

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



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

Département de Biologie

Laboratoire Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de Nutrition

MEMOIRE

Présenté par

GAOUAR Samia

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En physiologie cellulaire et physiopathologie

Thème

Evaluation de l'activité in vitro des extraits poly-phénoliques de
la parche de café sur la fonction des lymphocytes T

Soutenu le 12 Septembre 2020, devant le jury composé de :

Présidente : Dr LAISSOUF. A

MCB

Université de Mostaganem

Examinatrice : Dr MEDJDOUB. A

MCB

Université de Tlemcen

Promotrice : Dr BOUDGHEN STAMBOULI. A

MCB

Université d'Ain Temouchent



Année universitaire 2019/2020

*« Nul ne peut atteindre l'aube
sans passer par le chemin de la nuit. »*

-Khalil Gibran-

Remerciements

J'exprime d'abondance mes profonds remerciements à ALLAH, le tout puissant, qui a comblé mon cœur de courage et de volonté d'achever ce travail.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance aux personnes suivantes, pour leur aide dans la réalisation de ce mémoire :

*Je souhaite dans un premier temps remercier, ma directrice de mémoire "Docteur **BOUDGHEN STAMBOULI. A**", maître de conférence B à l'université d'Ain Temouchent , pour sa patience, sa disponibilité, le temps consacré et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion et me former dans la pratique.*

*Je voudrais remercier vivement "Docteur **LAISSOUF. A**", maître de conférence B à l'université de Mostaganem qui m'a fait l'honneur de présider ma thèse.*

*J'en profite également pour remercier "Docteur **MEDJDOUB. A**", maître de conférence B à l'université de Tlemcen, de la confiance qu'elle m'a apporté, ainsi que de tout son aide et son orientation durant la période de réalisation du travail au laboratoire et d'avoir accepté d'examiner mon étude.*

*Mes sincères remerciements au "Docteur **SAKER. M**", responsable de ma promos et ma grande reconnaissance au "Docteur **MALTI. N**".*

*Je remercie également "Professeur **MERZOUK. H**" directrice du laboratoire « physiologie, physiopathologie » à l'université de Tlemcen, de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et tout le personnel du laboratoire qui m'a aidé à effectuer mon stage dans de meilleures conditions et à améliorer mes connaissances dans ce cadre très important dans mes études et dans ma vie professionnelle.*

Mes remerciements les plus chaleureux s'adressent à mes proches qui ont toujours été là pour moi. Leur soutien inconditionnel et leurs encouragements ont été d'une grande aide.

Merci à tous ceux que j'ai oubliés et que j'ai croisés sur ce long chemin qui s'appelle la vie. À tous ces intervenants, je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.

Dédicace

Je dédie ce modeste projet de fin d'étude

*À mes chers parents, source de vie, d'amour et d'affection
À mon frère, mes sœurs et leurs enfants, source de joie et de
bonheur*

*À ma famille, source de soutien et de motivation
À mes cher(e)s ami(e)s, source d'appui et d'espoir
À toute personne qui de près ou de loin m'encouragé et
participé à ma formation et à la réalisation de ce travail
À vous chers lecteurs.*

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumé	

Introduction générale	Error! Bookmark not defined.
-----------------------------	------------------------------

Première partie : Etude bibliographique

Chapitre I: Généralité sur le café et la parche

1. Description de la plante étudiée.....	3
1.1 Définition et présentation morphologique.....	3
1.2 Constituants de la cerise de café.....	6
1.3 Composition chimique du grain de café	6
2. Composition et intérêts de la parche de café.....	8
2.1 Composition de la parche de café	8
2.2 Intérêts de la parche de café.....	8

Chapitre II : Stress oxydatif et antioxydants

1. Radicaux libres	12
2. Stress oxydatif/oxydant.....	13
2.1 Définition	13
2.2 Causes et conséquences	14
3. Pouvoir antioxydant.....	15
3.1 Les antioxydants.....	15
3.2 Systèmes antioxydants enzymatiques.....	15
3.3 Systèmes antioxydants non enzymatiques.....	16

Deuxième partie : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal.....	22
2. Méthodes d'extraction	22
2.1 L'extraction solide-liquide.....	22
2.2 Choix des extraits	22

2.3	Calcul du rendement d'extraction	26
3.	Etude in vitro	26
3.1	Choix des modèles d'étude <i>in vitro</i>	26
3.2	Préparation des solutions mères des extraits	27
3.3	Test de transformation lymphoblastique (TTL)	30
3.4	Détermination des marqueurs du stress oxydatif au niveau des lymphocytes	31
4.	Analyse statistique	32
	Chapitre II: Résultats et interprétations	33
	Discussion	47
	Conclusion générale	49
	Références bibliographiques	51
	Annexes	57

Liste des abréviations

AC	<i>Capacité antioxydante</i>
ADN	<i>Acide désoxyribonucléique</i>
AG	<i>Acide gras</i>
CAT	<i>Catalase</i>
CGA	<i>Acide chlorogénique</i>
ED	<i>Eau distillée</i>
EP	<i>Eau physiologique</i>
ERN	<i>Espèces réactives de l'azote</i>
ERO	<i>Espèces réactives de l'oxygène</i>
GRH	<i>Globules rouges humains</i>
GSH	<i>Glutathion</i>
GPx	<i>Glutathion peroxydase</i>
MDA	<i>Malondialdéhyde</i>
Hb	<i>Hémoglobine</i>
IDF	<i>Fibre alimentaire insoluble</i>
IP	<i>Indice de prolifération</i>
PB	<i>Prolifération basale</i>
PTCA	<i>Protéines carbonylées</i>
RMS	<i>Méthodologie de surface de réponse</i>
SDF	<i>Fibre alimentaire soluble</i>
TF	<i>Flavonoïdes totaux</i>
TFL	<i>Flavanols totaux</i>
TG	<i>Triglycérides</i>
TOD	<i>Total ortho-diphénols</i>
TPA	<i>Acides phénoliques totaux</i>
TPC	<i>Composés phénoliques totaux</i>
TTL	<i>Test de transformation lymphoblastique</i>

Liste des figures

Figure1	<i>Répartition géographique de la production de café</i>
Figure2	<i>Principales espèces du caféier cultivées</i>
Figure3	<i>Fruits de caféier</i>
Figure4	<i>Anatomie du café</i>
Figure5	<i>Représentation des sources exogènes et endogènes des espèces réactives de l'oxygène (ROS) / des espèces réactives de l'azote (RNS) et des maladies</i>
Figure6	<i>Effet du ROS / RNS sur les biomolécules (ADN, protéines, lipides, etc.) utilisées comme biomarqueurs du stress oxydatif en milieu cellulaire</i>
Figure7	<i>Système antioxydant enzymatique</i>
Figure8	<i>Structure chimique de l'ubiquinol</i>
Figure9	<i>Equilibre de l'acide urique avec l'urate</i>
Figure10	<i>Structure chimique de la vitamine C</i>
Figure11	<i>Structure chimique de la vitamine E ou tocophérol</i>
Figure12	<i>Structure chimique des β carotènes</i>
Figure13	<i>Classification des polyphénols</i>
Figure14	<i>Propriétés des polyphénols</i>
Figure15	<i>Réseau des antioxydants</i>
Figure16	<i>Fragments de parche de café séchés et broyés</i>
Figure17	<i>Représentation schématique d'une méthode de macération (maxicours)</i>
Figure18	<i>Méthode d'infusion</i>
Figure19	<i>L'appareil de décoction</i>
Figure20	<i>L'appareil d'ultrasons (sonicateur)</i>
Figure21	<i>Méthode d'isolement et purification des lymphocytes</i>
Figure22	<i>Indice de prolifération des lymphocytes en présence de l'extrait d'ultrason</i>
Figure23	<i>Indice de prolifération des lymphocytes en présence de l'extrait de macération</i>
Figure24	<i>Indice de prolifération des lymphocytes en présence de l'extrait d'infusion</i>
Figure25	<i>Indice de prolifération des lymphocytes en présence de l'extrait de décoction</i>
Figure26	<i>Teneurs cellulaires en MDA en présence de l'extrait d'ultrason de parche de café</i>
Figure27	<i>Teneurs cellulaires en MDA en présence de l'extrait de macération de parche de café</i>

Figure28	<i>Teneurs cellulaires en MDA en présence de l'extrait d'infusion de parche de café</i>
Figure29	<i>Teneurs cellulaires en MDA en présence de l'extrait de décoction de parche de café</i>
Figure30	<i>Teneurs cellulaires en PTCA en présence de l'extrait d'ultrason de parche de café</i>
Figure31	<i>Teneurs cellulaires en PTCA en présence de l'extrait de macération de parche de café</i>
Figure32	<i>Teneurs cellulaires en PTCA en présence de l'extrait d'infusion de parche de café</i>
Figure33	<i>Teneurs cellulaires en PTCA en présence de l'extrait de décoction de parche de café</i>
Figure34	<i>Teneurs cellulaires en CAT en présence de l'extrait d'ultrason de parche de café</i>
Figure35	<i>Teneurs cellulaires en CAT en présence de l'extrait de macération de parche de café</i>
Figure36	<i>Teneurs cellulaires en CAT en présence de l'extrait d'infusion de parche de café</i>
Figure37	<i>Teneurs cellulaires en CAT en présence de l'extrait de décoction de parche de café</i>
Figure38	<i>Teneurs cellulaires en GSH en présence de l'extrait d'ultrason de parche de café</i>
Figure39	<i>Teneurs cellulaires en GSH en présence de l'extrait de macération de parche de café</i>
Figure40	<i>Teneurs cellulaires en GSH en présence de l'extrait d'infusion de parche de café</i>
Figure41	<i>Teneurs cellulaires en GSH en présence de l'extrait de décoction de parche de café</i>

Liste des tableaux

Tableau 1	Constituants de la cerise de café
Tableau 2	Composition chimique moyenne des grains de café verts et torréfiés selon la variété (en pourcentage de la matière sèche)
Tableau 3	Composition minérale de la parche de café
Tableau 4	Structures chimiques de certains des composés les plus couramment trouvés dans le café et ses déchets.
Tableau 5	Récapitulation de la composition et de l'importance du parchemin de café
Tableau 6	Principales espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (RNS)
Tableau 7	Taille et densité des cellules sanguines

Résumé

La parche est l'un des sous-produits du café les moins étudiés alors qu'elle est riche en composés phénoliques. Ce travail porte sur l'évaluation in vitro des extraits poly-phénoliques de la parche de café sur l'activité des lymphocytes T " support de immunité cellulaire ", en utilisant différentes méthodologies d'extraction puis tester leur activité antioxydante in vitro.

Pour cela, l'extraction a été faite selon quatre méthodes : la macération, l'infusion, la décoction et l'ultrason à partir de la parche de café. L'isolement des lymphocytes se fait à partir du sang d'un volontaire dans un gradient d'histopaque. Les lymphocytes sont stimulés par des agents mitogènes spécifiques, la Concanavaline A. les lymphocytes T sont mis en contact avec différentes concentrations des 4 extraits [1µM-10µM-25 µM -50 µM -100 µM] pendant 48 h d'incubation, pour déterminer le taux de prolifération cellulaire et le dosage des paramètres du statut oxydant-antioxydant lymphocytaire (le glutathion érythrocytaire et l'activité de la catalase, les teneurs en protéines carbonylées et les teneurs en malondialdéhydes) .

Mes résultats montrent que les extraits d'ultrason à 1µM/l, de macération entre 10µM/l et 50µM/l , d'infusion entre 25µM/l et 100µM/l et de décoction à 25µM/l de parche de café provoquent une augmentation significative de la prolifération cellulaire comparée à la prolifération basale, par contre la prolifération lymphocytaire est diminuée significativement en présence des autres concentrations de ces extraits.

En ce qui concerne les teneurs en malondialdéhydes sont augmentées aux concentrations 1 µM/l d'extrait d'ultrason, à 1 µM/l d'extrait de macération et de 1µM/l jusqu'à 25µM/l d'extrait de décoction comparées à la prolifération basale, elles sont diminuées aux autres concentrations. Au moment même, l'extrait d'infusion provoque une diminution des teneurs en MDA d'une manière dose dépendante.

Ensuite, les teneurs en protéines carbonylées sont augmentées aux concentrations de 1µM/l à 50µM/l d'extrait d'ultrason, à 1µM/l et 100 µM/l d'extrait de macération, à 1µM/l et 50µM/l d'extrait d'infusion et entre 1-25µM/l d'extrait de décoction.

D'autre part, les teneurs lymphocytaires en GSH augmentent en présence de chaque extrait aux différentes concentrations utilisées comparées aux proliférations basales.

Et concernant l'activité de la catalase, elle révèle une augmente en présence d'extrait d'ultrason à 100µM/l, d'extrait de macération et de décoction à 1µM/l et entre 50µM/l et 100 µM/l d'extrait d'infusion, en revanche elle provoque une diminution aux autres concentrations.

En conclusion, les extraits de parche de café (ultrason, macération, infusion, macération) provoquent des effets immuno-stimulateurs et ou immuno-inhibiteurs d'une manière de dose dépendante avec une augmentation de la défense antioxydante.

Mots clés : Lymphocytes T, MDA, parche de café, décoction, macération, infusion, ultrason, statut oxydo-rédox.

Summary

Parchment is one of the least studied coffee byproducts despite being rich in phenolic compounds. This work focuses on the in vitro evaluation of poly-phenolic extracts of coffee parchment on the activity of T lymphocytes "carrier of cellular immunity", using different extraction methodologies and then testing their antioxidant activity in vitro.

For this, the extraction was done using four methods: maceration, infusion, decoction and ultrasound from the parchment of coffee. Isolation of lymphocytes is done from the blood of a volunteer in a histopaque gradient. The lymphocytes are stimulated by specific mitogenic agents, Concanavalin A. The T lymphocytes are brought into contact with different concentrations of the 4 extracts [1 μ M-10 μ M-25 μ M -50 μ M -100 μ M] for 48 h of incubation, to determine the rate of cell proliferation and the assay of the parameters of the lymphocyte oxidant-antioxidant status (erythrocyte glutathione and catalase activity, the carbonyl protein contents and the malondialdehydes contents).

My results show that the extracts of ultrasound at 1 μ M / l, maceration between 10 μ M / l and 50 μ M / l, infusion between 25 μ M / l and 100 μ M / l and decoction at 25 μ M / l of parchment of coffee cause an increase cell proliferation compared with basal proliferation, on the other hand lymphocyte proliferation is significantly reduced in the presence of other concentrations of these extracts.

With regard to the contents of malondialdehydes, the concentrations of 1 μ M / l of ultrasound extract, 1 μ M / l of maceration extract and 1 μ M / l up to 25 μ M / l of decoction extract are increased. at basal proliferation, they are reduced at other concentrations. At the same time, the infusion extract causes a decrease in MDA levels in a dose dependent manner.

Then, the carbonyl protein contents are increased to the concentrations of 1 μ M / l to 50 μ M / l of ultrasound extract, to 1 μ M / l and 100 μ M / l of maceration extract, to 1 μ M / l and 50 μ M / l of infusion extract and between 1-25 μ M / l of decoction extract.

On the other hand, the lymphocyte contents of GSH increase in the presence of each extract at the different concentrations used compared to the basal proliferations.

And concerning the activity of catalase, it reveals an increase in the presence of ultrasound extract at 100 μ M / l, maceration and decoction extract at 1 μ M / l and between 50 μ M / l and 100 μ M / l of extract infusion, on the other hand it causes a decrease in the other concentrations.

In conclusion, the extracts of coffee parchment (ultrasound, maceration, infusion, maceration) induce immunostimulatory and / or immuno-inhibitory effects in a dose-dependent manner with an increase in antioxidant defense.

Keywords: T lymphocytes, MDA, parchment of coffee , decoction, maceration, infusion, ultrasound, redox status

ملخص

الرق هو أحد منتجات القهوة الثانوية الأقل دراسة على الرغم من كونه غنيًا بالمركبات الفينولية. يركز هذا العمل على التقييم المختبري لمستخلصات البولي فينول لرق القهوة على نشاط الخلايا الليمفاوية التائية" الناقل للمناعة الخلوية"، باستخدام طرق استخلاص مختلفة ثم اختبار نشاطها المضاد للأكسدة في المختبر.

لهذا ، تم الاستخراج باستخدام أربع طرق: النقع ، التسريب ، المغلي والموجات فوق الصوتية من رق القهوة. يتم عزل الخلايا الليمفاوية من دم أحد المتطوعين في تدرج نسجي. يتم تحفيز الخلايا الليمفاوية بواسطة عوامل انقسامية محددة ، كونكانافالين أ . يتم ملامسة الخلايا الليمفاوية التائية مع تركيزات مختلفة من المستخلصات الأربعة [1 ميكرومتر 10- ميكرومتر 25- ميكرومتر 50- ميكرومتر 100- ميكرومتر] لمدة 48 ساعة من الحضارة ، لتحديد معدل تكاثر الخلايا ومقاييس معلمات حالة مضادات الأكسدة الليمفاوية) الجلوتاثيون ونشاط الكاتالاز في كرات الدم الحمراء ومحتويات بروتين الكربونيل ومحتويات مالينديالديهيد.)

تظهر نتائجنا أن مستخلصات الموجات فوق الصوتية عند 1 ميكرومتر / لتر ، النقع بين 10 ميكرومتر / لتر و 50 ميكرومتر / لتر ، التسريب بين 25 ميكرومتر / لتر و 100 ميكرومتر / لتر والإغراق عند 25 ميكرومتر / لتر من رق القهوة يسبب زيادة تكاثر الخلايا مقارنة بالتكاثر القاعدية ، من ناحية أخرى ، يتم تقليل تكاثر الخلايا الليمفاوية بشكل كبير في وجود تركيزات أخرى من هذه المستخلصات.

فيما يتعلق بمحتويات malendialdehydes ، يتم زيادة تركيزات 1 ميكرومتر / لتر من خلاصة الموجات فوق الصوتية ، 1 ميكرومتر / لتر من مستخلص النقع و 1 ميكرومتر / لتر حتى 25 ميكرومتر / لتر من مستخلص ديكوتيون. عند الانتشار القاعدي ، يتم تقليلها بتركيزات أخرى. في الوقت نفسه ، يتسبب مستخلص التسريب في انخفاض مستويات MDA بطريقة تعتمد على الجرعة.

بعد ذلك ، يتم زيادة محتويات بروتين الكربونيل إلى تركيزات من 1 ميكرومتر / لتر إلى 50 ميكرومتر / لتر من خلاصة الموجات فوق الصوتية ، إلى 1 ميكرومتر / لتر و 100 ميكرومتر / لتر من مستخلص النقع ، إلى 1 ميكرومتر / لتر و 50 ميكرومتر / لتر من خلاصة التسريب وبين 1-25 ميكرومتر / لتر من مستخلص ديكوتيون.

من ناحية أخرى ، تزداد محتويات الخلايا الليمفاوية لـ GSH في وجود كل مستخلص بالتركيزات المختلفة المستخدمة مقارنة بالتكاثر الأساسي.

وفيما يتعلق بنشاط الكاتالاز ، فإنه يكشف عن زيادة في وجود خلاصة الموجات فوق الصوتية عند 100 ميكرومتر / لتر ، ومستخلص النقع والتحديد عند 1 ميكرومتر / لتر وبين 50 ميكرومتر / لتر و 100 ميكرومتر / لتر من المستخلص التسريب ، من ناحية أخرى يؤدي إلى انخفاض في التركيزات الأخرى.

في الختام ، فإن مستخلصات رقية القهوة) الموجات فوق الصوتية ، النقع ، التسريب ، النقع (تحفز تأثيرات مناعية و / أو مثبطة للمناعة بطريقة تعتمد على الجرعة مع زيادة دفاع مضادات الأكسدة.

الكلمات المفتاحية: الخلايا الليمفاوية التائية ، MDA ، رق القهوة ، ديكوتيون ، النقع ، التسريب ، الموجات فوق الصوتية ، حالة الأكسدة والاختزال

Introduction générale

Le café est le deuxième produit agricole entrant dans le commerce mondial. Il compose également une proportion élevée de la valeur des exportations totales dans de nombreux pays. La commercialisation du café est majorée par deux espèces qui sont *Coffea arabica* (connu sous le nom de café arabica) et *Coffea canephora* (connu sous le nom de café robusta) (Gomez -Ruiz *et al.*, 2008). Le café est aussi considéré comme étant le deuxième produit commercialisé après le pétrole. C'est l'une des boissons les plus populaires au monde car soixante-quinze pour cent (75%) des boissons non alcoolisées consommées régulièrement est le café (Parras *et al.*, 2007).

Le café est une boisson populaire appréciée par toutes les tranches d'âge. Il a pris diverses formes de présentation et de préparation pour devenir une véritable industrie et une denrée alimentaire de base. Il est essentiellement produit par le Brésil, le Vietnam et la Côte d'Ivoire (ICO, 2006).

Le café occupe une place importante dans la société humaine pendant au moins 1200 années. Il est constitué d'un mélange de composés actifs (les Polyphénols, l'acide Chlorogénique, proanthocyanidines et la caféine) (Muriel *et Arauz*, 2010), mais aussi de plusieurs autres composés responsables des propriétés sensorielles (le goût, la couleur et la saveur) qui se développent principalement pendant la torréfaction (Nicoli *et al.*, 1997 ; Brezova *et al.*, 2009). Plusieurs études réalisées ont révélé les effets bénéfiques du café sur la santé à court-terme et à long-terme grâce à l'ensemble des constituants bioactifs qu'il renferme. Il a également été rapporté que la consommation de café est associée avec la réduction de risques des maladies coronaires, diabète type 2, Parkinson, Alzheimer et cancer (Stalmach *et al.*, 2010).

Le café est reconnu par son effet stimulant grâce à la caféine qu'il contient, pour son goût et son arôme (Chabaud, 2010). Mais ce qui est de plus étonnant, c'est que le café améliore la performance mentale et physique, renforce la mémoire et aide à la concentration. Il réduit la sensation de fatigue et peut agir favorablement dans l'obésité grâce à son effet satiétogène (Higdon *et al.*, 2006). Il diminue aussi le risque de maladie de Parkinson (Savica *et al.*, 2013).

Pour certains scientifiques, la consommation de café peut être considérée comme une intervention nutritionnelle qui peut potentiellement prévenir ou limiter le stress oxydatif. La consommation du café et son rôle dans la réduction des maladies chroniques par la diminution du stress oxydatif a été démontrée par plusieurs études épidémiologiques (Martini *et al.*, 2016).

La production mondiale de café est d'environ 9 millions de tonnes par an (Organisation internationale du café, 2017) et par conséquent, une grande quantité de sous-produits du café est érigé (Mussatto *et al.*, 2011). Les déchets ou les sous-produits du café comprennent ceux résultant du traitement post-récolte, torréfaction du café et confection du café, à savoir : cosses (peau et pulpe), parchemin, peau d'argent, marc de café épuisé et grains de café immatures / défectueux. Ces sous-produits étant une grande source de composés bioactifs, leur valorisation et leur utilisation peuvent présenter un intérêt pour différentes industries et domaines, tels que les produits alimentaires, pharmaceutiques ou cosmétiques. Bien que tous les sous-produits du café

puissent être utilisés à de nouvelles fins, beaucoup reste à faire par les industries et les chercheurs pour réaliser une réelle faisabilité économique (Alves *et al.*, 2017).

La dispersion des résidus, la grande périssabilité de la majorité, ainsi que le coût élevé de leur séparation, de leur collecte et de leur transport vers des installations industrielles où elles pourraient être traitées et transformées, fait de ce processus un véritable défi (Alves *et al.*, 2017).

La présence de composés bioactifs sains dans les sous-produits du café a été récemment étudiée, principalement associés à leur capacité antioxydante. (Del Castillo *et al.*, 2019).

Le parchemin est l'un des sous-produits du café les moins étudiés, sachant que la production de 60 kg sac de grains de café génère environ 11 kg de parchemin de café. C'est le fibreux endocarpe qui recouvre les deux hémisphères de la graine de café et sépare les uns des autres. La séparation du parchemin est différente en traitement sec et humide. Lors du premier traitement, il est séparé des haricots du café vert avec la peau et la pulpe, en une seule étape. Cependant, en traitement humide, le parchemin de café est retiré après séchage et décorticage, étapes distinctes, ce qui permet sa collecte et son utilisation séparément d'autres sous-produits (Esquivel & Jiménez, 2012).

De nombreuses études ont confirmé que le parchemin de café est une source potentielle de valeur élevée de composés phénoliques et composés phytochimiques (Mirón-Mérida *et al.*, 2019) pour différentes applications les industries chimiques, pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires (Aguilera *et al.*, 2019).

La singularité de ce travail réside dans l'étude des différents extraits poly-phénoliques de la parche de café en raison de l'évaluation de son activité sur les lymphocytes T humaines et le statut oxydant-antioxydant.

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Généralités sur le café et sa parche



1. Description de la plante étudiée

1.1 Définition et présentation morphologique

Le café est un grain issu d'un fruit rouge dépourvu de son péricarpe extérieur et dont la pellicule argentée appelée spermoderme est parfois ôtée. Le terme café s'utilise aussi bien pour désigner les grains verts ou torréfiés, entiers ou moulus, ainsi que le breuvage préparé à partir de ceux-ci (JOUE, 2008).

Le caféier est un arbuste appartenant à la famille *Rubiaceae* dont le fruit nous procure les grains de cafés, il se développe particulièrement bien à des altitudes allant de 600 m à 1200 m dans les régions tropicales avec une température annuelle moyenne de 15 à 25°C et une humidité moyenne (Ntwari *et al.*,2017).

Actuellement, les principaux producteurs de café sont : le Brésil (1er producteur de loin), le Viêt Nam, l'Indonésie, la Colombie, l'Inde, le Pérou, le Honduras, l'Éthiopie, le Guatemala, le Mexique (Figure1) (Chauhan *et al.*, 2015).

Les cinq premiers consommateurs sont les États-Unis, le Brésil, l'Allemagne, le Japon et la France, tandis que les pays nordiques ont la consommation de café par habitant la plus élevée au monde (Petit, 2007).

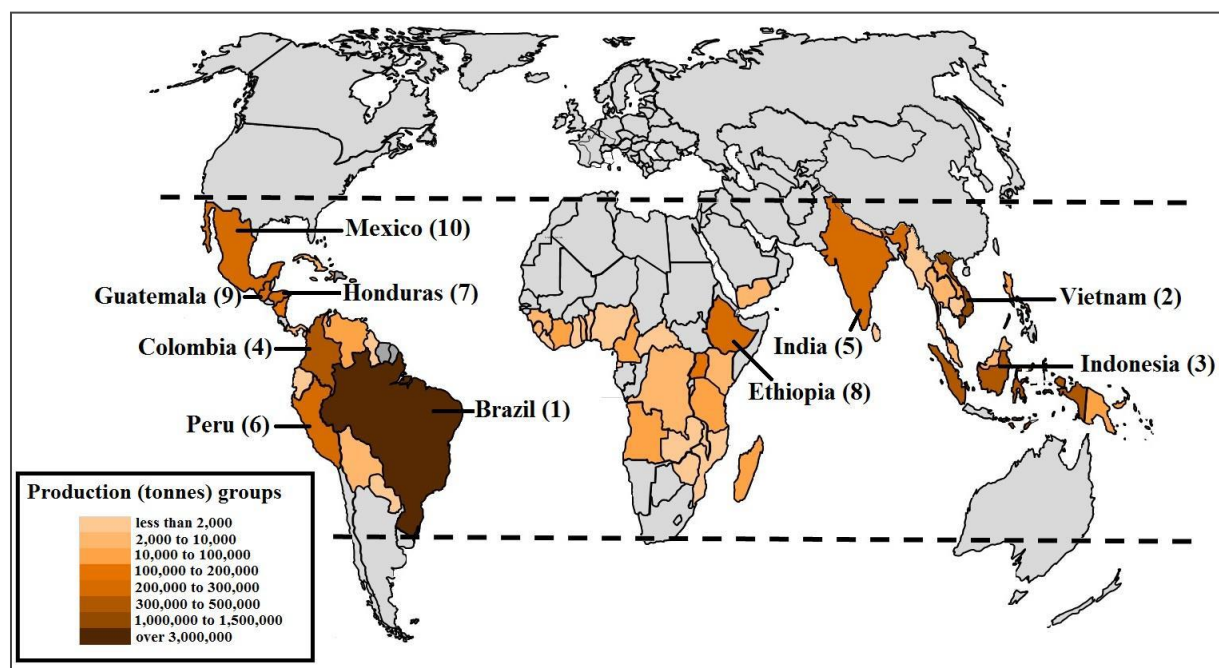


Figure 1: répartition géographique de la production de café (Vinícius *et al.*,2017).

Il existe une vaste diversité d'espèces dans les quatre coins du monde. *Coffea arabica* et *Coffea canephora* (Robusta) sont les plus connues et les plus commercialisés (Figure 2) (Illy et Viani , 2005).

- Arabica (*Coffea arabica*)

75% de la production mondiale est assurée par C. Arabica. Il est cultivé en Amérique Latine et il pousse en altitude entre 600 et 2000 mètres dans un environnement tropical sous une température de 17 à 20. Sa teneur en caféine est moins élevée que celle de Robusta , ayant un caractère raffiné et aromatique. L'Arabica est auto-gamme, c'est-à-dire qu'il n'a pas besoin d'insectes pour sa pollinisation (Pinard, 2007).

- Robusta (*Coffea canephora*)

Le robusta se développe à 600m d'altitude sous une température de 22 à 26°C. Les fruits de robusta sont d'une forme ronde. Le café récolté contient plus de caféine et d'acidité avec un goût amer. À la différence d'Arabica, Robusta doit être fertilisé par des insectes (Pinard, 2007).



Figure 2: principales espèces du caféier cultivées (Ntwari et al.,2017).

Le fruit du caféier que l'on appelle cerise (ou drupe chez les botanistes) mûrit en 6 à 12 mois. De couleur verte, la cerise vire au jaune puis devient rouge à maturité, et grenat lorsqu'elle est sur mature. Dans quelques variétés provenant du Brésil « amarello » ou « amarelho » les cerises sont jaunes à maturité (Figure 3) dotées d'une saveur douce avec des notes d'agrumes et chocolaté (Bonomo et al., 2004).



Figure 3: fruits de caféier , (a) cerises rouges , (b) cerises jaunes (Anzueto et al ., 2005)

Sous cette peau rouge appelée **exocarpe** on trouve la chair ou **mésocarpe** (représente entre 40 et 65% du poids du fruit) , puis une couche gluante composée essentiellement d'un mucilage de pectine suivie d'une texture parcheminée se nomme l'**endocarpe** et peau argentée (tégument) entourant l'endosperme (graines) (Figure 4) (Boot , 2013).

On trouve généralement **deux graines** ovales, aplaties dans chaque fruits positionnées face à face séparées par un sillon(Figure 4). Il y a pourtant une exception, celle des cerises ne contenant qu'une seule graine ou fève de forme hélicoïdale appelée « caracoli » (« *pea berry* » en Anglais). On dit que le café caracoli est une mutation naturelle renfermant plus de saveur et d'arômes que les grains habituels (Suhandy et al., 2017 ; Yapo, A et al., 2017).

Le café est un fruit, plus précisément un genre de cerise. (Figure 4)

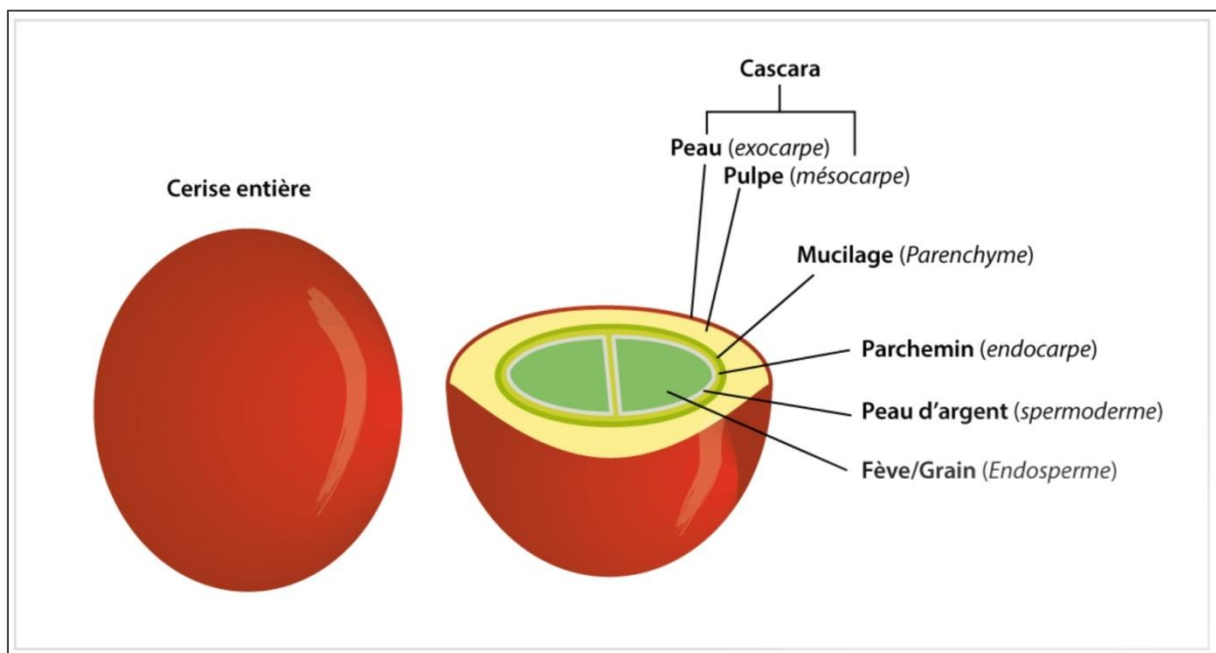


Figure 4: Anatomie du café (www.leguidedubarista.com)

1.2 Constituants de la cerise de café

En poids, les cerises mûres contiennent environ 20% de grains de café vert (après séchage, voir également le tableau 1).

Tableau 1: Constituants de la cerise de café (Boot , 2013).

Cerise de café - Constituants en% du poids total	
Café fraîchement dépulvé	57,5 %
Parchemin humide	46,9 %
Parchemin sec	25,6 %
Haricots verts	22,1 %
Cerise de café - Sous-produits	
Pulpe de café	45,2 %
Parchemin	5,1 %

1.3 Composition chimique du grain de café

Le café est composé essentiellement de glucides, lipides, acides aminés et minéraux. Une fois séché, le grain vert contient 55 % de polysaccharides totaux, 8 à 15 % de matière grasse selon les variétés et 11 % environ de protéines. Tels sont les principaux composants du café, aux quels il faut ajouter 10 à 13 % d'eau, des alcaloïdes (dont la caféine) et des matières minérales (potassium, calcium, magnésium et phosphore) (Hébert *et al.*, 2003).

Il s'est avéré que le CGA "l'ester de l'acide caféique avec l'acide quinique" est un puissant antioxydant et anti-inflammatoire et l'un des principaux composés phytochimiques phénoliques contenus en grains de café vert, qui représentent 7 à 9% du café poids (George *et al.*, 2008). Le CGA présente un intérêt particulier en raison de son large éventail d'avantages potentiels pour la santé, y compris les effets anti-diabétiques, anti-cancérigènes, anti-inflammatoires et antibactériens. Alors qu'une grande partie du CGA est éradiquée pendant le processus de torréfaction, les grains de café sont toujours considérés comme une source principale de CGA dans l'alimentation humaine et le 5-CQA est toujours resté le principal isomère CGA du café torréfié (Naidu *et al.*, 2008 ; Tajik *et al.*, 2017).

Parmi les substances présentes dans la composition chimique de café, seule la caféine est thermostable, c'est-à-dire qu'elle n'est pas détruit par une torréfaction excessive. D'autres substances telles que les protéines, les sucres, l'acide chlorogénique, la trigonelline et les graisses

peuvent être préservé ou même détruit et transformé en produits réactifs pendant le processus de torréfaction du café (Tableau 2) (Mussatto *et al.*, 2011).

Tableau 2 : Composition chimique moyenne des grains de café verts et torréfiés selon la variété (en pourcentage de la matière sèche) (Belitz *et al.*, 2009).

Les composants (%MS)	Coffea arabica	Coffea canephora	Les constituants
Glucides soluble	9-12,5	6-11,5	
Monosaccharides	0,2 à 0,5	0,2 à 0,5	Fructose, glucose, galactose, arabinose
Oligosaccharides	6-9	3-7	Sucrose (90%), raffinose (0-0.9%), stachyose (0-0.13%)
Polysaccharides	3-4	3-4	Polymers de galactose, mannose, arabinose, glucose
Polysaccharides insolubles	46-53	34-44	
Hémicelluloses	5-10	3-4	Polymers de galactose arabinose mannose
Cellulose, β (1-4) mannane	41-43	32-40	
Acides aliphatiques	2-2,9	1.3-2.2	Acide citrique, acide malique, acide quinique
L'acide chlorogénique	6.7-9.2	7.1-12.1	Acide mono-, dicafféyl et ferulylquinique
Lipides	15-18	8-12	AG , TG , Diterpenes , Sterol, Tocopherols, cire de café
Acides aminés libres	0,2 à 0,8	0,2 à 0,8	Acides aminés principaux Glu, Asp, val
Protéines	8.5-12	8.5-12	
Caféine	0,8-1,4	1,7-4,0	Traces de théobromine et théophylline
Trigonelline	0,6-1,2	0,3 à 0,9	
Les minéraux	3-5,4	3-5,4	potassium, calcium, magnésium et phosphore
Eau	5-12	5-12	

2. Composition et intérêts de la parche de café

2.1 Composition de la parche de café

le parchemin est une couche dure, composée de plusieurs couches de cellules jaunâtres et parois épaisses, très allongées et placées dans directions différentes. Parchemin de café, :l'endocarpe pendentif des grains de café, est séparé des grains de café pendant mûrissement ou transformation du café. Il est composé de α -cellulose (40–49%), hémicelluloses (25–32%), lignine (33–35%) et cendres (0,5–1%). Pour chaque tonne de café, 0,16 tonne de café en parche est produite et actuellement, la principale utilisation de ce produit est la production de bioénergie. L'un des principaux défis de l'industrie du café est la réduction des résidus des sous-produits de production de café, qui pourraient être revalorisés en les incorporant dans des ingrédients durables de qualité alimentaire. (Esquivel *et al.*, 2012 ; Aguilera *et al.*, 2019).

2.2 Intérêts de la parche de café

Le parchemin est le moins étudié sous-produit du café. Les rares informations disponibles indiquent que parchemin est riche en caféine et en composés phénoliques favorables au développement de nouveaux ingrédients fonctionnels durables en obtenant des extraits à utiliser comme additifs naturels dans la conservation ou la fortification des aliments. (Fonseca-Garcia *et al.*, 2014)

Pour la première fois, une méthode écologique pour l'HAE (Heat-assisted extraction: Extraction assistée par la chaleur) des composés phénoliques du parchemin de café utilisant uniquement de l'eau comme solvant d'extraction a été obtenue. Cette méthode a s'est avéré être un processus efficace pour récupérer les composés phénoliques à haute capacité antioxydante du parchemin de café.

L'extraction des composés phénoliques (phénoliques totaux, flavonoïdes, flavanols, acides phénoliques et o-diphénols) et la capacité antioxydante du parchemin de café ont été optimisées en utilisant la méthodologie de surface de réponse (RSM).

La caractérisation UPLC-ESI-MS / MS du parchemin de café a révélé la présence d'acide chlorogénique, l'acide vanillique, l'acide Protocatechique et l'acide p-coumarique, composés phénoliques pouvant être utilisés dans les industries alimentaires et cosmétiques. Ce processus peut aider à la revalorisation du parchemin de café, un sous-produit de haute production dans le monde entier, en tant que nouveau produit à haute, à utiliser pour ses propriétés antioxydantes et bénéfiques pour la santé. (Aguilera *et al.*, 2019).

Le parchemin de café a été évalué comme ingrédient potentiel en fibres alimentaires.

« Les fibres alimentaires sont la fraction alimentaire qui n'est ni digérée ni absorbé dans l'intestin grêle humain mais fermenté entièrement ou partiellement dans le gros intestin (Macagnan *et al.*, 2016). »

Alimentarius définit DF sous forme de polymères glucidiques à dix unités monomères ou plus, qui ne sont pas hydrolysés par les enzymes endogènes de l'intestin grêle des humains et appartiennent aux catégories suivantes:

- Les polymères glucidiques comestibles, naturellement présents dans l'aliment tel qu'il est consommé.
- Les polymères glucidiques qui ont été obtenus à partir de matières premières alimentaires par des moyens physiques, enzymatiques ou chimiques et dont il a été démontré qu'ils ont un effet physiologique bénéfique pour la santé, comme le démontrent les preuves scientifiques généralement admises aux autorités compétentes.
- Les polymères glucidiques synthétiques dont il a été démontré qu'ils ont un effet physiologique bénéfique pour la santé, comme le démontrent les preuves scientifiques généralement admises aux autorités compétentes (**Alimentarius, 2008**).

À cette fin, les fibres alimentaires ont été extraites par des méthodes enzymatiques et non enzymatiques et leurs propriétés hypoglycémiques, physicochimiques et hypolipidémiques ont été étudiées. Les résultats ont révélé que le parchemin de café (flocons et farine) était une bonne source de fibres alimentaires insolubles (FID), principalement composées de xylane (35%), de lignine (32%) et de cellulose (12%). D'après les résultats, l'extraction IDF ne semblait pas nécessiter l'utilisation d'enzymes. Le parchemin de café n'a pas résisté par sa teneur en composés phénoliques et sa capacité antioxydante, mais le processus de broyage les a améliorés. (**Iriondo-Dehond et al., 2019**).

En raison de sa structure physique, les flocons de parchemin de café présentaient une capacité de rétention d'huile élevée (3,8 mg/L), une capacité de gélification (8%) en plus des propriétés d'hydratation, y compris la rétention d'eau (3,4 mg/L), l'absorption (3,0 mg/L) et le gonflement (14 mg/L). Sa farine et ses résidus insolubles dans l'eau ont montré des capacités inférieures. Néanmoins, ces cafés des échantillons de parchemin présentaient des propriétés hypoglycémiques in vitro efficaces, montrant une forte capacité d'adsorption du glucose (50-200 mmol/L), et capacité à diminuer sa diffusion (13%), et à inhiber l' α amylase (52%) qui a conduit pour abaisser la digestibilité de l'amidon (jusqu'à 46%); et aussi, des propriétés hypolipidémiques in vitro exceptionnelles, comme l'inhibition de lipase pancréatique (43%) et liaison du cholestérol et du cholate de sodium (16,6 et 35,3 mg/g, respectivement). Ces résultats fournissent des informations précieuses sur l'utilisation potentielle du parchemin de café comme nouvel ingrédient alimentaire (**Benitez et al., 2019**).

(**Pinon et Godefroy, 1973**) ont montré que l'apport de la parche de café en minéraux a eu un effet bénéfique sur les éléments fertilisants du sol ainsi que sur les rendements en fruits (Tableau 3).

Tableau 3: Composition minérale de la parche de café (**Pinon et Godefroy, 1973**).

Parche de café	P.100 de M.S						PPM de M.S	
	M.S/M.F.%	N	P	K	Ca	Mg	Mn	Fe
	45.3	2.74	0.105	2.75	1.14	0.3	70	1270

Tous les échantillons évalués (commerciaux et non torréfiés) ont enregistré des phénols totaux et une capacité antioxydante, y compris des sous-produits de café (parchemin, pulpe et cosse). Ces déchets, qui sont actuellement générés en grande quantité et causant des dommages à l'environnement "eau et sol", peuvent être utilisés comme source sûre et naturelle d'antioxydants bénéfiques pour la santé (Voir également les tableaux 4 et 5) (**Pinon et Godefroy , 1973 ; Fonseca-Garcia et al ., 2014 ; Macagnan et al., 2016 ; Tajik et al., 2017 ; Aguilera et al., 2019 ; Iriondo-Dehond et al., 2019 ; Benitez et al., 2019).**

Tableau 4: Structures chimiques de certains des composés les plus couramment trouvés dans le café et ses déchets. (**Alves et al., 2017).**

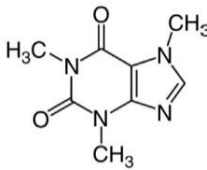
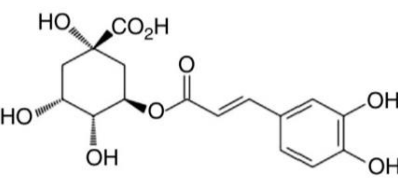
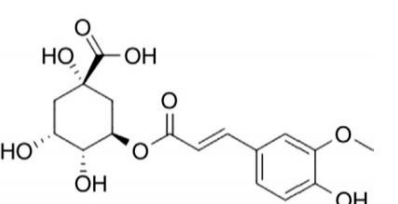
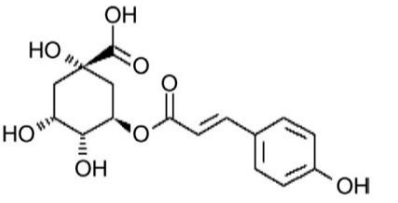
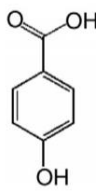
Name	Chemical Structure	References
Caffeine		<p>Bravo et al. (2012); Panusa et al. (2013); Ramalakshmi et al. (2009)</p>
Caffeoylquinic acids		<p>Bravo et al. (2012); Panusa et al. (2013); Monente et al. (2015)</p>
Feruloylquinic acids		<p>Bravo et al. (2012); Monente et al. (2015); Panusa et al. (2013)</p>
<i>p</i> -Coumaroylquinic acids		<p>Panusa et al. (2013)</p>
4-Hydroxybenzoic acids		<p>Monente et al. (2015)</p>

Tableau 5: Récapitulation de la composition et de l'importance du parchemin de café.

Composition de la parche	Principaux composés	Activités
Alcaloïdes	Caféine	Stimulation du système nerveux central et du métabolisme Antioxydantes Analgésiques
Composition phénolique (TPC/TPA/TF/TFL/TOD)	A. vanillique A. p-coumarique A. caféique A. chlorogénique A. protocatéchique	Antibactériennes Antifongiques Antioxydantes Vasoprotectrices Antioedémateuses Antitumorales Anti-inflammatoires
Fibres alimentaires totaux	89% des flocons 91% de farine	<u>Flocons</u> : capacité antioxydante directe <u>Farine</u> : capacité antioxydante indirecte Résoudre des troubles et le temps du transit intestinal Capacité de rétention d'huile Capacité de gélification Propriétés d'hydratation (rétention d'eau, absorption et gonflement)
IDF	35% de xylane 32% de lignine 12% de cellulose	Propriétés prébiotiques Propriétés hypoglycémiques Propriétés hypolipidémiques Capacité d'échange d'ions influence leurs propriétés de fixation des minéraux
SDF	4-7% de pectine	Pouvoir antioxydant Réduction du risque de cancer, de diabète, d'obésité, de maladies cardiovasculaires et maladies neurodégénératives Bénéfiques pour les végétaux
Composition en minéraux	N, P, K, Ca, Mg, Mn, Fe	Additif fertilisant Bénéfiques aux rendements des Fruits Indispensables à l'organisme Rôle structural et fonctionnel Prévention des cancers

Chapitre II

Stress oxydatif et antioxydants

La recherche sur la capacité antioxydante représente un enjeu scientifique important ; notion largement relatée dans l'étude des propriétés biologiques. A travers du chapitre suivant, nous allons présenter les molécules responsables de l'oxydation et celles qui permettent de les combattre.

1. Radicaux libres

Dans la structure des atomes et des molécules, les électrons s'associent généralement par paires, chacun se déplaçant dans une région définie de l'espace autour du noyau, appelée «orbitale atomique ou moléculaire». Le processus d'élimination des électrons est appelé «oxydation» et la substance qui reçoit les électrons devient «réduite». Dans l'ensemble, les réactions impliquées dans le transfert d'électrons sont appelées «réaction redox». (Marciano *et al.*, 2017).

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules hautement réactifs avec un ou plusieurs électron(s) non appariés dans leur enveloppe externe et peuvent se former lorsque l'oxygène interagit avec certaines molécules. Ces radicaux peuvent être produits dans les cellules en perdant ou en acceptant un seul électron, par conséquent, se comportant comme des oxydants ou des réducteurs. Les termes espèces réactives de l'oxygène (ROS) et espèces réactives de l'azote (RNS) désignent respectivement les dérivés radicaux et non radicaux réactifs de l'oxygène et de l'azote. Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS) sont produites par toutes les cellules aérobies et jouent un rôle important dans le vieillissement ainsi que dans les maladies liées à l'âge. (Liguori *et al.*, 2018). Voir également (tableau 6).

Les peroxysomes, les lysosomes, les réticulum endoplasmique / microsomes, la membrane plasmique et le cytoplasme ont tous des oxydases et des déshydrogénases et sont des sources de RONS , mais la plus grande source de radicaux libres endogènes est la mitochondrie, qui représente la plupart des radicaux libres générés dans les cellules. Les radicaux libres sont formés à la suite du transport d'électrons dans la membrane mitochondriale pour générer de l'ATP. (Venkataraman *et al.*, 2013).

Les sources de radicaux libres dans les cellules ne se limitent pas aux produits endogènes de la respiration aérobie comme l'impact des radicaux libres environnementaux sous forme de fumée d'environnements pollués, fumée de cigarette, amiante, charbon, diesel, chrome, médicaments, rayonnement et ozone, entre autres. (Venkataraman *et al.*, 2013).

Bien que les radicaux libres aient la capacité d'infliger des dommages irréversibles aux macromolécules, ils ont un rôle essentiel à jouer dans certaines fonctions biologiques telles la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire et des signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés organiques. Toutefois, en concentrations élevées, ils deviennent hautement cytotoxiques en engendrant de sérieuses altérations aux cellules pouvant mener à la mort cellulaire (Zou *et al.*, 2008).

Tableau 6: Principales espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (RNS).
(Di Meo *et al.*, 2016).

Radicals	$O_2^{\bullet-}$	Superoxide anion
	$\bullet OH$	Hydroxyl
	$NO\bullet$	Nitric oxide
	$NO_2\bullet$	Nitrogen dioxide
Nonradicals	H_2O_2	Hydrogen peroxide
	HOCl	Hypochlorous acid
	$ONOO^-$	Peroxynitrite

2. Stress oxydatif/oxydant

2.1 Définition

Stress oxydant: état de déséquilibre entre la production d'espèces réactives et les défenses de l'organisme. Un état de stress oxydant existe lorsqu'au moins une des trois conditions suivantes est présente:

- ✓ Excès des espèces réactives de O2 et N2
- ✓ Défenses insuffisantes (endogènes et exogènes)
- ✓ Mécanismes de réparation insuffisants

Le stress oxydant n'est pas une maladie mais un mécanisme physiopathologique. Un excès d'espèces réactives mal maîtrisé favorisera une maladie ou un vieillissement accéléré. (Mercan , 2010).

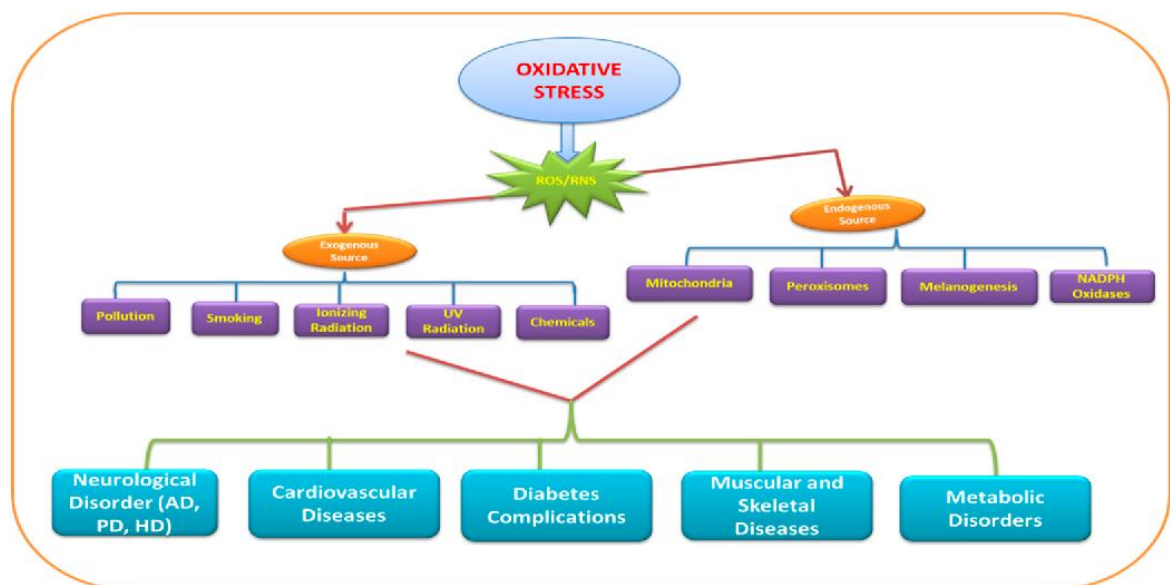


Figure 5 : Représentation des sources exogènes et endogènes des espèces réactives de l'oxygène (ROS) / des espèces réactives de l'azote (RNS) et des maladies.

Maladie de Parkinson PD; La maladie d'Alzheimer AD; MH - Maladie de Huntington (Singh *et al.*, 2019).

2.2 Causes et conséquences

Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des ER dans notre organisme. A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies "cancers, maladies cardiovasculaires et maladies neurodégénératives ..." liées aux dommages induits par les ER au niveau de l'ADN, les protéines et les lipides (Haleng *et al.*, 2007).

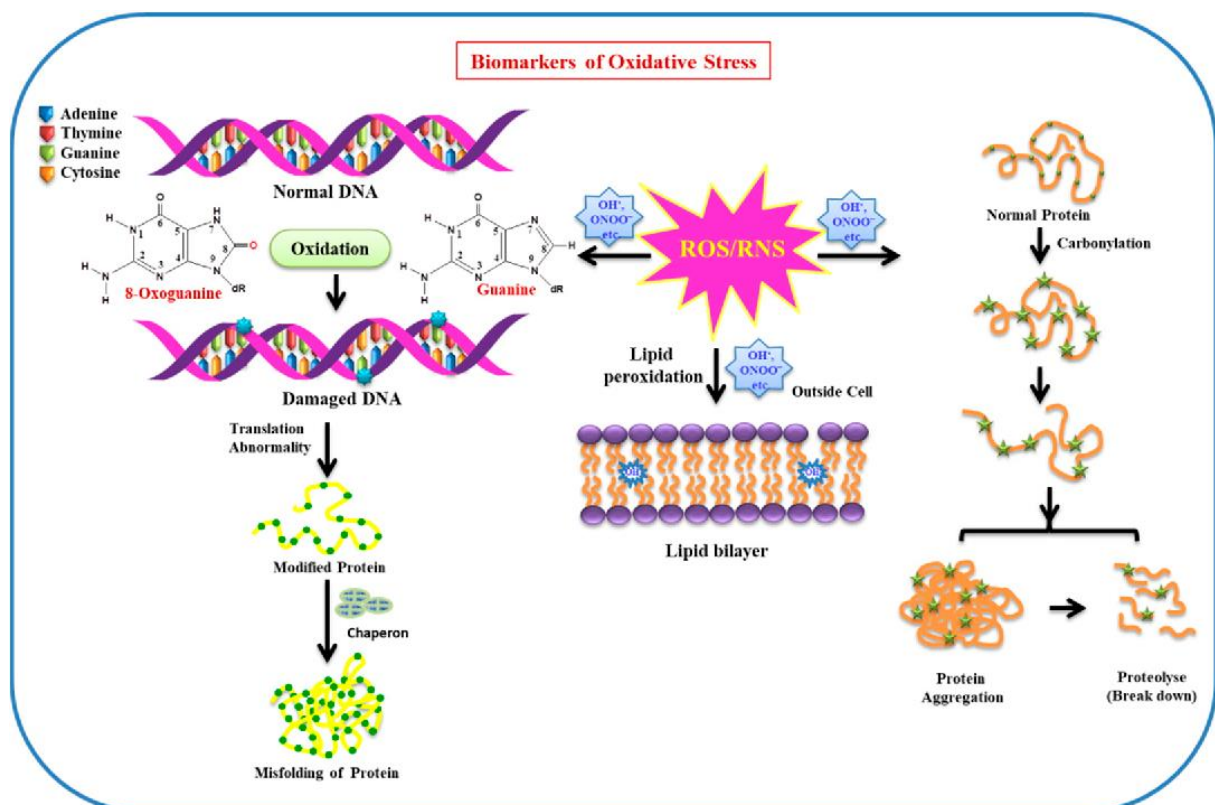


Figure 6 : Effet du ROS / RNS sur les biomolécules (ADN, protéines, lipides, etc.) utilisées comme biomarqueurs du stress oxydatif en milieu cellulaire. (Singh *et al.*, 2019).

3. Pouvoir antioxydant

L'organisme est capable, dans une certaine mesure, de limiter les dommages dus aux radicaux libres, grâce à la défense antioxydante qui protège les systèmes biologiques de la toxicité des RL et comprend à la fois des molécules endogènes et exogènes. (Hennebelle, 2006 ; Khosravi *et al.*, 2019).

3.1 Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances qui inhibent ou ralentissent l'oxydation d'un substrat. Ils sont présents sous de nombreuses formes et peuvent intervenir en prévention de la formation des radicaux libres, aussi bien que pour participer à leur élimination. (Defraigne *et Pincemail*, 2008). Les antioxydants sont capables de piéger les radicaux libres en captant l'électron célibataire, en les transformant en molécules ou en ions stables (Favier, 2003).

3.2 Systèmes antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont représentés principalement par trois enzymes : les superoxydes dismutases, la catalase et les peroxydases.

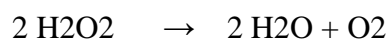
➤ *Superoxydes dismutases (SOD)*

Les superoxydes dismutases sont des métalloenzymes (ce sont des enzymes utilisant des métaux comme cofacteurs). Il s'agit d'une des premières lignes de défense contre les ERO. Leur cible privilégiée est l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) qu'elle transforme en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Des formes de SOD sont trouvées et sont distinguées sur la base des cofacteurs métalliques présents sur le site actif de l'enzyme : SOD de cuivre et de zinc (Cu / Zn-SOD), SOD de nickel (Ni-SOD), SOD de manganèse (Mn-SOD) et de fer SOD (Fe-SOD) (Azadmanesh *et al.*, 2018).



➤ *La catalase (CAT)*

La catalase est une protéine tétramérique de quatre sous-unités similaires, CAT est un commun enzyme antioxydant présent presque dans tous les tissus vivants qui utilisent l'oxygène. L'enzyme utilise du fer ou du manganèse comme cofacteur et catalyse la dégradation ou la réduction du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à l'eau et à l'oxygène moléculaire (Ighodaro *et Akinloye*, 2018).



➤ *La glutathion peroxydase (GPx)*

La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme intracellulaire importante qui décompose les peroxydes d'hydrogène (H_2O_2) en eau, et les peroxydes lipidiques en alcool correspondants, principalement dans les mitochondries, et parfois dans le cytosol. La plupart du temps, son

activité dépend d'un cofacteur appelé sélénium. Pour cette raison, GPx est souvent désignée comme une sélénocystéine peroxydase. L'enzyme joue un rôle plus crucial dans l'inhibition du processus de la peroxydation lipidique, et protège donc les cellules contre le stress oxydatif (Gill et Tuteja, 2010).

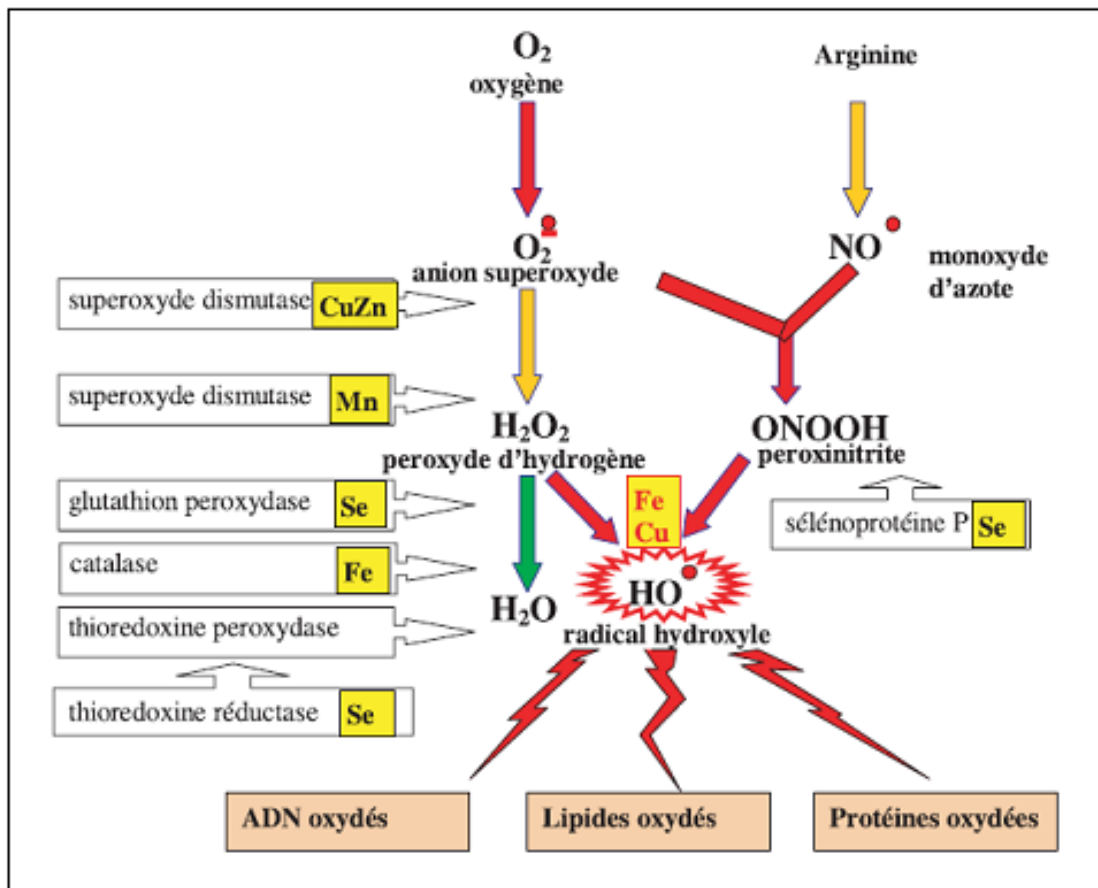
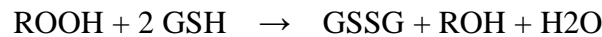


Figure 7: Système antioxydant enzymatique (Favier, 2006).

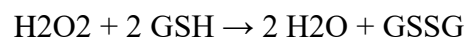
3.3 Systèmes antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques comprennent des composés de faible poids moléculaire, tels que les vitamines (vitamines C et E), le β -carotène, les composés phénoliques, les oligoéléments et le GSH, un tripeptide (L- γ -glutamyl-L-cystéinyl-L- glycine) qui comprennent un thiol (sulfhydryle) (Birben *et al.*, 2012).

✚ Les antioxydants non enzymatiques endogènes

➤ *Glutathion* (Gsh)

Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il est le thiol (-SH) majoritaire au niveau intra-cellulaire, où il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH). Dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible (**Halleng *et al.*, 2007**). Le rapport GSH / GSSG est un déterminant majeur du stress oxydatif. GSH montre ses effets antioxydants de plusieurs façons (**Bernini *et al.*, 2019**). Le glutathion (GSH) joue un rôle unique et essentiel dans la préservation des formes actives de divers antioxydants de faible taille (vitamines C, E, ubiquinone, polyphénols). A ce titre, le GSH constitue l'antioxydant principal de l'organisme d'autant qu'il est aussi le cofacteur de toute une série d'enzymes antioxydantes (glutathion peroxydases, glutathion réductase, thiorédoxines et peroxyrédoxines) (**Defraigne *et Pincemail*, 2008**).



➤ *L'ubiquinol* (forme réduite du coenzyme Q10)

C'est un cofacteur indispensable dans la chaîne mitochondriale de transport d'électrons. Grâce à sa liposolubilité, le coenzyme Q se trouve dans la quasi-totalité des membranes cellulaires ainsi que dans les lipoprotéines. L'ubiquinol protège les membranes de la peroxydation lipidique par diminution de la formation et la propagation des radicaux peroxylys (**Malash *et al.*, 2012**).

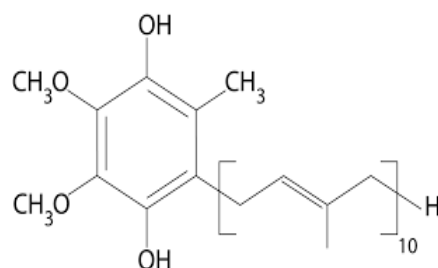


Figure 8: Structure chimique de l'ubiquinol (Rodick *et al.*, 2018).

➤ *L'acide urique*

L'acide urique est majoritairement ionisé sous forme d'urate à physiologique. Il est présent à de fortes concentrations intra-extracellulaires. L'urate est le produit final excrété du métabolisme des purines où la xanthine-oxydase catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine et de la xanthine en acide urique. L'urate est un piègeur puissant de l'oxygène singulet, du peroxyde et de l'hydroxyle. Il protège les acides gras insaturés de l'oxydation et les protéines de la nitration. (**Whiteman *et al.*, 2002**).

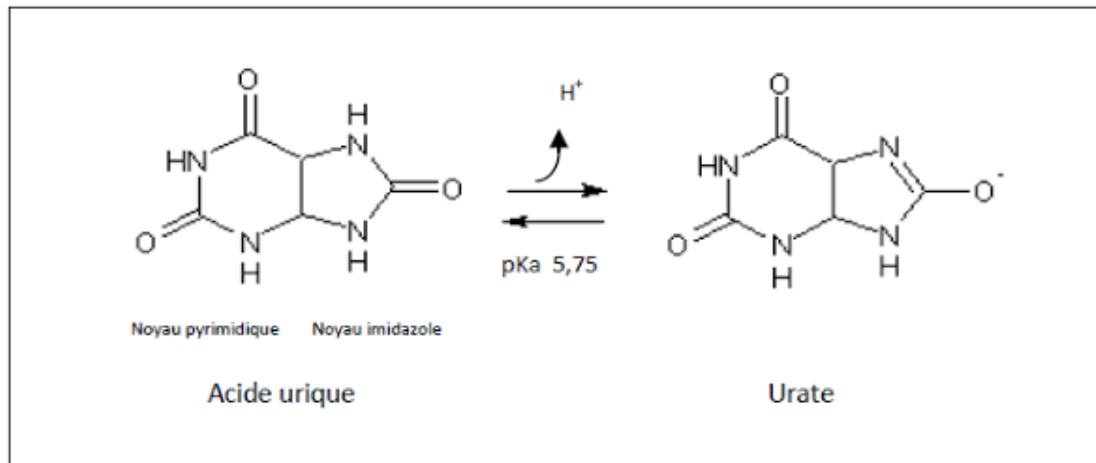


Figure 9: *Equilibre de l'acide urique avec l'urate (Martillo et al., 2014).*

✚ Les antioxydants non enzymatiques exogènes (apportés par une alimentation riche en fruits et légumes).

➤ **Vitamine C**

La vitamine C soluble dans l'eau (acide ascorbique), fournit une capacité antioxydante en phase aqueuse intracellulaire et extracellulaire principalement en éliminant les radicaux libres d'oxygène. La vitamine C est, avant tout, un excellent piègeur des ERO ($\text{HO}\cdot$ ou $\text{O}_2\cdot^-$). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques (Halleng et al., 2007).

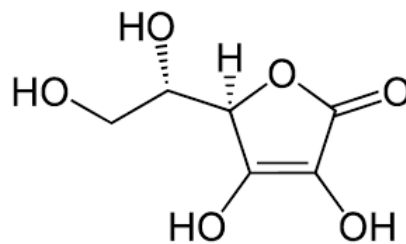


Figure 10: *Structure chimique de la vitamine C (Birben et al., 2012).*

➤ **Vitamine E**

La vitamine E est un mélange de molécules comptant principalement l' α -tocophérol, β -tocophérol, γ -tocophérol ou encore δ -tocophérol, dont la molécule α - tocophérol est la plus active (Kamal-Eldin, 1996). Leur caractère hydrophobe, leur permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes pour empêcher la propagation de la peroxydation lipidique (Halleng et al., 2007).

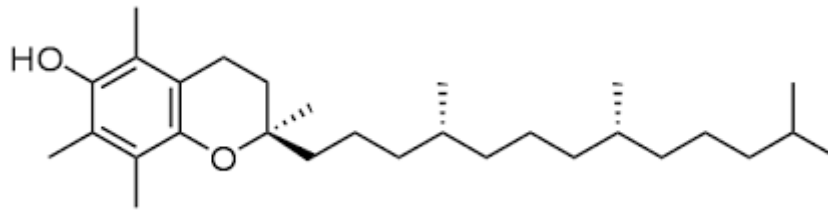


Figure 11: Structure chimique de la vitamine E ou tocophérol (Birben *et al.*, 2012).

➤ *Les caroténoïdes*

Les caroténoïdes sont des pigments trouvés principalement dans les plantes. Le chef de file des caroténoïdes est cependant le β carotène qui est un précurseur de la vitamine A. Ce dernier, réagit avec les radicaux peroxyde (ROO°), hydroxyle (OH) et superoxyde (O_2^-). Les caroténoïdes montrent leurs effets antioxydants dans une faible pression partielle d'oxygène, mais peuvent avoir des effets pro-oxydants à une concentration d'oxygène plus élevée (El-Agamey *et al.*, 2004 ; Haleng *et al.*, 2007).

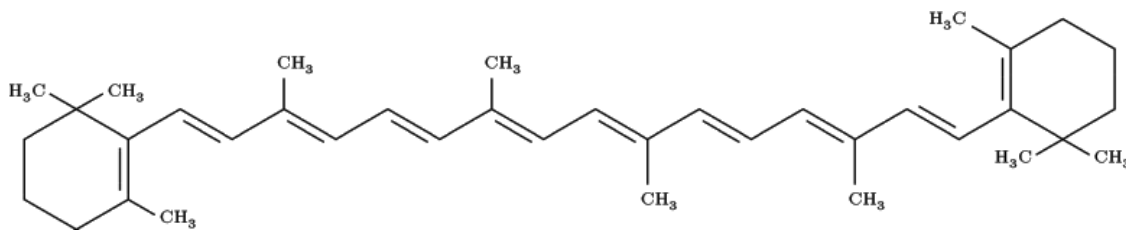


Figure 12: Structure chimique des β carotènes (Birben *et al.*, 2012).

➤ *Les oligoéléments*

Ce sont des éléments minéraux qui exercent indirectement un rôle antioxydant en agissant comme des cofacteurs. Ainsi, le cuivre, le zinc et le fer sont des cofacteurs pour la superoxyde dismutase. Le fer est également un cofacteur pour la catalase et le sélénium est le cofacteur du glutathion- peroxydase (Delattre *et al.*, 2003).

➤ *Les polyphénols*

Les polyphénols regroupent un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques (Figure 13). Ils sont caractérisés par la présence dans leur structure d'au moins un noyau benzénique portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (OH). Ils suscitent dernièrement, beaucoup d'intérêt en raison du bénéfice qu'ils pourraient apporter en termes de prévention des maladies liées au vieillissement et aux lésions oxydatives (Hennebelle *et al.*, 2004). Ce sont aussi, d'excellents piègeurs des ERO et de bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre (Haleng *et al.*, 2007).

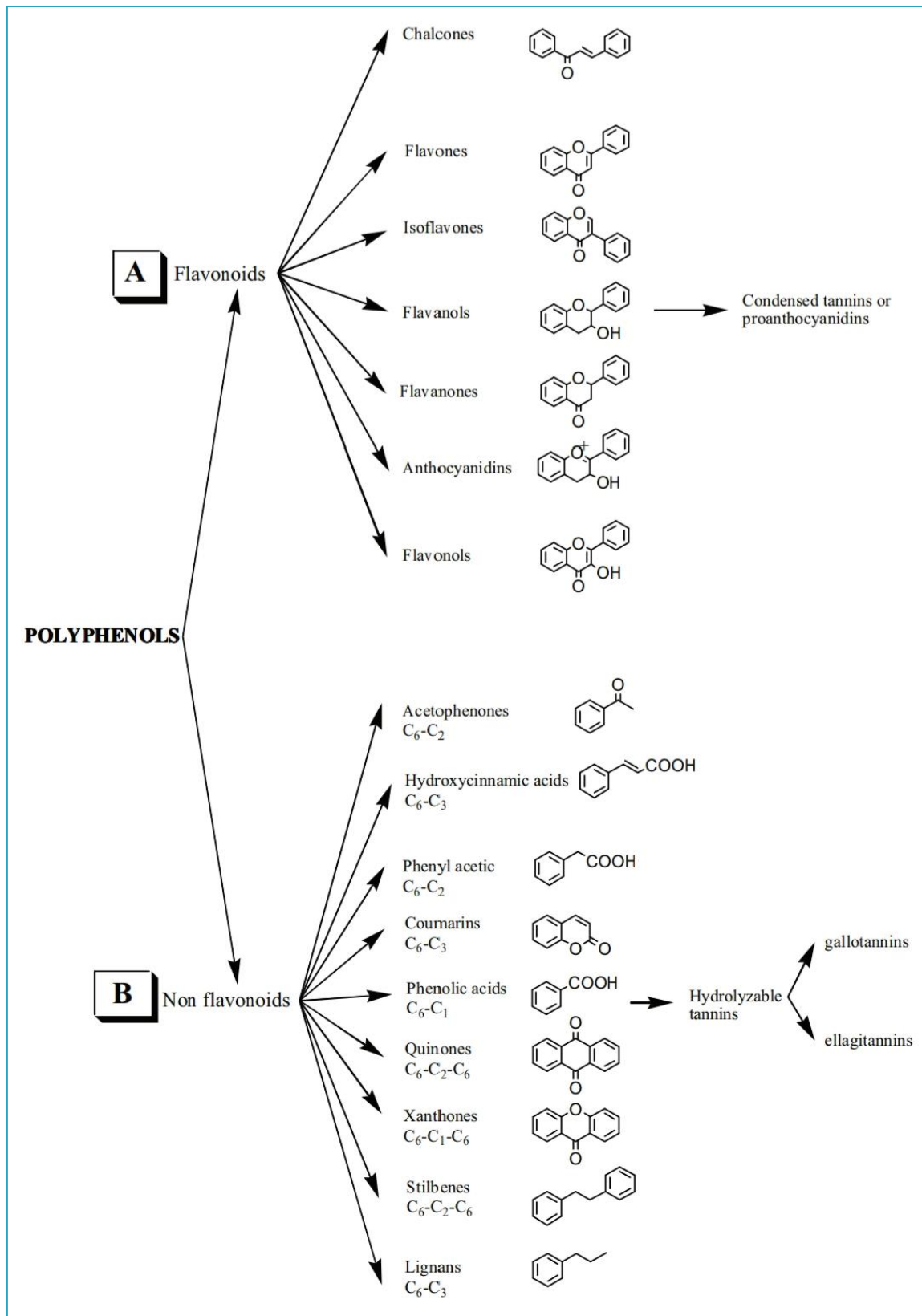


Figure 13: Classification des polyphénols (Andrae-Marobela et al., 2013).

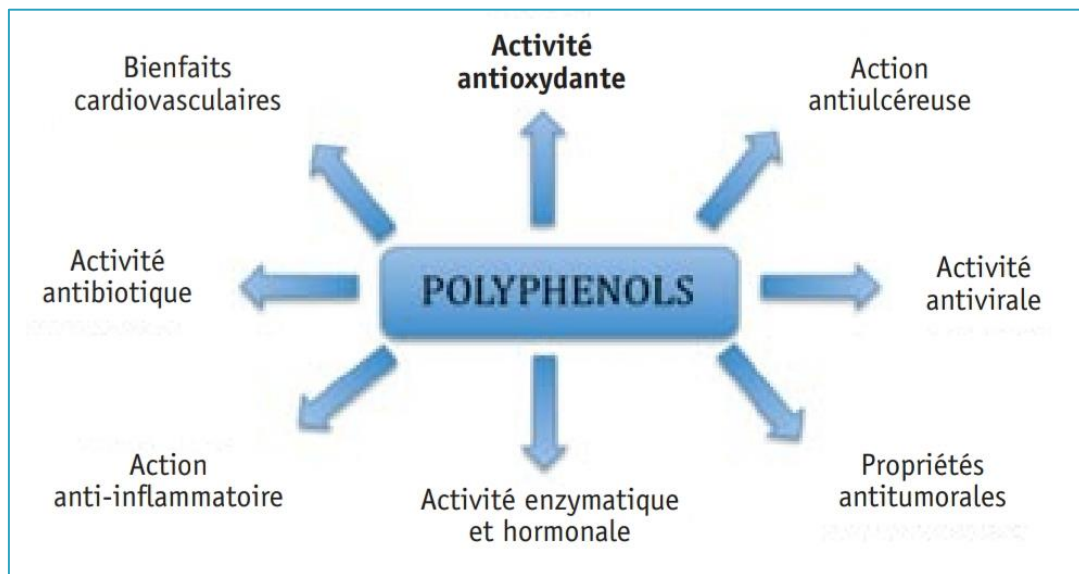


Figure 14: Propriétés des polyphénols (Massaux , 2012).

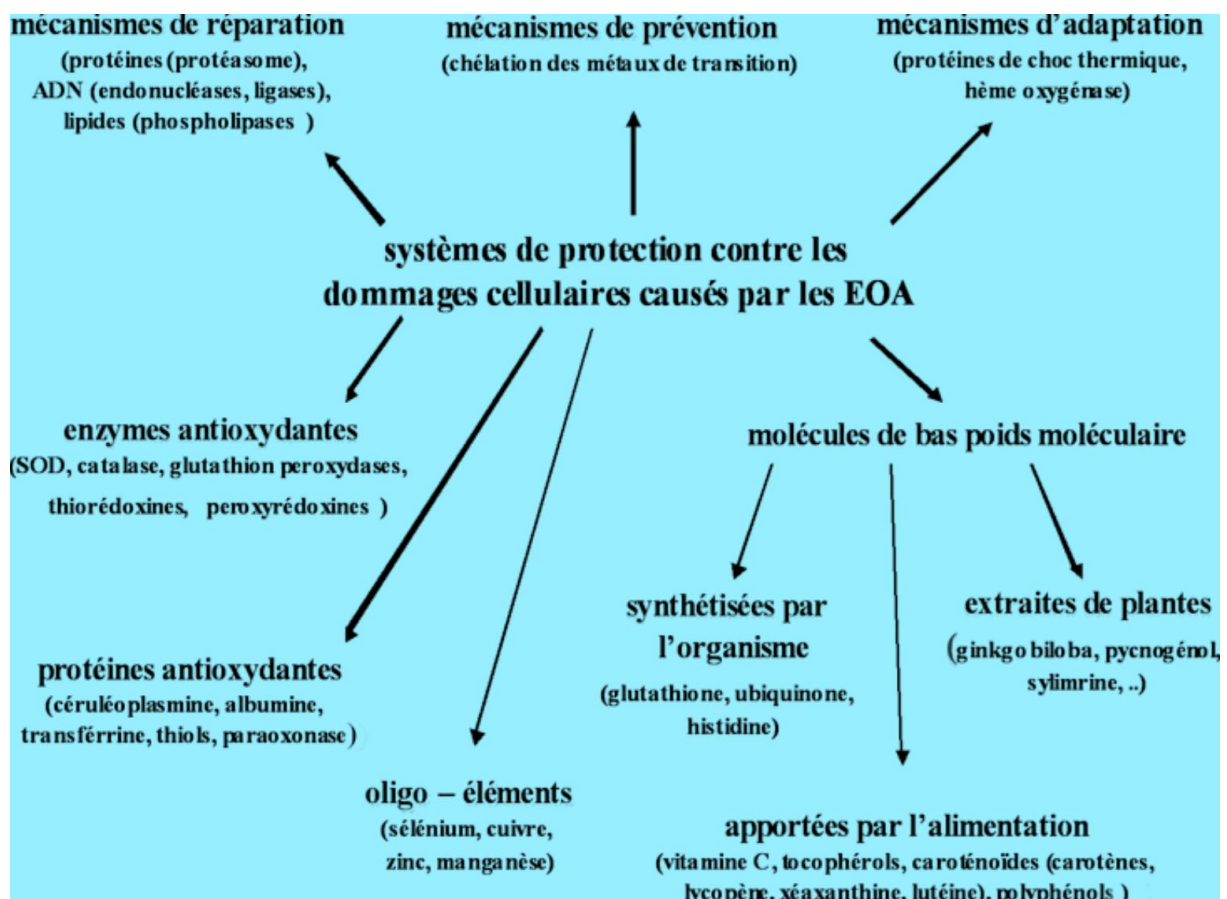


Figure 15 : Réseau des antioxydants (Defraigne et Pincemail , 2008).

Partie expérimentale

Chapitre I

Matériels et méthodes

1. Matériel végétal

Au cours de notre étude expérimentale , nous avons préparé différents types d'extraits à partir de la parche de café. La parche de café a été récupérée à partir de l'unité de production de café « Africafé » qui se situe à la zone industrielle Chetouane, Tlemcen. Elle a été séchée à l'ombre et à température ambiante (Figure 16). Une fois totalement sèche , la parche est moulue en poudre fine.



Figure 16 : *Fragments de parche de café sous forme séchés et broyées.*

2. Méthodes d'extraction

2.1 L'extraction solide-liquide

L'extraction solide-liquide est l'un des travaux les plus anciens, nommée aussi l'extraction par solvant. Cette extraction est largement utilisée pour la purification précoce des produits naturels issus de matières végétales et des micro-organismes. Ces opérations regroupent plusieurs méthodes différentes (macération, décoction, infusion, ultrason...) consistantes toutes à faire interagir le solvant sur le matériel solide afin de dissoudre ses composants solubles (Benabdellah, 2015).

2.2 Choix des extraits

L'extraction des constituants de la parche du café a été effectuée selon quatre méthodes : macération, décoction, Infusion, ultrason.

A. Macération

❖ principe:

C'est une méthode conventionnelle qui consiste à mettre la matière végétale dans l'eau froide (macération aqueuse) ou l'huile végétale (macération huileuse), à température ambiante ou élevée pendant plusieurs heures, ou bien plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser. Elle est utilisée pour l'extraction de plantes contenant du mucilage, comme les graines de lin, car leur forte concentration en amidon ou pectine peut causer une gélatinisation dans l'eau bouillante. Egalement préférable pour empêcher l'extraction de constituants indésirables qui se dissolvent dans l'eau chaude. Elle concerne les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur par ébullition. (**Kraft et Hobbs, 2004**).

❖ mode opératoire:

- Versez 100 ml du mélange eau/méthanol (30/70 : v/v) sur 5g de parche de café dans un bécher recouvert de papier d'aluminium à une température ambiante pendant 48h
- Filtrez et récupérez le filtrat.

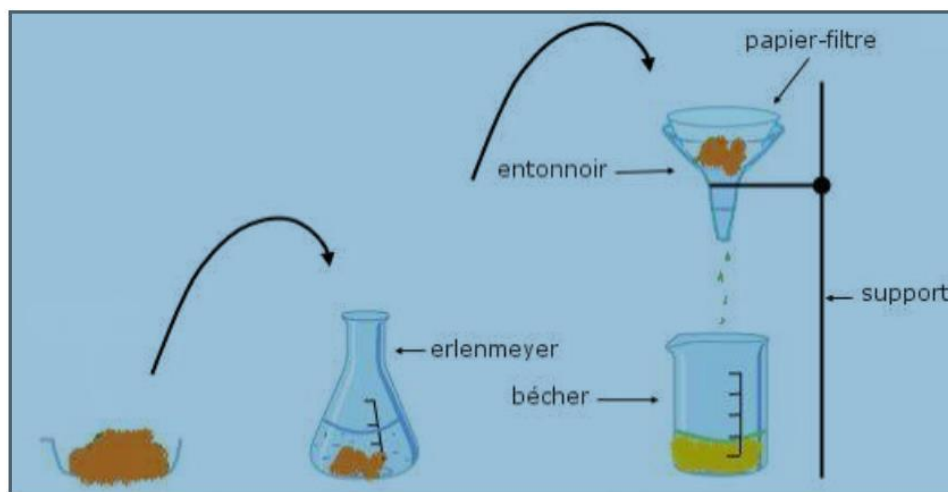


Figure 17 : Représentation schématique d'une méthode de macération (maxicours)

B. Infusion

❖ Principe :

C'est la forme de préparation la plus simple, elle se prépare en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et les bien tremper afin d'extraire leurs principes médicinaux. Elle convient pour l'extraction de parties délicates ou finement hachées des plantes : feuilles, fleurs, graines, écorces et racines, ayant des constituants volatils ou thermolabiles comme les huiles essentielles (**Kraft et Hobbs, 2004**).

❖ **Mode opératoire :**

- Versez 100 ml de l'eau/méthanol (30/70 : v/v) bouillante sur 5g de parache de café, agitez le mélange jusqu'à refroidissement et filtrez ce mélange sur du papier filtre.



Figure 18 : Méthode de l'infusion

C. Décoction

❖ **Principe :**

Elle consiste à faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 min, pour bien extraire ces principes médicinaux. Cette technique est essentiellement utilisée pour l'extraction de matière végétale dure : les racines, bois, écorces ou des plantes avec des constituants peu solubles. (**Kraft et Hobbs, 2004**).

❖ **Mode opératoire :**

- Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, placé sur une plaque chauffante agitatrice mélangez 5g de parache de café sèche avec 70ml de méthanol et 30ml de l'eau distillée, agitez et chauffez jusqu'à ébullition pendant 1 heure.
- Laissez le mélange quelques minutes jusqu'à refroidissement et filtrez sur du papier filtre.



Figure 19: L'appareil de décoction

D. Ultrason

❖ Principe :

L'extraction des composés bioactifs par ultrasons (20-100 kHz) est une technique émergente qui offre beaucoup de reproductibilité en peu de temps, elle est facile à mettre en œuvre et peu consommatrice de solvant et d'énergie, du fait que cette technologie permet son développement dans des conditions de pression atmosphérique et à température ambiante. Elle est réalisée grâce à un appareil appelé soit sonicateur ou dans un bain à ultrasons qui permet de transformer l'énergie électrique en vibrations mécaniques longitudinales le long d'un bac, ces dernières permettent de détruire les cellules biologiques en suspension (**Prommajak T et al., 2014**).

❖ Mode opératoire :

- Mélangez 5g de parche de café (endocarpe, coque) avec 100 ml de l'eau/méthanol (30/70 : v/v)
- Mettre le mélange dans un sonicateur pendant 15min puis dans la centrifugeuse 30 tours à 10min.
- Refaire la même étape mais centrifugez pendant 5 min.



Figure 20: *l'appareil d'ultrasons (sonicateur)*

2.3 Calcul de rendement d'extraction

Le rendement de l'extraction est exprimé en pourcentage, et correspond au rendement moyen spécifique d'une substance est calculé par la formule suivante : (Falleh, 2008)

$$R (\%) = (M1 / M0) * 100$$

M0 : Masse en gramme du résidu sec obtenu après évaporation du solvant d'extraction.

M1 : Masse en gramme de la matière végétale sèche initiale.

3. Etude in vitro

3.1 Choix des modèles d'étude *in vitro*

Pour étudier les effets des quatre extraits de la parche de café (**macération** , **infusion** , **décoction** **et ultrason**) *in vitro*, nous avons travaillé sur des modèles de cellules humaines d'origine lymphocytaire.

3.1.1. Isolement des lymphocytes humains

L'isolement des lymphocytes se fait à partir d'un prélèvement sanguin d'hommes volontaires, par centrifugation dans un gradient d'Histopaque (Sigma). L'histopaque, dont la densité est de 1,075, permet l'agrégation des hématies. La migration différentielle durant la centrifugation résulte en la formation de différentes couches contenant les différents types de cellules sanguines. Ainsi, les globules rouges et les granulocytes sédimentent complètement et se retrouvent dans le culot. Les lymphocytes ayant une densité inférieure à celle d'histopaque (Tableau 7) se trouvent à l'interface entre l'histopaque et le plasma après centrifugation. Ils sont par contre contaminés par d'autres cellules à sédimentation lente (Monocytes, plaquettes) (Figure 21). Les lymphocytes sont récupérés de l'interface puis sont lavés pour éliminer les contaminants (Histopaque, plasma, plaquettes,...). Le lavage se fait avec une solution saline équilibrée.

Après mélange et centrifugation, le surnageant est éliminé. Le lavage est recommencé deux fois, et les lymphocytes isolés sont prêts à l'emploi.

Les lymphocytes lavés sont par la suite remis en suspension dans 400 μ l de milieu de culture RPMI 1640.


Afin de tester la viabilité des cellules isolées, 50 μ l de cette suspension cellulaire sont prélevés dans un tube sec et sont mélangés à 50 μ l d'une solution de bleu de trypan 0,4 % et 50 μ l de milieu RPMI 1640. La numération cellulaire est effectuée sur une chambre quadrillée «Cellule de Malassez ». Par la suite, la suspension cellulaire est ajustée à une concentration de 4.10⁶ cellules/ml.

3.2 Préparation des solutions mères des extraits

Les extraits de la parche sont solubilisés dans un solvant organique le DMSO (dimethyl sulfoxide) à 1% pour obtenir une solution mère de 10mM. Par la suite, des solutions de concentrations différentes [0 μ M-10 μ M-50 μ M-100 μ M-250 μ M-500 μ M-1mM] sont préparées à partir de la solution mère avec un volume final de 1 ml dans le milieu RPMI 1640. Ces solutions sont gardées à l'abri de la lumière à 4°C pendant au moins 12 heures avant l'utilisation, pour assurer une bonne solubilisation des extraits de la parche.

Tableau 7: Taille et densité des cellules sanguines

	Taille (μM)	Densité	Vitesse de sédimentation
Globules rouges	7 (6.5-7.5)	1.098 (1.098-1.105)	+
Éosinophiles	12 (12-15)	1.091 (1.087-1.096)	
Neutrophiles	12 (12-15)	1.088 (1.082-1.097)	
Basophiles	9.5 (9-10)	1.078 (1.074-1.082)	
Monocytes	15 (15-20)	1.071 (1.065-1.075)	
Lymphocytes	9 (8-10)	1.063 (1.057-1.067)	
Plaquettes	2-3	1.040	-



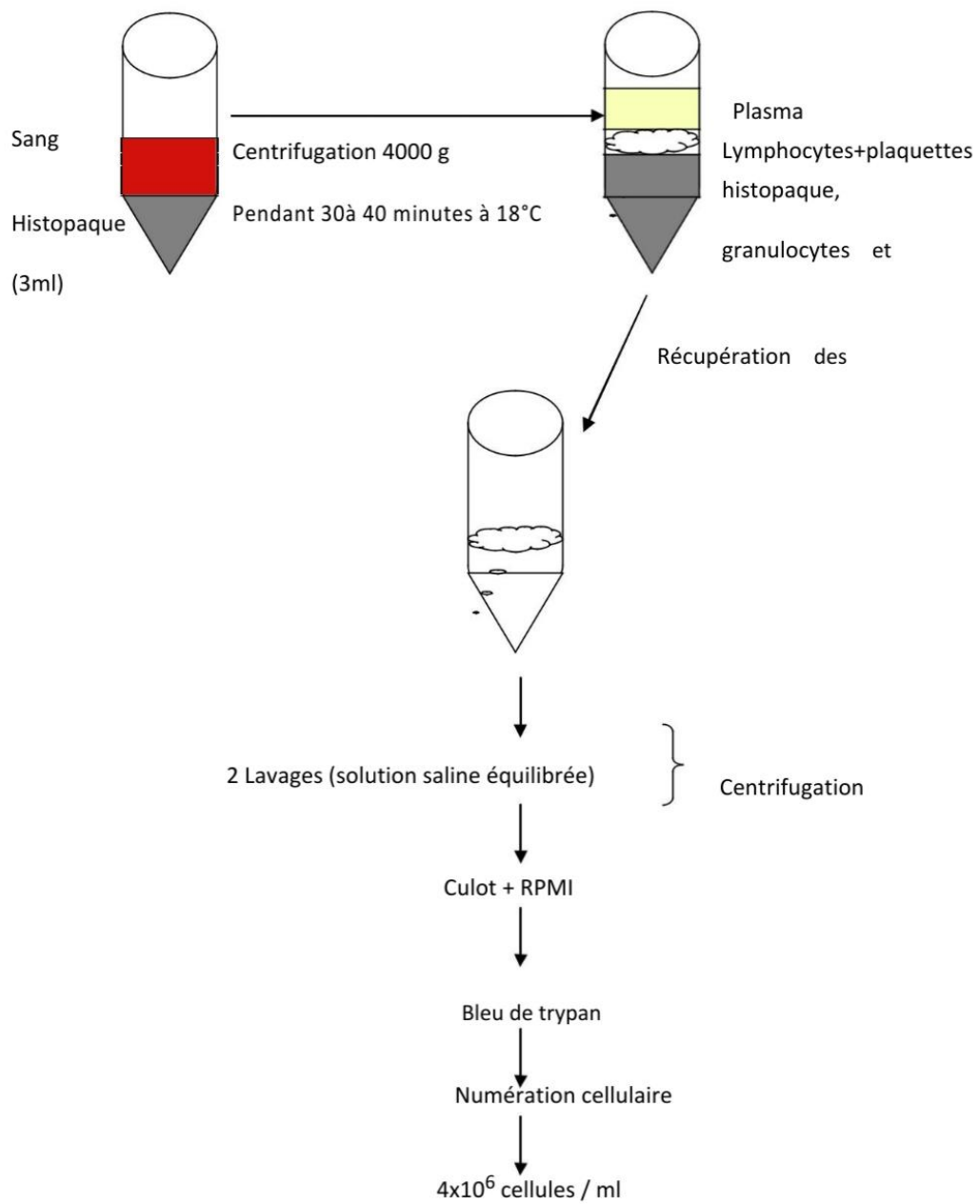


Figure 21 : Méthode d'isolement et purification des lymphocytes

3.3 Test de transformation lymphoblastique (TTL)

Le TTL permet d'étudier la prolifération in vitro des lymphocytes T stimulés par des agents mitogènes spécifiques. La Concanavaline A (Con A, Sigma, St. Louis, MO, USA), mitogène spécifique des cellules T est utilisée à une concentration finale de 5 µg/ml. Les cultures sont réalisées sur des plaques ELISA de 96 puits à fond plat (Nunc- Elisa).

Les lymphocytes sont mis en culture (4×10^5 cellules/puit) dans le milieu RPMI 1640 au quel sont ajoutés le tampon HEPES (25 mM), 10% sérum du veau foetal, L - Glutamine (2mM), 2-mercaptoethanol (5×10^{-5} M), pénicilline (100 UI/ml) et streptomycine (100 (µg/ml) en présence ou en absence de la Con A (5 µg/ml).

Les essais sont réalisés en triples. Afin de déterminer les effets de parche de café sur la prolifération in vitro des lymphocytes, les cellules sont mises en culture en présence des deux pesticides à différentes concentrations finales [0µM-1µM-5µM-10µM-25 µM -50 µM -100 µM].

Les plaques sont ensuite mises à incuber 48 heures à 37°C, 5% de CO₂.

A la fin de l'incubation, les cellules sont prélevées dans une nouvelle plaque Elisa 96 puits. Les puits sont lavés avec le milieu RPMI 1640 afin de récupérer l'ensemble des cellules. La détermination de la prolifération lymphocytaire se fait par comptage des cellules (cellule de malassez), confirmée par la méthode du MTT [3-(4,5-Dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tétrazolium bromide] et le dosage des protéines.

3.3.1. Comptage des lymphocytes

Le comptage des lymphocytes se fait à l'aide de la cellule de Malassez. Le principe est basé sur le décompte au microscope optique des cellules après coloration au bleu de Trypan, contenues dans un volume de suspension cellulaire déterminé et à dilution connue.

3.3.2. Détermination de la prolifération lymphocytaire par la méthode du MTT

La méthode du MTT est une méthode colorimétrique basée sur la capacité des enzymes mitochondriales (succinate déshydrogénase) dans les cellules vivantes de transformer les sels de tétrazolium (couleur jaune) en produits insolubles de formazan (couleur bleue violacée).

La concentration de Formazan obtenue est directement proportionnelle au nombre de cellules présentes dans la suspension cellulaire. Cette technique permet de mesurer la viabilité et la prolifération lymphocytaire, et les résultats sont parallèles à ceux obtenus par la méthode de référence utilisant la thymidine radioactive incorporée dans l'ADN (Mosmann, 1983).

La solution de MTT [3-(4,5-Dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tétrazoliumbromide] (Sigma, USA) est préparée à une concentration de 5 mg/ml dans le tampon phosphate (PBS, PH 7.5), filtrée puis conservée à 4° C à l'abri de la lumière.

Après isolement des lymphocytes, une suspension cellulaire de 4×10^6 cellules/ml sert à la préparation de la gamme étalon suite à différentes dilutions.

100 μ L de suspension cellulaire de la gamme étalon ou des différentes incubations (puits) sont incubés en présence de 10 μ L de MTT (5 mg/ml) à 37° C, 5% CO₂ pendant 3 heures. L'addition de 100 μ L de HCL 0,04M dans l'isopropanol permet la dissolution des cristaux bleus Formazan. La lecture des densités optiques se fait au spectrophotomètre à 630 nm. La courbe étalon permet d'obtenir directement le nombre de cellules/ml. L'indice de prolifération (IP) est aussi calculé :

IP= (densité optique des cellules stimulées/ densité optique des cellules non stimulées) \times 100 (Moussa *et al.*, 2000).

NB : **Cellules stimulées**: cellules prélevées des puits après les incubations.

Cellules non stimulées: cellules provenant de la suspension cellulaire initiale avant incubation.

3.4 Détermination des marqueurs du stress oxydatif au niveau des lymphocytes

3.4.1. Détermination du taux de Glutathion des lymphocytes en présence des différents extraits du parchemin de café

Le taux de Glutathion (GSH) est mesuré par méthode colorimétrique suivant le protocole du Kit Bioxytech GSH-400 (OXIS International, Inc., Portland, OR, USA). Les lymphocytes sont suspendus dans l'acide métaphosphorique (5%, P/V). Après centrifugation à 3000g pendant 10 min, le surnageant est mélangé au tampon phosphate de potassium contenant l'acide diethylene triamine, Penta-acétique et le lubrol (pH 7,8). Le chromogène est par la suite ajouté dans le milieu réactionnel. Le mélange est incubé à 25°c pendant 10min à l'abri de la lumière.

3.4.2. Détermination de l'activité de la Catalase des lymphocytes en présence des différents extraits de la parche de café (CAT, EC 1.11.1.6)

Cette activité enzymatique est mesurée dans le lysat lymphocytaire par analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition du peroxyde d'hydrogène (Aebi, 1974). En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de H₂O₂ en fonction du temps. Après incubation, les concentrations du H₂O₂ restant sont déterminées à partir d'une gamme étalon de H₂O₂. La lecture se fait à 420 nm. L'activité de la catalase est exprimée en Unité/ ml ou en Unité/mg de protéine.

3.4.3. Teneurs en Protéines Carbonylées des lymphocytes en présence des différents extraits de la parche (Méthode de Levine et al., 1990)

Les protéines carbonylées (marqueurs de l'oxydation protéique) sont mesurées dans le lysat lymphocytaire par la réaction au 2,4- dinitrophénylhydrazine. La réaction aboutit à la formation de la dinitrophényl hydrazone colorée. La concentration des groupements carbonylés est déterminée par lecture à des longueurs d'onde de 350 et 375 nm.

4. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard. L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel STATISTICA (version 4.1, Statsoft, Paris, France). Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes.

Chapitre II

Résultats et interprétations

1. Effets de l'extrait d'ultrason de la parche de café sur la prolifération des lymphocytes (Figure 22 ; Annexe: A1)

La prolifération des lymphocytes en présence de l'extrait d'ultrason de parche de café est significativement variable puisque l'indice de prolifération (IP) est différent selon les incubations.

On obtient une réduction de la prolifération cellulaire par l'extrait d'ultrason de parche de café aux concentrations de 50 $\mu\text{M/l}$ et 100 $\mu\text{M/l}$ d'une manière de dose dépendante.

En présence de l'extrait d'ultrason de parche de café à concentration 1 $\mu\text{M/l}$ la prolifération lymphocytaire est stimulée puisque l'IP est significativement augmenté comparé à la prolifération basale.

Par contre, La prolifération cellulaire en présence de l'extrait d'ultrason de parche de café aux concentrations de 10 $\mu\text{M/l}$ et 25 $\mu\text{M/l}$ est non variable.

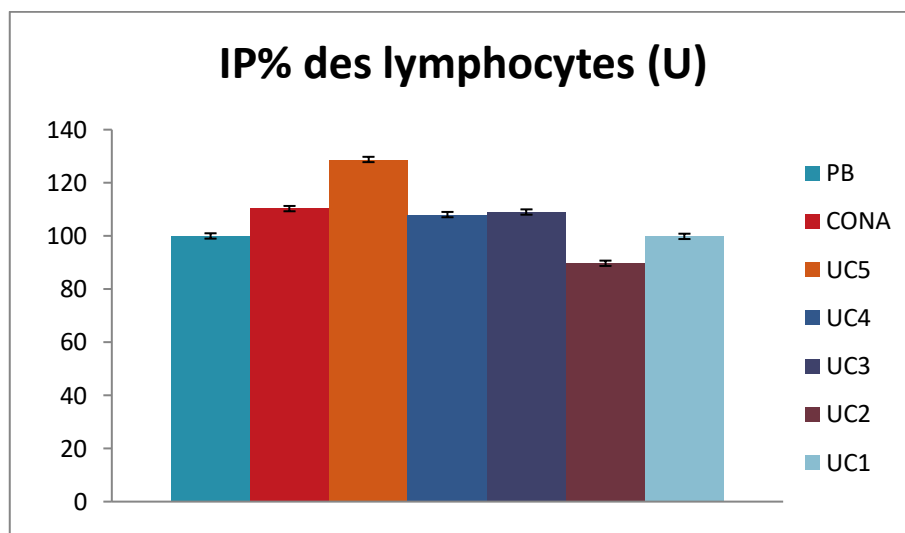


Figure 22 : *Indice de prolifération des lymphocytes en présence de l'extrait d'ultrason*

2. Effets de l'extrait de macération de la parche de café sur la prolifération des lymphocytes (Figure 23 ; Annexe: A2)

La prolifération des lymphocytes en présence de l'extrait de macération de parche de café est significativement variable puisque l'indice de prolifération (IP) est différent selon les incubations

La prolifération cellulaire est significativement augmentée en présence de l'extrait de macération aux concentrations de 10 , 25 et 50 $\mu\text{M/l}$ comparée à la prolifération basale.

Cependant, la prolifération des lymphocytes T est réduite par l'extrait de macération de parche à la concentration de 1 $\mu\text{M/l}$ comparée à la prolifération basale.

En présence de cet extrait à concentration de 100 $\mu\text{M/l}$, la prolifération lymphocytaire ne varie pas.

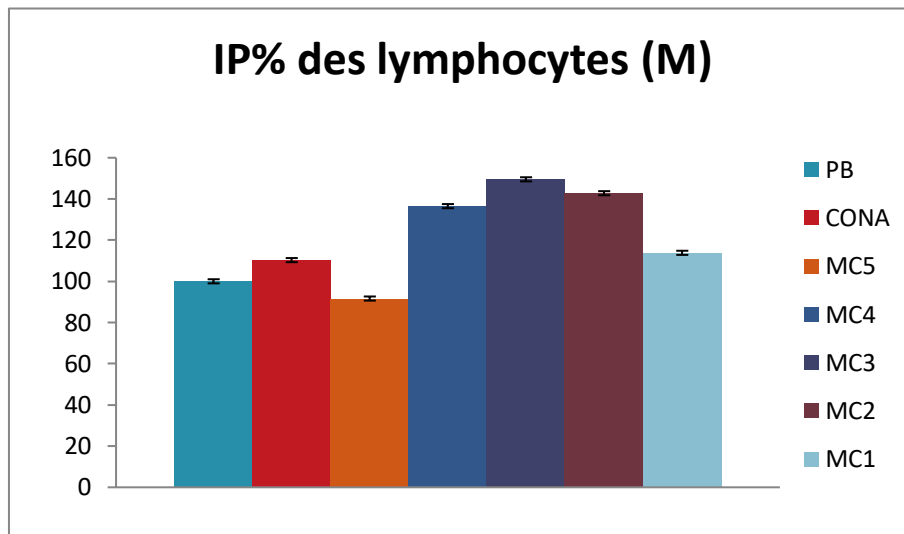


Figure 23 : *Indice de prolifération des lymphocytes en présence de l'extrait de macération*

3.Effets de l'extrait d'infusion de la parche de café sur la prolifération des lymphocytes (Figure 24 ; Annexe: A3)

La prolifération lymphocytaire en présence de l'extrait d'infusion de parche de café est significativement variable puisque l'indice de prolifération (IP) est différent selon les incubations.

En présence de l'extrait d'infusion à concentration de 10 µM/l, la prolifération lymphocytaire ne présente aucune variation.

Cependant, la prolifération des lymphocytes T est réduite par cet extrait à la concentration de 1µM /l comparée à la prolifération basale.

En revanche, aux concentration entre 25 et 100 µM /l de cet extrait la prolifération est stimulée d'une manière très significative.

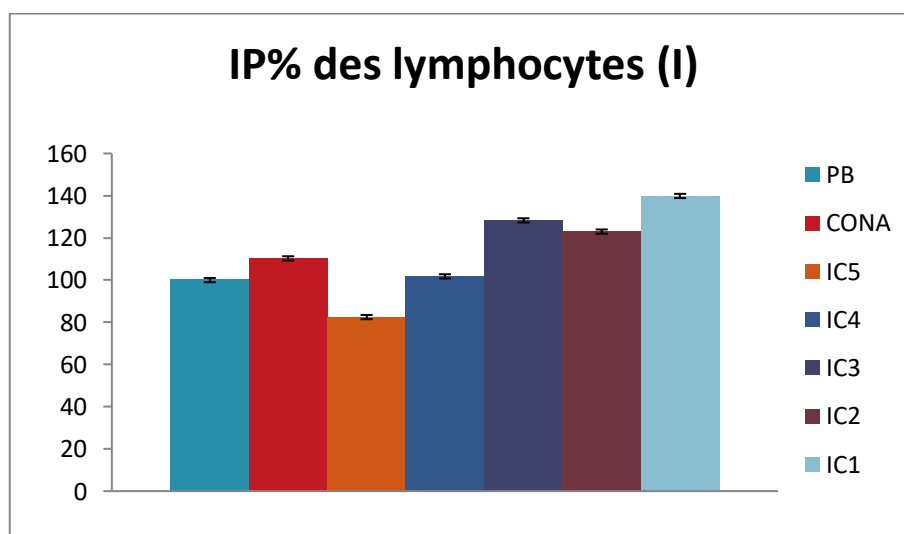


Figure 24 : *Indice de prolifération des lymphocytes en présence de l'extrait d'infusion*

4.Effets de l'extrait de décoction de la parche de café sur la prolifération des lymphocytes (Figure 25 ; Annexe: A4)

La prolifération lymphocytaire en présence de l'extrait de décoction de parche de café est significativement variable puisque l'indice de prolifération (IP) est différent selon les incubations.

Cependant, la prolifération des lymphocytes T en présence d'extrait de décoction aux concentrations de 1 et 10 µM /l est légèrement réduite comparée à la prolifération basale.

En revanche, la prolifération cellulaire à concentration de 25 µM /l de cet extrait augmente et qui a tendance à diminuer d'une manière de dose dépendante jusqu'à 100 µM /l.

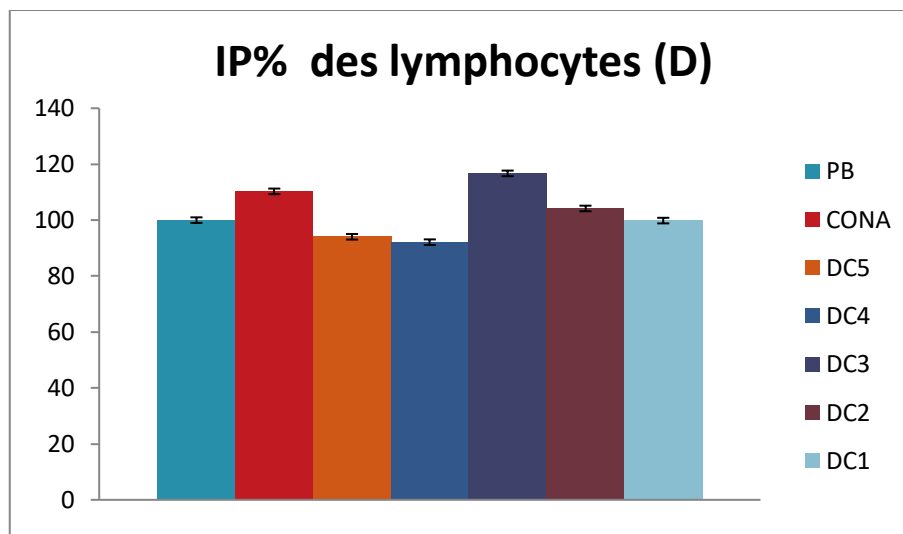


Figure 25 : Indice de prolifération des lymphocytes en présence de l'extrait de décoction

Statut oxydant des lymphocytes humaines traitées par les extraits de parche de café

I.1.Effets de l'extrait d'ultrason de parche de café sur les teneurs des lymphocytes en "Malondialdéhydes" (Figure 26; Annexe: A5)

Les teneurs lymphocytaires en MDA augmentent significativement en présence de l'agent mitogène (Con A) comparées à la prolifération basale.

Les teneurs cellulaires en MDA entre 10 et 50µM/l de l'extrait d'ultrason de parche de café ne varient pas.

Nos résultats montrent que l'extrait d'ultrason de parche de café provoque une augmentation significative des teneurs lymphocytaires en MDA à 1µM /l qui ont tendance à diminuer à 100µM /l d'une manière de dose dépendante.

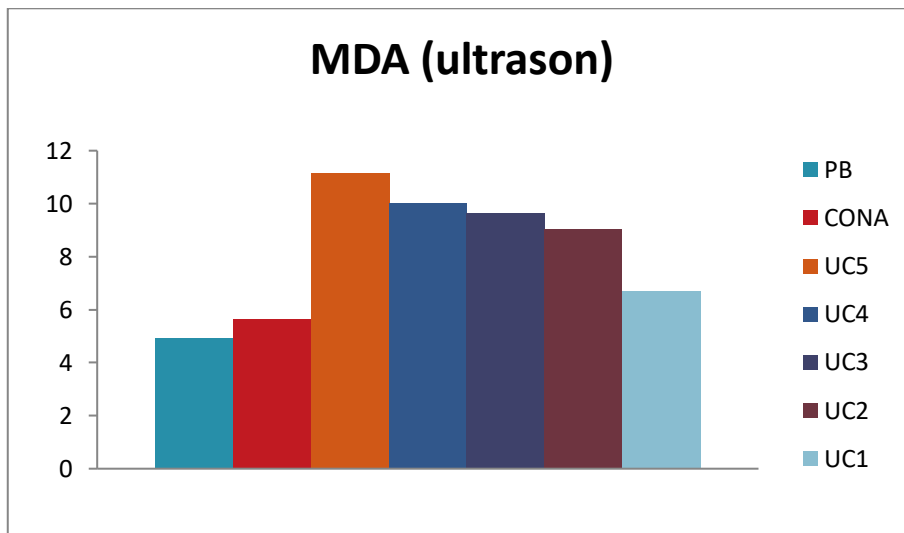


Figure 26 : Teneurs cellulaires en MDA en présence de l'extrait d'ultrason de parche de café.

I.2.Effets de l'extrait de macération de parche de café sur les teneurs des lymphocytes en "Malondialdéhydes" (Figure 27; Annexe: A6)

Les teneurs en MDA sont significativement augmentés en présence de 1µM/l de l'extrait de macération de parche de café dans la culture lymphocytaire comparées à la prolifération basale.

Cependant, les teneurs en MDA au niveau lymphocytaires ont diminué significativement en présence de l'extrait de macération de parche de café entre 25 µM/l et 50 µM /l d'une manière de dose dépendante.

Par ailleurs, aucune variation n'a été observée au niveau des teneurs lymphocytaires en MDA en présence de 10 et 100µM/l de l'extrait de macération.

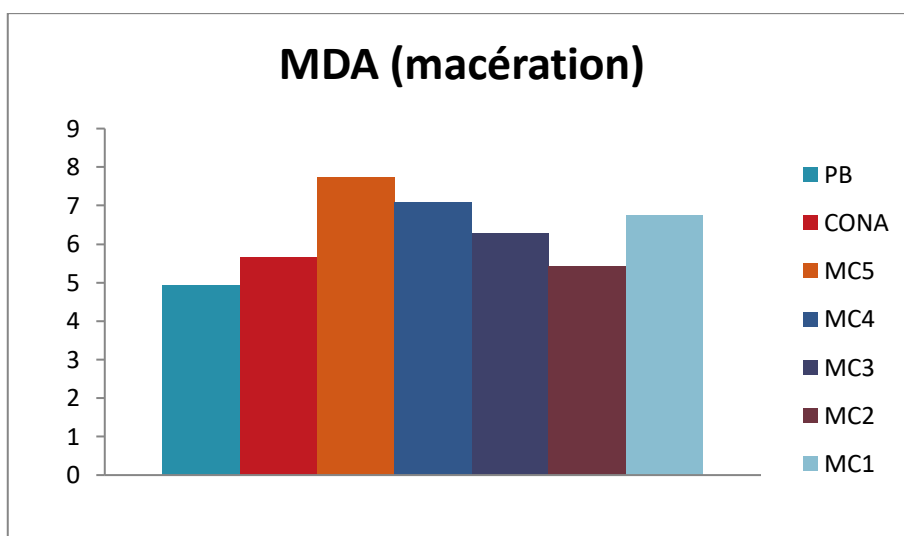


Figure 27: Teneurs cellulaires en MDA en présence de l'extrait de macération de parche de café.

I.1.Effets de l'extrait d'infusion de parche de café sur les teneurs des lymphocytes en "Malondialdéhydes" (Figure 28; Annexe: A7)

L'extrait d'infusion de parche de café ne présente aucune variation des teneurs cellulaire en MDA, quel que soit la concentration utilisée.

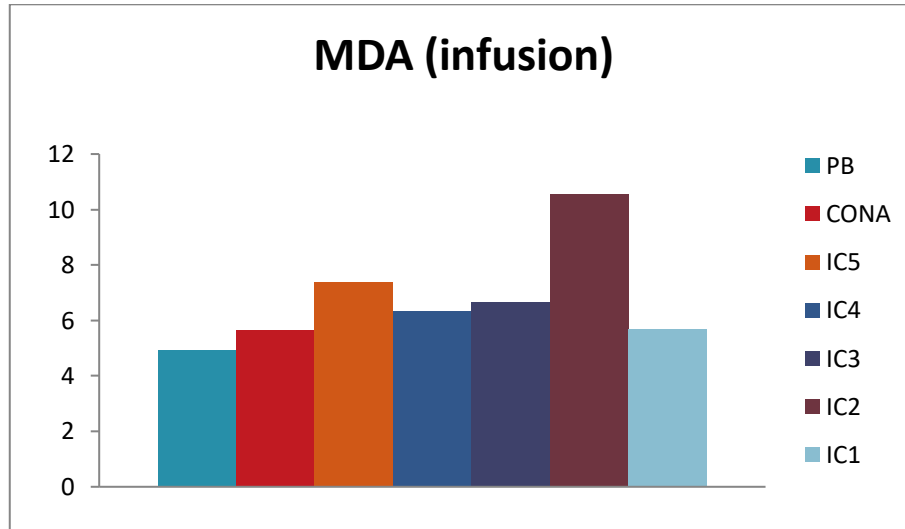


Figure 28 :Teneurs cellulaires en MDA en présence de l'extrait d'infusion de parche de café.

I.1.Effets de l'extrait de décoction de parche de café sur les teneurs des lymphocytes en "Malondialdéhydes" (Figure 29 ; Annexe: A8)

Les teneurs lymphocytaires en MDA augmentent significativement en présence de l'agent mitogène (Con A) comparées à la prolifération basale.

Cependant, les teneurs en MDA sont significativement augmentées en présence de 1 μ M/l , 10 μ M/l et 25 μ M/l de l'extrait de décoction de parche de café de façon progressive dans la culture lymphocytaire comparées à la prolifération basale.

Par ailleurs, une diminution a été observée au niveau des teneurs lymphocytaires en MDA en présence de 50 et 100 μ M/l de l'extrait de décoction d'une manière de dose dépendante.

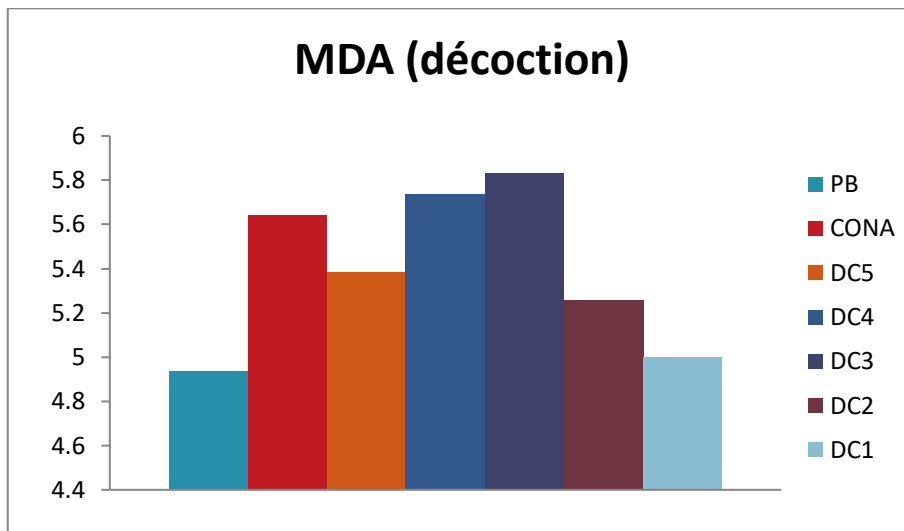


Figure 29 :Teneurs cellulaires en MDA en présence de l'extrait de décoction de parche de café.

II.1. Effets de l'extrait d'ultrason de parche de café sur les teneurs des lymphocytes en "Protéines carbonylées" (Figure 30; Annexe: A9)

Les teneurs lymphocytaires en PTCA sont significativement élevées à 1 µM /l de l'extrait d'ultrason de parche de café. Par contre, les teneurs cellulaires en PTCA ont diminué à 100µM /l comparées à la prolifération basale.

Nos résultats montrent que l'extrait d'ultrason de parche de café entre 1 µM /l et 50 µM/L augmente les teneurs lymphocytaires en PTCA qui ont tendance à diminuer très significativement avec l'extrait d'ultrason de parche de café à 100 µM /l.

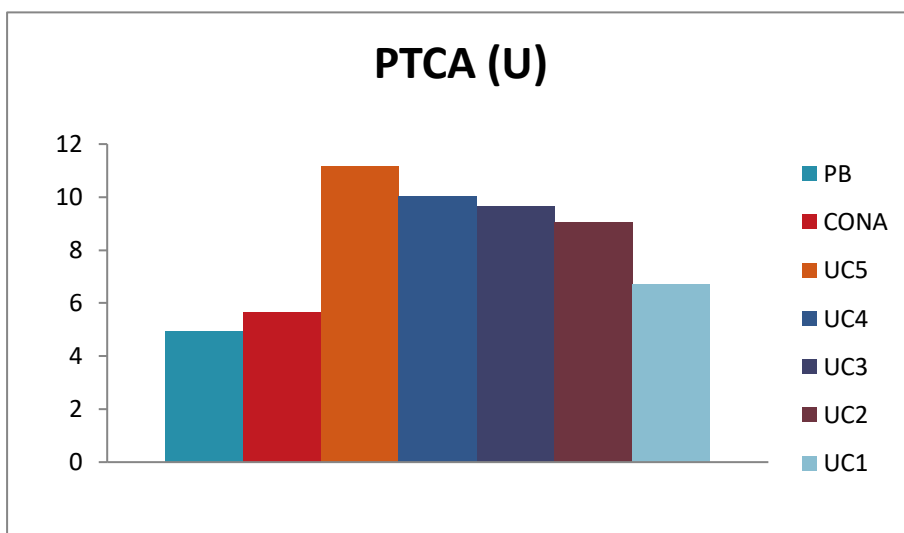


Figure 30 :Teneurs cellulaires en PTCA en présence de l'extrait d'ultrason de parche de café

II.2. Effets de l'extrait de macération de parche de café sur les teneurs des lymphocytes en "Protéines carbonylées" (Figure 31; Annexe: A10)

Les teneurs lymphocytaires en PTCA sont significativement élevées à 100 μM /l de l'extrait de macération de parche de café. Par contre, les teneurs cellulaires en PTCA ont diminué entre 10 μM /l et 50 μM /l comparées à la prolifération basale.

Nos résultats montrent que l'extrait de macération de parche de café à 1 μM /l augmente les teneurs lymphocytaires en PTCA qui ont tendance à diminuer très significativement avec l'extrait d'ultrason de parche de café à 50 μM /l.

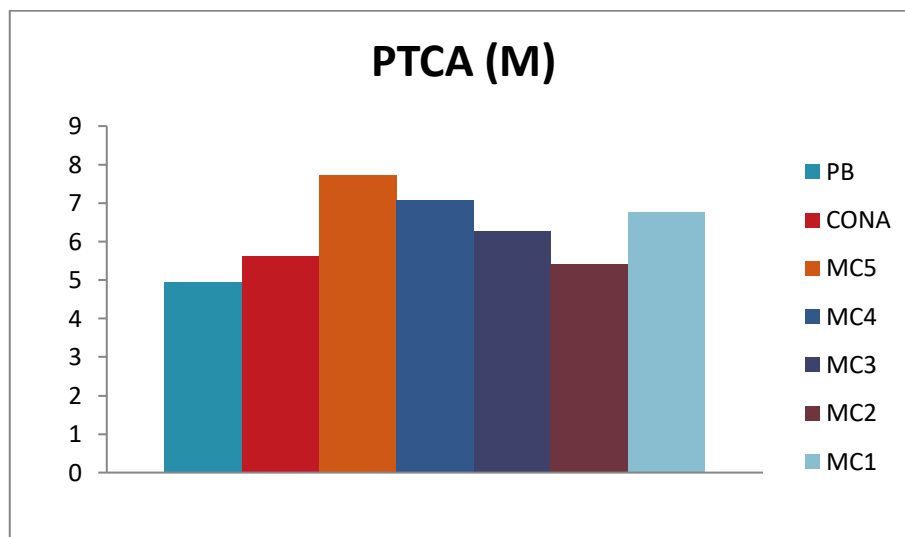


Figure 31 :Teneurs cellulaires en PTCA en présence de l'extrait de macération de parche de café

II.3. Effets de l'extrait d'infusion de parche de café sur les teneurs des lymphocytes en "Protéines carbonylées" (Figure 32 ; Annexe: A11)

Nos résultats montrent que l'extrait d'infusion de parche de café provoque une augmentation des teneurs cellulaires en PTCA à 1 μM /l et qui diminuent significativement entre 10 μM /l et 25 μM /l.

Nos résultats montrent que Les teneurs lymphocytaires en PTCA sont significativement élevées à 50 μM /l de l'extrait d'infusion de parche de café qui ont tendance à diminuer très significativement avec cet extrait à 100 μM /l.

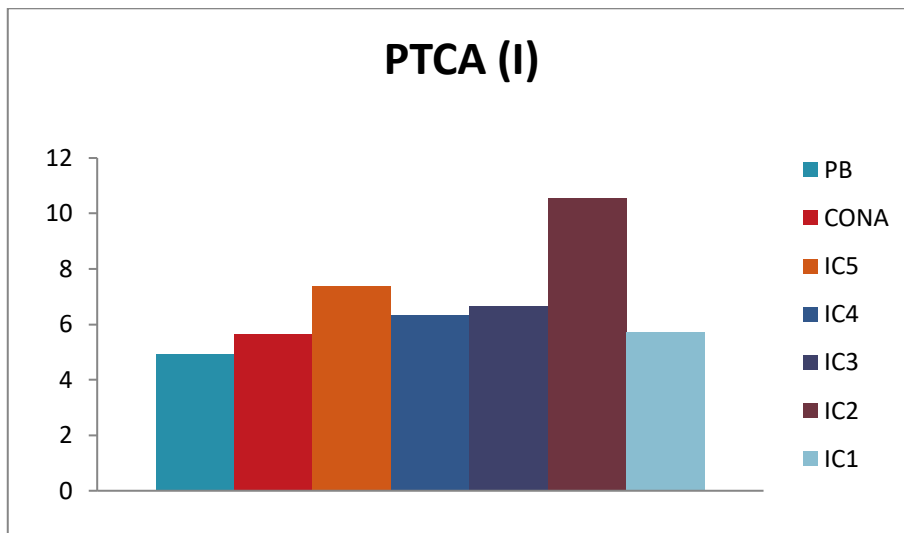


Figure 32 :Teneurs cellulaires en PTCA en présence de l'extrait d'infusion de parche de café

II.4. Effets de l'extrait de décoction de parche de café sur les teneurs des lymphocytes en "Protéines carbonylées" (Figure 33 ; Annexe: A12)

Nos résultats montrent que l'extrait de décoction de parche de café provoque une augmentation très significative des teneurs cellulaires en PTCA entre 1 µM /l et 25 µM /l par rapport à la PB.

Nos résultats montrent que les teneurs lymphocytaires en PTCA sont significativement élevées à 25µM /l de l'extrait de décoction de parche de café qui ont tendance à diminuer très significativement avec l'extrait de décoction de parche de café jusqu'à 100 µM /l.

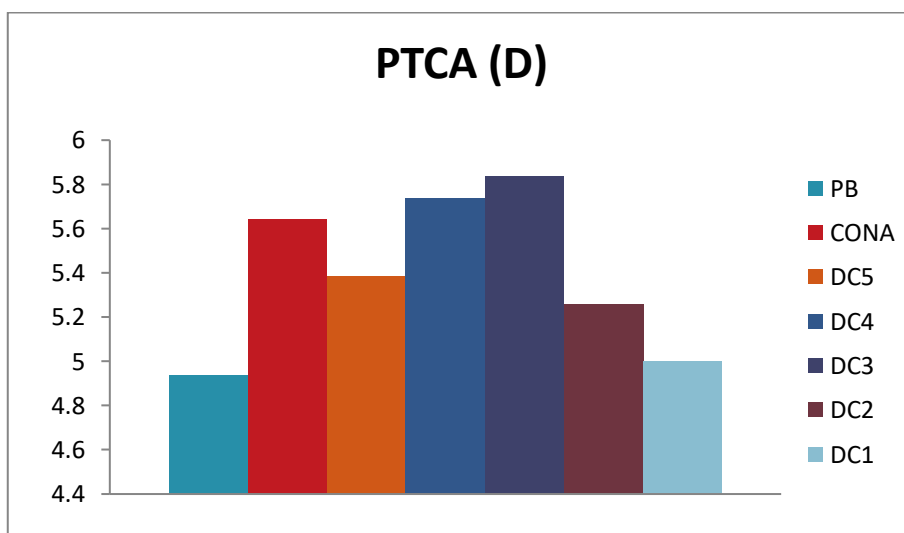


Figure 33 :Teneurs cellulaires en PTCA en présence de l'extrait de décoction de parche de café

III.1. Effets de l'extrait d'ultrason de parche de café sur l'activité de la "Catalase" (Figure 34; Annexe: A13)

L'activité enzymatique de la catalase au niveau des lymphocytes augmente significativement en présence d'agent stimulant (la Con A) comparée à la prolifération basale.

Cependant, l'activité de la catalase est diminuée significativement aux concentrations entre 1 et 25µM/l de l'extrait d'ultrason comparée à la PB, par contre à 50 µM/l de notre extrait l'activité de la catalase ne varie pas.

En revanche, nos résultats montrent une augmentation de l'activité du catalase à la concentration 100µM/l de notre extrait ultrason par rapport à la prolifération basale.

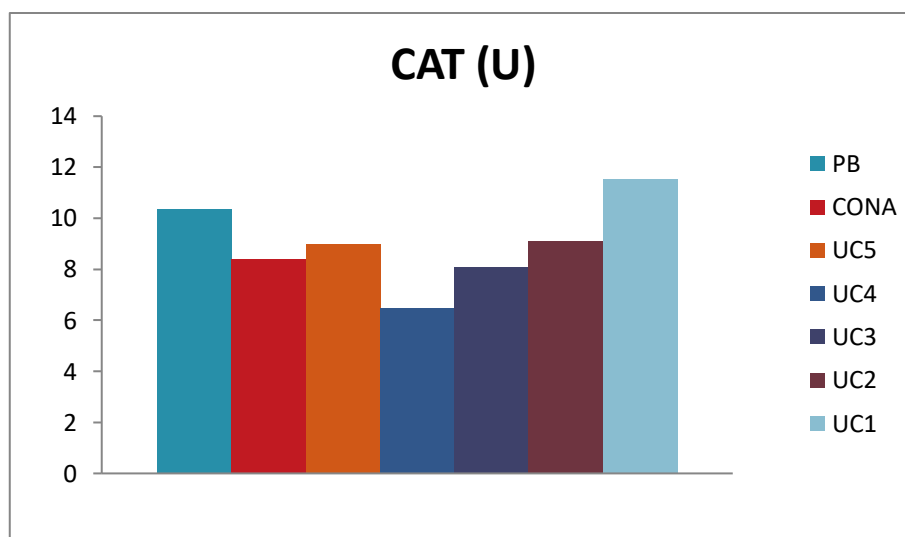


Figure 34 : Teneurs cellulaires en CAT en présence de l'extrait d'ultrason de parche de café.

III.2. Effets de l'extrait de macération de parche de café sur l'activité de la "Catalase" (Figure 35 ; Annexe: A14)

L'activité enzymatique de la catalase au niveau des lymphocytes augmente significativement en présence d'agent stimulant (la ConA) comparée à la prolifération basale.

Nos résultats montrent que l'activité de la catalase au niveau des lymphocytes en présence de l'extrait macération à 1µM/l augmente significativement comparée à la PB et aux lymphocytes avec agent mitogène.

L'activité enzymatique de la catalase au niveau des lymphocytes diminue significativement en présence de l'extrait macération entre 10-50µM/l comparée à la PB.

Par contre à 100 µM/l de notre extrait l'activité de la catalase ne varie pas.

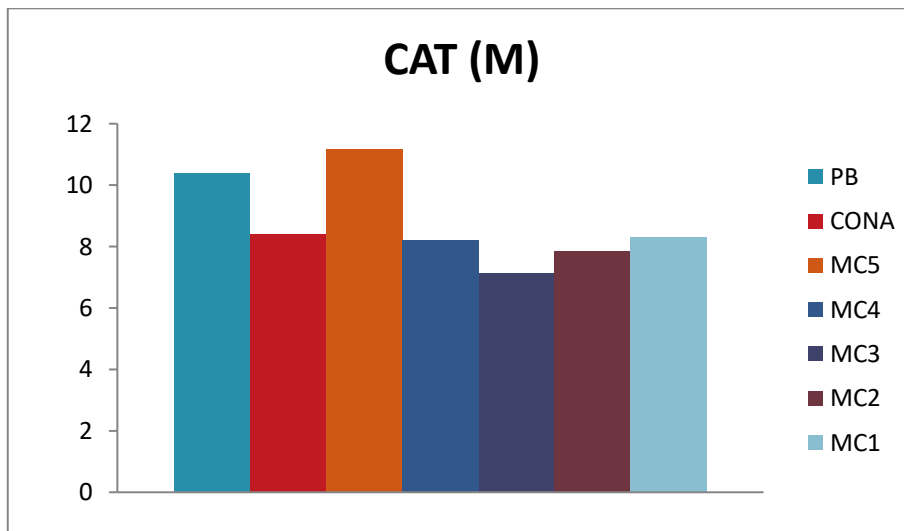


Figure 35 : Teneurs cellulaires en CAT en présence de l'extrait de macération de parche de café.

III.3.Effets de l'extrait d'infusion de parche de café sur l'activité de la "Catalase" (Figure 36; Annexe: A15)

L'activité enzymatique de la catalase au niveau des lymphocytes augmente significativement en présence de l'extrait d'infusion de parche de café entre 50 et 100 µM/l comparée à la prolifération basale.

Cependant, cette activité ne présente aucune variation à 1µM/l et 25µM/l de l'extrait d'infusion de parche de café comparée à la prolifération basale.

Par contre l'activité de la catalase lymphocytaire diminue significativement à 10 µM/l comparée à la prolifération basale.

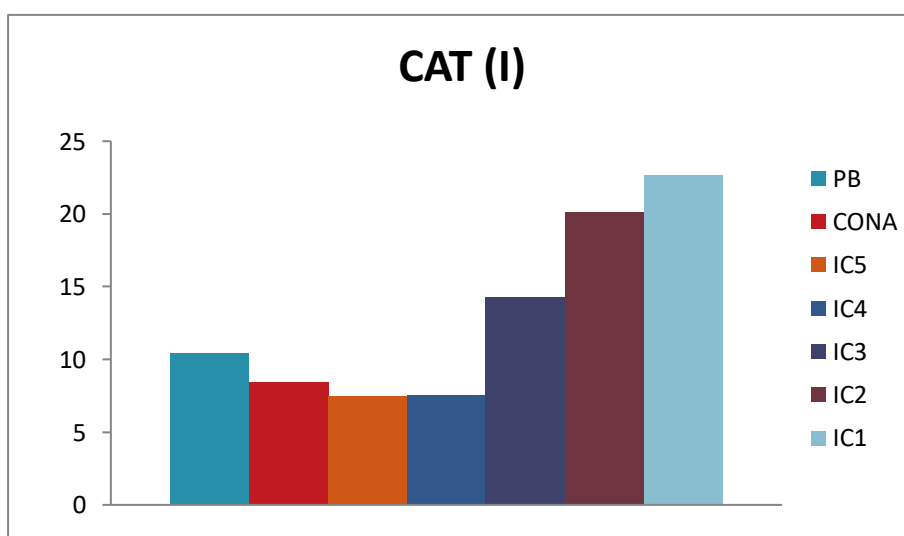


Figure 36 : Teneurs cellulaires en CAT en présence de l'extrait d'infusion de parche de café

III.4.Effets de l'extrait de décoction de parche de café sur l'activité de la "Catalase" (Figure 37; Annexe: A16)

L'activité enzymatique de la catalase au niveau des lymphocytes augmente significativement en présence de l'extrait de décoction de parche de café à 1 µM/l comparée à la prolifération basale.

Cependant, cette activité ne présente aucune variation à 10 µM/l , 25µM/l et 100 de l'extrait de décoction de parche de café comparée à la prolifération basale.

Par contre l'activité de la catalase lymphocytaire diminue significativement à 50 µM/l comparée à la prolifération.

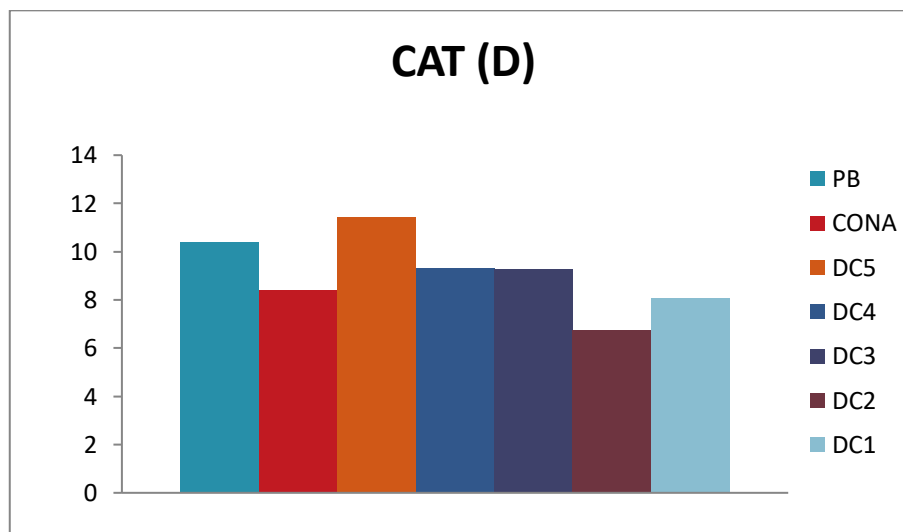


Figure 37 :Teneurs cellulaires en CAT en présence de l'extrait de décoction de parche de café

VI.1.Effets de l'extrait d'ultrason de parche de café sur les teneurs des lymphocytes en "Glutathion" (Figure 38; Annexe: A17)

Les teneurs lymphocytaires en GSH augmentent significativement en présence de l'agent mitogène (Con A) comparées à la prolifération basale.

Nos résultats montrent qu'en présence de l'extrait d'ultrason de parche de café les teneurs érythrocytaires en GSH lymphocytaires augmentent très significativement à toutes les concentrations utilisées comparées à la prolifération basale.

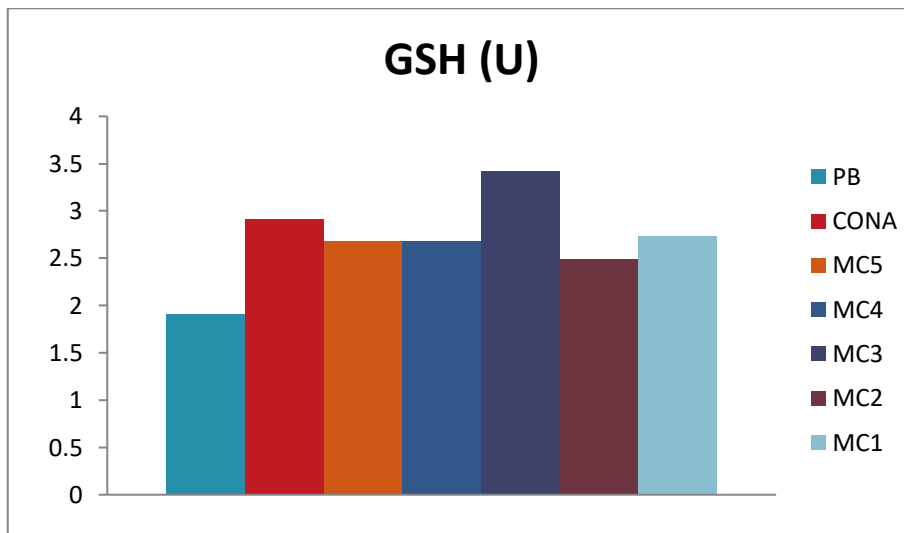


Figure 38 :Teneurs cellulaires en GSH en présence de l'extrait d'ultrason de parche de café

VI.2.Effets de l'extrait de macération de parche de café sur les teneurs des lymphocytes en "Glutathion" (Figure 39 ; Annexe: A18)

Les teneurs lymphocytaires en GSH augmentent significativement en présence de l'agent mitogène (Con A) comparées à la prolifération basale.

Nos résultats montrent qu'en présence de l'extrait de macération de parche de café les teneurs érythrocytaires en GSH lymphocytaires augmentent très significativement aux concentrations entre 10 et 100 µM/l comparées à la prolifération basale , à l'exception de la concentration à 1 µM/l qui reste invariable.

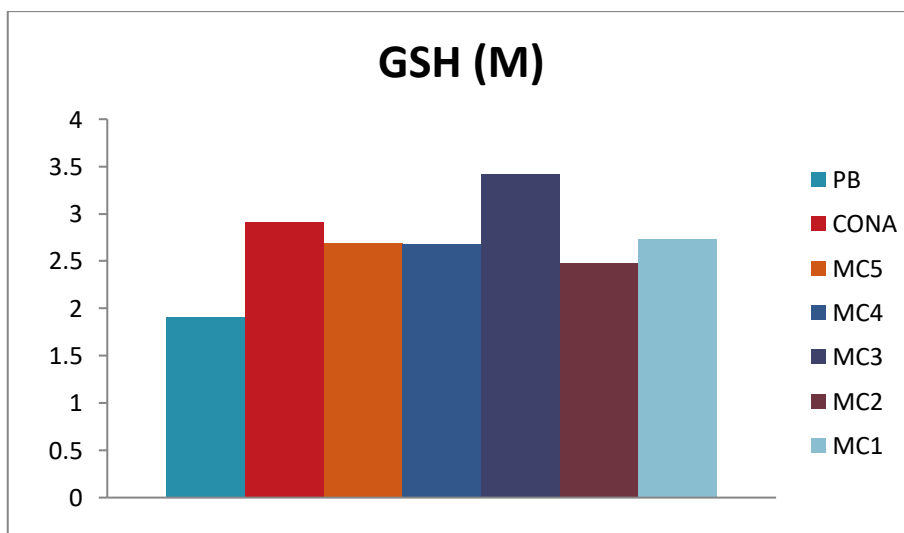


Figure 39 :Teneurs cellulaires en GSH en présence de l'extrait de macération de parche de café

VI.3.Effets de l'extrait d'infusion de parche de café sur les teneurs des lymphocytes en " Glutathion " (Figure 40 ; Annexe: A19)

Les teneurs lymphocytaires en GSH en présence de l'extrait d'infusion de parche de café aux différentes concentrations (1-100µM/l) augmentent très significativement comparées aux proliférations basales.

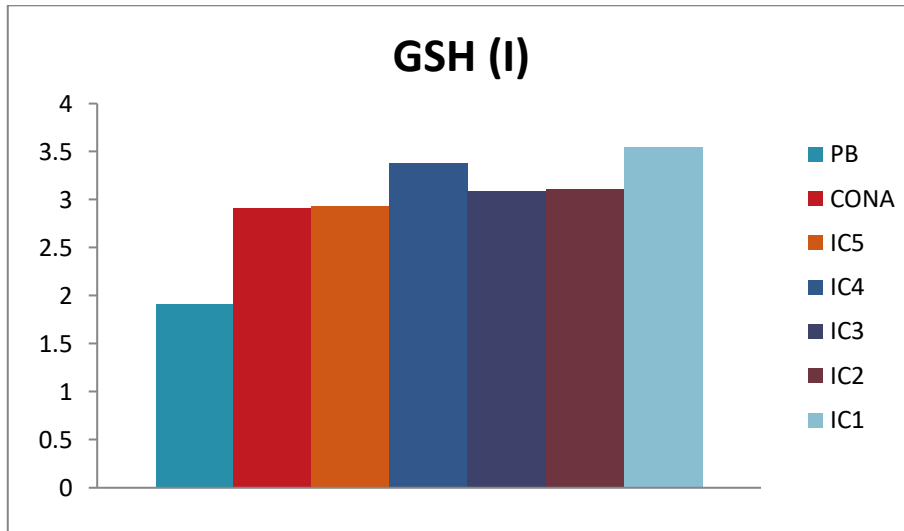


Figure 40 :Teneurs cellulaires en GSH en présence de l'extrait d'infusion de parche de café

VI.4.Effets de l'extrait de décoction de parche de café sur les teneurs des lymphocytes en "Glutathion" (Figure 41 ; Annexe: A20)

Les teneurs lymphocytaires en GSH en présence de l'extrait de décoction de parche de café aux différentes concentrations (1-100µM/l) augmentent très significativement comparées aux proliférations basales.

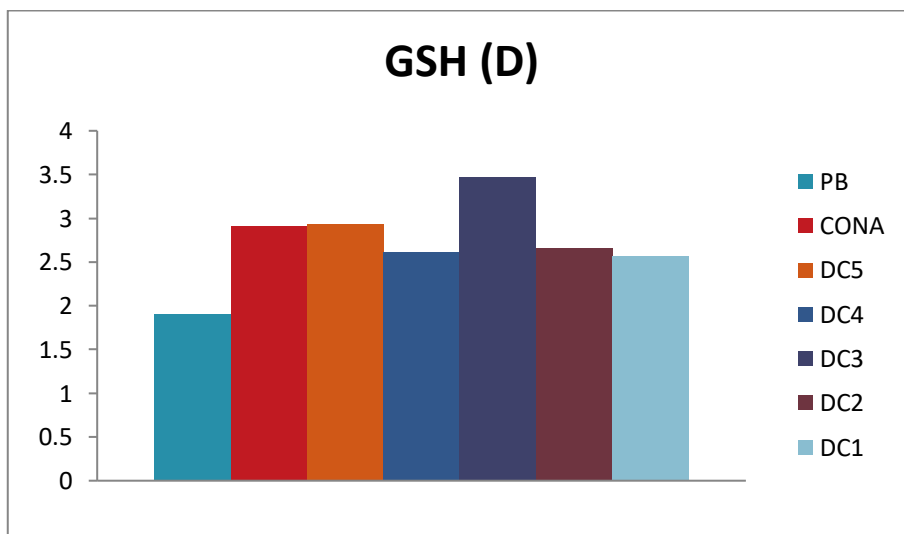


Figure 41 :Teneurs cellulaires en GSH en présence de l'extrait de décoction de parche de café

Discussion

Le café est le deuxième produit commercialisé le plus précieux au monde, derrière le pétrole. Indépendamment de la manière dont le café est cultivé, les rejets des usines de transformation du café représentent une source majeure de pollution (**Mussatto et al., 2011; Blinová et al., 2017**).

L'industrie du café est également responsable de la production de grandes quantités de déchets solides. Presque tous les pays développés et sous-développés tentent de s'adapter à cette réalité en modifiant leurs procédés pour que leurs résidus puissent être recyclés. Par conséquent, la plupart des grandes entreprises ne considèrent plus les résidus comme des déchets, mais comme une matière première pour d'autres processus, il existe de nombreuses approches d'application de l'utilisation des déchets de café (**Blinová et al., 2017; Echeverria et al., 2017**).

Par exemple, la parche de café peut être réutilisée dans différents domaines, tels que les produits alimentaires, pharmaceutiques ou cosmétiques pour sa teneur en produits bioactifs (**Alves et al., 2017**).

Le parchemin de café est considéré comme un nouvel ingrédient fonctionnel potentiel, due à sa richesse en composés phénoliques et en fibres alimentaires (**Benitez et al., 2019**), offrant des vertus bénéfiques pour la santé humaine et l'industrie agroalimentaire (**Mirón-Mérida et al., 2019; Aguilera et al., 2019**).

Les poly-phénols suscitent dernièrement, beaucoup d'intérêt en raison du bénéfice qu'ils pourraient apporter en termes de prévention des maladies liées au vieillissement et aux lésions oxydatives et de leurs diverses propriétés au sein de notre organisme (**Massaux, 2012; Marín et al., 2015**).

Ce travail de Master porte sur l'effet de quatre extraits de la parche de café sur la prolifération des lymphocytes T humains et la modulation du statut oxydant antioxydant.

Le stress oxydant est le résultat d'un déséquilibre de la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants biologiques lorsque la production d'espèces radicalaires pro-oxydantes dépasse la capacité de l'organisme à les éliminer et les détoxifier. Une production excessive de ces espèces radicalaires et/ou une diminution des systèmes de défense anti-radicalaires peuvent avoir des effets délétères (**Birben et al., 2012; Liguori et al., 2018**).

Mes résultats montrent que les extraits d'ultrason à 1µM/l, de macération entre 10µM/l et 50µM/l, d'infusion entre 25µM/l et 100µM/l et de décoction à 25µM/l de parche de café provoquent une augmentation significative de la prolifération cellulaire comparée à la prolifération basale, qui sont en accord avec ceux de (**Reza et al., 2016**) qui ont montré que l'extrait du safranal au concentration de (0.1-0.5-1mM) provoque une augmentation significative de la prolifération des lymphocytes T. Par contre la prolifération lymphocytaire est diminuée significativement en présence des autres concentrations de ces extraits.

Ces résultats sont en accord avec ceux de (**Boskabady et al., 2011**) qui ont montré que l'extrait de macération de pétale de safran entre 25 et 50 provoquent une inhibition de la prolifération des cellules sanguines mononucléaires périphérique et des lymphocytes T avec une inhibition de la sécrétion des cytokines (INFγ et IL10).

D'une part, les teneurs en protéines carbonylées représentent le marqueur le plus couramment utilisé de l'oxydation des protéines. D'après les observations, elles sont augmentées aux concentrations de 1µM/l à 50µM/l d'extrait d'ultrason, à 1µM/l et 100 µM/l d'extrait de macération, à 1µM/l et 50µM/l d'extrait d'infusion et entre 1-25µM/l d'extrait de décoction de parche de café.

D'autre part, le taux élevé du MDA reflète un stress oxydatif portant notamment sur l'oxydation des lipides (**Delattre et al., 2005**). Les constats de l'étude ont montré que les concentrations en MDA sont significativement augmentées à 1 µM/l d'extrait d'ultrason, à 1 µM/l d'extrait de macération et de 1µM/l jusqu'à 25µM/l d'extrait de décoction comparées à la prolifération basale. Ces résultats sont en faveur de la présence d'un stress oxydant évident dû à la capacité de ce radical synthétique à générer des radicaux libres portant notamment sur l'oxydation des lipides ce qui augmente le taux de MDA.

Par ailleurs, en présence d'extrait d'infusion les teneurs en MDA diminuent d'une manière de dose dépendante, ce qui favorise une inhibition de la peroxydation lipidique limitant ainsi la production du MDA.

En outre, les marqueurs de la défense antioxydante, nous avons mesuré le taux de glutathion réduit ; ce marqueur est un réducteur efficace. Il joue un rôle important dans une variété de processus de détoxification. Il neutralise les radicaux hydroxyles, qui sont considérés comme une source importante du stress oxydatif (**Patil et al., 2008**).

Les teneurs lymphocytaires en GSH augmentent en présence de chaque extrait aux différentes concentrations utilisées comparées aux proliférations basales. Ceci peut être expliqué par la capacité des cellules à réduire en masse le GSSG (glutathion oxydé) en GSH (glutathion réduit).

Il y a certaines études qui montrent que la supplémentation de l'alimentation ou l'administration orale d'extraits végétaux riches en poly-phénols corrige également la chute du taux de GSH (**Mustafa et al., 2006 ; Marquez et al., 2010**).

Et concernant l'activité de la catalase, elle révèle une augmentation en présence d'extrait d'ultrason à 100µM/l, d'extrait de macération et de décoction à 1µM/l et entre 50µM/l et 100 µM/l d'extrait d'infusion, en revanche elle provoque une diminution aux autres concentrations.

Conclusion générale

Le café est une plante formée de diverses parties anatomiques. Son traitement et sa récolte génèrent des grandes quantités de déchets qui sont généralement rejetées dans l'environnement causant des problèmes écologiques aux pays producteurs de café. Parmi les résidus résultants, nous sommes intéressés à la parche de café.

La parche de café est un sous-produit utilisé actuellement dans le monde entier, entant que nouveau produit à haute valeur ajoutée, qui peut être utilisé pour sa teneur en polyphénols, sa richesse en fibres alimentaires et ses propriétés bénéfiques pour la santé.

Dans ce travail, on s'est intéressé à l'étude des activités biologiques in vitro des extraits de la parche de café dans le but de contribuer à sa valorisation. Cette étude est pionnière, démontrant que le parchemin a une capacité antioxydante.

Les résultats montrent que les extraits d'ultrason à $1\mu\text{M/l}$, de macération entre $10\mu\text{M/l}$ et $50\mu\text{M/l}$, d'infusion entre $25\mu\text{M/l}$ et $100\mu\text{M/l}$ et de décoction à $25\mu\text{M/l}$ de parche de café provoquent un effet immunostimulateur ; et il devient immuno-inhibiteur en présence d'autres concentrations.

En ce qui concerne les teneurs en malondialdéhydes sont augmentées aux concentrations $1\mu\text{M/l}$ d'extrait d'ultrason, à $1\mu\text{M/l}$ d'extrait de macération et de $1\mu\text{M/l}$ jusqu'à $25\mu\text{M/l}$ d'extrait de décoction comparées à la prolifération basale, elles sont diminuées aux autres concentrations. Au moment même, l'extrait d'infusion provoque une diminution des teneurs en MDA d'une manière dose dépendante.

Ensuite, les teneurs en protéines carbonylées sont augmentées aux concentrations de $1\mu\text{M/l}$ à $50\mu\text{M/l}$ d'extrait d'ultrason, à $1\mu\text{M/l}$ et $100\mu\text{M/l}$ d'extrait de macération, à $1\mu\text{M/l}$ et $50\mu\text{M/l}$ d'extrait d'infusion et entre $1-25\mu\text{M/l}$ d'extrait de décoction.

D'autre part, les teneurs lymphocytaires en GSH augmentent en présence de chaque extrait aux différentes concentrations utilisées comparées aux proliférations basales.

Et concernant l'activité de la catalase, elle révèle une augmente en présence d'extrait d'ultrason à $100\mu\text{M/l}$, d'extrait de macération et de décoction à $1\mu\text{M/l}$ et entre $50\mu\text{M/l}$ et $100\mu\text{M/l}$ d'extrait d'infusion, en revanche elle provoque une diminution à l'autre concentration.

En conclusion, les extraits de parche de café (ultrason, macération, infusion, macération) provoquent des effets immuno-stimulateurs et ou immuno-inhibiteurs d'une manière de dose dépendante avec une augmentation de la défense antioxydante.

Dans l'ensemble, cette étude permet de conclure que les extraits de parche de café, ont un effet inhibiteur sur les réactions en chaîne des radicaux libres, les propriétés antioxydantes du parchemin en confirmant que l'utilisation d'une plante en toute sécurité nécessite une connaissance non seulement de ses effets bénéfiques mais aussi des complications que peut engendrer son utilisation traditionnelle non contrôlée.

En effet, les résultats de ce travail semblent appréciables et encourageants, nous poussant à rechercher la bonne exploitation de la parche de café et son utilisation dans des domaines : médicinale, agroindustriel et cosmétique, au lieu de les jeter comme des déchets.

Je souhaite que ce travail ouvre des perspectives pour d'autres études plus approfondies afin de déterminer et purifier les molécules bioactives responsables des activités biologiques contenants dans le parchemin de café , en montrant leur mécanisme et leur mode d'action.

Références

A

- Aguilera, Y., Rebollo-Hernanz, M., Cañas, S., Taladrid, D., & Martín-Cabrejas, M. A. (2019). Response surface methodology to optimise the heat-assisted aqueous extraction of phenolic compounds from coffee parchment and their comprehensive analysis. *Food & Function*, 10(8), 4739-4750.
- Alimentarius, C. (2008). Report of the 30th session of the codex committee on nutrition and foods for special dietary uses. Cape Town, South Africa, 3–7 November 2008. In *ALINORM 09/32/26*.
- Alves, R. C., Rodrigues, F., Nunes, M. A., Vinha, A. F., & Oliveira, M. B. P. (2017). State of the art in coffee processing by-products. In *Handbook of coffee processing by-products* (pp. 1-26). Academic Press.
- Andrae-Marobela, K., Ghislain, F. W., Okatch, H., & Majinda, R. R. (2013). Polyphenols: a diverse class of multi-target anti-HIV-1 agents. *Current drug metabolism*, 14(4), 392-413.
- Anzueto, F., Baumann, T. W., Graziosi, G., Piccin, C. R., & van der Vossen, H. A. M. (2005). The plant. *Espresso Coffee. The Science of Quality*, 21-86.
- Azadmanesh, J., & Borgstahl, G. E. (2018). A review of the catalytic mechanism of human manganese superoxide dismutase. *Antioxidants*, 7(2), 25.

B

- Belitz, H. D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). Coffee, tea, cocoa. *Food chemistry*, 938-970.
- Benabdallah, H., 2015. Techniques d'extraction, de purification et de conservation. Université Ferhat Abbas de Sétif, p. 77.
- Benitez, V., Rebollo-Hernanz, M., Hernanz, S., Chantres, S., Aguilera, Y., & Martín-Cabrejas, M. A. (2019). Coffee parchment as a new dietary fiber ingredient: Functional and physiological characterization. *Food research international*, 122, 105-113.
- Bernini, R., Carastro, I., Santoni, F., & Clemente, M. (2019). Synthesis of lipophilic esters of tyrosol, homovanillyl alcohol and hydroxytyrosol. *Antioxidants*, 8(6), 174.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9-19.
- Blinová, L., Sirotiak, M., Bartošová, A., & Soldán, M. (2017). Utilization of waste from coffee production. *Research Papers Faculty of Materials Science and Technology Slovak University of Technology*, 25(40), 91-101.
- Bonomo, P., Cruz, C. D., Viana, J. M. S., Pereira, A. A., Oliveira, V. R. D., & Carneiro, P. C. S. (2004). Avaliação de progênies obtidas de cruzamentos de descendentes do Híbrido de Timor com as cultivares Catuaí Vermelho e Catuaí Amarelo. *Bragantia*, 63(2), 207-219.
- Boot, W. (2013). From the cherry to the green bean-post harvesting coffee processing. *Coffee Processing Handbook*, 173-192.
- Brando, C. H. (2004). Harvesting and green coffee processing. *Coffee: Growing, Processing, Sustainable Production: A Guidebook for Growers, Processors, Traders, and Researchers*, 604-715.
- Brezová, V., Šlebodová, A., & Staško, A. (2009). Coffee as a source of antioxidants: An EPR study. *Food Chemistry*, 114(3), 859-868.

C

- Campa, C., Doubeau, S., Dussert, S., Hamon, S., & Noirot, M. (2005). Diversity in bean caffeine content among wild *Coffea* species: evidence of a discontinuous distribution. *Food Chemistry*, *91*(4), 633-637.
- Chabaud M (2010). La caféine. Antenne Médicale de Prévention du Dopage. AMPD LR:1-3
- Chauhan, R., Hooda, M. S., & Tanga, A. A. (2015). Coffee: the backbone of Ethiopian economy. *International Journal of Economic Plants*, *1*(2), 82-86.

D

- Defraigne, J. O., & Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, *63*, 10-19.
- Delattre, J., Durand, G., & Jardillier, J. C. (2003). *Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaire*. Flammarion médecine-sciences.
- Del Castillo, M. D., Iriundo-DeHond, A., Fernandez-Gomez, B., Martinez-Saez, N., Rebollo-Hernanz, M., Martín-Cabrejas, M. A., & Farah, A. (2019). Coffee antioxidants in chronic diseases. In *Coffee* (pp. 20-56).
- Di Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P., & Victor, V. M. (2016). Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2016*.

E

- Echeverria, M. C., & Nuti, M. (2017). Valorisation of the residues of coffee agro-industry: perspectives and limitations. *The Open Waste Management Journal*, *10*(1).
- El-Agamey, A., Lowe, G. M., McGarvey, D. J., Mortensen, A., Phillip, D. M., Truscott, T. G., & Young, A. J. (2004). Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Archives of biochemistry and biophysics*, *430*(1), 37-48.
- Esquivel, P., & Jiménez, V.M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, *46*, 488–495.

F

- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, *331*(5), 372-379.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108.
- Favier, A. (2006, November). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.
- Fonseca-Garcia, L., Calderón-Jaimes, L. S., & Rivera, M. E. (2014). Antioxidant capacity and total phenol content in coffee and coffee by-products produced and marketed in norte de Santander (Colombia). *Vitae*, *21*(3), 228-236.

G

- George, S. E., Ramalakshmi, K., & Mohan Rao, L. J. (2008). A perception on health benefits of coffee. *Critical reviews in food science and nutrition*, *48*(5), 464-486.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, *48*(12), 909-930.

- Gómez-Ruiz, J. Á., Ames, J. M., & Leake, D. S. (2008). Antioxidant activity and protective effects of green and dark coffee components against human low density lipoprotein oxidation. *European Food Research and Technology*, 227(4), 1017-1024.

H

- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.
- Hébert, A., & Ammar-Khodja, P. (2003). Le café, des terroirs et des hommes
- Hennebelle, T., Sarpaz, S., & Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.
- Hennebelle, T. (2006). *Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants: Marrubium peregrinum, Ballota larendana, Ballota pseudodictamnus (Lamiacées) et Lippia alba (Verbenacées)* (Doctoral dissertation, Lille 1).
- Higdon, J. V., & Frei, B. (2006). Coffee and health: a review of recent human research. *Critical reviews in food science and nutrition*, 46(2), 101-123.

I

- ICO (2006). International coffee organization. International Reports. P:42
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293.
- Illy, A., & Viani, R. (Eds.). (2005). *Espresso coffee: the science of quality*. Academic Press.
- International Coffee Organization, 2017, <http://www.ico.org>.
- 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.

J

- Journal officiel de l'Union européenne (2008). Accord international de 2007 sur le café. 8p.

K

- Kamal-Eldin, A., & Appelqvist, L. Å. (1996). The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*, 31(7), 671-701.
- Khosravi, M., Poursaleh, A., Ghasempour, G., Farhad, S., & Najafi, M. (2019). The effects of oxidative stress on the development of atherosclerosis. *Biological chemistry*, 400(6), 711-732.
- Kraft, K., & Hobbs, C. (2004). *Pocket guide to herbal medicine*. Georg Thieme Verlag.

L

- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., ... & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*, 13, 757.

M

- Macagnan, F. T., da Silva, L. P., & Hecktheuer, L. H. (2016). Dietary fibre: The scientific search for an ideal definition and methodology of analysis, and its physiological importance as a carrier of bioactive compounds. *Food Research International*, 85, 144-154.

- Malash, A. M., Abdallah, D. M., Agha, A. M., & Kenawy, S. A. (2012). Gastroprotective efficacy of coenzyme Q10 in indomethacin-induced gastropathy: Other potential mechanisms. *Ulcers*, 2012.
- Marciano, F., & Vajro, P. (2017). Oxidative stress and gut microbiota. In *Gastrointestinal tissue* (pp. 113-123). Academic Press.
- Marín, L., Miguélez, E. M., Villar, C. J., & Lombó, F. (2015). Bioavailability of dietary polyphenols and gut microbiota metabolism: antimicrobial properties. *BioMed research international*, 2015.
- Martillo, M. A., Nazzal, L., & Crittenden, D. B. (2014). The crystallization of monosodium urate. *Current rheumatology reports*, 16(2), 400.
- Martini, D., Del Bo, C., Tassotti, M., Riso, P., Del Rio, D., Brighenti, F., & Porrini, M. (2016). Coffee consumption and oxidative stress: a review of human intervention studies. *Molecules*, 21(8), 979.
- Massaux, C. (2012). Polyphénols: des alliés pour la santé. *Abeilles & Cie*, 149, 4.
- Mercan, M. D. (2010). Le stress oxydatif. *Unilabs*. 53p.
- Mirón-Mérida, V. A., Yáñez-Fernández, J., Montañez-Barragán, B., & Huerta, B. E. B. (2019). Valorization of coffee parchment waste (*Coffea arabica*) as a source of caffeine and phenolic compounds in antifungal gellan gum films. *Lwt*, 101, 167-174.
- Muriel, P., & Arauz, J. (2010). Coffee and liver diseases. *Fitoterapia*, 81(5), 297-305.
- Mussatto, S. I., Machado, E. M., Martins, S., & Teixeira, J. A. (2011). Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food and Bioprocess Technology*, 4(5), 661.

N

- Naidu, M. M., Sulochanamma, G., Sampathu, S. R., & Srinivas, P. (2008). Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee. *Food Chemistry*, 107(1), 377-384.
- Nicoli, M. C., Anese, M., Manzocco, L., & Lericci, C. R. (1997). Antioxidant properties of coffee brews in relation to the roasting degree. *LWT-Food Science and Technology*, 30(3), 292-297.
- Ntwari, B. O., Kamwenubusa, E., Nduwayo, G., Snoeck, D., Ndishimiyimana, E., Nsabimana, G., ... & Niyungeko, T. (2017). Guide sur la gestion durable d'une exploitation caféicole au Burundi. Outil de formation des caféiculteurs.

P

- Parras, P., Martínez-Tomé, M., Jiménez, A. M., & Murcia, M. A. (2007). Antioxidant capacity of coffees of several origins brewed following three different procedures. *Food chemistry*, 102(3), 582-592.
- Petit, N. (2007). Ethiopia's coffee sector: A bitter or better future?. *Journal of Agrarian Change*, 7(2), 225-263.
- Pinard, F. (2007). Sur les chemins des caféiers. *Etudes rurales*, (180), 15-34.
- Pinon, A., & Godefroy, J. (1973). Utilisation des parches de café et coques de cacao en bananeraie.
- Prommajak, T., Surawang, S., & Rattanapanone, N. (2014). Ultrasonic-assisted extraction of phenolic and antioxidative compounds from lizard tail (*Houttuynia cordata* Thunb.). *Songklanakar Journal of Science and Technology*, 36, 65-72.

R

- Reis, R. S., Tienne, L. G., de HS Souza, D., Maria de Fátima, V. M., & Monteiro, S. N. (2020). Characterization of coffee parchment and innovative steam explosion treatment to

obtain microfibrillated cellulose as potential composite reinforcement. *Journal of Materials Research and Technology*.

- Rodick, T. C., Seibels, D. R., Babu, J. R., Huggins, K. W., Ren, G., & Mathews, S. T. (2018). Potential role of coenzyme Q 10 in health and disease conditions. *Nutrition and Dietary Supplements, 10*, 1-11.

S

- Savica, R., Grossardt, B. R., Bower, J. H., Ahlskog, J. E., & Rocca, W. A. (2013). Risk factors for Parkinson's disease may differ in men and women: an exploratory study. *Hormones and behavior, 63*(2), 308-314.
- Singh, A., Kukreti, R., Saso, L., & Kukreti, S. (2019). Oxidative stress: a key modulator in neurodegenerative diseases. *Molecules, 24*(8), 1583.
- Stalmach, A., Steiling, H., Williamson, G., & Crozier, A. (2010). Bioavailability of chlorogenic acids following acute ingestion of coffee by humans with an ileostomy. *Archives of Biochemistry and Biophysics, 501*(1), 98-105.
- Suhandy, D., & Yulia, M. (2017). Peaberry coffee discrimination using UV-visible spectroscopy combined with SIMCA and PLS-DA. *International journal of food properties, 20*(sup1), S331-S3390.

T

- Tajik, N., Tajik, M., Mack, I., & Enck, P. (2017). The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature. *European Journal of Nutrition, 56*(7), 2215-2244.

V

- Venkataraman, K., Khurana, S., & Tai, T. C. (2013). Oxidative stress in aging-matters of the heart and mind. *International journal of molecular sciences, 14*(9), 17897-17925.
- Vilela, D. M., Pereira, G. V. D. M., Silva, C. F., Batista, L. R., & Schwan, R. F. (2010). Molecular ecology and polyphasic characterization of the microbiota associated with semi-dry processed coffee (*Coffea arabica* L.). *Food Microbiology, 27*(8), 1128-1135.
- Vinícius de Melo Pereira, G., Soccol, V. T., Brar, S. K., Neto, E., & Soccol, C. R. (2017). Microbial ecology and starter culture technology in coffee processing. *Critical reviews in food science and nutrition, 57*(13), 2775-2788.

W

- Whiteman, M., Ketsawatsakul, U., & Halliwell, B. (2002). A reassessment of the peroxynitrite scavenging activity of uric acid. *Annals of the New York Academy of Sciences, 962*(1), 242-259.

Y

- Yapo, A., Charmetant, P., Legnaté, H., Konan, A., Aidara, S., Bonsson, B., ... & Kéli, J. (2017). Evaluation de la fertilité femelle des arabusta par le niveau de ploïdie et les générations d'hybrides. *Agronomie Africaine, 29*(3), 217-225.

Z

- Zou, Y., Qian, Z. J., Li, Y., Kim, M. M., Lee, S. H., & Kim, S. K. (2008). Antioxidant effects of phlorotannins isolated from *Ishige okamurae* in free radical mediated oxidative systems. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 56(16), 7001-7009.

Annexes

C	PB	Con A	1	10	25	50	100
IP%	100	110,28938	128,77813	108,03858	109,00321	89,710610	99,8392
ECART	0,027537	0,0136504	0,0077781	0,0084852	0,0141421	0,0098994	0,01343
A1: Indice de prolifération des lymphocytes en présence de l'extrait d'ultrason							
IP%	100	110,28938	91,639871	136,49517	149,51768	142,76527	113,826
ECART	0,027537	0,0136504	0,0056568	0,0190918	0,0791959	0,0424264	0,00141
A2: Indice de prolifération des lymphocytes en présence de l'extrait de macération							
IP%	100	110,28938	82,475884	101,76848	128,29582	122,99035	139,871
ECART	0,027537	0,0136504	0,0063639	0,0091923	0,0183847	0,0134350	0,06081
A3: Indice de prolifération des lymphocytes en présence de l'extrait d'infusion							
IP%	100	110,28938	94,051446	92,122186	116,72025	104,18006	99,8392
ECART	0,027537	0,0136504	0,0077781	0,0021213	0,0325269	0,0381837	0,00070
A4: Indice de prolifération des lymphocytes en présence de l'extrait de décoction							
[MDA]	4,935897	5,6410256	11,153846	10,032051	9,6474358	9,0384615	6,69871
ECART	0,000906	0,000906	0,0009065	0,0004532	0,0004532	0,0009065	0,00135
A5: Teneurs cellulaires en MDA en présence de l'extrait d'ultrason de parche de café							
[MDA]	4,935897	5,6410256	7,7243589	7,0833333	6,2820512	5,4166666	6,76282
ECART	0,000906	0,0009065	0,0013598	0,0004532	0,0018130	0,0004532	0,00045
A6: Teneurs cellulaires en MDA en présence de l'extrait de macération de parche de café							
[MDA]	4,935897	5,6410256	7,3717948	6,3141025	6,6346153	10,544871	5,70512
ECARTY	0,000906	0,0009065	0,0027196	0,0022663	0,0004532	0,0330889	0,00362
A7: Teneurs cellulaires en MDA en présence de l'extrait d'infusion de parche de café							
[MDA]	4,935897	5,6410256	5,3846153	5,7371794	5,8333333	5,2564102	5
ECART	0,000906	0,0009065	0	0,0004532	0,0036261	0,000906	0,00181
A8: Teneurs cellulaires en MDA en présence de l'extrait de décoction de parche de café							
[CAT]	10,38	8,4	9	6,45	8,1	9,09	11,52
ECART	1,612203	1,7819090	1,6122034	1,4000714	1,6122034	1,5697770	1,10308
A9: Teneurs cellulaires en CAT en présence de l'extrait d'ultrason de parche de café							
[CAT]	10,38	8,4	11,16	8,22	7,14	7,83	8,31
ECART	1,612203	1,7819090	1,7819090	1,4424978	1,3576450	1,4849242	1,40007
A10: Teneurs cellulaires en CAT en présence de l'extrait de macération de parche de café							
[CAT]	10,38	8,4	7,44	7,5	14,25	20,07	22,65
ECART	1,612203	1,7819090	1,2727922	1,6122034	1,9091883	1,9091883	1,99404
A11: Teneurs cellulaires en CAT en présence de l'extrait d'infusion de parche de café							
[CAT]	10,38	8,4	11,43	9,33	9,27	6,72	8,04
ECART	1,612203	1,7819090	1,6546298	1,4000714	1,2303658	1,4424978	1,01823

<i>A12: Teneurs cellulaires en CAT en présence de l'extrait de décoction de parche de café</i>							
[GSH]	1,908088	2,9080882	2,8492647	2,4926470	2,9963235	2,3676470	2,99632
ECART	0,000363	0,0001559	5,1993	0,0001039	5,19931	0	5,19931
<i>A13: Teneurs cellulaires en GSH en présence de l'extrait d'ultrason de parche de café</i>							
[GSH]	1,908088	2,9080882	2,6838235	2,6764705	3,4154411	2,4852941	2,73529
ECART	0,000363	0,0001559	0,0011438	0,000415	5,19931	0,0001039	0,00010
<i>A14: Teneurs cellulaires en GSH en présence de l'extrait de macération de parche de café</i>							
[GSH]	1,908088	2,9080882	2,9338235	3,3848039	3,0919117	3,1102941	3,54411
ECART	0,000362	0,0001559	0,0005199	0,0001559	5,19931	0,0001039	0,00010
<i>A15: Teneurs cellulaires en GSH en présence de l'extrait d'infusion de parche de café</i>							
[GSH]	1,908088	2,9080882	2,9375	2,6078431	3,4742647	2,6544117	2,5625
ECART	0,000363	0,0001559	5,1993	0,0004679	5,19931	0,0001039	0,00015
<i>A16: Teneurs cellulaires en GSH en présence de l'extrait de décoction de parche de café</i>							
MOY							
PCAR	0,280465	0,3209302	0,3413953	0,1418604	0,1402325	0,2005814	0,42069
ECART	0,001669	0,0020823	0,0025	0,0019456	0,0016692	0,0020823	0,00166
<i>A17: Teneurs cellulaires en PTCA en présence de l'extrait d'ultrason de parche de café</i>							
MOY							
PCAR	0,280465	0,3505814	0,5609302	0,4908139	0,4206976	0,3505814	0,31552
ECART	0,001669	0,0020865	0,0033384	0,0029211	0,0025038	0,0020865	0,00187
<i>A18: Teneurs cellulaires en PTCA en présence de l'extrait de macération de parche de café</i>							
MOY							
PCAR	0,280465	0,3505814	0,5188604	0,7362209	0,7067720	0,6310465	0,35058
ECART	0,001669	0,0020865	0,0030881	0,0025038	0,0028043	0,0041731	0,00208
<i>A19: Teneurs cellulaires en PTCA en présence de l'extrait d'infusion de parche de café</i>							
MOY							
PCAR	0,280465	0,3155232	0,3169255	0,3365581	0,3449720	0,3113162	0,30570
ECART	0,001669	0,0018779	0,0018862	0,0020030	0,0020531	0,0018528	0,00181
<i>A20: Teneurs cellulaires en PTCA en présence de l'extrait de décoction de parche de café</i>							

Appareillages utilisés

Lecteur de Microplaque	Plaques ELISA
Agitateur électromagnétique	Mortier en porcelaine
Balance de précision	Agitateur électromagnétique
Micropipettes	Lecteur de Microplaque
Spectrophotomètre	Eprouvettes
Eppendorfs	Spatules
Tube avec héparine	Béchers
Réfrigérateur.	Tubes à essais
Erlenmeyers	Etuve
Entonnoirs	Incubateur

Produits utilisés

Bleu de trypan($C_{34}H_{28}N_6O_{14}S_4$)
DMSO (C_2H_6OS)
Con A (concanavaleine A)
Tampon HEPES ($C_8H_{18}N_2O_4S$)
L-Glutamine $C_5H_{10}N_2O_3$
2-mercaptoethanol (C_2H_6OS)
Pénicilline ($C_{10}H_{13}N_2O_4S - R$)
Treptomycine $C_{21}H_{39}N_7O_{12}$
Phosphate de potassium KH_2PO_4