

BHA : Butylhydroxyanisole

CE50 : concentration efficace médiane

CI50 : concentration inhibitrice médiane

CAT : café Arabica torréfié

CAV : café Arabica vert

DPPH : 2,2-dipheyl-1-picrylhrazyl

ERO : espèce réactives de l'oxygène

FeCl₃: chlorure ferrique

H₃PW₁₂O₄₀: acidephosphotungstique

H₃PMo₁₂O₄₀: acidephosphomolybdique

K₃Fe(CN)₆ : ferricyanure de potassium

Mo : molybdène

NaNO₂ : nitrite de sodium

NaOH : hydroxyde de sodium

Résumé

Le caféier d'Arabie (*Coffea arabica*) est un arbuste de la famille des Rubiacées, il provient d'une variété de caféier la plus répandue au monde. Le café arabica représente 70% de la production de café mondiale, dont il exercerait probablement son effet préventif sur certaines maladies grâce à son pouvoir antioxydant. Pour cela, nous avons essayé d'apprécier globalement la composition en antioxydants des grains verts et torréfiés par le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes, et des tanins condensés. L'étude de l'activité oxydante a été réalisée par trois techniques : capacité antioxydante totale, piégeage du radical libre du DPPH, et réduction du Fer (FRAP). Les résultats du dosage de ces métabolites secondaires, montrent que l'extrait des grains verts est le plus riche avec les taux suivants 17,99 mg EAG/g MS pour les polyphénols, 14,45 mg EC/g MS pour les flavonoïdes et 15,25 mg EC/g MS pour les tanins condensés. L'extrait des grains torréfiés a révélé une capacité antioxydante totale et une CI50 réductrice de DPPH très importante qui sont de 17,22 mg EAG/g MS et de 2,45 mg/ml respectivement. L'extrait des grains verts a montré une CE50 réductrice du fer égale à 0,694 mg/ml. Cette valeur est considérée comme étant intéressante. D'après ces résultats obtenus on peut dire que parmi les composés antioxydants du café, on retrouve des composés phénoliques, dont certaines substances volatiles produites durant la torréfaction.

Le café vert est une grande source d'antioxydants et de principes actifs très efficaces pour purifier les organismes des toxines. Les études ont montrés que les polyphénols jouent un rôle de prévention dans les maladies telles que les cancers, les maladies cardio-vasculaires et neurodégénératives.

Mots-clés : *Coffea arabica*, grains verts, grains torréfiés, activité antioxydante, composés phénoliques.

Abstract

The Arabian coffee tree (*Coffea arabica*) is a shrub of the Rubiaceae family; it comes from a variety of coffee tree the most common in the world. Arabica coffee represents 70% of world coffee production, of which it would probably exert its preventive effect on certain diseases due to its antioxidant power. For this, we tried to assess the overall antioxidant composition of green and roasted beans by assaying total polyphenols, flavonoids, and condensed tannins. The study of oxidative activity was carried out by three techniques: total antioxidant capacity, free radical trapping (DPPH), and Ferric reducing antioxidant power (FRAP). The results of the assay of these secondary metabolites show that the extract of green grains is the richest with the following rates 17.99 mg EAG / g MS of extract for polyphenols, 14.45 mg EC / g MS of extract for flavonoids and 15.25mg EC / g MS extract for condensed tannins. The extract from the roasted beans showed a total antioxidant capacity and a very high reducing IC50 of DPPH which are 17.22 mgEAG / g DM and 2.45 mg / ml respectively. The extract from the green grains showed an iron reducing EC50 of 0.694 mg / ml. This value is considered to be interesting. From these results we can say that among the antioxidant compounds of coffee, there are phenolic compounds, including some volatile substances produced during roasting.

Green coffee is a great source of antioxidants and active ingredients that are very effective in purifying organisms of toxins. Studies have shown that polyphenols play a preventive role in diseases such as cancer, cardiovascular and neurodegenerative diseases.

Keywords: *Coffea arabica*, green beans, roasted beans, antioxidant activity, phenolic compounds, roasting.

ملخص

شجرة البن العربي (*Coffea arabica*) هي شجيرة من عائلة Rubiaceae ، وهي تأتي من مجموعة متنوعة من شجرة البن الأكثر انتشاراً في العالم. تمثل قهوة أرابيكا 70٪ من إنتاج البن في العالم ، ومن المحتمل أن يكون لها تأثير وقائي على أمراض معينة بفضل قوتها المضادة للأكسدة. لهذا ، حاولنا تقييم التركيب الكلي لمضادات الأكسدة للقهوة الخضراء والمحمصة عن طريق فحص إجمالي البوليفينول والفلافونويد والتانان المكثف. تم إجراء دراسة النشاط المؤكسد من خلال ثلاث تقنيات: القدرة الكلية المضادة للأكسدة، وتثبيت الجذور الحرة DPPH ، و اختزال أيون الحديد. (FRAP) تظهر نتائج فحص هذه المستقبلات الثانوية أن مستخلص الحبوب الخضراء هو الأغنى بالمعدلات التالية 17.99 ملغ معادل لحمض الغاليك من مستخلص البوليفينول ، 14.45 ملغ معادل للكاتيشين من مستخلص مركبات الفلافونويد ومستخلص 15.25 ملغ معادل للكاتيشين للتانينات المكثفة. قدرة تثبيت الجذور الحرة DPPH سجلت بنسبة معتبرة في كلى المستخلصين نتائج ال IC 50 المسجلة لمستخلص القهوة المحمص قدرت بـ 17.22 ملغ معادل لحمض الغاليك و 2.45 مجم / مل على التوالي. الكمية المسجلة لمستخلص القهوة الخضراء لإرجاع الحديد معتبرة بقيمة 0.694 مجم / مل. هذه النسب تعتبر مهمة . من هذه النتائج يمكننا القول أنه من بين المركبات المضادة للأكسدة الموجودة في القهوة ، نجد المركبات الفينولية ، بما في ذلك بعض المواد المتطايرة التي تنتج أثناء التحميص.

تعتبر القهوة الخضراء مصدراً رائعاً لمضادات الأكسدة والمكونات النشطة الفعالة جداً في تنقية الكائنات الحية من السموم. أظهرت الدراسات أن مادة البوليفينول تلعب دوراً وقائياً في أمراض مثل السرطان وأمراض القلب والأوعية الدموية وأمراض التنكس العصبي.

الكلمات المفتاحية: قهوة أرابيكا ، قهوة خضراء، قهوة محمص، نشاط مضاد للأكسدة، مركبات فينولية، تحميص.

Introduction

Le café est l'une des boissons les plus consommées dans le monde et il est classé deuxième produit le plus échangé après le pétrole (**Détache & Chun, 2016; Şemen et al., 2017**).

Ce produit est très important dans la vie des gens et il existe des milliers de cafés partout. Pour certains c'est uniquement les effets énergiques qu'ils recherchent ; d'autres pensent plutôt au goût (**Jónína. S.T ; 2009**).

Depuis les premiers âges, le café est lié à la santé, il reste un élément fréquemment étudié ces derniers temps, dans les projets de recherche liés aux maladies chroniques (**Galluzzi et al., 2015**). Il pense que le rôle protecteur du café sur la santé est principalement lié à son antioxydant et à sa forte consommation (**Saura-Calixto & Goñi, 2006**). Les composés phénoliques, par exemple, auraient exercé un rôle protecteur contre plusieurs maladies, telles que les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et le cancer, grâce à leur capacité à protéger les cellules contre l'oxydation (**Galluzzi et al., 2015**).

D'autre part, *Coffea arabica* n'est pas seulement bénéfique en raison de ses effets potentiels sur la santé, mais aussi en raison de ses propriétés sensorielles (**Lashermes, P, Bertrand, B, & Etienne, H, 2009**). Actuellement, le café est principalement consommé torréfié sous forme de boisson (**Wei et Tanokura, 2015**).

Néanmoins, de nos jours, le café vert reçoit une attention en raison de ses avantages potentiels pour la santé, qui sont actuellement en cours de discussion (**Onakpoya, Terry et Ernst, 2011; etemen et al., 2017**). Il est donc commode de caractériser les attributs sensoriels, la capacité antioxydante et le profil phénolique du vert et des infusions de café torréfié.

En conséquence, l'objectif de la présente recherche était la comparaison de l'étude phytochimique ainsi que l'évaluation, *in vitro*, de l'activité antioxydante d'extraits des grains verts et torréfiés du *café Arabica*.

Chapitre 1 : Présentation du café *Arabica*

1-1) Histoire du café en Algérie

L'Algérie est considérée comme un pays gros consommateur de café. 110 000 tonnes est le poids de consommation enregistré annuellement, avec une moyenne nationale de 3 kg par habitant, l'équivalent de 120 kg de toute la population algérienne.

Le *Robusta* est le plus commercialisé sur le marché local, et ce, à raison de 100 000 tonnes par an, contre seulement 10 000 tonnes d'*Arabica*. Ce qui représente une valeur marchande globale de plus de 17.6 milliards de dinars. Celui-ci indique que notre pays est classé en 21e position par rapport aux grands consommateurs de café d'Europe et d'Afrique du Nord.

L'importateur de café, tout en appuyant ses dires par des chiffres, a rassuré que ce produit ne risque pas de se raréfier dans la mesure où la production mondiale est en croissance permanente. Le président d'Africafé, expliquera-t-il avant d'enchaîner qu'il existe 1 350 usines de torréfaction réparties sur tout le territoire national, dont 15 représentent des grandes industries de café, 135 moyennes et 1 200 artisanales. La capacité de production d'une grande industrie est estimée à 5 000 tonnes de café.

Evoquant l'aspect sanitaire, l'invité d'Union Générale des Commerçants & Artisans Algériens a souligné que le café commercialisé localement, du fait du choix de la graine importée, comporte un pourcentage de caféine loin d'être nuisible à la santé du consommateur. Selon ses estimations, l'Algérien n'en consomme pas plus de 38 mg par jour. Par ailleurs, le président de l'Industrie Africafé selon lui, le café est considéré comme un produit de luxe **(Ould Hamouda, 2005)**.

En effet, les Algériens sont connus pour leur consommation de café, un produit largement consommé à tout moment et dans toutes les occasions. «Je t'offre un café ?» Telle est la formule consacrée pour inviter une personne à discuter ou à partager un moment de détente et de convivialité. Selon Euromonitor International, un cabinet spécialisé dans l'étude du marché, la consommation et la commercialisation du café en Algérie enregistre une croissance annuelle de 3%. Ce taux de croissance est constant ces dernières années. Ce qui nous renseigne sur l'importance du marché du café au niveau national et les profits colossaux que génère ce secteur d'activité, soit en matière d'importation soit de torréfaction. «L'Algérie importe entre 110 000 à 120 000 tonnes de café par an. Mais lorsqu'il est torréfié et séché, ce produit perd 20% de son poids initial. Ce qui pousse certains opérateurs indécents à compenser cette perte de poids par d'autres ingrédients, notamment le sucre brûlé.» **(Fadel, 2014)**.

1-2) Origine du *Coffea arabica*

Le *Coffea arabica*, nom latin de la variété de café produisant des fruits servant à faire l'*arabica*, est le premier café exploité au monde. A lui seul il représente les trois quarts de la production mondiale de café, soit près de 100 millions de sacs de 60 kg par an. Le Brésil est le plus gros producteur d'*arabica* du monde (30 millions de sacs, en 2008) suivi par la Colombie (12 millions de sacs, en 2008) **(Vaillant, 2000)**.

C. arabica est le premier café cultivé, il est originaire du Yémen. Aujourd'hui il est essentiellement cultivé en Amérique latine. L'*Arabica* serait apparu sur les hauteurs de l'Abyssinie, l'actuelle Ethiopie. C'est là qu'il prend son nom d'« *Arabica* ».

Le café Jamaica Blue Mountain souvent considéré comme l'un des meilleurs cafés, le plus cher et le plus rare au monde. Il se distingue par une saveur douce et peu amère. C'est la Jamaïque qui produit ce café exceptionnel. Mais celui qui y est le plus représenté est le Typica, variété ancienne (Vaillant, 2000).

1-3) Botanique

Le caféier appartient à la famille des Rubiacées et aux genres *Coffea*. Il s'agit généralement d'un arbre pérenne ligneux qui pousse à des altitudes plus élevées ; 70 espèces différentes du genre *Coffea* mais les plus importantes sont les *Coffea Arabica* (arabica café) et *Coffea canephora*, (café robusta) (Butt, 2011).

Parmi les 10 à 20 milliards *Coffea arabica* cultivés sur notre planète, tous descendent d'une poignée de plants originels provenant d'Ethiopie. C'est ce qu'a révélé une étude génétique du caféier (Vaillant, 2000).

Adapte à l'altitude, il pousse entre 800 et 2000 mètres à des températures entre 17 et 20°C. L'arbuste fait entre cinq et six mètres et produit en moyenne 2,5 kg de fruits par an. Les fruits arrivent à maturité après 8-9 mois. Les graines sont fines, allongées avec un sillon sinueux. Elles sont de couleur bleu-vert. Elles ont une teneur en caféine entre 0,8 et 1,4%. Le gout du café produit sera plus fin et plus aromatique que celui de *C. canephora*.

C. arabica a une originalité par rapport aux autres représentants du genre *Coffea*, c'est le seul à posséder 44 chromosomes, alors que les autres n'en possèdent que 22. C'est également la seule espèce autogame qui n'a donc pas besoin d'insectes pour sa pollinisation (Haller 2013).

1-3-1) Caféier / Cerise(*Arabica*)

Le caféier est un arbre de 8 à 10 mètres de haut, à feuilles vertes et vernissées, ovales, persistantes. Ses fleurs sont blanches, éphémères, elles ne durent que quelques heures mais développent un parfum puissant proche de celui du jasmin et de l'oranger (Photo1).

(a)



(b)



Photo 1 : (a) Un exemple de caféier (*Coffea arabica*), (b) les fruits de caféier (*Coffea arabica*) (Justin Koffi, 2007)

1-3-2) L'anatomie d'une cerise de café

Les grains que vous préparez sont en fait les graines traitées et torréfiées d'un fruit, appelé cerise à café (**figure 1**).

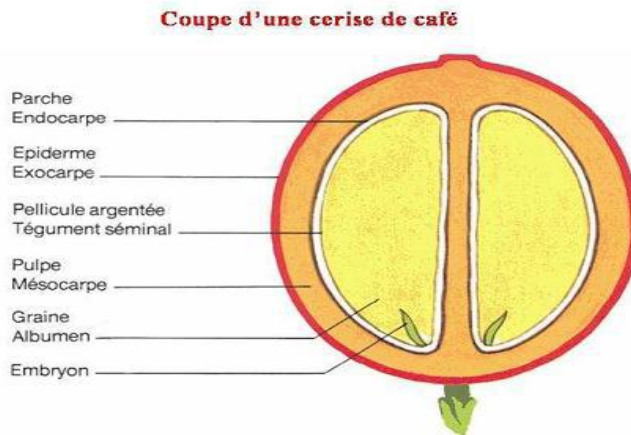


Figure1: Coupe de la cerise du café (Del Castillo, M. D, Ames, J. M., et al ; 2002).

La peau extérieure de la cerise de café est appelée l'exocarpe. Sous cette peau se trouve le mésocarpe, une fine couche de pulpe, suivie d'une couche visqueuse appelée parenchyme. Les grains eux-mêmes sont recouverts d'une enveloppe en papier appelée endocarpe, plus communément appelée parchemin (**figure1**).

À l'intérieur du parchemin, côte à côte, se trouve deux haricots, chacun recouvert séparément par une autre fine membrane. Le nom biologique de cette peau de graine est le spermoderme, mais elle est généralement appelée dans le commerce du café "peau argentée".

La fleur se transforme en fruit vert. Il devient jaune puis rouge et prend alors le nom de cerise.

La cerise, le fruit du caféier qui va donner le grain de café après de multiples transformations, contient deux graines ou fèves. Les fèves vertes-bleutés sont de forme allongée, chacune est entourée d'une enveloppe appelée parche (**figure2**) (Vaillant, 2000).

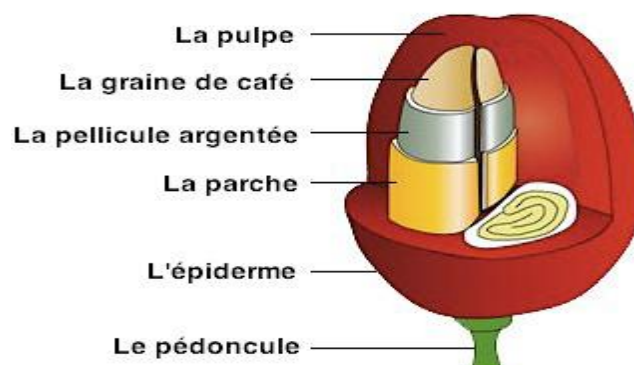


Figure 2 : Le fruit du caféier, la drupe (Charrier A. & Berthaud J, 1985).

1-4) Culture

La première culture de café semble avoir débuté au Yémen au milieu du IX^e siècle.

Aujourd'hui, il est cultivé par plus de 70 pays d'Amérique latine, d'Afrique et d'Asie.

La récolte du café est très minutieuse, elle se fait à la main, cerise par cerise (c'est la méthode de picking), mais les cerises d'une même branche peuvent aussi se récolter en une seule fois (avec le risque d'abîmer l'arbre). Dans chaque cerise se trouvent deux graines que l'on sépare juste après la récolte (**Amiri, 2020**).

■ À l'état sauvage, l'*Arabica*, est plus petit et, en haute altitude, vers 2 000 m, on peut trouver des arabicas nains ne dépassant pas 1,50 m. C'est pourquoi les caféiers sont des arbustes qui vivent toujours à l'abri des géants équatoriaux (**Barel, 2008**).

1-5) Torréfaction

C'est la dernière étape qui permet d'aboutir à des grains de café brun, tel qu'on les connaît.

Il s'agit donc de transformer le café vert en graines : c'est là qu'intervient la torréfaction.

C'est une affaire de spécialiste réalisée le plus souvent dans le pays exportateur. C'est là que vont pouvoir se développer les arômes et la saveur du café. En fait, c'est un traitement thermique qui s'effectue entre 180°C et 240°C pendant une durée variable, selon la couleur et le goût désiré. La quête de l'*Arabica* unique, le plus exquis, le plus parfait en bouche est insatiable (**Vaillant, 2000**).

La durée et la température changent selon la technique : torréfaction traditionnelle (20 minutes environ à 200 °C), plus rapide (10 minutes à 250 °C) ou torréfaction flash (en 90 secondes) (**figure3**). Elles changent aussi selon les goûts : une torréfaction très claire donne un café plus acide, avec des arômes de pain grillé ou de céréales (**Anne & Pascale, 2003**).



Figure 3: l'aspect des graines du café au cours de la torréfaction à différents degrés (**Michelle et al., 2003**)

Selon une autre étude menée par l'Université de Colombie-Britannique, et publiée dans le *Journal of Food Research* en 2011, le processus de torréfaction des grains de café produit une abondance d'antioxydants "stables". Dans ce cas, la recherche a révélé que la réaction

de Maillard (un processus chimique qui, dans ce cas, se produit lorsque les grains de café verts sont torréfiés à haute température) est la principale source d'antioxydants protecteurs **Liu & Kitts (2011)**.

1-5-1) Réaction de MAILLARD

Les réactions de MAILLARD, ou brunissement non enzymatique, se produisent au cours de traitements thermiques ou durant la conservation prolongée des aliments. La réaction de Maillard est l'ensemble des interactions résultant de la réaction initiale entre un sucre réducteur et un groupement aminé (**Machiels & Istasse, 2002**).

Ces réactions ont une importance considérable dans l'industrie alimentaire, car elles sont responsables de la formation de pigments bruns et des modifications de l'arôme et de la saveur des aliments. Elles sont indésirables quand, suite à un traitement thermique, elles modifient le goût des produits, cas des laits et jus de fruits stérilisés et des aliments déshydratés (**Adrian et al, 2000**). Connaître les mécanismes réactionnels et les conditions favorisant ces réactions est indispensable pour pouvoir les maîtriser (**Richard, 2003**).

1-5-2) Trois étapes de la réaction de Maillard

- Formation réversible de glycosylamines selon les réarrangements d'Amadori ou de Heyns ;
- Dégradation des produits des réarrangements d'Amadori ou de Heyns et formation de composés hétérocycliques responsables des odeurs ;
- Polymérisation d'intermédiaires réactionnels produits à la deuxième étape et formation des mélanoidines.

La température, le temps de la réaction, la teneur en eau ainsi que la concentration et la nature des précurseurs influencent la réaction de Maillard (**Machiels et al ; 2002**).

1-6) Composition des grains de café Arabica

La boisson au café est, de loin, le produit final le plus important obtenu à partir du café torréfié moulu. En raison de l'importance de la boisson au café dans le monde entier, des recherches approfondies ont été menées sur la composition chimique, ainsi que sur les avantages potentiels et les propriétés néfastes, des haricots verts et torréfiés (**Esquivel 2012**).

Environ 55 % de polysaccharides totaux, 8 à 15 % de matière grasse selon les variétés et environ 11 % de protéines. Tels sont les principaux composants du café auxquels il faut ajouter 10 à 13 % d'eau, des alcaloïdes (dont la caféine), des vitamines (PP, B3), des éléments minéraux (sodium, magnésium, potassium, calcium, phosphore...). Dans le café torréfié, ces constituants sont au nombre de 800 (**Anne & Pascale, 2003**).

Les composants chimiques du *café arabica* comprennent des composés phénoliques et leurs dérivés (tels que les acides chlorogéniques), des alcaloïdes (en particulier la caféine), des alcools diterpénoïdes (tels que le cafestol et le kahweol), des glucides, des lipides et des

composés volatils et hétérocycliques (**tableau1**). Au cours des dernières décennies, les composés polyphénoliques ont été proposés comme l'un des ingrédients fonctionnels les plus efficaces dans les aliments et les boissons, avec des propriétés anti-âge. Le café est reconnu comme une riche source d'alcaloïdes, en particulier de caféine (**Affonso et al., (2016)**).

Tableau1 : Composition des grains de café vert et torréfié selon la variété (en pourcentage massique par rapport à la matière sèche) (**Houessou, (2007)**).

Composants	<i>Coffea arabica</i>	
	Vert	Torréfié
Caféine	0.8-1.4	0.9-1.6
Trigonelline	0.6-1.2	0.1-1.2
Acides aliphatiques	1.0-3.0	1.0-4.6
dont acide quinique	0.4	0.8
Acides chlorogéniques totaux	5.5-9.0	0.2-3.5
Oligosaccharides	6.0-8.0	0.0-3.5
dont saccharose (ou sucrose)	8.0	0.0
Polysaccharides totaux	50.0-55.0	24.0-39.0
Protéines	11.0-14.0	13.0-15.0
Acides aminés libres	2.0	0.0
Lipides totaux	10.0-18.0	14.5-20.0
Potassium	3.0-4.2	3.5-4.5
Eau	5-12	0-5



Photo 2 : Les grains torréfié du café Arabica (**Gaillant, 2017**)

1-6-1) La caféine

La caféine est le principe actif du café, une substance aux actions physiologiques importantes, puisqu'elle est responsable des conséquences du café sur notre organisme. Elle y est rapidement absorbée, assimilée et ses effets se manifestent très rapidement au niveau du cerveau. Elle est éliminée en quelques heures au niveau urinaire. Notons que cette dernière n'est pas présente que dans le café, elle l'est aussi dans le thé, le cacao, le kola (noix) et certains médicaments (**Conan, 2019**).

1-7) Les effets du café sur l'organisme

La caféine, au goût amer, est l'un des principaux déterminants de l'arôme du grain de café. C'est un alcaloïde de la famille des xanthines, isolé en 1820. L'*Arabica* en contient environ 1,5 %. La caféine a un effet stimulant sur le système nerveux central et le système cardiovasculaire **(Anne & Pascale, 2003)**.

1-7-1) Les effets sur le système cardiovasculaire

La caféine joue l'effet d'un stimulant sur le corps, augmentant le rythme cardiaque. Cela étant dit, depuis de nombreuses années, les études se sont succédé afin de démontrer tant les effets positifs de la caféine sur le cœur, que les effets négatifs **(Aurore, 2019)**. En premier lieu, tout dépend de la consommation. Le café étant un stimulant, il ne faut pas en abuser. Par ailleurs l'état de santé, des individus buveurs de café doivent être pris en compte pour en déterminer l'effet : le café peut augmenter les risques d'accidents cardiovasculaires s'il est surconsommé, mais surtout si la personne qui consomme du café est fumeuse, en surpoids, souffre de cholestérol ou d'hypertension, autant de facteurs de risque **(Aurore, 2019)**.

Les antioxydants présents dans le café sont utiles pour abaisser le risque de maladies coronariennes **(Cornelis & El-Sohehy, 2007)**.

De manière générale, plusieurs mécanismes d'action existent pour le café en ce qui concerne son impact sur le système cardiovasculaire. Une étude généralisée mécanisme partage les effets de la consommation de caféine sur la pression artérielle, car elle augmente la rigidité artérielle qui en résulte dans l'augmentation de la pression artérielle **(Sudano et al, 2005)**. De même, certains composants présents dans le café non filtré comme le cafestol et kahweol, etc. augmentent les lipides sériques et le risque de maladies cardiovasculaires.

Les effets stimulants de la caféine se répercutent sur le système cardiovasculaire : en bloquant les récepteurs de l'adénosine elle accroît la libération d'adrénaline ce qui a pour effet d'accélérer le rythme cardiaque, d'augmenter le débit cardiaque et la pression artérielle à court terme **(Guyon, 2005)**.

1-7-2) Les effets sur le système nerveux central

La caféine a de nombreux effets sur l'organisme qui se font sentir à différents niveaux: notamment sur le système nerveux **(Anna; 2015)**. Cette molécule favorise l'état d'alerte, la vigilance, la concentration ainsi que les performances physiques. Mais ses effets sur la créativité sont moins connus **(Ray, 2020)**.

La caféine traverse la barrière hémato-encéphalique. Une fois présente dans le cerveau, elle neutralise les récepteurs à l'adénosine au rôle important dans le message hormonal. L'augmentation de l'activité nerveuse qui en découle provoque la libération de l'adrénaline influençant alors le rythme cardiaque **(Conan, 2019)**.

La caféine et l'adénosine ont des structures annulaires similaires. La caféine agit comme un imitateur moléculaire, remplissant et bloquant le récepteur d'adénosine. Cela empêche l'organisme d'être naturellement capable de se reposer lorsqu'il est fatigué **(Merritt, 2020)**. Ce blocage est également la raison pour laquelle une trop grande quantité de café peut vous rendre nerveux ou vous empêcher de dormir. La fatigue ne peut être réprimée qu'un certain temps avant que les systèmes de régulation de l'organisme ne commencent à faire défaut, ce qui entraîne des effets comme l'anxiété ou l'insomnie. Un lien possible entre la consommation de café et l'insomnie a été identifié il y a plus de 100 ans **(Merritt, 2020)**.

1-7-3) Les effets sur le reste de l'organisme

La consommation régulière de café apporte de nombreux bénéfices pour la santé, contre le diabète de type 2, la dépression ou encore la maladie de Parkinson **(Ray, 2020)**. Cependant, cette boisson a aussi des effets sur d'autres parties du corps, bien qu'ils soient minimes.

La caféine a des effets sur l'appareil digestif : elle favorise la digestion en stimulant la sécrétion de sucs gastriques (estomac), pancréatiques (pancréas), ainsi que de bile par la vésicule biliaire (foie).

La caféine a également des effets sur les capacités respiratoires : en effet, elle a comme action de favoriser la dilatation des bronches et donc d'améliorer les échanges gazeux. La caféine a également l'avantage d'augmenter l'efficacité de certains médicaments. C'est le cas notamment pour les médicaments agissant contre les maux de tête.

Il est intéressant de noter que la consommation de café a également été liée à la réduction des taux d'autres maladies, notamment la maladie de Parkinson et à d'autres formes de démence **(Merritt, 2020)**.

Chapitre 2 : Stress oxydatif et métabolites secondaires

2-1) Introduction

Tous les aérobies, y compris les plantes, les bactéries aérobies et les humains, subissent des dommages lorsqu'ils sont exposés à des concentrations d'O₂ supérieures à la normale, ce qui signifie qu'ils n'ont pas d'excès de défenses antioxydantes. En effet, comme nous avons appris à mesurer le dommage oxydatif, on a constaté qu'il se produisait dans les aérobies même à des niveaux d'O₂ normaux. Quelles sont les causes de ces dommages ? De nombreux scientifiques pensent que la toxicité de l'O₂ est due à une formation excessive du radical superoxyde O₂⁻, c'est le superoxyde théorie de la toxicité de l'O₂. Mais prenons un peu de recul et d'examiner quelques éléments de base (Halliwell, 2006).

2-2) Stress oxydant

Le stress oxydant se définit par un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène (ERO) et les capacités cellulaires antioxydantes (Figure 4). Les ERO ont longtemps été considérées comme des sous-produits toxiques du métabolisme normal de l'oxygène et impliquées dans de nombreuses pathologies.

Les ERO sont présentes dans la cellule à des doses raisonnables : leur concentration est régulée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par les systèmes antioxydants. Ainsi, à l'état quiescent, on dit que la balance antioxydants/ pro-oxydants (balance rédox) est en équilibre.

La réponse antioxydante est alors efficace pour compenser cette production et le déséquilibre est transitoire. En revanche, dans certaines situations pathologiques (cancer), la production d'ERO est plus importante et prolongée, et la réponse antioxydante insuffisante. Le déséquilibre est durable. Cette rupture de l'homéostasie rédox peut avoir plusieurs origines : stress d'origine exogène (agents environnementaux pro-oxydants), intoxication aux métaux lourds, irradiations, carence en antioxydants apportés par l'alimentation ou anomalies génétiques (Migdal, 2011).

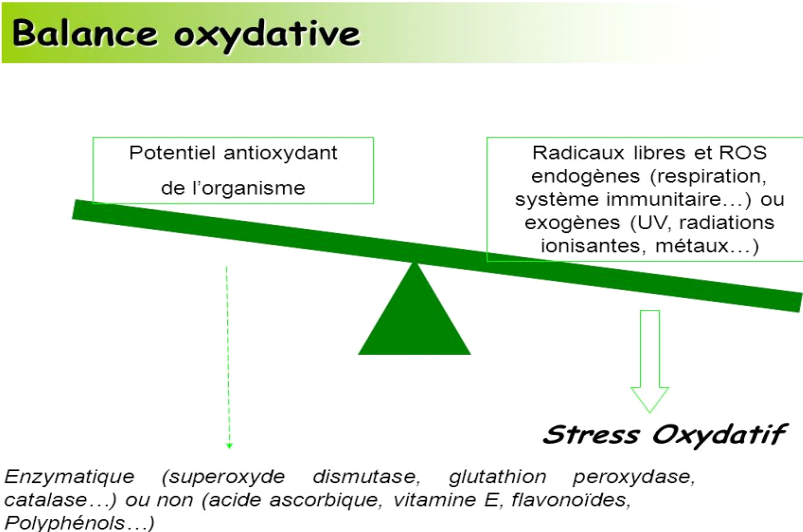


Figure 4 : Le stress oxydant induit par un déséquilibre entre pro-oxydant et système

2-3) Les radicaux libres

Un radical libre est toute espèce capable d'une existence indépendante (d'où le terme libre) qui contient un ou plusieurs électrons non appariés. Un électron non apparié est un électron qui occupe seul une orbite atomique ou moléculaire (**Figure 5**). Le radical libre le plus simple est l'hydrogène atomique. Comme un atome d'hydrogène n'a qu'un seul électron, il doit être non apparié. De nombreux radicaux libres existent dans les systèmes vivants (certains mauvais, d'autres bons, et d'autres encore les deux), bien que la plupart des molécules in vivo soient non radicalaires. Les radicaux peuvent être formés par plusieurs mécanismes, tels que l'ajout d'un seul électron à un non-radical. Ils peuvent se former lorsqu'une liaison covalente est rompue si un électron de la paire de liaison reste sur chaque atome (fission homolytique). Certaines liaisons sont difficiles à de 450 à 600 °C, par exemple, sont souvent nécessaires pour rompre les liens C-C, C-H ou C-O. En effet, la combustion des composés organiques se poursuit gratuitement des mécanismes radicalaires. D'autres liaisons covalentes se fragmentent plus facilement : Le simple fait de se couper les ongles peut couper les obligations disulfures dans la kératine pour générer des radicaux de soufre (**Halliwell, 2006**).

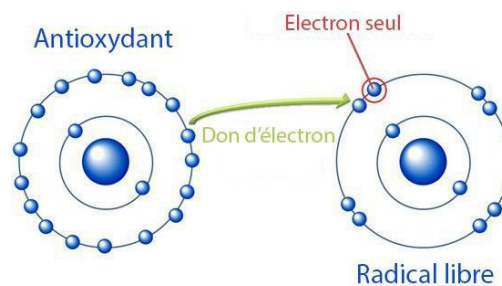


Figure 5 : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant (**Carange, 2010**).

2-4) Les antioxydants

Un antioxydant est par définition une espèce chimique plus ou moins complexe diminuant le stress oxydant au sein de l'organisme. Un antioxydant peut donc : (a) prévenir la synthèse de radicaux libres en inhibant l'initiation des chaînes réactionnelles décrites ci-dessus ou (b) désactiver directement les ROS. Les antioxydants peuvent être classés selon leurs modes d'actions : systèmes enzymatiques, inhibiteurs d'enzymes oxydantes, chélateurs de métaux et piègeurs de radicaux libres.

L'organisme possède des systèmes endogènes dédiés à cette action protectrice. Cependant, cette ligne de défense est facilement saturée. De nombreux antioxydants exogènes sont également présents dans l'alimentation apportant un soutien significatif dans la lutte antioxydante. Nous les trouvons dans les fruits (pommes, poires, fruits rouges...), les légumes (brocoli, oignon...), les boissons (café, thé, vin...) ainsi que dans les épices, le cacao ou encore les céréales. Ces antioxydants sont surtout connus pour leur capacité à réagir directement réagir avec les radicaux libres en les « neutralisant » par réaction de réduction. Les antioxydants sont un groupe hétérogène composé de systèmes antioxydants endogènes, enzymatiques ou non, de vitamines, d'oligo-éléments ou encore de polyphénols (**Figure 6**) (**Desmier, 2016**).

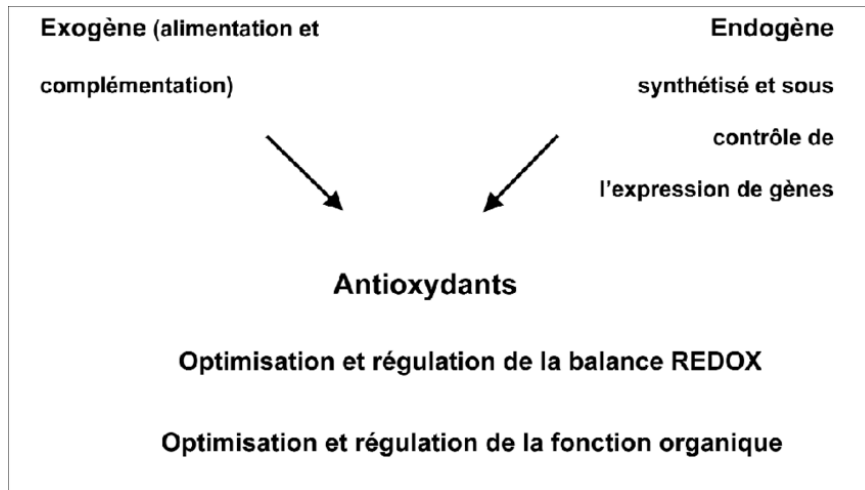


Figure 6 : Les principales modifications biochimiques et métaboliques cellulaires conséquence d'un stress oxydant (**Roberfroid et Calderon, 1995**).

Matériel et méthodes

Notre travail de Master est réalisé dans le laboratoire de recherche des produits naturels (LAPRONA), Département de Biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie (SNV) et sciences de la terre et de l'univers (STU), Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen.

Cette étude comporte une quantification de quelques classes phénoliques dans les deux extraits des grains verts et torréfiés de café Arabica, ainsi qu'une évaluation de l'activité antioxydante de ces mêmes extraits.

1-Matériel

-Matériel végétal

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



Photo 3: Grains verts et torréfiés de café Arabica (*Coffea Arabica*).

2-Méthodes

2-1-Préparation des extraits

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

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

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

P1 : poids de ballon après évaporation.

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

P3 : poids de matière végétale de départ.

2-2-Dosage des composés phénoliques

2-2-1-Dosage des polyphénols totaux

- **Principe**

La méthode la plus utilisée pour l'évaluation quantitative des composés phénoliques dans les extraits est basée sur l'oxydation de ces composés par le réactif de Folin-Ciocalteu. C'est un mélange de complexes d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et l'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Cette oxydation entraîne la formation d'un nouveau complexe bleu qui absorbe à 750 nm. Ce dosage est effectué par la comparaison de la densité optique observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue (**Boizot et al, 2006**).

- **Mode opératoire**

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

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

2-2-2-Dosage des flavonoïdes totaux

- **Principe**

La quantification des flavonoïdes est faite selon une méthode colorimétrique décrite par (**Dewanto et al., (2002)**) basée sur l'oxydation des flavonoïdes par deux réactifs incolores, le nitrite de sodium (NaNO₂) et le chlorure d'aluminium (AlCl₃). Elle entraîne la formation d'un complexe brunâtre qui absorbe à 510 nm. Ce dosage est effectué par la comparaison de la densité optique observée à celle obtenue par un étalon de catéchine de concentration connue.

- **Mode opératoire**

Une prise de 250 µl d'extrait diluée est additionnée de 75 µl d'une solution de NaNO₂ à 5%. Après incubation de 6 min à température ambiante, 150 µl d'une solution de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 10% fraîchement préparée sont ajoutés au mélange. Après 5 min de repos à température ambiante, 500 µl de soude (NaOH, 1M) sont apportés au mélange. Et le volume final est porté à 2,5 ml avec de l'eau distillée. La lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 510 nm.

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

2-2-3-Dosage des tanins condensés

- **Principe**

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

- **Mode opératoire**

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

2-3-Etude de l'activité antioxydante

2-3-1-Capacité antioxydante totale

- Principe

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

- Mode opératoire

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

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

2-3-2-Piégeage du radical DPPH

- Principe

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

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

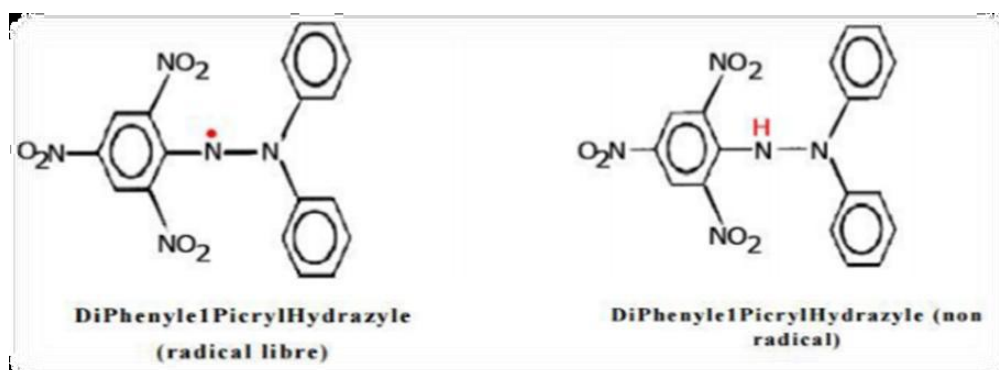


Figure7 : Forme radicalaire est réduite du DPPH (Milardovic et al 2006).

- **Mode opératoire**

Le protocole expérimental suivi est celui d'**Atoui et al. (2005)** : Un volume 50 µl de différentes concentrations des extraits, est ajouté à 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH° à 6.34×10^{-5} M (0.0025 g dans 100 ml méthanol). Pour chaque concentration un blanc est préparé. Le contrôle négatif est préparé, en parallèle, en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH° à la même concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante, la réduction du DPPH° s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution. La lecture des absorbances est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à 515 nm. Le témoin positif utilisé est le butylhydroxyanisole (BHA). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition, calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, selon la formule :

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

PI : pourcentage d'inhibition.

D.O témoin : absorbance du témoin négatif.

D.O extrait : absorbance de l'extrait.

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

2-3-3-Pouvoir réducteur du fer

- **Principe**

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

- **Mode opératoire**

Un volume de 1 ml de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 2.5 ml de tampon phosphate 0.2 M à pH 6.6 et 2.5 ml d'une solution de K₃Fe(CN)₆ à 1% (m/v). Le mélange obtenu est incubé pendant 20 mn à 50°C, puis 2.5 ml d'acide trichloracétique à 10% (m/v) sont ajoutés pour arrêter la réaction. Après centrifugation à 650 g pendant 10 mn à température ambiante et 2.5 ml du surnageant sont additionnés de 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de FeCl₃ à 0.1% (m/v). La lecture de l'absorbance se fait à 700 nm contre un blanc. En parallèle le butylhydroxyanisole (BHA) à différente concentration a été utilisé comme contrôle positif dans les mêmes conditions opératoires. Les résultats permettent de calculer la concentration efficace (CE50), concentration de l'extrait correspondante à une absorbance égale à 0.5, obtenue par l'interprétation de la courbe de régression linéaire (D.O = f ([])).

Résultats

1-Les rendements des différents extraits

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

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

Extraits	Masse(g)	Aspect	Couleur	Rendement%	Solubilité
Café Arabica Vert (CAV)	1,16	poudre	vert	11,64	Eau-distillée
Café Arabica torréfié (CAT)	1,79	poudre	marron	17,98	Eau-distillée

2-Dosage des composés phénoliques

2-1-Polyphénols totaux

Les résultats obtenus pour le dosage des polyphénols sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique (**Figure 8**) : $y=0,0015x-0,0091$, et le test a été réalisé en trois fois.

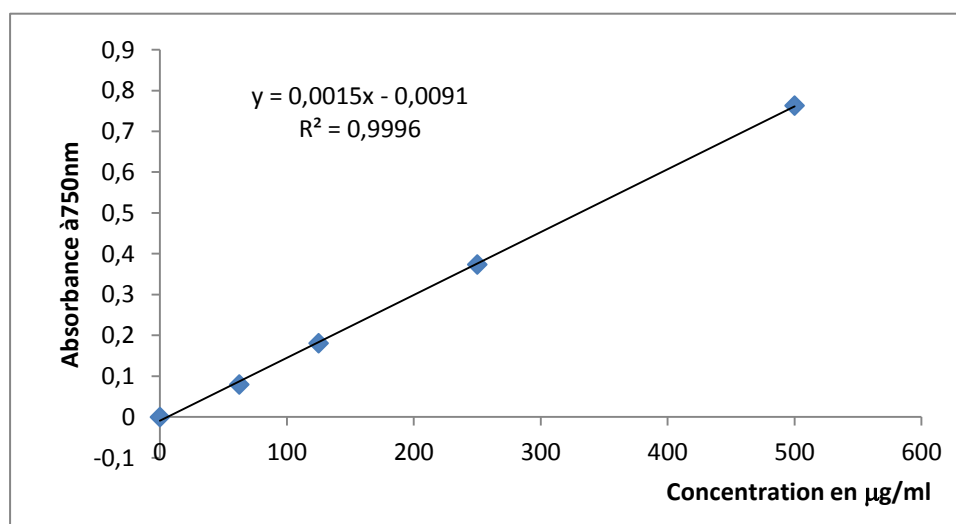


Figure 8 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique

Les résultats des taux en polyphénols pour les deux extraits de *coffea arabica* sont représentés dans la **figure 9**. Nous avons obtenu une valeur de 17,99mg EAG/g MS dans l'extrait de café vert et 32,71 mg EAG/g MS dans l'extrait de café torréfié. Selon les valeurs enregistrées nous avons remarqué que le café torréfié est le plus riche en polyphénols.

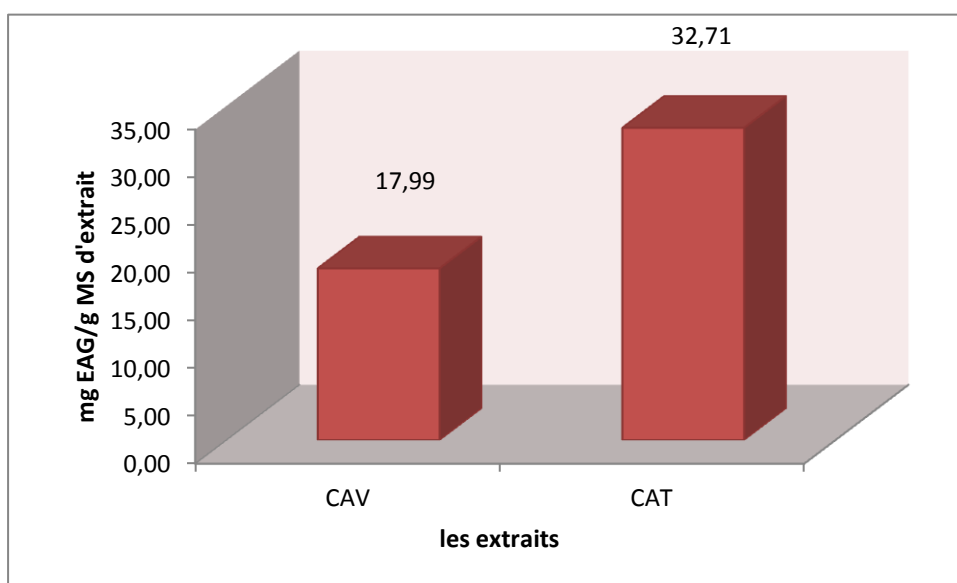


Figure 9 : Teneurs en polyphénols pour les deux extraits de *coffea arabica*

2-2-Flavonoïdes totaux

Les résultats obtenus pour le dosage des flavonoïdes totaux sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par la catéchine (**Figure 10**) $y=0,0027x+0,0059$, et Le test a été réalisé en trois fois.

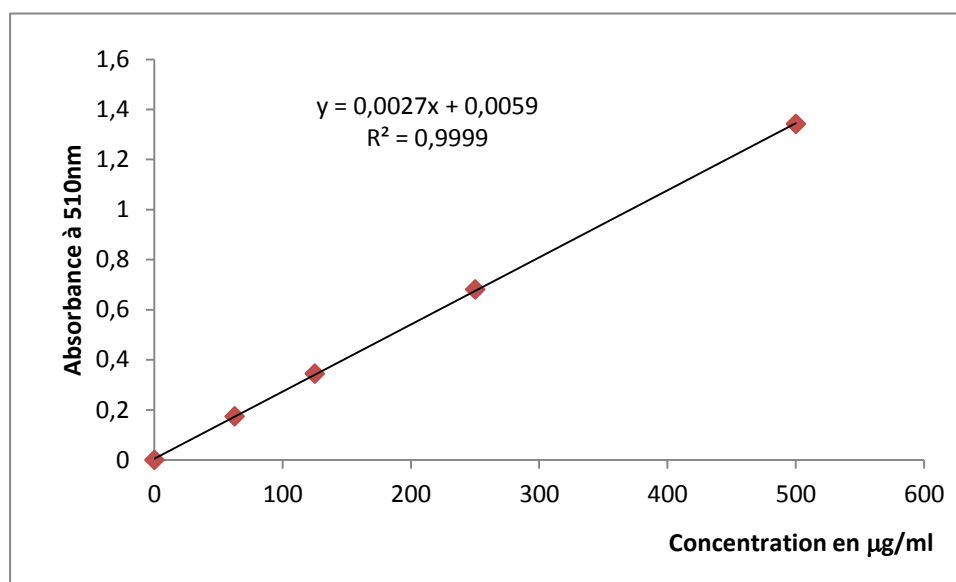


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

Les résultats des taux en flavonoïdes pour les deux extraits de *coffea arabica* sont représentés dans la **figure 11**. Nous avons obtenu une valeur de 14,45mg EC/g MS dans l'extrait de café vert et 13,35mg EC/g MS dans l'extrait de café torréfié. Le café vert est le plus riche en flavonoïdes totaux.

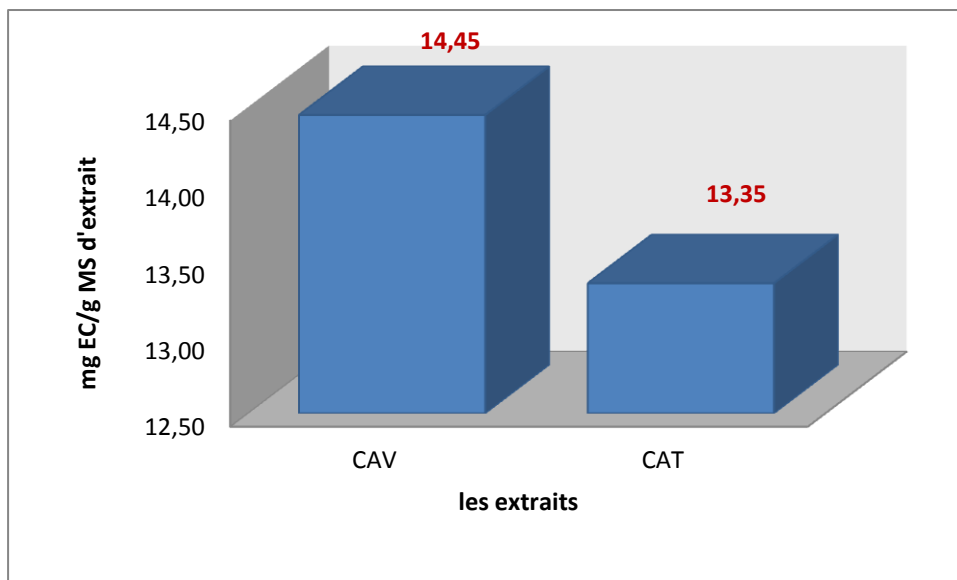


Figure 11 : Teneurs en flavonoïdes totaux pour les deux extraits de *coffea arabica*

2-3-Tanins condensés

Les résultats obtenus pour le dosage des tannins condensés sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par la catéchine (**Figure 12**) : $y=0.0003x+0,0010$. Le test a été réalisé en trois fois.

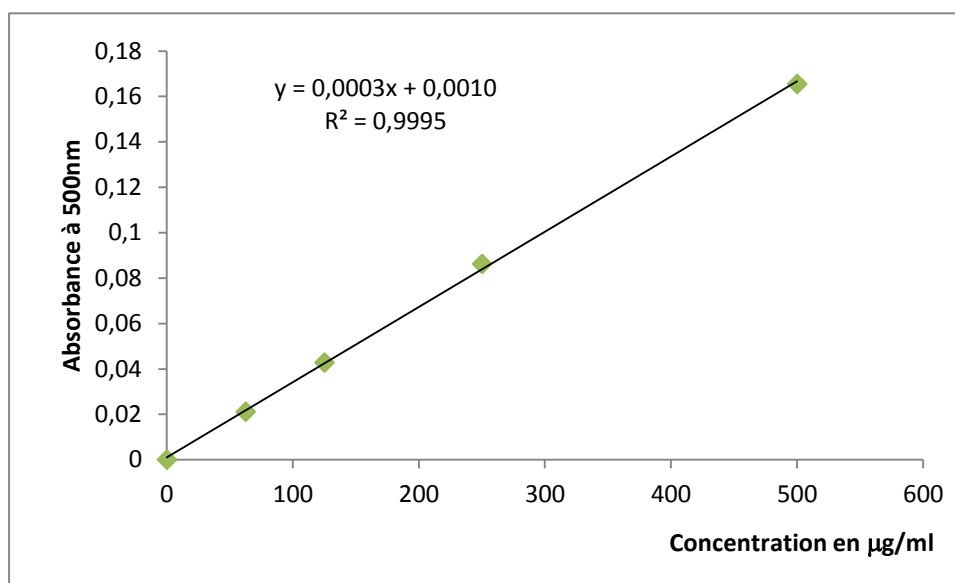


Figure 12 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

Les résultats des taux en tanins pour les deux extraits de *coffea arabica* sont représentés dans la **Figure 13**. Nous avons obtenu une valeur de 15,25mg EC/g MS dans l'extrait de café vert et 4,74mg EC/g MS dans l'extrait de café torréfié. Ce qui montre que le café vert renferme un taux plus élevé en tanins que le café torréfié.

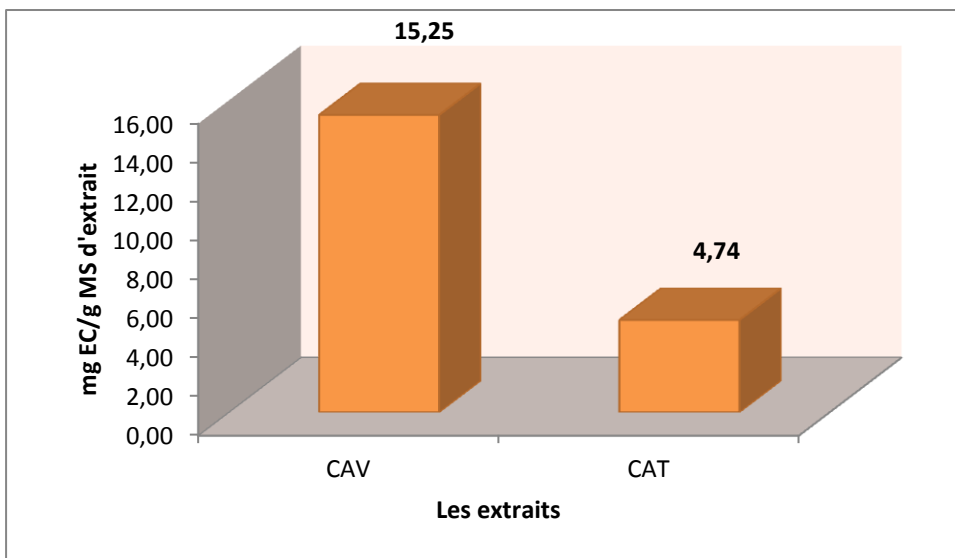


Figure 13 : Teneurs en tanins condensés pour les deux extraits de *coffea arabica*

3-Etude de l'activité antioxydante

3-1-Capacité antioxydante totale

Les résultats de la capacité antioxydante totale sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique (**Figure 14**) $y=0,0015x-0,0091$. Ce test a été réalisé en trois fois.

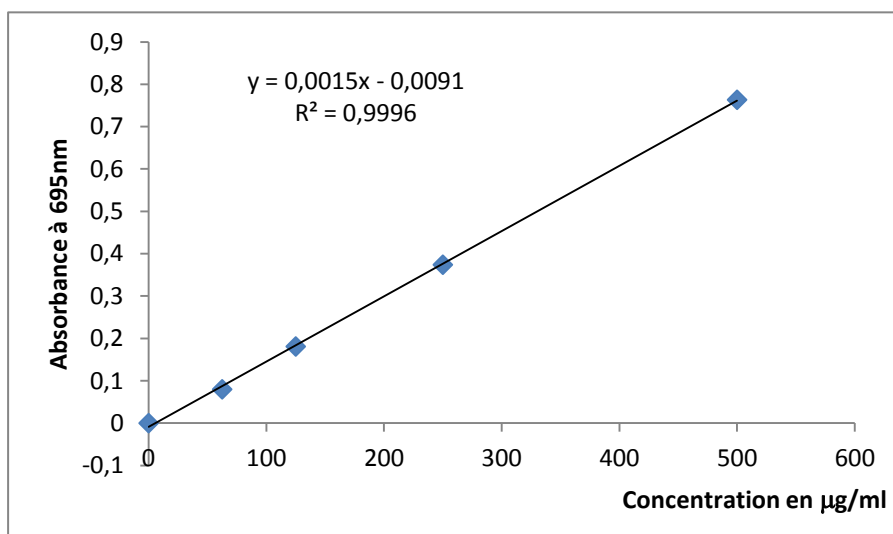


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats des taux de capacité antioxydante totale pour les deux extraits de *coffea arabica* sont représentés dans la **figure 15**. Nous avons obtenu une valeur de 11,05mg EAG/g MS dans l'extrait de café vert et 17,22 mg EAG/g MS dans l'extrait de café torréfié. Selon les valeurs enregistrées nous avons remarqué que le café torréfié a une capacité antioxydante totale plus que le café vert.

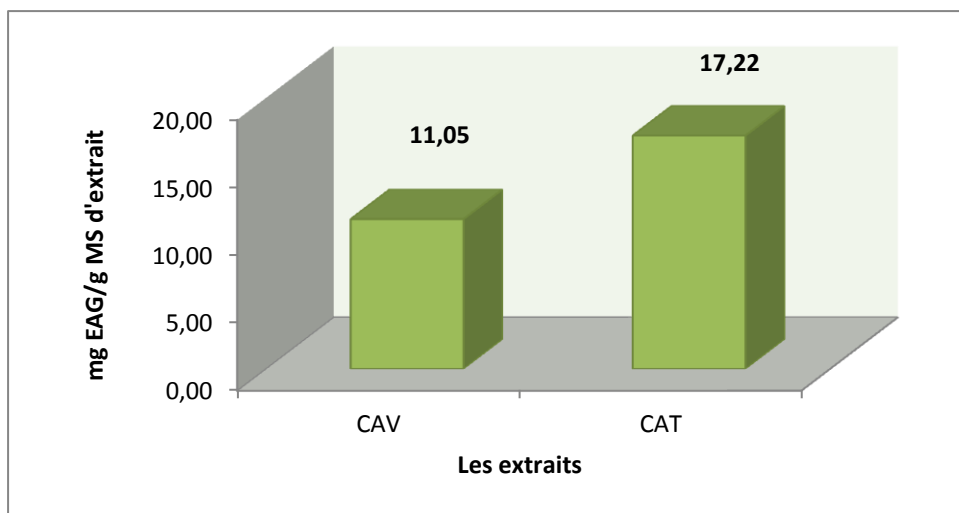


Figure 15 : Teneurs de capacité antioxydante totale pour les deux extraits de *coffea arabica*

3-2- Piégeage du radical DPPH

Nous avons étudié l'activité antioxydante des extraits verts et torréfiés du *café arabica* afin de localiser l'extrait qui présente le plus d'activité. Les valeurs des densités optiques obtenues ont permis de calculer les PI et de tracer des courbes (Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations), ayant une allure linéaire. À partir de ces courbes, nous avons déterminé la valeur de CI50 de chaque extrait, et ce test a été réalisé en trois fois.

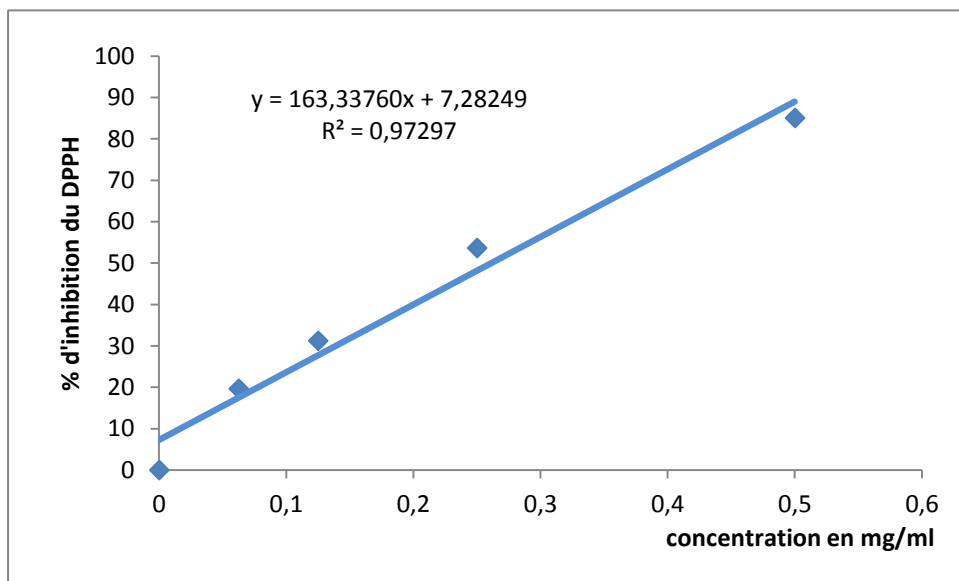


Figure 16 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations de BHA

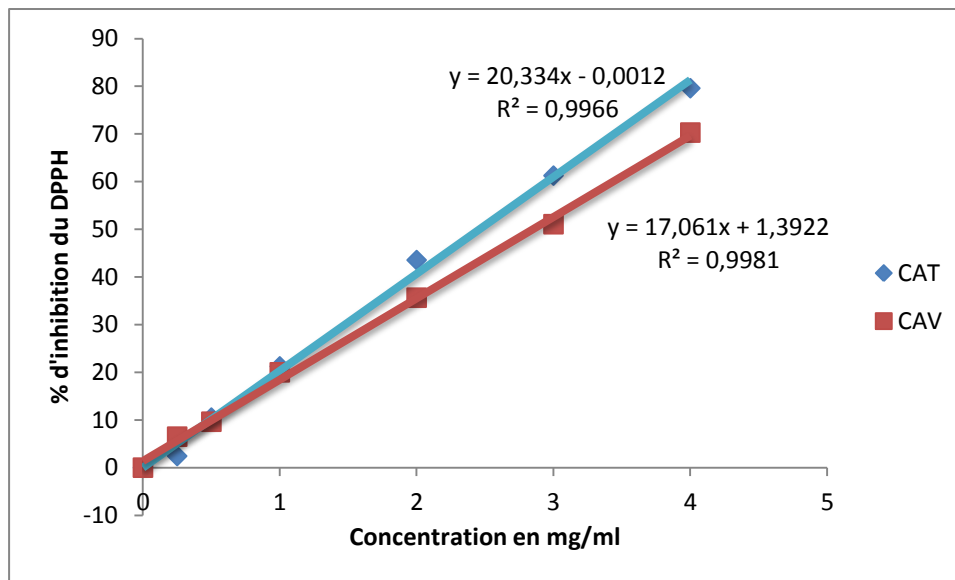


Figure 17 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de l'extrait des grains verts et torréfiés de *coffea arabica*

Nous constatons que le pourcentage d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration et à partir des équations des régressions linéaires des graphes représentés dans les **figures 16 et 17** nous avons calculé les CI50 des extraits de *coffea arabica*. Les valeurs des CI50 du BHA et les extraits du café vert et torréfié sont représentées dans le **tableau 3**.

Tableau 3 : Résultats des valeurs d'CI50 des différents extraits de *coffea arabica*

Extraits	BHA	Café Arabica vert (CAV)	Café Arabica torréfié (CAT)
CI50 (mg/ml)	0,2615	2,85	2,45

D'après les valeurs obtenues nous avons remarqué que l'extrait du café torréfié présente une CI50 inférieure à celle de l'extrait du café vert ce qui fait il a une activité antioxydante importante que le café vert.

3-3-Réduction du Fer : FRAP

Les valeurs des densités optiques obtenues qui ont été réalisés en trois fois, ont permis de tracer des courbes pour chaque extrait. Les résultats représentés sur les **figures 18 et 19** nous ont montré que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation des concentrations utilisées. Les valeurs obtenues pour les extraits de *coffea arabica* sont comparées à celle de BHA.

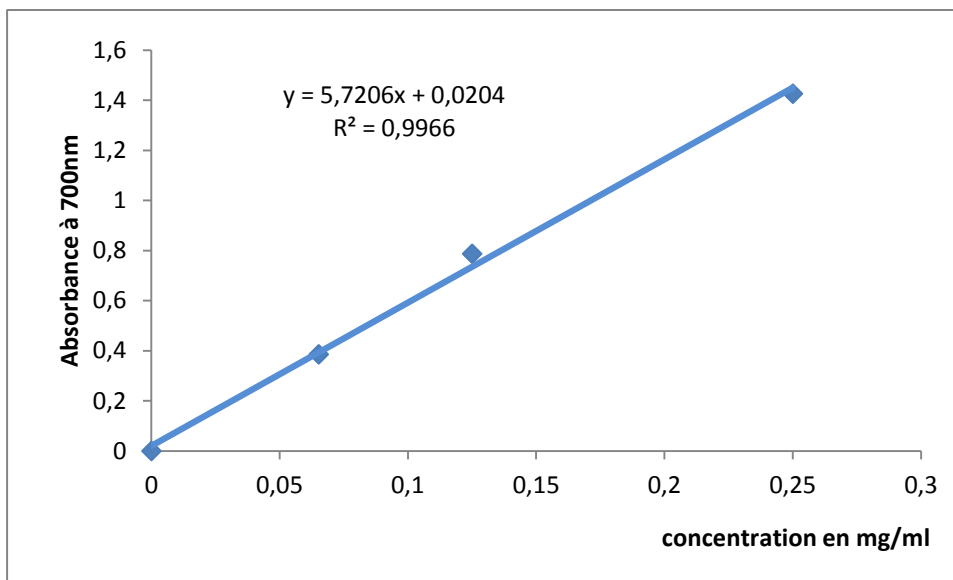


Figure 18 : Evolution des absorbance du fer réduit par le BHA

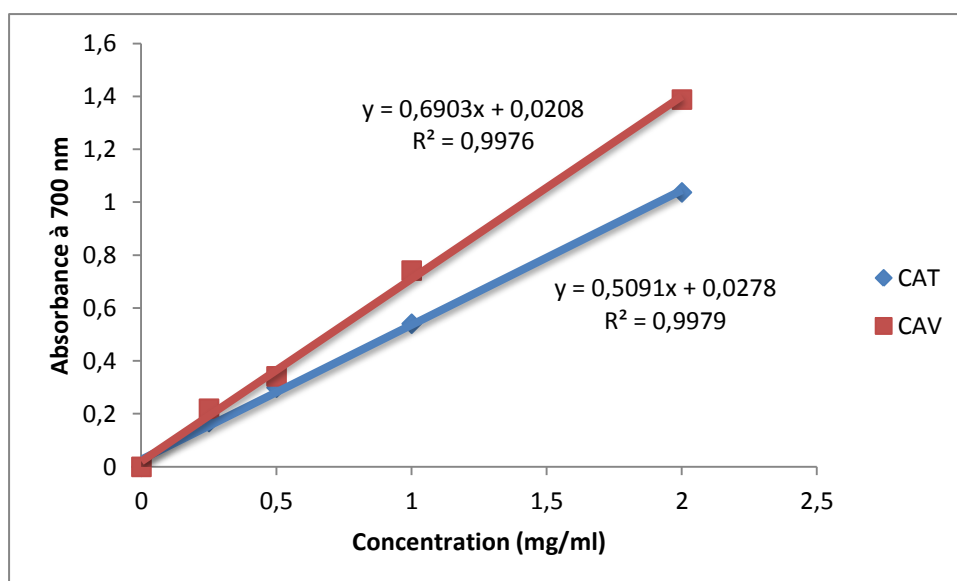


Figure 19 : Evolution des absorbance du fer réduit par l'extrait des grains verts et torréfiés de *coffea arabica*

Selon les valeurs de la CE50 nous remarquerons que les extraits des grains verts et torréfiés sont supérieurs à celui de BHA, du même que les extraits des grains verts sont relativement inférieurs par rapport aux extraits des grains torréfiés. Les valeurs de CE50 ont présenté dans le **tableau 4**.

Tableau 4 : CE50 des différents extraits de *coffea arabica*

Extraits	BHA	Café Arabica vert (CAV)	Café Arabica torréfié (CAT)
CE50 (mg/ml)	0,0837	0,694	0,927

Discussion

Nos travaux ont été réalisés afin de trouver l'influence de la torréfaction sur les polyphénols antioxydants. Notre étude s'intéresse sur quelques propriétés phytochimiques des grains verts et torréfiés du café Arabica, une plante très connue par la population algérienne.

Nous avons tout d'abord préparé deux extraits aqueux des grains de café verts et torréfiés ; par une décoction de 15 min (sous reflux) suivie d'une macération de 4h. Les résultats obtenus ont montré que le rendement le plus élevé est celui d'extrait des grains de café torréfié (17,98) suivie par l'extrait des grains de café vert (11,64). Cela présume la richesse de grains de *coffea arabica* en métabolites secondaires, primaires, et en sels minéraux par rapport aux grains de *coffea robusta*. Lors du traitement du café naturel, l'étape de la torréfaction est considérée comme essentielle pour provoquer des changements dans les composés bioactifs tels que les polyphénols. La température de torréfaction joue un rôle important, qui affecte à la fois les propriétés sensorielles et antioxydantes **(Bobková.A et al, 2020)**.

Nos deux extraits sont riches en polyphénols totaux, flavonoïdes, et en tanins. En comparant entre ces deux extraits, on remarque la richesse de café torréfié en polyphénols, alors que le café vert est plus riche en flavonoïdes totaux et en tanins condensés. Nos valeurs sont similaires de celles trouvées par **Panusa et al, (2013)** qui ont déterminé une quantité de phénols totaux allant d'environ 17 à 35 mg GAE/g dans un extrait éthanolique. Le degré de torréfaction réduit la teneur en antioxydants des grains de café. Les mesures réalisées sur 8 échantillons de café provenant de terroirs différents montrent que dans tous les cas, la teneur en composés antioxydants des cafés varie de manière inversement proportionnelle au degré de torréfaction. Ainsi pour profiter au maximum des propriétés antioxydantes du café, mieux vaut le consommer blond ou moyennement torréfié. **(Bobková.A et al, 2020)**

L'évaluation du pouvoir antioxydant de nos extraits a été réalisée par trois techniques chimiques. Le café torréfié a une capacité antioxydante totale plus élevée que celle du café vert avec les valeurs respectives 17,22 mgEAG/g MS et 11,05 mgEAG/g MS.

La capacité du piégeage libre DPPH était importante pour nos deux extraits. Les grains de café torréfié ont montrés l'activité réductrice de DPPH la plus intéressante avec CI50 égale à 2,45 ; par contre les grains de café vert étant donné une valeur d'IC50 égale à 2,85 ; mais qui reste plus faible que celle du standard BHA (IC50=0,2615mg/ml).

Après, nous avons utilisé une troisième méthode pour évaluer l'activité antioxydante qui est basée sur la réduction du Fer (FRAP). Après comparaison des valeurs obtenues des deux extraits, nous remarquons que les grains de café vert présentent des activités réductrices du Fer plus importantes (EC50=0,694 mg/ml) que celle des grains de café torréfié (EC50=0,927 mg/ml) et elle est légèrement plus intéressante que celle de BHA (CE50=0,837 mg/ml). Segheto et al, (2018) ont trouvé une valeur de CE50 égal à 0,0397 mg/ml dans un extrait éthanolique, ainsi une valeur de CE50 égale à 0,0719 mg/ml dans un extrait méthanolique.

Les graines vertes de *Coffea arabica* sont très riches dans les métabolites secondaires. Ces métabolites ont des propriétés antioxydantes qui réduisent l'incidence du cancer et du diabète **(Bhupathiraju et al. 2012 ; Cano-Marquina et al. 2013 ; Babova et al. 2016)**. La présence de composés phénoliques dans les différents extraits de *C. arabica* est probablement à l'origine de l'activité antioxydante. En fait, les composés phénoliques, en

particulier les flavonoïdes, ont une capacité antioxydante et sont capables de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène (**Kelly et al. 2002 ; Treml et Šmejkal 2016**).

Des études antérieures ont montré que l'activité antioxydante du café dépend en fait essentiellement des conditions de torréfaction, bien plus que les méthodes de brassage et la source des grains de café (**Sacchetti et al., 2009**).

Conclusion

Le travail présent, consisté à réaliser une étude phytochimique et à rechercher l'influence de la torréfaction sur les polyphénols antioxydants des grains de café verts et torréfiés du *Coffea Arabica*.

Les antioxydants ont un rôle bénéfique pour la santé grâce à la protection contre les vieillissements, réduisent les risques de cancers et de maladies cardio-vasculaires. Les principales méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant des deux extraits ont été examinées et regroupées selon leurs principes.

Cette étude montre que l'activité pharmacologique de *C. arabica* est conférée par des composés phénoliques. L'extrait des grains de café torréfié contient des molécules antioxydantes prometteuses qui perturbent les processus qui génèrent les radicaux libres.

Les résultats obtenus révèlent que l'activité antioxydante d'extrait de grains de café torréfié vis-à-vis de la capacité antioxydante totale renferme une teneur intéressante (17,22mg EAG/g MS) et développe une capacité anti-radicalaire estimée à (2,45mg/ml) par le test de DPPH. Par contre l'extrait des grains de café vert présente un pouvoir réducteur de Fer (FRAP) très important (0,694mg/ml).

A la lumière de ces résultats obtenus, nous pouvons conclure que les extraits des graines vertes et torréfiées de *Coffea arabica* sont riches en antioxydants. Cela est dû à la composition chimique de ces graines en métabolites secondaires tels que les polyphénols.

De ce fait, comme perspectives future, on suggère qu'un travail postérieur doit permettre l'isolation et l'identification du contenu en antioxydants pour ces résidus. En outre, des tests de l'activité antioxydante *in vivo* avec ces différents mécanismes doit nécessairement être investie pour compléter ce travail. Des études chimiques, toxicologiques et cliniques devraient être menées pour étudier les applications thérapeutiques de ces extraits.

Références

Adrian J., Billaud C., Potus J. Les manifestations de la réaction de Maillard en nutrition et pathologie. *Médecine et Nutrition biochimie et biologie*, 2000, 36 (2), 69-89.

Affonso, R. C. L., Voytena, A. P. L., Fanan, S., Pitz, H., Coelho, D. S., Horstmann, A. L., Pereira A, Uarrota VG, Hillmann MC, Calbusch Varela LA, Ribeiro-do-Valle R, Maraschin, M. (2016). L.) Bean Residual Press Cake on the Skin Wound Healing. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–10.

Amiri.S (2020). La petite histoire du café. La nutrition : bon à manger, bon à savoir.
<https://www.lanutrition.fr/la-petite-histoire-du-cafe>.

Anna.M. (2015). How Turks and Persians Drank Coffee: A Little-known Document of Social History by Father J. T. Krusiński. *Turkish Historical Review*. 6: 175-193.

Anne & Pascale. (2003). Le café, des terroirs et des hommes. Montpellier : CIRAD, 16 p. Salon international de l'agriculture. 40, Paris, France, 22 Février 2003/2 Mars 2003.

Atoui AK, Mansouri A, Boskou G, Kefalas P (2005). Tea and berbal infusions:their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89 :27-36.

Aurore. (2019). Café : bon ou mauvais pour la santé ? ConsoGlobe. 25 janvier 2019.
<https://www.consoglobe.com/cafe-bon-ou-mauvais-pour-la-sante-cg>.

Babova O, Occhipinti A, Maffei ME (2016). Chemical partitioning and antioxidant capacity of green coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) of different geographical origin. *Phytochemistry* 123:33–39.

Barel. M. (2008). Industrie de la torréfaction. Café : de la cerise à la tasse. 10 mars 2008
Bhupathiraju SN 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. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 97(1): 155–166.
DOI:10.3945/ajcn.112.048603.

Bobková A., Hudáček, M., Jakobová, S., Belej, L., Capcarová, M., Čurlej, J., Bobko M, Árvay J, Jakab I, Čapla J, Demianová, A. (2020). The effect of roasting on the total polyphenols and antioxidant activity of coffee. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. 1–6.
DOI: 10.1080/03601234.2020.1724660.

Boizot, N., Charpentier, J.-P., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, Numéro spécial 2006: Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, 79-82.

Boyer F. (2016). Stress oxydant et pathologie diabétique : impact de l'hyperglycémie et de l'albumine glyquée sur les cellules cardiaques et adipeuses. Thèse de doctorat en Biochimie, Université de La Réunion. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01379536/document>.

Cano-Marquina A, Tarín JJ, Cano A. (2013). The impact of coffee on health. *Maturitas* 75:7–21.

Carange. (2010). Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection ? Thèse de doctorat. Université du Québec Trois-Rivières.

Charrier A. & Berthaud J. (1985). Botanical Classification of Coffee. In: Clifford, M.N. and Willson, K.C., Eds., *Coffee: Botany, Biochemistry, and Production of Beans and Beverage*, Croom Helm, Westport, London, 13-47.

Conan.C. (2019). Boire du café : bon ou pas pour la santé ? *Journal des femmes*. 5 juillet 2019.

Cornelis M. C., & El-Sohehy A. (2007). Coffee, caffeine, and coronary heart disease. *Current Opinion in Lipidology*, 18(1), 13–19.
DOI:10.1097/mol.0b013e3280127b04.

Del Castillo, M. D, Ames, J. M., et al. (2002). Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brews, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3698-3703.

Desmier.T. (2016). Thèse d'exercice(les antioxydants de nos jours : definition et applications) | Université de Limoges | mars 2016.

Dewanto, V., Wu, X., Adom, K.K., Liu, R.H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50, 3010-3014.

Esquivel, P., & Jiménez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International* 46(2): 488-495.
DOI:10.1016/j.foodres.2011.05.028.

Fadel.S. (2014). Le café: Marché du café en Algérie Quand la régulation fait défaut. *Dziri (Le mag qui parlent au algériens sur un autre ton)*. 17 juin 2014.

Gaillant. (2017). Café : le cours de l'arabica est au tapis, profitez-en (en Bourse). *Capital*. 18 octobre 2017.

Galluzzi et al. (2015). Highlights in the history of coffee science related to health. In *Coffee in health and disease prevention* (Victor R. Preedy, pp. 11–16). London, UK: Elsevier.

Getachew, A. T., & Chun, B. (2016). Optimization of coffee oil flavor encapsulation using response surface methodology. *LWT-Food Science and Technology*, 70, 126- 134.

Guyon S, 2005. « Laure Waridel, Acheter, c'est voter : Le cas du café », - la revue électronique en sciences de l'environnement <https://journals.openedition.org/vertigo/5309>.

Haddouchi, F., Chaouche, T., Halla, N. (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 1-9.

Haller P.N.G. (2013). Le café : les effets bénéfiques et néfastes sur la santé. Thèse Sciences pharmaceutiques. <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732489/document>.

Halliwell. (2006). Reactive Species and Antioxidants. *Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life*. 141(2): 312–322.

Houessou JK. (2007). Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans le café : mise au point de méthodes analytiques et étude de l'étape de torréfaction. Ecole Doctorale ABIES, Paris Thèse.

Kelly EH, Anthony RT, Dennis JB (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13:572–584.

Jónína S. (2009). Le café, Les aspects principaux. <https://docplayer.fr/6061751-Hugvisindasvid-le-cafe-les-aspects-principaux-ritgerd-til-b-a-profs-jonina-soffia-tryggvadottir.html>.

Lashermes, P, Bertrand, B, & Etienne, H, (2009). Breeding coffee (*coffea arabica*) for sustainable production. *Breeding plantation tree crops: Tropical species* (pp. 525-543) Springer.

Liu, Kitts. (2011). Confirmation that the Maillard reaction is the principle contributor to the antioxidant capacity of coffee brews. *Food Research International*, 44(8): 2418-2424. DOI: 10.1016/j.foodres.2010.12.037.
44, Issue 8, October 2011, Pages 2418-2424.

Machiels & Istasse. (2002). Maillard reaction: importance and applications in food chemistry. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 146, 347-352.

Masood Sadiq Butt & M. Tauseef Sultan. (2011). Coffee and its Consumption: Benefits and Risks, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51:4, 363-373.

Merritt.T. (2020). Quels sont les effets du café sur votre corps ? Le soleil. 24 janvier 2020.

Michelle et al. (2003). Terres de café. The leading information portal on coffee science. *Chemistry*. 1: 120-127.

Migdal.C & Serres.M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences* 2011 ; 27 : 405-12.

Onakpoya, I., Terry, R. & Ernst, E. (2011). The use of green coffee extract as a weight loss supplement: A systematic review and meta-analysis of randomised clinical trials. *Gastroenterology Research and Practise*, 201, 1–6.
DOI:10.1155/2011/382852.

Ould Hamouda W (2005). Le café : 100 000 tonnes de café consommées annuellement. <https://www.depechedekabylie.com/national/13973-100-000-tonnes-de-cafe-consommees-annuellement/>.

Oyaizu M (1986). Studies on products of the browning reaction prepared from glucose amine. *Japan Journal of Nutrition*,44:307–315.

Panusa A., Zuorro, A., Lavecchia, R., Marrosu, G., & Petrucci, R. (2013). Recovery of Natural Antioxidants from Spent Coffee Ground. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(17), 4162–4168.
DOI: 10.1021/jf4005719.

Prieto P, Pineda M, Aguilar M (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269:337-341.

Ray.M.C. (2020). Le café stimule la réflexion mais pas la créativité. *La nutrition*. <https://www.lanutrition.fr/le-cafe-stimule-la-reflexion-mais-pas-la-creativite>.

Richard.H. (2003). Réactions de Maillard et production d'arômes endogènes. https://www.cultures-sucre.com/content/uploads/2003/03/ric_10e.pdf.

Roberfroid et Calderon. (1995). Antioxidants and radical scavengers: some therapeutical uses. In : Roberfroid M., Calderon P.B. (Eds.), *Free radicals and oxidation phenomena in biological systems*. Marcel Dekker : New York, 1995, 193-236.

Sacchetti, G., Di Mattia, C., Pittia, P., & Mastrocola, D. (2009). Effect of roasting degree, equivalent thermal effect and coffee type on the radical scavenging activity of coffee brews and their phenolic fraction. *Journal of Food Engineering*, 90(1), 74–80.

Saura-Calixto & Goñi. (2006). Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chemistry*, 94, 442–447.

Segheto Segheto, L., Santos, B. C. S., Werneck, A. F. L., Vilela, F. M. P., Sousa, O. V. de, & Rodarte, M. P. (2018). Antioxidant extracts of coffee leaves and its active ingredient 5 caffeoylquinic acid reduce chemically-induced inflammation in mice. *Industrial Crops & Products* 126 (2018) 48–57.

Şemen, S., Mercan, S., Yayla, M., & Açıkkol, M. (2017). Elemental composition of green coffee and its contribution to dietary intake. *Food Chemistry*, 215, 92-100.

Sudano, I., Binggeli, C., Spieker, L., Lüscher, T. F., Ruschitzka, F., Noll, G., & Corti, R. (2005). Cardiovascular Effects of Coffee: Is It a Risk Factor?. *Progress in Cardiovascular Nursing* 20(2):65-69.
DOI:10.1111/j.0889-7204.2005.02477.x

Sun, B., Ricardo-da-Silva, J.M., Spranger, I., (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4267-4274.

Tremel J, Šmejkal K (2016). Flavonoids as potent scavengers of hydroxyl radicals. *Comprehensive Reviews Food Science Food* 15:720–738.

Vaillant, S (2000). L'Arabica, une légende dans votre tasse (Doctissimo).
<https://www.doctissimo.fr/html/nutrition/dossiers/cafe/14398-arabica.htm>.

Vermeris, W., Nicholson, R. (2006). Phenolic compound Biochemistry. Springer, Dordrecht, The Netherlands, 211-234.

Wei F et Tanokura M. (2015). Chemical changes in the components of coffee beans during roasting. *Coffee in health and disease prevention* (pp. 83-91)
DOI:10.1016/b978-0-12-409517-5.00010-3.