

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



Laboratoire :

Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique



MÉMOIRE

Présenté par :

BOUAZZI Wafaa Nor El Takwa

YAZID Douaa Karima

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER

Domaine : SNV

Filière : Agronomie

Spécialité : Agroalimentaires et Contrôle de la Qualité AACQ

Thème :

**Évaluation de quelques activités biologiques de
poudre de cacao**

Soutenu le 25 juin, devant le jury composé de :

| | | | |
|--------------|----------------------|-----|-----------------------|
| Présidente | Dr. GHANEMI Fatima | MCA | Université de Tlemcen |
| | Zohra | | |
| Examinatrice | Dr. MEZIANE Kaouthar | MCA | Université de Tlemcen |
| | Radja | | |
| Encadrante | Dr. ADIDA Houria | MCA | Université de Tlemcen |

Année universitaire 2024-2025

Remerciement

Nous tenons à exprimer notre sincère gratitude à **Madame ADIDA Houria**, Maître de conférences A au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Tlemcen, pour avoir accepté de diriger ce travail.

Nous lui sommes profondément reconnaissantes pour sa bienveillance, son accompagnement précieux, la pertinence de ses conseils, ainsi que pour son écoute attentive et son engagement tout au long de cette étude.

Nous remercions également **Madame GHANEMI Fatima Zohra**, Maître de conférences A au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Tlemcen, pour avoir accepté de présider le jury de soutenance.

Nous lui sommes reconnaissantes pour le temps qu'elle a bien voulu consacrer à l'évaluation de notre travail.

Nous exprimons notre sincère gratitude à **Madame MEZIANE Kaouthar Radja**, pour avoir eu la gentillesse et l'honneur d'accepter d'examiner ce manuscrit et d'évaluer notre travail.

Nous tenons également à remercier toute l'équipe du laboratoire pour leurs conseils, leur disponibilité et leur précieuse aide tout au long de notre travail.

Enfin, nous adressons nos remerciements les plus sincères à **Monsieur YAZID Amine** pour toute l'aide qu'il nous a apportée, ainsi que pour sa disponibilité et son soutien tout au long de ce travail.

Dédicaces

Avant toute chose, je rends grâce à Allah, Le Très-Haut, Le Sage, Le Miséricordieux, qui m'a accordé la force, la patience et les moyens d'aller au bout de ce travail. Sans Sa volonté, rien n'aurait été possible.

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents, Abdelhak et Habiba, pour leur amour inconditionnel, leurs sacrifices, leurs prières et leur soutien sans faille tout au long de ma vie. Que Dieu vous protège et vous récompense pour tout ce que vous avez fait pour moi.

À mes sœurs, Bouchra et Sarah, merci pour votre tendresse, votre présence et vos encouragements constants, qui ont été une source de réconfort dans les moments difficiles.

À mes fidèles amies, pour leur écoute, leur gentillesse et leurs encouragements, que Dieu vous comble de Ses bienfaits.

À toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Et tout particulièrement à ma binôme et amie Douaa, pour sa précieuse collaboration, sa bienveillance, sa patience et son sérieux tout au long de ce parcours. Qu'Allah vous bénisse et vous accorde la réussite dans tout ce que vous entreprenez.

WAFAA

Dédicaces

À l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie,

J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie

Ma mère Yazid Yamina qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donnée confiance, courage et sécurité.

À la source de ma volonté à mon chère père Yazid Abdallah qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements.

À ma sœur Halima

À mes frères : amine et mohamed

*À la joie et le bonheur de ma vie Montemagni rayan « merci pour
Votre soutien et ta présence toujours à mes côtés »*

À Monsieur Yazid Amine, pour son soutien constant et ses encouragements tout au long de mon parcours universitaire.

À ma tante Yazid Khadidja, qui m'a accueillie chez elle avec bienveillance et générosité durant toutes mes années d'études. Qu'Allah la récompense pour sa bonté et sa patience.

À ma binôme et amie Wafaa, pour sa collaboration précieuse, sa gentillesse, sa patience et son engagement tout au long de ce parcours. Qu'Allah la comble de Ses bienfaits et lui accorde la réussite dans tous ses projets

DOUAA

ركز عملنا الاختبارات الكيميائية النباتية وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا ومضادات الأكسدة للمستخلصات المائية والهيدروميثانولية من مسحوق الكاكاو (*Theobroma cacao*). أبرزت دراستنا الكيميائية النباتية وجود العديد من المركبات الثانوية: الفلافونويدات، العفص، القلويدات، التربينات، الكينونات، الصابونين والمركبات المختزلة. وكشفت التحاليل أن المستخلصات تحتوي على تركيز عال من البوليفينول والفلافونويد، مع إظهار المستخلص الهيدروميثانولي مستويات أعلى، مما يمثل منظورًا علاجيًا مواتيًا. نشاطًا قويًا مضادًا للأكسدة، وخاصة في FRAP و DPPH أظهر تقدير قدرة مضادات الأكسدة من خلال طرق المستخلص الهيدروميثانولي، الذي تتجاوز إمكاناته إمكانات حمض الأسكوربيك المستخدم كمعيار. أظهر التحليل المضاد للبكتيريا الذي تم إجراؤه على أربع سلالات (جرام+ وجرام-) تأثيرًا متواضعًا ولكنه إيجابي للمستخلصات، وخاصة فيما يتعلق بسلالات جرام+.

وتظهر لنا نتائج هذا العمل أن مسحوق الكاكاو يتمتع بخصائص بيولوجية ملحوظة، وخاصة مضادات الأكسدة ومضادات للبكتيريا، وهو ما قد يفسر استخدامه المحتمل في القطاعات الدوائية والتغذية ومستحضرات التجميل.

الكلمات المفتاحية:

الفلافونويدات، البوليفينول، مضادات الأكسدة، مضادات البكتيريا، المستخلص الهيدروميثانولي مائي

. *Theobroma cacao* FRAP DPPH

Résumé

Notre travail consacré à les tests phytochimique et sur l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits aqueux et hydrométhanolique issus de la poudre de cacao (*Theobroma cacao*).

Les tests phytochimique a mis en évidence l'existence de divers métabolites secondaires : les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les terpènes, les quinones, les saponines et les composés réductrices. Les analyses ont révélé que les extraits contiennent une concentration élevée en polyphénols totaux et flavonoïdes, l'extrait hydrométhanolique montre des niveaux supérieurs, ce qui représente une perspective thérapeutique favorable.

L'estimation de la capacité antioxydante via les méthodes DPPH et FRAP a montré une forte activité antioxydante, surtout dans l'extrait hydrométhanolique, dont le potentiel dépasse celui de l'acide ascorbique utilisé comme standard.

L'analyse antibactérienne effectuée sur quatre souches (Gram⁺ et Gram⁻) a révélé un impact modeste, mais favorable des extraits, notamment en ce qui concerne les souches Gram⁺.

Les résultats de ce travail nous attestent que la poudre de cacao présente des caractéristiques biologiques notables, particulièrement antioxydantes et antibactérienne, qui pourraient expliquer son utilisation potentielle dans les secteurs pharmaceutique, nutritionnel et cosmétique.

Mots clés : *Theobroma cacao*, flavonoïdes, polyphénols totaux, antioxydant, antibactérien, extrait hydrométhanolique, aqueux, DPPH, FRAP.

Abstract

Our work focused on phytochemical tests and the evaluation of the antibacterial and antioxidant activity of aqueous and hydromethanolic extracts from cocoa powder (*Theobroma cacao*).

The phytochemical study revealed the presence of various secondary metabolites: flavonoids, tannins, alkaloids, terpenes, quinones, saponins, and reducing compounds. The analyses revealed that the extracts contain a high concentration of polyphenols and flavonoids, with the hydromethanolic extract showing higher levels, representing a favorable therapeutic prospect. Estimation of antioxidant capacity using DPPH and FRAP methods revealed strong antioxidant activity, especially in the hydromethanolic extract, whose potential exceeds that of ascorbic acid used as a standard.

Antibacterial analysis performed on four strains (Gram⁺ and Gram⁻) revealed a modest but favorable impact of the extracts, particularly with regard to the Gram⁺ strains. The results of this work demonstrate that cocoa powder exhibits notable biological properties, particularly antioxidant and antibacterial properties, which could explain its potential uses in the pharmaceutical, nutritional, and cosmetic sectors.

Keywords: *Theobroma cacao*, flavonoids, polyphenols, antioxidant, antibacterial, hydromethanolic extract, aqueous extract, DPPH, FRAP.

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|---|----|
| <i>Remerciement</i> | |
| ملخص | |
| Résumé | |
| Abstract | |
| TABLE DES MATIÈRES | |
| Liste des tableaux | |
| Liste des figures | |
| Liste des abréviations | |
| Introduction générale | |
| Partie 01 : Synthèse bibliographique | 1 |
| Chapitre 1 | 2 |
| Stress oxydatif | 3 |
| 2. Radicaux libres | 4 |
| 3. Les espèces réactives de l’oxygène (ERO) : | 5 |
| 4. Sources des radicaux libres | 5 |
| Chapitre 2 : | 7 |
| Maladies infectieuses | 7 |
| 1. Généralité | 8 |
| 2. Les antibiotiques | 8 |
| 3. Lien entre les maladies infectieuses et le stress oxydatif | 10 |
| Chapitre 3 : | 11 |
| Métabolites secondaires | 11 |
| 1. Plantes médicinales | 12 |
| 1.1 Définition | 12 |
| 2. Métabolites secondaires | 13 |
| 2.1. Généralité | 13 |
| 2.2 Classifications des métabolites secondaires | 13 |
| 2.2.1. Les composés phénoliques | 13 |
| 2.2.4 Les coumarines | 15 |
| 2.2.5 Les quinones | 16 |
| 2.2.6 Les terpénoïdes | 17 |
| 2.2.7 Les saponosides | 17 |
| 2.2.8. Les alcaloïdes | 17 |

| | |
|--|----|
| Chapitre 4: | 18 |
| Plante d'étude | 18 |
| 1. Historique..... | 20 |
| 2. Origine..... | 21 |
| 3. Les différentes variétés de cacaoyers | 22 |
| 3.1. Criollo | 22 |
| 3.2. Forastero | 23 |
| 3.3. Trinitario..... | 23 |
| 4. Culture de cacao..... | 24 |
| 4.1. Écologie et agronomie du cacao | 24 |
| 4.2. Production et principaux pays producteur | 25 |
| 4.3. Technique de culture le cacao | 26 |
| 4.3.1. Les cabosses | 26 |
| 4.3.2. Écabossage et extraction | 26 |
| 4.3.4. Séchage | 27 |
| 5. Utilisation de cacao | 27 |
| 6. Effets du cacao sur la santé..... | 29 |
| 7. Travaux antérieurs | 30 |
| Partie 02 : Matériel et méthodes | 31 |
| 1.Matériel végétal | 32 |
| 2. Extraction du matériel végétal..... | 33 |
| 2.1. Préparation de l'extrait aqueux : | 33 |
| 2.2. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique : | 34 |
| 3. Calcul du rendement..... | 34 |
| 4. Les tests phytochimiques | 35 |
| 4.1. Les alcaloïdes : | 35 |
| 4.2. Les tanins :..... | 35 |
| 4.3. Les flavonoïdes :..... | 35 |
| 4.4. Anthraquinones :..... | 35 |
| 4.5. Les quinones libres : | 35 |
| 4.6. Terpénoïdes (test de Laskowski) :..... | 36 |
| 4.7. Les saponines : | 36 |
| 4.8. Les composés réducteurs :..... | 36 |
| 5. Dosage des polyphénols totaux..... | 36 |
| 6. Dosage des flavonoïdes | 37 |

| | |
|--|-----------|
| 7. Évaluation de l'activité antioxydante | 39 |
| 7.1. Détermination de l'activité antioxydante par le test de piégeage du radical libre DPPH..... | 39 |
| 8.2 La méthode de diffusion sur gélose :..... | 44 |
| 8.3 Préparation de suspensions bactériennes :..... | 44 |
| 8.4 Ensemencement des boîtes : | 44 |
| 8.5 Dépôt des disques | 44 |
| Partie 03 : Résultats et interprétation..... | 46 |
| 1. Analyse phytochimique | 47 |
| 1.1. Rendement des extraits de poudre de cacao | 47 |
| 1.2 Criblage phytochimique | 47 |
| 1.3. Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes..... | 48 |
| 2. L'activité antioxydante..... | 50 |
| 2.1. Piégeage du radical libre DPPH | 50 |
| 3. L'activité antibactérienne | 55 |
| 3.1 Méthode de diffusion sur milieu gélose | 55 |
| Partie 04 : Discussion | 57 |
| Partie 05 : Conclusion et perspectives..... | 62 |
| Références bibliographiques..... | 64 |

Liste des tableaux

| | | |
|-------------------|--|-----------|
| Tableau 1 | Principales sources des ROS..... | 06 |
| Tableau 2 | Les attributs majeurs des antibiotiques, leurs mécanismes d'action et les effets secondaires..... | 09 |
| Tableau 3 | Les 7 principaux pays producteurs de cacao pour l'année 2019/2020... | 26 |
| Tableau 4 | Les effets bénéfiques du cacao sur la santé humaine..... | 29 |
| Tableau 5 | Les bactéries utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne..... | 43 |
| Tableau 6 | Rendement (%) des extraits obtenus par macération..... | 47 |
| Tableau 7 | Résultat de l'analyse phytochimique réalisé sur les extraits de poudre de cacao..... | 48 |
| Tableau 8 | Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes des extraits de poudre de cacao..... | 51 |
| Tableau 9 | Les valeurs d'IC ₅₀ des extraits de poudre de cacao avec la molécule de référence..... | 52 |
| Tableau 10 | Les valeurs d'EC ₅₀ des extraits aqueux et hydrométhanolique avec la molécule de référence (l'acide ascorbique) | 54 |
| Tableau 11 | Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits testés vis-à-vis les différentes souches bactériennes..... | 55 |

Liste des figures

| | | |
|------------------|---|-----------|
| Figure 1 | Une illustration de déséquilibre oxydant / antioxydant | 04 |
| Figure 2 | Schéma de la formation des radicaux libres | 05 |
| Figure 3 | Classification de métabolites secondaires | 13 |
| Figure 4 | Différentes classes des composés phénoliques | 14 |
| Figure 5 | Structure générale d'un flavonoïde | 15 |
| Figure 6 | Les structures moléculaires caractéristiques des tanins..... | 15 |
| Figure 7 | La base structurelle des coumarines..... | 16 |
| Figure 8 | Structure de base des quinones..... | 16 |
| Figure 9 | Structure chimique d'une saponine | 17 |
| Figure 10 | La structure des alcaloïdes La caféine la famille des méthylxanthines..... | 18 |
| Figure 11 | Le cacaoyer..... | 22 |
| Figure 12 | Les différentes variétés de cacaoyers..... | 24 |
| Figure 13 | Présenté principales zones de production et d'origine du cacao dans le monde..... | 25 |
| Figure 14 | Étapes de fabrication du chocolat et de la poudre de cacao..... | 28 |
| Figure 15 | Poudre de cacao - Plein Arôme 22-24% - poudre - 5kg | 32 |
| Figure 16 | Protocole de préparation de l'extrait aqueux..... | 33 |
| Figure 17 | Protocole de préparation de l'extrait hydrométhanolique..... | 34 |
| Figure 18 | Protocole utilisé pour le dosage des polyphénols totaux..... | 37 |
| Figure 19 | Protocole utilisé pour le dosage des flavonoïdes..... | 38 |
| Figure 20 | Réduction du DPPH par un antioxydant..... | 39 |
| Figure 21 | Protocole suivi pour l'évaluation de l'activité anti-radicalaire du DPPH... | 40 |
| Figure 22 | Évaluation de l'activité antioxydante par le test FRAP..... | 41 |
| Figure 23 | Protocole suivi pour l'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode FRAP..... | 42 |

| | | |
|------------------|--|-----------|
| Figure 24 | Courbe étalon de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux..... | 49 |
| Figure 24 | Courbe étalon de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux. | 49 |
| Figure 25 | Courbe étalon de catéchine pour le dosage des flavonoïdes..... | 49 |
| Figure 26 | Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de différentes concentrations de l'acide ascorbique..... | 51 |
| Figure 27 | Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de différentes concentrations de l'extrait aqueux..... | 51 |
| Figure 28 | Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique..... | 52 |
| Figure 29 | Pouvoir de réduction de fer par l'acide ascorbique..... | 53 |
| Figure 30 | Pouvoir réducteur du fer par de l'extrait Aqueux..... | 53 |
| Figure 31 | Pouvoir réducteur du fer par de l'extrait hydrométhanolique..... | 54 |

Liste des abréviations

| | |
|------------------------|--|
| ATCC | American Type Culture Collection |
| ADN | Acide Désoxyribonucléique |
| CRP | C-Reactive Protein |
| DPPH | 2-2-diphénylepicécyldrazyl |
| DMSO | Diméthylsulfoxyde |
| EC₅₀ | Concentration efficace à 50% |
| ERO | Espèces réactives de l'oxygène |
| FRAP | Ferric reducing antioxidant power |
| GEN | Gentamicine |
| IC₅₀ | Concentration permettant d'inhiber 50% du radical DPPH |
| IV | Intraveineux |
| Mg/mL | Milligramme par millilitre |
| MDA | Malondialdéhyde |
| PLP | Protéine liant les peptides |
| RLs | Les radicaux libres |
| SMET | Syndrome Métabolique |
| SJS | Syndrome de Stevens-Johnson |
| µg Eq AG/mg ES | Microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait sec. |
| µg Eq C/mg ES | Microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec. |

Introduction générale

Le cacao, issu des fèves de l'arbre *Theobroma cacao L.*, joue un rôle important dans les secteurs agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Le cacao, qui trouve ses origines en Amérique centrale et du Sud dans les zones tropicales, est traditionnellement apprécié pour sa saveur spécifique. Toutefois, il provoque également un intérêt élevé en raison de ses caractéristiques fonctionnelles. Son activité antioxydante a particulièrement attiré l'attention au cours des dernières décennies, surtout dans le contexte de la prévention des maladies chroniques associées au stress oxydatif (**Katz D. L et al., 2011**).

Le stress oxydatif, qui se caractérise par une dégradation entre la génération de radicaux libres et les processus de défense antioxydants de l'organisme, représente un élément crucial essentiel dans l'émergence de différentes maladies, y compris les troubles cardiovasculaires, les cancers, le diabète, les maladies neurodégénératives et le vieillissement prévenu (**Lobo, V., et al., 2010**).

Dans ce cadre, nous sommes intéressés à analyser les antioxydants alimentaires pour leur potentiel à capturer ou neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et à augmenter les défenses internes.

Le cacao est un des aliments les plus enrichis en polyphénols et flavonoïdes, qui participent à sa forte capacité antioxydante (**Higdon, J & Frei, B. 2003**). De plus, diverses recherches ont prouvé que l'extrait de cacao possède une puissance antioxydante plus forte que celle de nombreux fruits et légumes populaires (**Lee, K. W., et al. 2003**).

Toutefois, plusieurs facteurs peuvent considérablement influencer la composition phénolique du cacao par extension, son activité antioxydante, ainsi que le type de cacao (Forastero, Criollo, Trinitario), les conditions agro-écologiques, et les procédés post-récolte comme la fermentation, le séchage, la torréfaction et l'alcalinisation. Bien que essentielles pour le développement des saveurs du chocolat, ces étapes peuvent provoquer des pertes notables en composés phénoliques (**Wollgast, J., & Anklam, E. 2000**).

Ce travail est divisé en deux parties : la première partie porte sur l'étude bibliographique sur les différentes parties du thème, la seconde partie est consacré à l'expérimentation, qui devise en quatre volets :

1. Le criblage phytochimique des différentes familles des métabolites secondaires.
2. Quantifier sa composition en polyphénols totaux et flavonoïdes.
3. Évaluation du pouvoir antioxydant du cacao par des méthodes *in vitro* : DPPH et FRAP.
4. Tester l'activité antibactérienne, par la méthode d'aromatogramme.

Partie 01 : Synthèse bibliographique

Chapitre 1

Stress oxydatif

1. Généralité :

Le stress oxydatif représente un déséquilibre entre la production de radicaux libres (espèces réactives de l'oxygène, ou ROS) et la capacité du corps à les neutraliser via ses mécanismes antioxydants. Ce déséquilibre peut provoquer des dommages cellulaires et est associé à l'émergence de diverses pathologies chroniques (Sies, H, 2015) (Figure 1).

Le stress oxydatif provient de l'interaction de divers facteurs internes et externes. Parmi les facteurs internes, on peut citer la production naturelle de radicaux libres (ROS) au cours de la respiration cellulaire, l'inflammation persistante et les anomalies au niveau des mitochondries (Eurofins Biomnis.,2023). Et parmi les facteurs externes, on retrouve l'exposition aux polluants environnementaux, aux rayons ultraviolets, le tabagisme, la consommation d'alcool en excès et des régimes alimentaires carencés (Lushchak,VI., 2014).

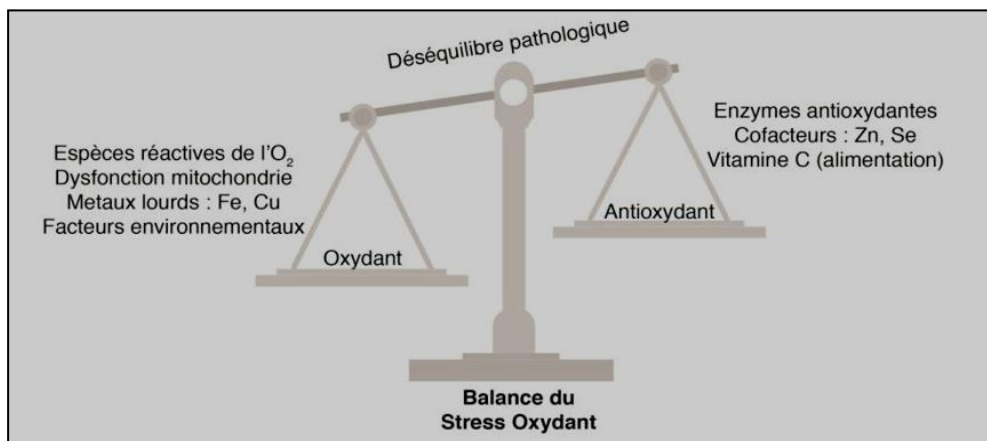


Figure 1:Une illustration de déséquilibre oxydant / antioxydant (Garrel, C., Bigard, X., 2017).

2. Radicaux libres

Un radical libre est une variété chimique qui possède un ou multiples électrons non appariés (célibataire) sur sa couche externe qui va créer des orbitales semi-remplies. L'existence d'un électron non apparié confère à ces molécules une instabilité considérable, ce qui signifie qu'elles sont extrêmement réactives et leur longévité est courte (Halliwell, B., et al., 2015) (Figure 2).

Pour retrouver la source de stabilité, le radical libre « attaque » d'autres atomes et leur « sépare » ce précieux électron manquant ; cet atome spolié devient alors un radical libre.

Il existe de nombreuses variétés de radicaux libres, les principaux étant : l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), l'oxyde nitrique (NO^{\bullet}).

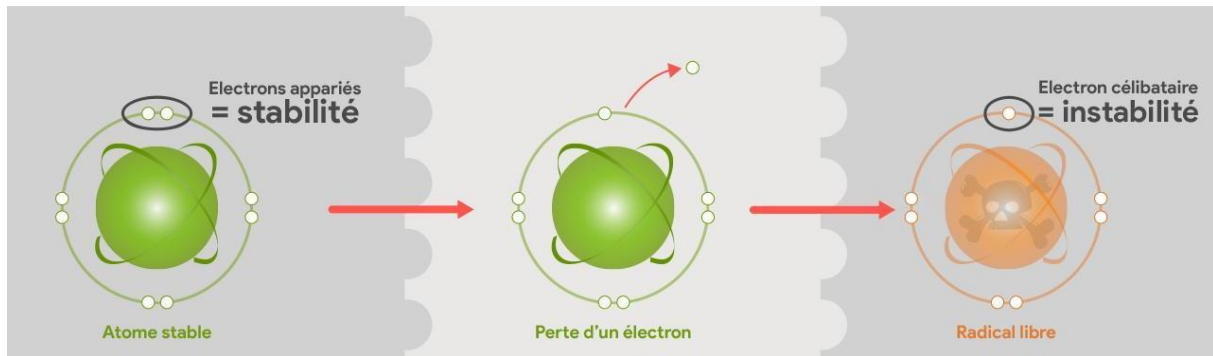


Figure 2:Schéma de la formation des radicaux libres (Gosse, A., 2020)

3. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) :

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) ont longtemps été considérées comme des sous-produits toxiques du métabolisme cellulaire, capables d'endommager les constituants essentiels tels que les protéines, les lipides et l'ADN. Leur aptitude à modifier les structures biologiques les rend participant à diverses pathologies, y compris les maladies neurodégénératives, cardiovasculaires et certains types de cancers. Cependant, cette perception exclusivement nuisible des ERO a connu une évolution. On reconnaît maintenant que, lorsqu'elles sont générées en quantités maîtrisées, les ERO ont un rôle physiologique clé. Elles jouent un rôle dans la régulation de la division cellulaire, l'apoptose, l'équilibre redox à l'intérieur des cellules et l'expression des gènes. De ce fait, les ERO sont aussi considérées comme des intermédiaires essentiels dans la signalisation cellulaire, participant de manière proactive à la préservation de l'homéostasie cellulaire (Sies,H & Jones, D.P. 2020).

4. Sources des radicaux libres

Afin de mieux comprendre l'origine des espèces réactives de l'oxygène (ERO), le **Tableau 1** suivant présente les principales sources de leur production dans les cellules. Ces sources peuvent être d'origine endogène, liées au métabolisme cellulaire normal, ou exogène, résultant de facteurs environnementaux ou comportementaux.

Tableau 1 : Principales sources des ROS (Durackova Z et al., 2008)

| Source exogène | Source endogène |
|---------------------------------|-----------------------------------|
| Radiation ionisantes | NADPH Oxydases |
| Chimiothérapie | Xanthine Oxydase |
| Cytokine pro- inflammatoire | Chaîne respiratoire mitochondrial |
| Radiation UV | Athérogénèse |
| Agents toxique environnementaux | Phagocytes |
| Champs électriques | Lipo-Oxygénase |
| Xénobiotique pro -oxydant | Inflammation |
| Tabagisme | État d'ischémie -reperfusion |

Chapitre 2 :
Maladies infectieuses

1. Généralité

Les maladies infectieuses sont des affections causées par des agents pathogènes, peuvent être des bactéries, des virus ou d'autres micro-organismes comme les parasites ou les champignons. Une fois qu'ils pénètrent l'organisme, ces agents pathogènes se reproduisent et altèrent les fonctions corporelles (**International Atomic Energy Agency.,2020**).

Les agents infectieux responsables des maladies peuvent être transmis de l'homme à l'homme, d'un animal à un autre, ou d'un animal à l'humain. Elles peuvent également être diffusées par des vecteurs, qui sont des organismes vivants (tels que les insectes) capables de transporter et de disséminer les agents infectieux (**International Atomic Energy Agency.,2020**).

L'augmentation de la résistance de certains agents infectieux aux antibiotiques, le retour en force de maladies qui pourraient être prévenues par des vaccins, ainsi que l'émergence de nouveaux agents pathogènes sans vaccin ni traitement disponible rendent la gestion des maladies infectieuses plus complexe. L'insuffisance d'équipement dans plusieurs pays pour détecter ces infections dès leurs débuts contribue à l'augmentation du risque de leur dissémination (**International Atomic Energy Agency.,2020**).

Face à cette complexité croissante dans la prise en charge des maladies infectieuses, les antibiotiques demeurent l'un des piliers thérapeutiques les plus utilisés. Cependant, leur efficacité dépend non seulement de leur bon usage, mais aussi de la compréhension de leurs mécanismes d'action (**Inserm., 2017**).

2. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont l'un des fondements essentiels de la médecine moderne, permettant de soigner efficacement une vaste gamme d'infections bactériennes. Il s'agit de molécules naturelles ou synthétiques qui ont pour action principale d'inhiber des fonctions essentielles des bactéries, comme la production de la paroi cellulaire, des protéines ou de l'ADN (**Ventola,C.L. 2015**).

Selon leur mode d'action, ils sont divisés en différentes catégories, incluant les bêta-lactamines, les aminosides, les macrolides, les tétracyclines et les fluoroquinolones (**Kumar, M et al., 2021**).

Toutefois, un usage abusif ou incorrect des antibiotiques a entraîné l'apparition de bactéries résistantes à plusieurs médicaments, ce qui représente un risque majeur pour la santé publique internationale (**OMS, 2023**).

L'augmentation de la résistance antimicrobienne, en particulier pour des agents pathogènes comme le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline ou l'*Escherichia coli* producteur de

bêta-lactamases à large spectre, rend de plus en plus difficile la gestion des infections (**World Health Organization. 2023**).

Face à cette situation critique, on met en œuvre des mesures pour optimiser l'emploi des antibiotiques, encourager la découverte de nouvelles molécules et envisager des solutions thérapeutiques comme les extraits végétaux possédant des activités antimicrobiennes (**Moghimi, R et al., 2022**).

Pour bien comprendre la fonction des antibiotiques dans le traitement des infections, il est indispensable de présenter les classes majeures employées en clinique. Chaque classe d'antibiotiques à un mode d'action distinct. Cependant, leur efficacité n'est pas sans effets secondaires parfois notables, qu'il est important de comprendre pour une prescription correcte (**Tableau 2**).

Tableau 2: Les attributs majeurs des antibiotiques, leurs mécanismes d'action et les effets secondaires (Ventola, C.L 2015., Kumar M et al., 2021).

| Classe | Mode d'action | Effets secondaires courants |
|---|---|---|
| β-lactamines (pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes...) | Inhibition de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne en se liant aux PLP/transpeptidases | Réactions allergiques (éruptions, urticaire, choc), troubles digestifs (diarrhée, colites), parfois anémie, neutropénie, néphrotoxicité |
| Aminosides (gentamicine, amikacine) | Fixation irréversible sur le ribosome bactérien (30 S), avoir une inhibition de la traduction | Ototoxicité, néphrotoxicité, réactions allergiques |
| Fluoroquinolones (ciprofloxacine, lévofloxacine...) | Inhibition de l'ADN-gyrase et de la topoisomérase IV, avoir un blocage de la réplication ADN | Troubles digestifs, phototoxicité, troubles neurologiques, tendinites/ruptures tendineuses |
| Glycopeptides (vancomycine...) | Blocage de la transpeptidation du peptidoglycane à l'extérieur de la membrane | Ototoxicité, néphrotoxicité, réactions allergiques |
| Sulfamidés (sulfaméthoxazole + triméthoprime) | Antagonisme compétitif avec PABA, avoir un blocage de la synthèse de l'acide folique et donc inhiber la synthèse de l'ADN | Réactions cutanées graves (SJS, Lyell), pancytopenie, néphropathies, lithiases urinaires |

3. Lien entre les maladies infectieuses et le stress oxydatif

Les maladies infectieuses, causées par agents pathogènes, déclenchent des réponses immunitaires complexes dans l'organisme, par la production de dérivés réactifs de l'oxygène, notamment le superoxyde (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) responsable du stress oxydatif.

Certains antibiotiques tels que les quinolones, les aminoglycosides et les bêta-lactamines exercent une partie de leur effet en provoquant un stress oxydatif au sein des bactéries. Ces éléments provoquent une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), qui nuisent à l'ADN, aux protéines et aux membranes bactériennes, amplifiant ainsi leur action bactéricides (**Kohanski, M.A et al., 2007 ; Dwyer, D.J et al., 2014**). Toutefois, ce stress peut aussi avoir un impact sur les cellules hôtes, en particulier à travers des dommages mitochondriaux (**Kalghatgi, S. et al., 2013**). En outre, certaines bactéries peuvent mettre en place des systèmes antioxydants adaptatifs, ce qui contribue à leur résistance aux antibiotiques (**Liu, Y & Imlay, J.A. 2013**). Cela permet l'emploi d'antioxydants naturels en tant que compléments pour réduire les effets indésirables tout en préservant l'efficacité antimicrobienne (**Kazemi-Kandi, A & Salarifar, I. 2023**).

Chapitre 3 :
Métabolites secondaires

1. Plantes médicinales

1.1 Définition

On désigne sous le terme de plante médicinale toute plante réputée de capacités thérapeutiques. Ces caractéristiques sont présentes dans au moins une partie de la plante. Par exemple, les feuilles peuvent renfermer des composés aux propriétés antioxydantes, les fleurs des agents ayant des effets anti-inflammatoires, les tiges contiennent des substances analgésiques et les racines possèdent des composés antiviraux. Ces propriétés thérapeutiques peuvent être utilisées dans différentes traditions médicales comme la médecine chinoise, ayurvédique et indigène, ainsi que dans la médecine moderne, où elles constituent le fondement de la phytothérapie. La phytothérapie fait appel à l'utilisation de plantes médicinales pour prévenir, réduire ou traiter diverses maladies, en utilisant sur leur composition chimique et leurs impacts biologiques sur l'organisme humain (**Lazouni, H., & Chaouche, T., 2024**).

On peut classer les plantes médicinales en fonction de divers critères, y compris leur application, leurs propriétés thérapeutiques ou les parties de la plante employées. Ceci est un classement des divers types de plantes médicinales, basé sur leurs principales caractéristiques thérapeutiques. Il convient de préciser que certaines plantes peuvent être classées dans diverses catégories en raison de leurs multiples caractéristiques (**Lazouni, H., & Chaouche, T. 2024**).

Il y a les plantes digestives, telles que la menthe poivrée (*Mentha piperita*), sont reconnues pour leurs effets antispasmodiques et carminatifs, ce qui permet de faciliter la digestion et de soulager les troubles gastro-intestinaux. Du côté des plantes anti-inflammatoires, le curcuma (*Curcuma longa*) est un exemple emblématique : il est réputé pour ses propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes, contribuant ainsi à atténuer les douleurs inflammatoires. Enfin, les plantes antioxydantes comme le thé vert (*Camellia sinensis*) jouent un rôle essentiel dans la protection des cellules contre le stress oxydatif, grâce à leurs composés bioactifs qui exercent également des effets anti-inflammatoires. Ces plantes représentent des ressources naturelles précieuses pour la prévention et l'accompagnement de divers troubles de santé (**Lazouni, H., & Chaouche, T. 2024**).

2. Métabolites secondaires

2.1. Généralité

Les plantes ne synthétisent les métabolites secondaires que pour des fonctions spécifiques, telles que la reproduction ou la croissance. Toutefois, ils défendent leurs milieux contre les agents pathogènes, les herbivores et divers facteurs de stress environnementaux (Zhang, I et al., 2022). De plus, l'importance de ces métabolites pour les secteurs pharmaceutique, alimentaire et cosmétique est due à leur rôle dans la pigmentation, l'arôme et même la protection contre les radicaux libres (Othman, A et al., 2007).

Chaque espèce possède des métabolites spécifiques basés sur ses conditions génétiques et environnementales, ainsi que sur les méthodes d'échantillonnage mises en œuvre (Jeeno P et al., 2023) (Figure 3).

Selon Jeeno P et ses collaborateurs en 2023, les métabolites les plus analysés comprennent ceux ayant des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et anticancéreuses. Ainsi que les recherches de Merghem, R (2012), prouvent que les métabolites secondaires tels que les composés phénoliques, les alcaloïdes, les saponines, les terpénoïdes et les quinones ont le potentiel d'être largement utilisés dans la prévention et la guérison de diverses maladies.

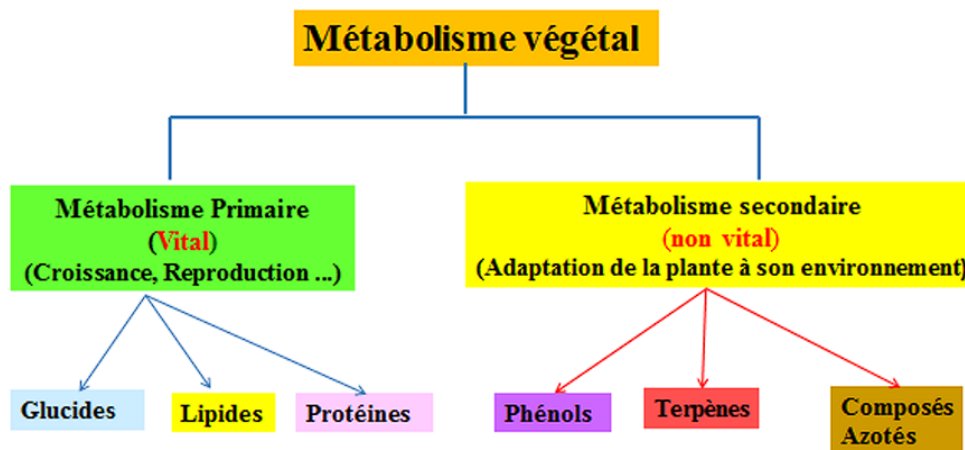


Figure 3: Classification de métabolites secondaires (Labrani, P., 2021).

2.2 Classifications des métabolites secondaires

2.2.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques se distinguent par la présence d'un ou plusieurs noyaux aromatiques qui possèdent un ou plusieurs groupes hydroxyle. On les trouve couramment dans le monde végétal et ils ont un rôle primordial dans les processus de défense contre le stress oxydatif. On

les associe fréquemment à des actions antioxydantes puissantes en raison de leur aptitude à capturer les radicaux libres (Andújar I et al., 2012).

La catégorisation des polyphénols repose principalement sur leur structure, le nombre de noyaux aromatiques et les composants structuraux qui relient ces noyaux entre eux. Deux catégories peuvent être identifiées : les composés phénoliques simples (comme les acides phénoliques, les flavonoïdes...) et les composés phénoliques complexes (tels que les tannins, les lignanes...) (Figure 4) (Ghedadba N, et al 2021).

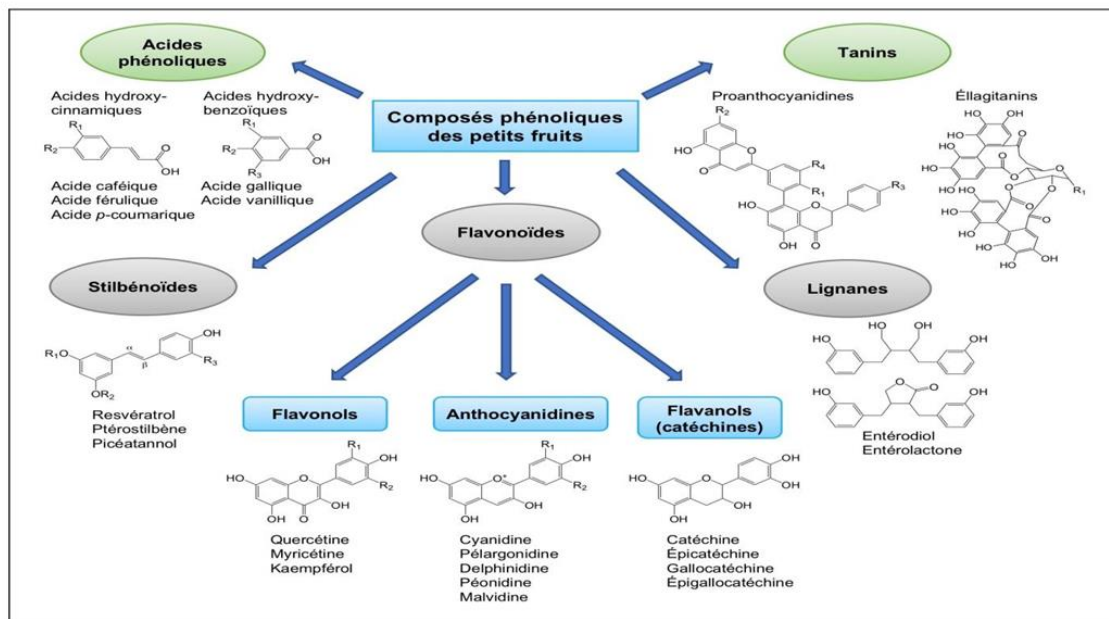


Figure 4: Différentes classes des composés phénoliques (Ghedadba N, et al 2021).

2.2.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, qui représentent le plus grand groupe de composés phénoliques, sont les pigments à l'origine des teintes jaune, orange et rouge de divers organes végétaux. Ils sont formés de quinze atomes de carbone (C6-C3-C6) et leur structure est principalement composée de deux cycles aromatiques A et B, connectés par un pont de trois carbones, généralement sous forme d'un hétérocycle C (Figure 5). Selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, ils peuvent être classés en douze catégories différentes : flavone, flavonol, flavanol, anthocyane, aurone... (Ghedadba N, 2021).

2.2.3 Les tanins

On les retrouve en grande quantité dans diverses plantes, notamment dans les fèves de cacao. Cela inclut les flavonols, flavones, flavanones, anthocyanidines, isoflavones et catéchines. Ils

ont des caractéristiques anti-inflammatoires, antioxydantes et cardioprotectrices (Andújar I et al., 2012 ; Othman ; A et al., 2007).

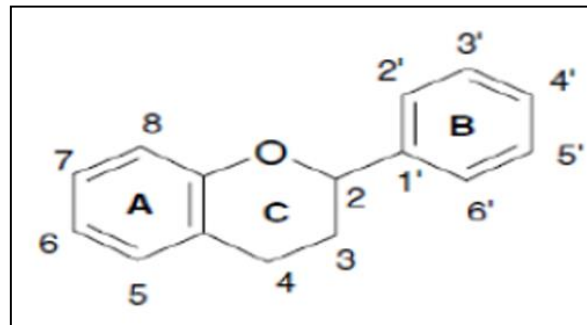


Figure 5: Structure générale d'un flavonoïde (Ghedadba N, et al., 2021).

Les tanins sont des composés polyphénoliques, solubles dans l'eau, avec des masses molaires qui varient de 500 à 3000 M. Il existe deux principales catégories :

A. Tanins hydrolysables : Il s'agit d'éléments oligo ou polyesters d'un sucre et d'une quantité variable d'acide phénolique. En général, le sucre se réfère au D-glucose et l'acide phénolique peut être soit l'acide gallique pour les gallotanins, soit l'acide ellagique pour les tanins communément appelés ellagitanins (Ghedadba N, et al., 2021).

B. Tanins condensés : également appelés tanins catéchiques ou proanthocyanidols. Ils se distinguent clairement des tanins hydrolysables, car leur molécule ne contient pas de sucre et leur structure est proche de celle des flavonoïdes. Il s'agit des 8 polymères flavaniques constitués d'unité de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone (Ghedadba N, et al., 2021). Ces derniers sont particulièrement abondants dans le cacao et présentent une activité antioxydante notable (Jeen P et al., 2023) (Figure 6).

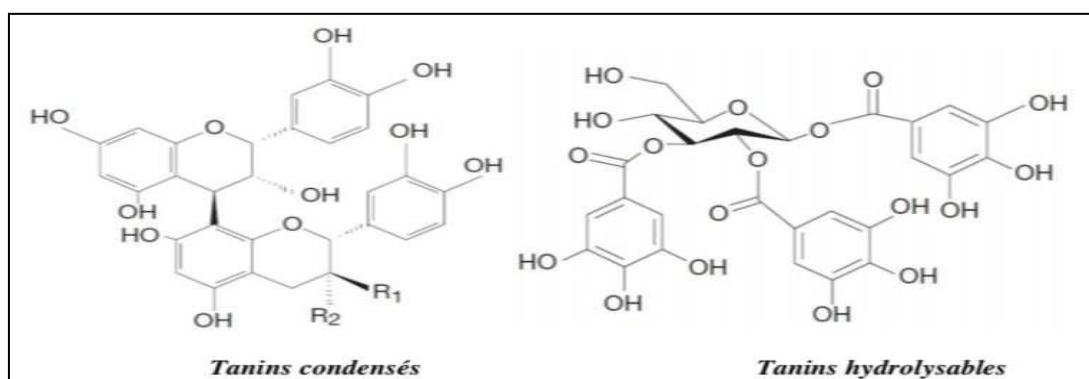


Figure 6: Les structures moléculaires caractéristiques des tanins (Achat S., 2013).

2.2.4 Les coumarines

La coumarine est un composé bicyclique formé d'un cycle benzénique fusionné à un cycle lactone (un cycle fermé avec un groupement ester) (Harborne, J.B., 1999) (Figure 7).

On les retrouve principalement chez les Dicotylédones et elles sont particulièrement nombreuses dans certaines familles : Rutaceae, Fabaceae, Apiaceae, Oléaceae, Loganiaceae, Solanaceae, Asteraceae et Hippocastanaceae. Les coumarines sont formées dans les feuilles et s'accumulent surtout dans les racines et les écorces, ainsi que dans les tissus âgés ou lésés. (Mpondo E et al., 2015).

On les distingue par leurs propriétés antimicrobiennes, anticoagulantes et antioxydantes. La présence de celles-ci fluctue en fonction des espèces végétales et des conditions d'extraction (Jeeno P et al., 2023).

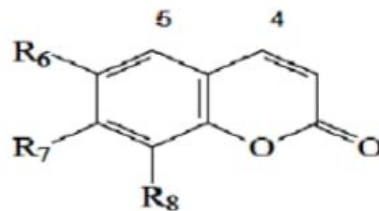
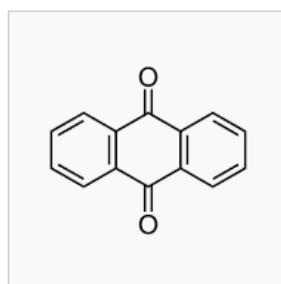


Figure 7: La base structurelle des coumarines (Igor Passi L.B., 2002).

2.2.5 Les quinones

Les quinones sont des composés aromatiques oxydés impliqués dans les processus de transfert d'électrons et de dégradation par oxydation. Ils peuvent avoir une capacité cytotoxique, mais peuvent aussi être employés comme agents thérapeutiques ou conservateurs naturels (Al-Khayri J.M et al., 2023) (Figure 8)

On retrouve une grande quantité d'antraquinones dans divers colorants tels que le Garance, la noix, le millepertuis et le henné. Elles sont responsables de la teinte rouge ou jaune des matériaux d'origine végétale (Hendry, G. A. F., 1996).



l'antraquinone

Figure 8: Structure de base des quinones (Wikipédia, 2023).

2.2.6 Les terpénoïdes

Les terpénoïdes, également appelés isoprénoïdes, constituent une vaste catégorie de métabolites dérivés de l'unité isoprénique.

L'hydrocarbure le plus élémentaire est l'isoprène 6 (C_5H_8). Tous les terpénoïdes peuvent être catégorisés selon le nombre de leurs unités isoprène. Les catégories courantes comprennent les monoterpénoïdes, qui possèdent deux unités d'isoprène, les sesquiterpénoïdes, dotés de trois unités, et les diterpénoïdes, comportant quatre unités de terpène. Une seule plante peut produire une multitude de terpénoïdes différents à divers emplacements de son organisme, pour des raisons diverses et à différentes phases de son évolution. On trouve parmi eux les caroténoïdes, les huiles essentielles et les stérols. Nombre d'entre eux possèdent des caractéristiques antioxydantes et anti-inflammatoires (Jeeno P et al., 2023).

2.2.7 Les saponosides

Les saponosides sont des glycosides triterpéniques ou stéroïdiens (Figure 9), présents de manière étendue dans les végétaux et certains organismes marins. Les glycosides sont des agents tensioactifs possédant des caractéristiques de mousses et d'émulsions, grâce à la modification de la structure des aglycones. L'industrie pharmaceutique utilise les saponines pour leurs propriétés anti-hyperglycémiques, antioxydantes et anticancéreuses. Outre leur emploi dans le secteur de l'alimentation et de la cosmétique (Jeeno P et al., 2023).

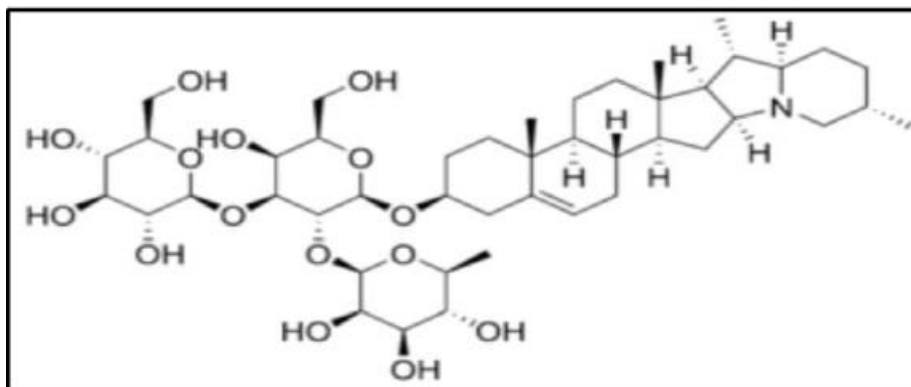


Figure9:Structure chimique d'une saponine (Crozier,A.,et al., 2006).

2.2.8. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés souvent d'origine hétérocyclique. Ils exercent de puissantes activités biologiques, notamment des effets analgésiques, antipaludiques ou neuroactifs. Dans le cacao, la théobromine et la caféine sont deux alcaloïdes majeurs contribuant à ses effets pharmacologiques (Al-Khayri J.M et al., 2023).

- **Classification des alcaloïdes selon l'origine biosynthétique**

Les alcaloïdes vrais : constituent la majorité des alcaloïdes et se trouvent soit en forme libre, soit sous forme de sel, N-oxyde, et contiennent au moins un hétérocycle : exemple de la strychnine provenant du tryptophane (**Tahouo, S., 2014**).

Les pseudo-alcaloïdes : manifestent généralement toutes les propriétés des alcaloïdes authentiques, mais ne constituent pas des dérivés des acides aminés. Dans la plupart des situations documentées, on constate qu'il s'agit de dérivés d'isoprénoïdes (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate (**Robinson, T., 1979**).

Les proto-alcaloïdes : Les proto-alcaloïdes sont des amines simples qui ne contiennent pas d'azote dans un hétérocycle. Ils possèdent une nature basique et sont synthétisés *in vivo* à partir d'acides aminés. On les désigne souvent sous le nom d'« amines biologiques » et ils sont solubles dans l'eau (**Cordell, G. A. 2013**).

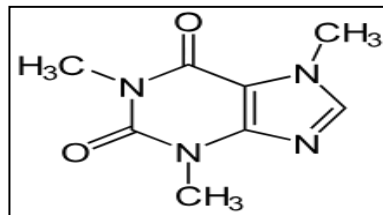


Figure 10: la structure des alcaloïdes La caféine la famille des méthylxanthines (Wikipédia, 2023)

Chapitre 4 :

Plante d'étude

1. Historique

Comme pour de nombreuses autres plantes, l'histoire contemporaine du cacao débute avec la découverte du Nouveau Monde par Christophe Colomb. On remonte à près de deux mille ans pour les premiers rapports concernant la culture du cacaoyer en Mésoamérique (**Mossu, G., 1990**) Il est certain que les Mayas ont été les premiers à cultiver cet arbre dont les fèves étaient exploitées à la fois en tant que bien de consommation et en qualité d'instrument d'échange. Les Aztèques qui vivaient dans les hauts plateaux du Mexique avaient élargi leur empire jusqu'aux zones de culture du cacao où ils collectaient d'énormes tributs sous forme de graines qu'ils désignaient sous le nom de « cacahoatl », ce qui a ensuite donné naissance au terme « cacao » (**Mossu, G., 1990**). Le cacaoyer, selon eux, avait été donné sur terre par le dieu Quetzacoalt (Serpent à plumes), et ils lui attribuaient une origine divine. Nombreuses étaient les cérémonies où le cacao était considéré comme un bien de luxe sacré, ou comme une boisson sacrée, qu'ils nommaient « xocoatl », d'où vient le terme « chocolat » (**Coe, S. D., & Coe, M. D. 1996**). Il est probable que Linné ait nommé le cacaoyer cultivé *Theobroma cacao* (du grec theos = dieux, et bromo = nourriture : « nourriture des dieux ») pour évoquer cette légende. Lorsque Cortes débarqua sur les rivages du Tabasco en 1519 et commença à conquérir le Mexique, il s'est rapidement intéressé au cacao, plutôt pour son statut de richesse et d'instrument monétaire que pour sa consommation en tant que boisson, même si celle-ci était souvent proposée dans le cadre de grandes cérémonies (**Coe, S. D., & Coe, M. D. 1996**). Les Espagnols réalisèrent rapidement que substituer le piment et le rocou par du sucre dérivé de la canne à sucre, qu'ils avaient introduite des Canaries à Saint-Domingue puis au Mexique, et de la vanille, rendait le « xocoatl » une boisson nettement plus appréciable. Et de plus en plus valorisée. Depuis la fin du XVI^e siècle, on fait pousser le cacaoyer dans presque toutes les zones tropicales de l'Amérique centrale et du Sud, ainsi que dans les Antilles. Les premières expéditions de cacao vers l'Europe ont eu lieu en 1585, partant de Veracruz et arrivant à Cadix (**Mossu, G., 1990**). Le cacao, originaire d'Espagne, commence à se diffuser en Europe via les cours royales, notamment en Italie puis en France (Anne d'Autriche, fille de Philippe III d'Espagne, l'y introduisit à la suite de son mariage avec Louis XIII en 1615), puis en Hollande, en Angleterre et en Allemagne (**Mossu, G., 1990**).

Cette culture est implantée par les Espagnols, les Hollandais et les Portugais dans l'ensemble de leurs territoires d'outre-mer, notamment en Asie du Sud-Est d'une part et dans les îles du golfe de Guinée d'autre part. C'est depuis ces îles, Fernando Poo (actuellement Malabo), Sao Tomé et Príncipe, que le cacaoyer a été introduit sur le continent africain il y a un peu plus de cent ans (**Mossu, G. 1990**).

2. Origine

Le cacaoyer, également appelé cacaotier, est un arbre tropical qui tire ses racines d'Amérique centrale, spécifiquement du Mexique. Ses fruits sont à l'origine des fèves de cacao, indispensables à la fabrication du chocolat. Les termes « chocolat » et « cacao » ont leur origine chez les Aztèques. Ils désignaient l'arbre par le terme « Cacahuaquahuitl », sa graine par « Cacahuatl », et la boisson préparée à partir de ces graines était appelée « tchocolatl » ou « xocoatl » (Dakin, K., & Wichmann, S. 2000).

Classification

Le cacaoyer se classe parmi les Dicotylédones et relève de l'ordre des Malvales. D'après la catégorisation phylogénétique de « l'Angiosperm Phylogeny Group » ou APG IV (2016), le cacaoyer appartient à la famille des Malvaceae, tandis que selon la classification traditionnelle, il est placé dans les sterculiaceae. Il est catégorisé sous le genre *Theobroma*, qui comprend environ vingt espèces. On distingue plusieurs types de cacaoyers, parmi lesquels les trois variétés majeures sont Criollo, Forastero et Trinitario, tous les cacaoyers sont de l'espèce « *Theobroma cacao* L » (Angiosperm Phylogeny, 2016).

Son tronc ne fait pas plus de 30 cm de large, ses feuilles sont longues et acérées, et se renouvellent sans cesse, à l'instar des fleurs. En effet, le cacaoyer génère entre 3500 et 6000 minuscules fleurs blanches, teintées de rose, qui se développent tout au long de l'année, souvent directement sur le tronc. Étant donné que ces fleurs vivent en moyenne 48 heures, sur 100 fleurs, seulement un est fécondé par un insecte, et à peine 10 à 20 fruits par arbre atteignent la maturité et sont finalement cueillis. On appelle ces fruits des « cabosses » (Figure 11).



Figure 11: Le cacaoyer (Larousse, É. s. d).

3. Les différentes variétés de cacaoyers

3.1. Criollo

Les Cacaoyers Criollos ont des cabosses qui sont allongées, parfois avec une constriction semblable à celle d'un goulot de bouteille. Avant leur maturité, leurs cabosses sont de couleur rouge ou verte et présentent une forme allongée, avec des sillons bien définis et verruqueux. Leurs fèves, dodues et rondes, aux cotylédons frais affichent une couleur blanche, ou possèdent un léger pigment (Zarrillo, S., 2018). Le terme Criollo, qui signifie « créole » en espagnol et fait référence aux populations indigènes, désigne la variété locale de cacaoyers qui a été cultivée depuis l'époque maya (McNeil, C. L., 2012). On trouve les Criollos en Amérique centrale, depuis le sud du Mexique et le Belize jusqu'au Honduras ; mais également dans les pays situés au nord de l'Amérique du Sud, tels que le Pérou, la Colombie et le Venezuela, ainsi que sur certaines îles de l'océan Indien. Les Criollos sont largement domestiqués et ont été cultivés depuis de nombreuses années. Leurs fèves contiennent peu de tanins et ont plutôt un goût doux. Ils cultivent un cacao de qualité supérieure, plus raffiné et parfumé, avec une faible amertume, ce qui explique son utilisation dans la production de produits haut de gamme chocolatés. Cependant, les Criollos ne sont quasiment plus cultivés en raison de leur sensibilité, car ils sont moins robustes et plus exposés aux maladies. Ils génèrent une production moindre, ne représentant que 5% de la production mondiale de cacao (Motamayor, J. C., 2008).

3.2. Forastero

Les Cacaoyers Forasteros ont des cabosses lisses, parfois verruqueuses, qui vont du vert au jaune, et qui sont soit allongées, soit rondes comme les Amelonados. On trouve les Forasteros au Brésil ainsi qu'en Afrique de l'Ouest. Le terme Forastero, qui se traduit par « l'étranger » en espagnol, désigne

faisant référence à l'Afrique, son pays natal d'importation. Leurs gousses sont initialement vertes, puis se teintent de jaune lorsqu'elles atteignent leur maturité. Leurs fèves sont plus ou moins aplaties, avec des cotylédons frais de couleur violette. Les fèves ont une teneur plus élevée en tanins, ce qui leur confère un goût plus amer et astringent. Les Forasteros sont extrêmement domestiqués, solides et productifs. Ils possèdent une croissance rapide et un rendement élevé, fournissant 80% de la production mondiale de cacao. Cependant, la qualité de ce cacao est inférieure. De plus, très vigoureux, ils résistent très bien aux maladies (Tixier, P., Barrau, J., 1979., 2013)

3.3. Trinitario

Les Trinitarios sont le résultat d'hybrides entre les Criollos et les Forasteros. L'hybridation de ces deux types de cacaoyers a eu lieu à Trinidad, une île voisine du Venezuela, ce qui explique le nom Trinitario.

En 1727, l'île de la Trinité a été touchée par un ouragan dévastateur suivi d'une épidémie, probablement liée au *Phytophthora*, une maladie fongique. Ces événements ont entraîné la destruction massive des cacaoyers Criollo présents sur l'île.

En substitution, des Forasteros ont été cultivés sur l'île en raison de leur robustesse et productivité supérieures. Donc les deux types de cacaoyers se sont combinés pour donner naissance au Trinitario qui allie les caractéristiques des Criollos, réputés pour leurs propriétés aromatiques et sensorielles, et la robustesse et la productivité des Forasteros. Leurs cabosses deviennent d'un rouge vif, puis virent au rouge violacé à maturité. On les trouve aux Caraïbes, à Madagascar, à Ceylan, à Java, en Papouasie et en Nouvelle-Guinée. Ils constituent approximativement 10 à 15 % de la production de cacao à l'échelle mondiale (Tixier, P., Barrau, J., Bekele, F.L 1979, 2013, 2003) (Figure 12).



Figure 12: Les différentes variétés de cacao
(Carine.,2017)

4. Culture de cacao

4.1. Écologie et agronomie du cacao

Les sols destinés à la culture du cacao ont des besoins très spécifiques. Le sol doit avoir une profondeur minimale de 1,5 mètre, être bien drainé et idéalement argilo-sableux (Koko, L., 2014). Dans la forêt tropicale, où le cacaoyer pousse de manière naturelle, les grands arbres fournissent l'ombre modérée indispensable à sa croissance (Crane et al., 2013). On garantit cette condition en cultivant les cacaoyers à l'ombre d'arbres qui leur offriront également une protection contre le vent, la pluie et une évaporation excessive. Les sols où poussent les cacaoyers doivent également être poreux, bien drainés et surtout très enrichis en humus, potassium, azote, oligo-éléments et autres minéraux indispensables à leur développement (Koko, L et al., 2009 ; Koko, L., 2014). En effet, le sol devrait être fertile, avoir préférentiellement un pH entre le neutre et légèrement acide, ce qui contrôle soigneusement la prédominance des parasites et des maladies (Fowler, 1999).

On peut propager le cacaoyer de plusieurs façons : en plantant des fèves, par bouturage ou par greffage. La fève est capable de germer avant même que le fruit ne soit mûr, cependant, comme sa capacité à germer se dégrade rapidement, il est essentiel de la planter peu après son extraction de la cabosse. La graine de T. cacao, qui germe épigé, commence à le faire généralement entre 4 et 6 jours après avoir été semée dans des conditions optimales. Le rachis commence à s'étendre et les cotylédons émergent du sol dans les 10 à 15 jours suivant la germination (Oro, P.A et al. 2012). Les jeunes plants sont initialement cultivés en pépinière pendant six mois avant d'être transférés en pleine terre (jusqu'à l'âge de deux ans au maximum), au début de la saison pluvieuse, soit sous des ombres artificielles, ou protégée par des plantes plus grandes comme les bananiers (Oro, P.A et al. 2012)

4.2. Production et principaux pays producteur

Les principales zones de culture du cacao à l'échelle planétaire sont regroupées dans la **Figure 13**. Cette figure permet de mettre en évidence l'origine du cacaoyer en Amérique centrale et du Sud (indiquée par des hachures bleues) ainsi que les principales zones de production présentes en Afrique de l'Ouest (Côte d'Ivoire, Ghana, Nigeria), en Amérique du Sud (Brésil, Équateur) et en Asie du Sud-Est (Indonésie, Malaisie). Elle démontre également que la culture du cacao se limite aux régions tropicales, proches de l'équateur (**Contributeurs aux projets Wikimedia, 2025**).

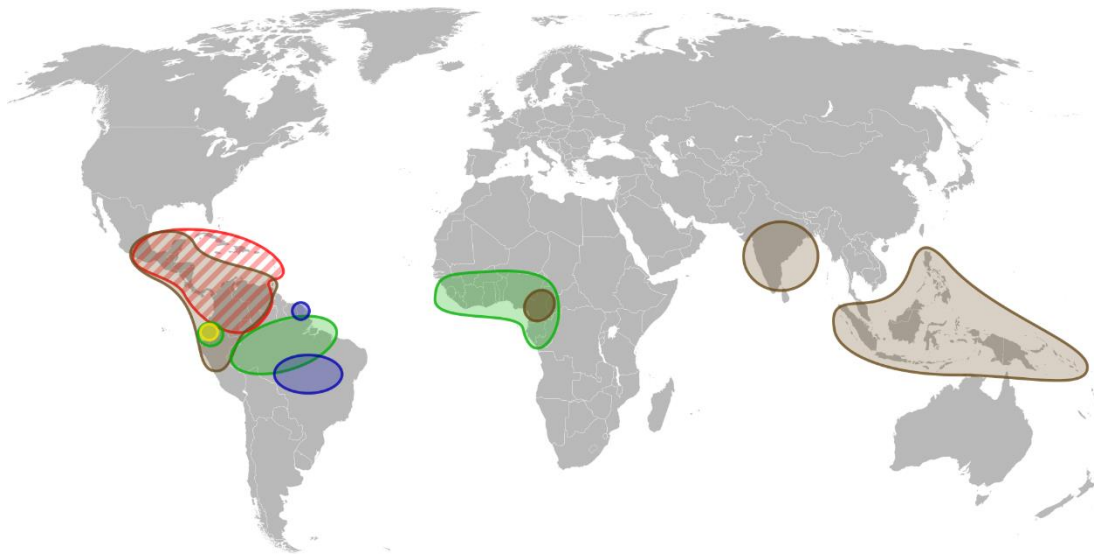


Figure 13:Présenté principales zones de production et d'origine du cacao dans le monde. (Wikipedia, 2025).

Le **Tableau 3** met en évidence les principaux pays producteurs de cacao pour l'année 2019/2020, avec leur proportion respective dans la production totale exprimée en milliers de tonnes et en pourcentage.

Tableau 3: Les 7 principaux pays producteurs de cacao pour l'année 2019/2020. (International Cocoa Organization, 2021).

| | Production (1000 tonnes) | % du Pays |
|---------------|--------------------------|--------------|
| Côte d'Ivoire | 2225 | 43,3% |
| Ghana | 1040 | 20,2% |
| Equateur | 350 | 6,8% |
| Cameroun | 290 | 5,6% |
| Nigeria | 270 | 5,3% |
| Indonésie | 200 | 3,9% |
| Brésil | 180 | 3,5% |
| Autre pays | 586 | 11,4% |

4.3. Technique de culture le cacao

Le cacaoyer commence à produire dès l'âge de 7 ou 8 ans, sa production est à son apogée autour de 25 ans, et il ne vit généralement pas plus de 30 à 40 ans. Il atteint naturellement une taille de 12 à 15m, cependant dans les cultures, on veille à le garder entre 4 et 10m de hauteur afin de préserver sa vitalité et favoriser son expansion horizontale, ce qui rend la récolte plus aisée (Mossu, G.1990).

4.3.1. Les cabosses

Selon les variétés, la cabosse atteint sa maturité en cinq à sept mois, moment où elle passe au jaune/orange.

Quand les cabosses cueillies sont encore immatures, les processus biosynthétiques de la pulpe et de la graisse ne sont pas complets. Par conséquent, la quantité de beurre présente dans les fèves sera considérablement réduite et le processus de fermentation ne pourra pas s'effectuer correctement, provoquant une grande quantité de fèves violettes.

Toutefois, si les cabosses sont trop mûres, la pulpe se dessèche et ne sera pas suffisamment abondante pour assurer une fermentation optimale. Par ailleurs, les fèves pourraient germer et entraîner une contamination microbienne, conduisant à des fèves endommagées ou contaminées (Facchini, C., 2023).

4.3.2. Écabossage et extraction

L'écabossage, qui implique l'extraction des graines des cabosses, doit être effectué au plus tard cinq jours après la récolte des cabosses.

On peut utiliser une machette pour ce faire, mais il est recommandé d'utiliser un gourdin afin de ne pas endommager les graines. On peut aussi utiliser des tables d'écabossage pour optimiser l'organisation. (Facchini, C., 2023).

4.3.3. Fermentation

La fermentation est une étape indispensable, elle figure parmi les phases les plus cruciales dans le processus de transformation des graines.

En réalité, cette fermentation se compose de deux types de réactions.

- Des réactions fermentaires vraies qui se déroulent dans la pulpe.
- Des réactions biochimiques ont lieu au sein des cotylédons.

Ce processus consiste à supprimer le mucilage externe grâce à l'intervention de microorganismes pectinolytiques 12. Elle élimine également le potentiel germinatif et surtout permet le développement des précurseurs de l'arôme chocolat à l'intérieur des cotylédons **(Facchini, C., 2023)**.

4.3.4. Séchage

Les fèves sont nettoyées entre les étapes de fermentation et de séchage afin d'éliminer totalement la pulpe résiduelle. L'objectif du séchage est de stopper la fermentation et de réduire le niveau d'humidité à 60-70 %.

Généralement, les fèves sont disposées au soleil en une couche de 3 à 4 cm sur des surfaces cimentées, des claies ou des bâches. C'est également au cours du séchage qu'une part importante de l'acide acétique, généré lors de la fermentation, est supprimée.

Le séchage au soleil représente 90% des méthodes de séchage, tandis que le séchage artificiel ou mécanique en représente 10% **(Facchini, C., 2023)**.

5. Utilisation de cacao

La Figure 14 présente les principales étapes de transformation des fèves de cacao en produits finis, notamment le chocolat et la poudre de cacao. La fabrication commence par la torréfaction des fèves de cacao, suivie du concassage et du broyage, ce qui permet d'obtenir une pâte de cacao. Cette pâte constitue la matière de base pour les deux voies de transformation. D'une part, la pâte de cacao est soumise à un pressage qui permet de séparer le beurre de cacao des tourteaux. Les tourteaux peuvent être broyés et mélangés à divers additifs pour produire de la poudre de cacao. D'autre part, pour obtenir du chocolat, on utilise la pâte de cacao à laquelle on ajoute du beurre de cacao, du sucre, parfois du lait, ainsi que d'autres additifs. Le mélange obtenu est ensuite malaxé, conché (procédé d'affinage), puis tempéré pour assurer une bonne cristallisation du beurre de cacao. Le produit final est le chocolat prêt à être moulé et consommé **(Marković, I., et al., 2022)**.

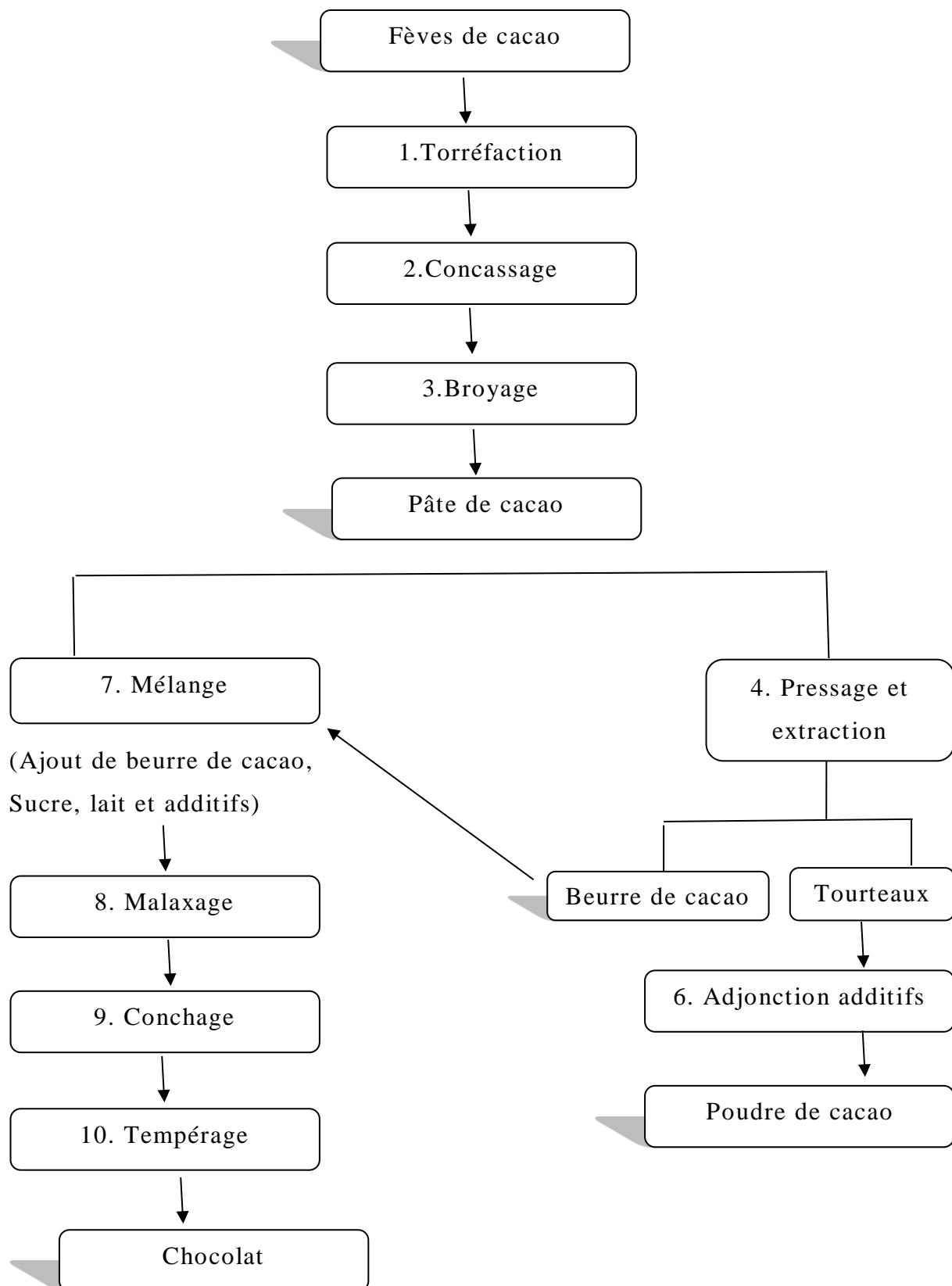


Figure 14: Étapes de fabrication du chocolat et de la poudre de cacao.

6. Effets du cacao sur la santé

Le cacao, ingrédient de base du chocolat, est reconnu pour ses propriétés nutritionnelles et thérapeutiques, surtout grâce à sa forte teneur en composés bioactifs tels que les polyphénols. Ces antioxydants naturels ont un rôle crucial dans la bataille contre le stress oxydatif, un élément associé au vieillissement des cellules et à diverses affections chroniques (**Andújar I., 2012**). On a associé une consommation modérée de cacao à différents bénéfices pour la santé cardiaque. Effectivement, les flavonoïdes présents dans sa composition aident à la dilatation des vaisseaux sanguins, diminuent la pression artérielle et optimisent la circulation. En outre, le cacao favorise un métabolisme sain en renforçant la sensibilité à l'insuline et en diminuant l'inflammation (**Grassi, D. et al., 2005**). D'un point de vue cognitif, plusieurs recherches indiquent que le cacao pourrait aider à renforcer la mémoire, l'attention et l'état d'esprit, en raison de sa faculté à favoriser la production d'endorphines et de sérotonine. De plus, ses propriétés antimicrobiennes et anti-inflammatoires renforcent aussi le système immunitaire (**Desideri, G. et al., 2012**). Afin de mieux visualiser les différents effets du cacao sur l'organisme, le **Tableau 4** suivant résume ses principaux bienfaits pour la santé :

Tableau 4: Les effets bénéfiques du cacao sur la santé humaine.

| Effet sur la santé | Bienfaits associés | Références bibliographiques |
|----------------------------|---|---------------------------------|
| Activité antioxydante | Neutralisation des radicaux libres, protection cellulaire. | Kelm, M. et al., 2006 |
| Santé cardiovasculaire | Amélioration de la circulation, réduction de la pression artérielle, fonction endothéliale. | Grassi, D et al., 2005 |
| Effets anti-inflammatoires | Réduction des marqueurs inflammatoires. | Hooper, L., et al 2012). |
| Effet neuroprotecteur | Amélioration de la mémoire, réduction du risque de démence. | Desideri, G et al., 2012 |
| Effets métaboliques | Amélioration de la sensibilité à l'insuline, réduction du risque de diabète de type 2. | Shrime, M et al., 2011 |

7. Travaux antérieurs

Le chocolat noir, qui contient une forte concentration de cacao, est réputé pour ses bienfaits sur la santé métabolique. Parmi les divers mécanismes par lesquels il agit, il a été proposé qu'il puisse affecter l'activité cholinergique, un système essentiel dans la régulation de fonctions physiologiques telles que la mémoire, l'apprentissage et la modulation du métabolisme **(Madhavadas, I et al., 2016)**.

Le beurre de cacao, extrait des fèves de cacao, est reconnu pour ses propriétés nourrissantes et hydratantes, ce qui en fait un ingrédient très apprécié en cosmétique. En 2025, il est utilisé dans des formules innovantes de crèmes anti-âge qui aident à réduire les rides et à préserver la douceur de la peau. Grâce à la nanotechnologie, les actifs du beurre de cacao sont transformés en très petites particules, ce qui permet une meilleure pénétration dans la peau et une efficacité renforcée. Certains produits contiennent également des ingrédients qui stimulent la régénération cellulaire, favorisant ainsi la réparation des tissus cutanés et donnant un aspect plus jeune à la peau. Cette combinaison de beurre de cacao et de nanotechnologie ouvre la voie à des soins cosmétiques plus performants et respectueux de la peau. **(Brenda & Alix 2025)**

Chez les rats, les polyphénols présents dans le cacao favorisent la viabilité et le bon fonctionnement des cellules bêta du pancréas **(Almagro, L., et al., 2015)**.

Les polyphénols exercent une influence significative sur la protection et la régénération des cellules bêta du pancréas, tout en contribuant à l'amélioration des fonctions cognitives. Ces effets ont été confirmés par des recherches expérimentales menées sur des animaux et des êtres humains **(Dragan, A et al., 2015)**.

Le syndrome métabolique (Smet) est un ensemble de troubles métaboliques, notamment l'obésité abdominale, l'hypertension, la résistance à l'insuline et la dyslipidémie, qui augmentent le risque de maladies cardiovasculaires et de diabète de type 2. Des chercheurs ont comparé les effets des composés chimiques présents dans deux produits naturels, le cacao (*Theobroma cacao*) et le cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), sur ces paramètres métaboliques. Les recherches concernant les extraits de cacao et de cupuaçu ont démontré que ces deux ingrédients naturels, lorsqu'ils sont intégrés à une alimentation riche en graisses, peuvent réguler le stress oxydatif et les activités des enzymes, ce qui contribue à diminuer les dommages hépatiques et à protéger contre l'oxydation des lipides. Une augmentation des activités antioxydantes des tissus et du plasma a également été observée. Ces résultats indiquent que les composés actifs du cacao influencent le processus d'oxydation **(Amiot M, J et al., 2016)**.

Partie 02 : Matériel et méthodes

Partie 02 : Matériel et méthodes

Notre étude a été menée au sein du laboratoire de recherche « Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie : Synthèse et Activité Biologique », département de Biologie, Université de Tlemcen.

Ce travail est structuré en quatre parties :

- La première étape consiste à la préparation et l'extraction du matériau végétal.
- La deuxième étape est consacrée à l'analyse phytochimique ainsi qu'à la quantification des polyphénols totaux et flavonoïdes dans les extraits obtenus.
- La troisième étape vise à évaluer l'activité antioxydante des extraits à l'aide de deux méthodes : la technique de neutralisation du radical DPPH et la réduction du fer.
- La quatrième étape porte sur l'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits obtenus.

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude, il s'agit de poudre de cacao alcalinisée (pH 6.8-7,5), de marque : Plein Arôme 22-24% de la société Cacao Barry. Elle est fabriquée à partir de fèves de cacao d'Afrique de l'Ouest de haute qualité, issues de l'agriculture durable (**Cacao-barry.com. s.d**) (**Figure 15**).



Figure 15: Poudre de cacao - Plein Arôme 22-24% - poudre - 5kg sac (Cacao-barry.com. s.d).

2. Extraction du matériel végétal

2.1. Préparation de l'extrait aqueux :

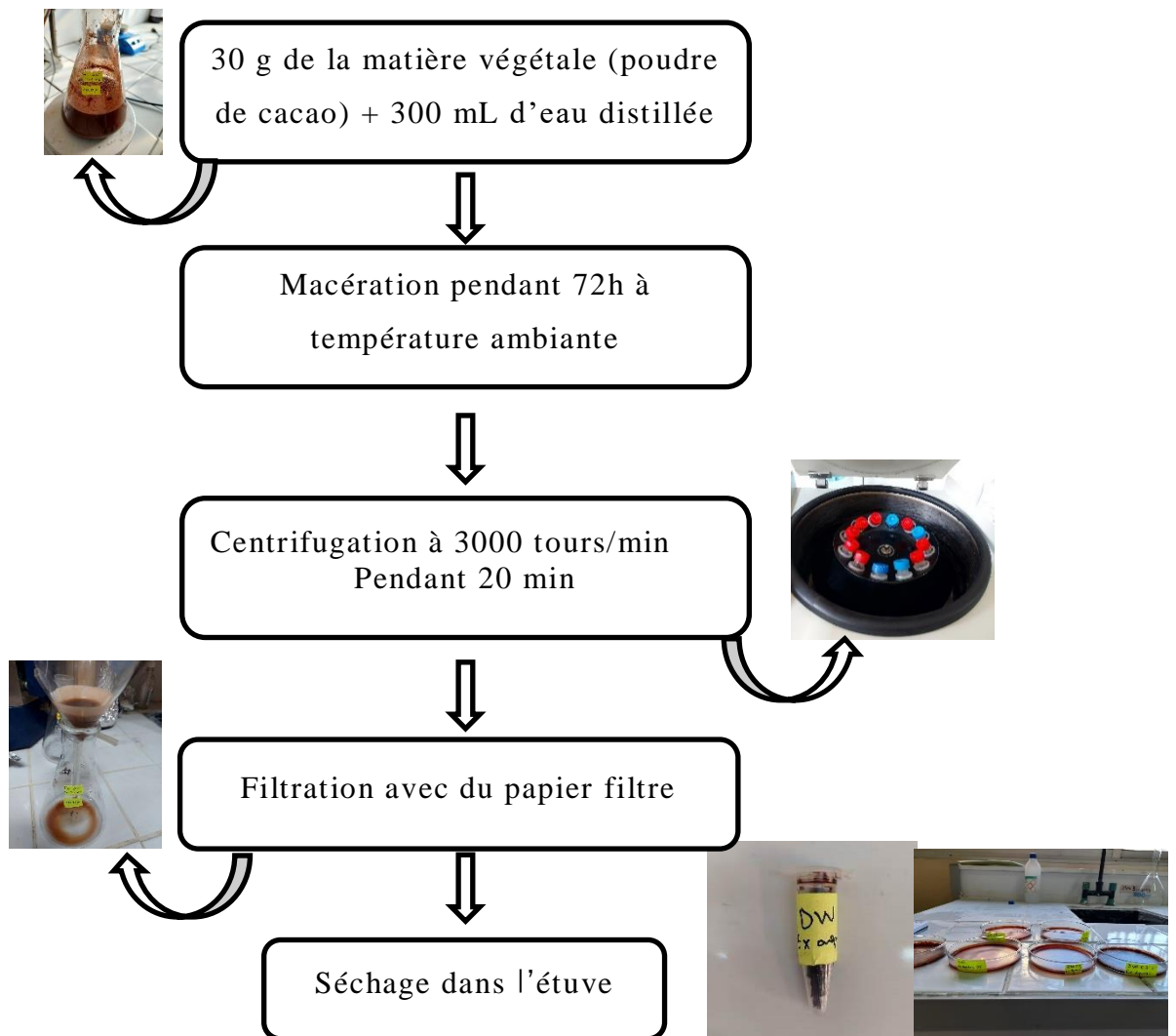


Figure 16: Protocole de préparation de l'extrait aqueux.

2.2. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique :

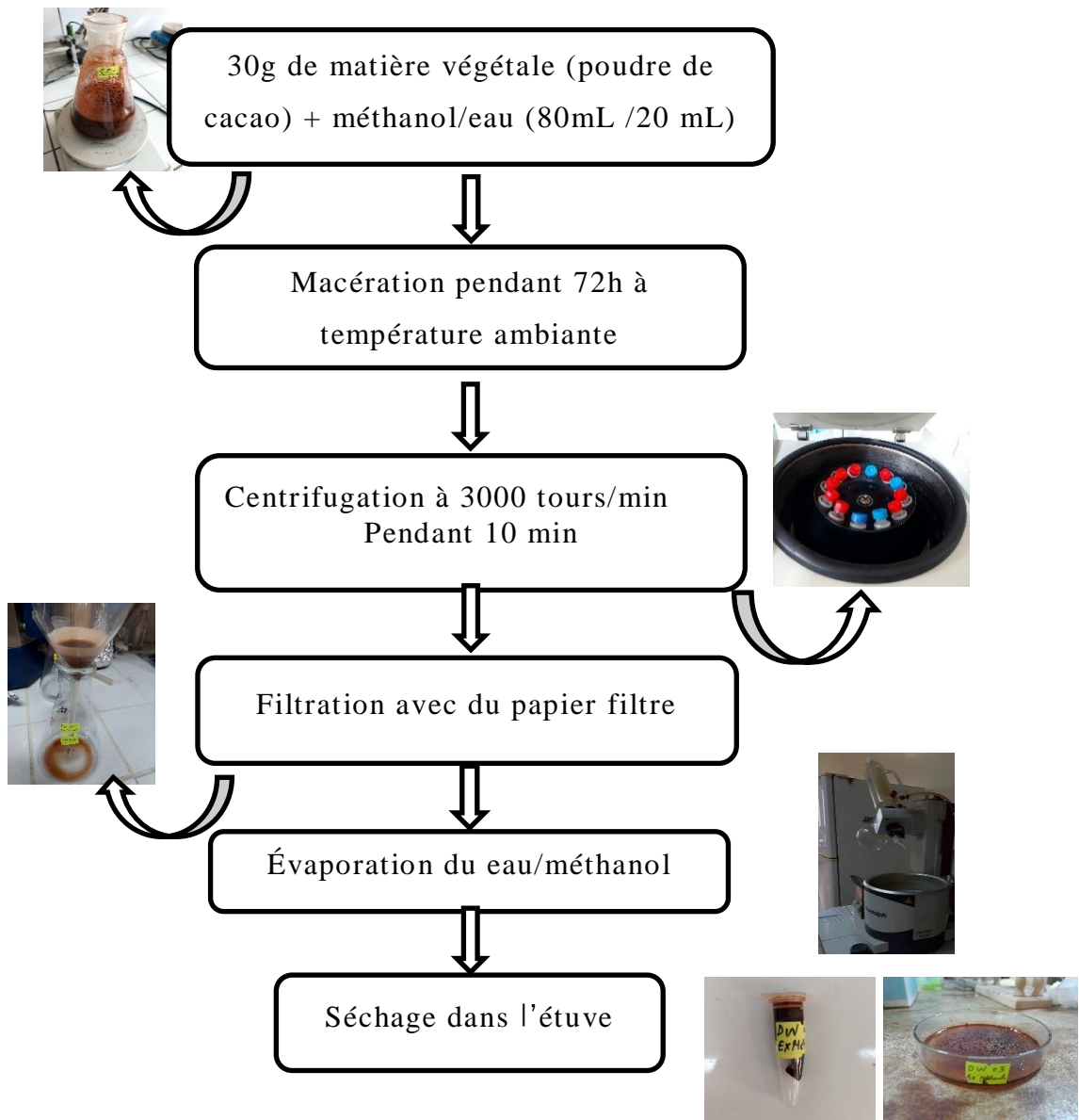


Figure 17: Protocole de préparation de l'extrait hydrométhanolique.

3. Calcul du rendement

Le rendement c'est le rapport entre la masse de l'extrait évaporé du solvant et la masse de la matière végétale initiale ayant servi pour l'extraction exprimé en pourcentage.

Le rendement est calculé par la formule suivant :

$$\text{Rendement (\%)} = (M_0/M_1) \times 100$$

M_0 : masse en gramme de l'extrait brut évaporé.

M_1 : masse en gramme de la matière végétale initiale séchée.

4. Les tests phytochimiques

Les méthodes qualitatives de tests phytochimiques sont cruciales pour l'identification initiale des métabolites secondaires présents dans les extraits végétaux. Ils se basent sur des interactions chimiques spécifiques entre les composants bioactifs et divers réactifs, provoquant des modifications de couleur, l'apparition de précipités ou d'autres indices visuels aisément observables. Ces essais sont fréquemment employés pour détecter la présence de composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les coumarines, les quinones, les terpénoïdes et les saponosides (Sasidharan, S et al., 2011 ; Akinmoladun, F. et al., 2022).

4.1. Les alcaloïdes :

On introduit 0,5 mL de l'extrait à examiner dans deux tubes à essai. Par la suite, nous incorporons 0,5 mL d'HCl (1%) suivi de 0,1 mL du réactif de Mayer dans le premier tube et 0,1 mL du réactif de Wagner dans le deuxième tube. La présence d'alcaloïdes est signalée par l'apparition d'un précipité de couleur blanche ou brune.

4.2. Les tanins :

On introduit 1 mL de l'extrait dans un tube de test et complétons avec 0,25 mL de chlorure de sodium FeCl_3 (1%). L'incubation du mélange a été effectuée à une température ambiante pendant une durée de 15 minutes. La présence de tanins se manifeste par une couleur verdâtre ou bleu-noirâtre.

4.3. Les flavonoïdes :

On a identifié la présence de flavonoïdes en incorporant 1 mL de l'extrait à 1 mL d'acide chlorhydrique concentré et quelques copeaux de magnésium. L'émergence d'une couleur rouge, orange ou rose signale leur existence dans l'extrait.

4.4. Anthraquinones :

On place 1 mL de l'extrait dans un tube à essai, on incorpore 1 mL de NH_4OH (10%) et on mélange le tout. L'apparition d'une couleur violette signale la présence d'anthraquinones.

4.5. Les quinones libres :

Pour détecter les quinones, on ajoute 0,1 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH à 1%) à 1 mL de l'extrait. L'apparition d'une couleur virant au jaune, au rouge ou au violet indique la présence de quinones libres.

4.6. Terpénoïdes (test de Laskowski) :

1 mL de l'extrait est mélangé avec 0,4 mL de chloroforme et 0,6 mL d'acide sulfurique concentré. L'apparition d'une couleur brune et une phase de séparation indiquent la présence de terpénoïdes.

4.7. Les saponines :

On agite 2 mL de l'extrait pendant 15 minutes, puis on le laisse tranquille pour une durée de 15 minutes. Une hauteur dépassant 1 cm signale la présence de saponines.

4.8. Les composés réducteurs :

Incorporez 1 mL de liquide de Fehling (composé de 0,5 mL du réactif A et 0,5 mL du réactif B) à 1 mL d'extrait, puis laissez incuber pendant 8 minutes dans un bain-marie à ébullition. L'apparition d'une couleur rouge brique signale la présence de composés réduits.

5. Dosage des polyphénols totaux

L'approche analytique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu a permis de déterminer la quantité de polyphénols totaux dans les extraits examinés. Le réactif de Folin-Ciocalteu, qui contient de l'acide phosphotungstique ($\text{HPW}_{12}\text{O}_{40}$) et de l'acide phosphomolybdique ($\text{HPMo}_{12}\text{O}_{40}$), est sujet à des réactions de réduction réversibles impliquant un ou deux électrons, ce qui provoque une couleur bleue dans la solution. L'intensité de la couleur est en relation proportionnelle avec les niveaux de composés phénoliques oxydés qui absorbent à 700 nm (Zbadi, R. et al., 2018).

La gamme d'étalon est produite en parallèle dans les mêmes conditions opératoires à l'aide de l'acide gallique comme étalon positif à des concentrations allant de 25 à 1000 $\mu\text{g/mL}$.

La teneur en polyphénols totaux est calculée selon la formule suivante :

$$[\text{Polyphénols}] = a.f/C$$

a : Concentration des polyphénols déterminé à partir de la courbe étalon.

f : Facteur de dilution (x22).

C : Concentration initial de l'extrait (10 mg/mL).

Mode d'opération

Le protocole utilisé pour le dosage des composés phénoliques totaux est schématisé dans la figure 18 :

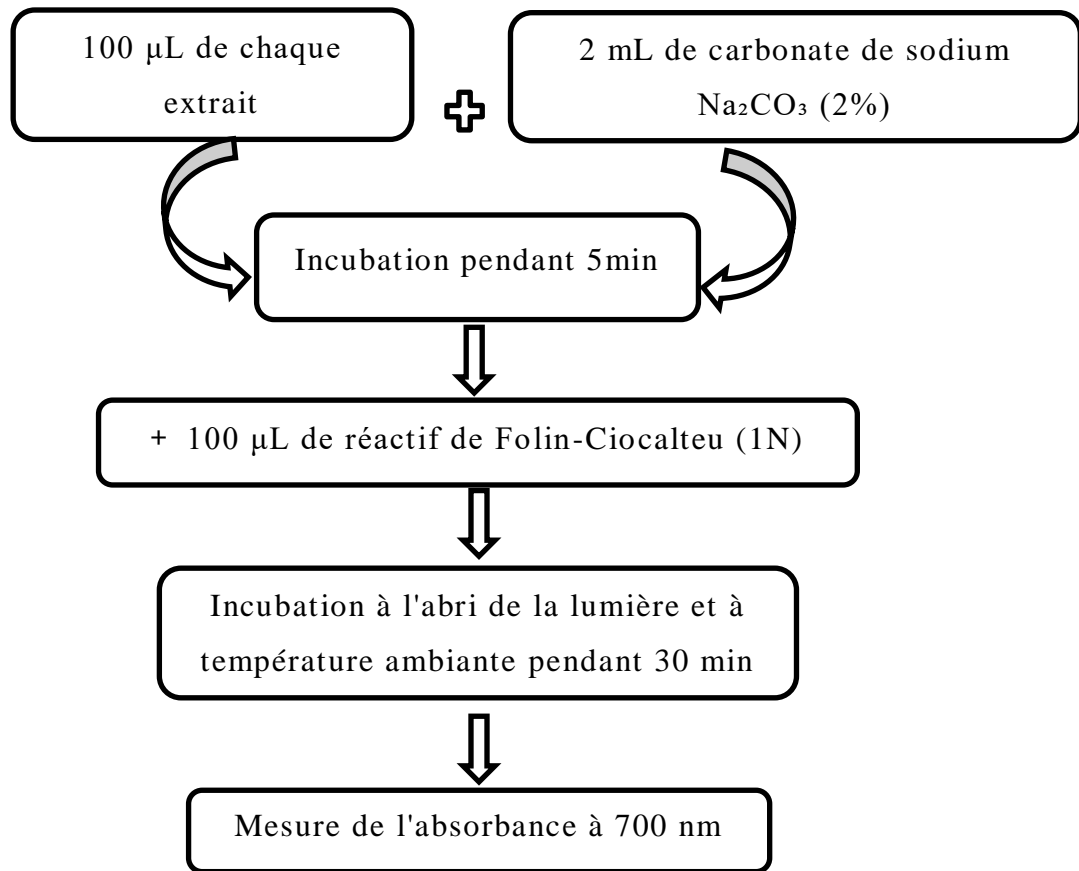


Figure 18: Protocole utilisé pour le dosage des polyphénols totaux.

6. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl₃), une technique couramment employée dans l'analyse phytochimique. Lorsque les flavonoïdes sont exposés au nitrite de sodium (NaNO₂) en présence d'un environnement alcalin, ils réagissent avec AlCl₃ pour créer un complexe rose stable. Ce complexe affiche un pic d'absorption autour de 510 nm, déterminé par spectrophotométrie. (Zbadi, R. et al., 2018).

La gamme d'étalon est produite en parallèle dans les mêmes conditions opératoires à l'aide de la catéchine comme contrôle à des concentrations allant de 25 à 1000 µg/mL.

La concentration des flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent de catéchine par gramme d'extrait (mg Eq C/gE) est calculée selon la formule suivante :

$$[\text{Flavonoïdes}] = a \cdot f/C$$

Partie 02 : Matériel et méthodes

a : Concentration des flavonoïdes (mg/mL) déterminé à partir de la courbe étalon.

f : Facteur de dilution (x10) .

C : Concentration initial de l'extrait (10 mg/ mL).

Mode d'opération

Le protocole utilisé pour le dosage des flavonoïdes est schématisé dans la **Figure N°19**

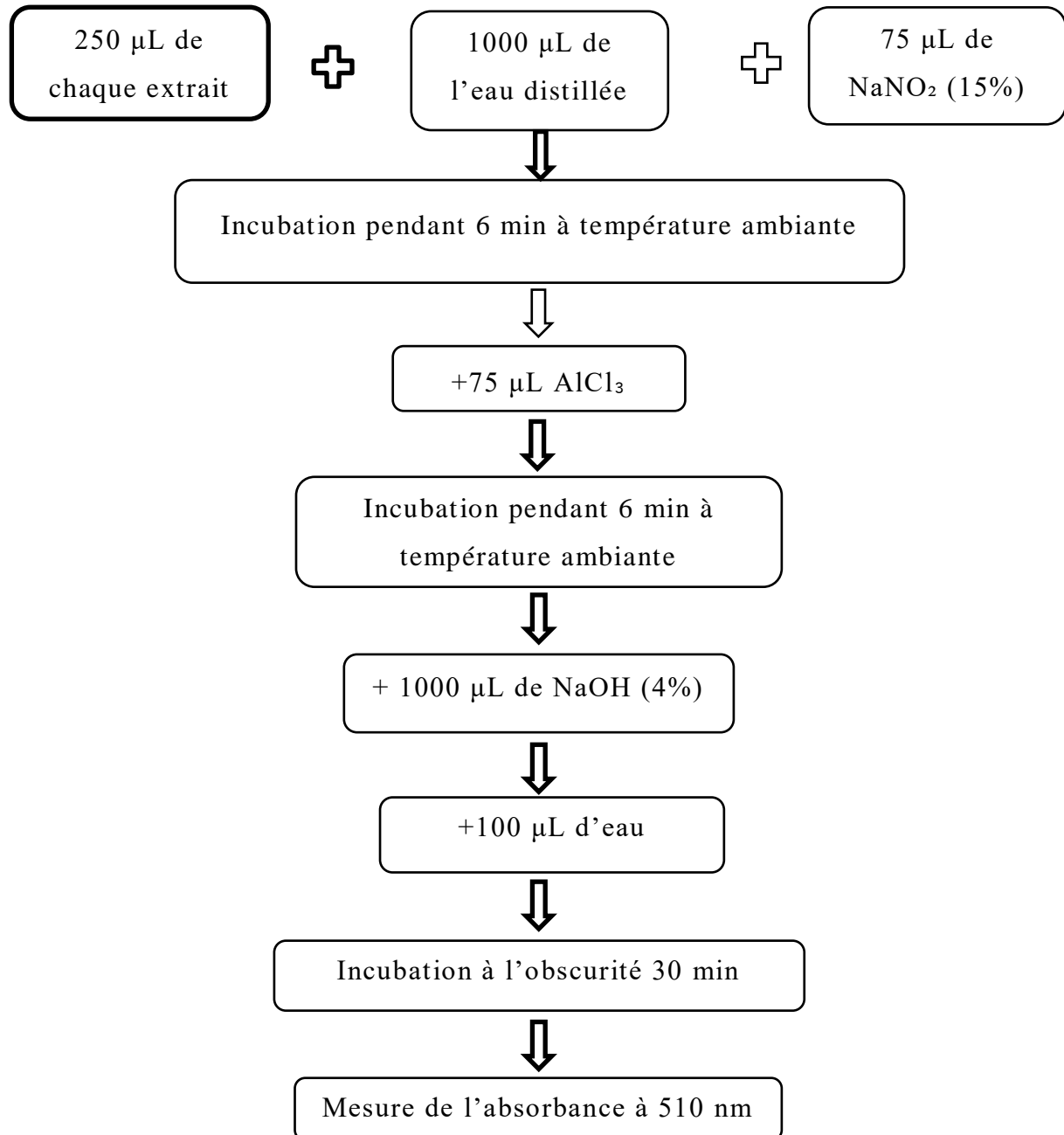


Figure 19: Protocole utilisé pour le dosage des flavonoïdes.

7. Évaluation de l'activité antioxydante

7.1. Détermination de l'activité antioxydante par le test de piégeage du radical libre DPPH

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits a été effectuée grâce au test de neutralisation du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), une technique couramment employée pour déterminer la capacité des composés à neutraliser les radicaux libres. Le DPPH, un radical stable et de teinte violette en milieu méthanolique, se réduit lorsqu'il est exposé à des antioxydants, ce qui provoque une décoloration graduelle. Par spectrophotométrie à 517 nm, on observe une baisse d'absorbance qui est directement liée à la capacité antioxydante de l'échantillon (Ahmed, H. et al., 2023 ; Duguma, A. et al., 2024) (Figure 20).

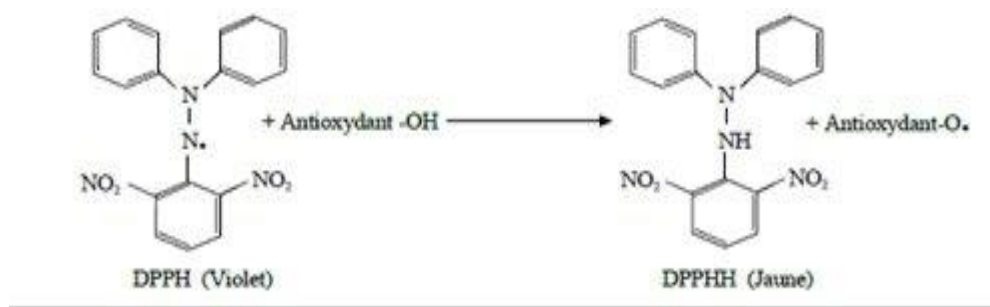


Figure 20: Réduction du DPPH par un antioxydant (Kleinrichert K., Bindhu A. 2019).

Mode d'opération

Le protocole d'activité anti-radicalaire du DPPH est schématisé dans la (Figure 21).

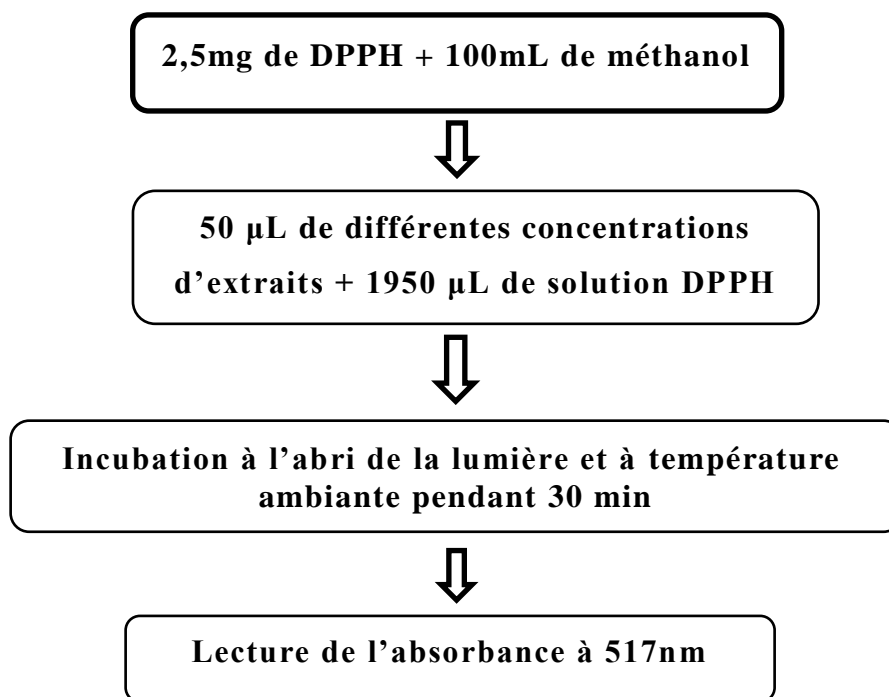


Figure 21: Protocole suivi pour l'évaluation de l'activité anti-radicalaire du DPPH.

Le contrôle négatif a été préparé en mélangeant 50 µL de méthanol avec 1950 µL de solution DPPH.

Les concentrations des extraits varient de 0,25 à 0,001 µg/mL

Le pourcentage de piégeage du radical est calculé selon l'équation suivante :

$$\% I = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

% I : Pourcentage d'inhibition.

AC : Absorbance du contrôle (Absorbance moyenne du radical seul).

AE : Absorbance de l'échantillon (Absorbance du radical libre en présence d'antioxydant après 30 minutes de contact).

Calcul du IC₅₀ (concentration inhibitrice 50%)

Le IC₅₀ indique la concentration d'un extrait ou d'un composé antioxydant nécessaire pour inhiber 50 % de l'activité radicalaire du DPPH. Il constitue une mesure quantitative de

l'efficacité antioxydante, permettant la comparaison entre différents extraits (Ahmed, H et al., 2023 ; Duguma, A. et al., 2024).

7.2. Détermination de l'activité antioxydante par la méthode FRAP

La méthode de réduction du fer se base sur la capacité des antioxydants à transformer le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}), ce qui se révèle par l'apparition d'une coloration bleue. Plus la couleur est intense, plus le pouvoir antioxydant est élevé (Ahmed, H. et al., 2023; Benzie, I & Strain, J, 1996) (Figure 22).

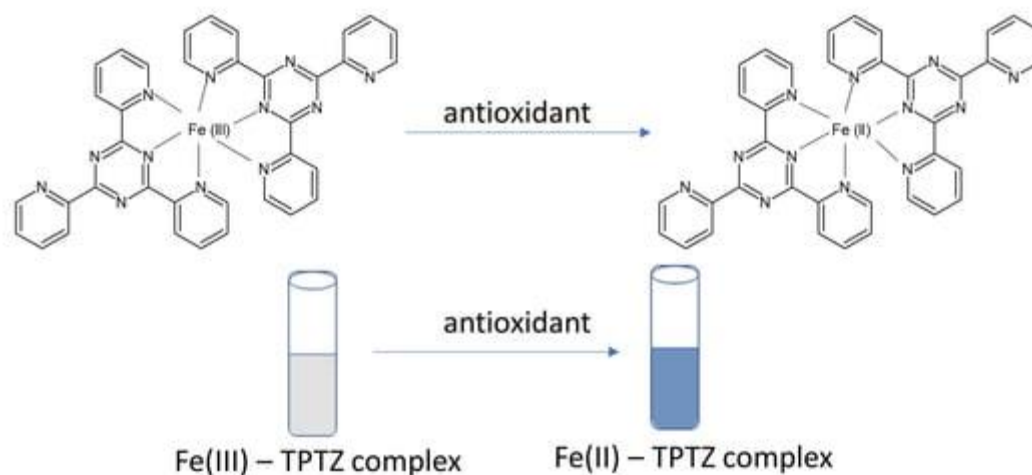


Figure 22:Évaluation de l'activité antioxydante par le test FRAP (Wojtunik-K., 2020).

Mode opératoire

Le protocole suivi est schématisé dans la **figure 23** :

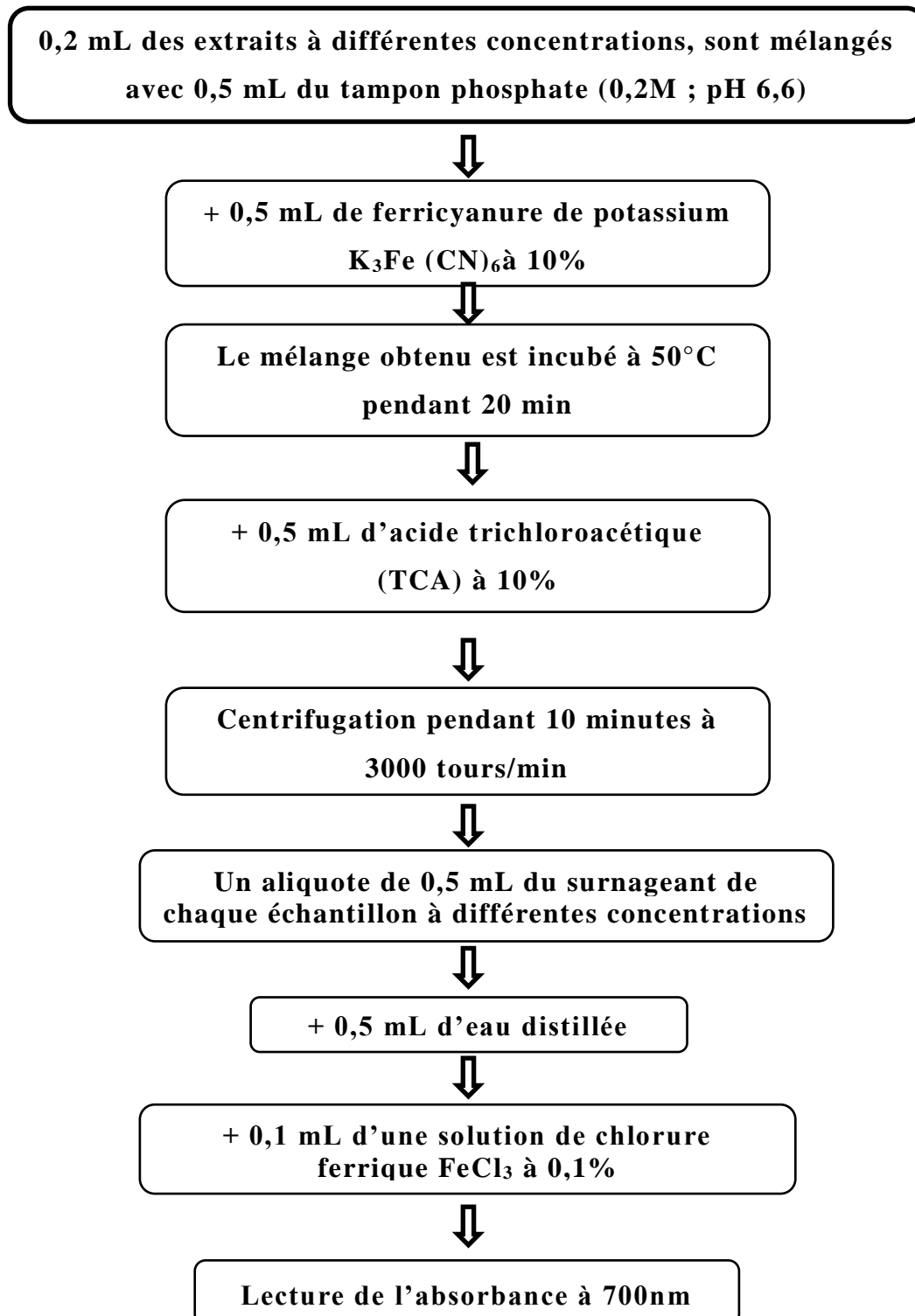


Figure 23: Protocole suivi pour l'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode FRAP.

Partie 02 : Matériel et méthodes

L'acide ascorbique est utilisé comme étalon positif dans les mêmes conditions expérimentales à différentes concentrations de 0,25 à 0,001 µg/mL.

Calcul de l'EC₅₀ (Effective Concentration 50%)

En utilisant la technique FRAP, une augmentation de l'absorbance signale une intensification du potentiel antioxydant réducteur des échantillons examinés. On calcule l'EC₅₀ pour comparer les échantillons, ce qui correspond à la concentration d'extrait nécessaire pour obtenir une absorbance de 0,5 sur le graphique montrant l'évolution de l'absorbance en fonction de la concentration à 700 nm (Tamuly, C. et al., 2014).

L'EC₅₀ est la concentration d'un extrait nécessaire pour obtenir 50 % de l'effet maximal observé. Dans le contexte de l'antioxydant, l'EC₅₀ est souvent équivalent à l'IC₅₀ : c'est la concentration à laquelle 50 % des radicaux libres (comme le DPPH) sont neutralisés.

1 Détermination du pouvoir antibactérien des extraits de poudre de cacao

8.1. Souches bactériennes

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des deux extraits obtenus, nous avons utilisé des souches bactériennes de référence. Il s'agit de 2 bactéries à Gram+ et 2 bactéries à Gram- (Tableau 5).

Tableau 5 : Les bactéries utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne.

| | Microorganismes | Gram | Code |
|-----------|-------------------------------|---------|------------|
| Bactéries | <i>Staphylococcus aureus</i> | Positif | ATCC 29213 |
| | <i>Bacillus subtilis</i> | | ATCC 6633 |
| | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Négatif | ATCC 27853 |
| | <i>Escherichia coli</i> TEM | | ATCC 35218 |

Matériel non biologique :

- La gélose nutritive pour l'entretien et l'isolement des souches bactériennes.
- La gélose Mueller-Hinton pour l'étude de l'activité antibactérienne.

Antibiotiques utilisés dans cette étude :

Gentamicine (GEN)

8.2 La méthode de diffusion sur gélose :

Méthode basée sur la diffusion d'extraits à séparer du disque imprégné et déposé sur le milieu solide pour former des zones circulaires claires sans colonies appelée zones d'inhibitions. Décrite par CLSI. (2010) et modifiée par Adida H et al. (2014) et Chan et al. (2007).

8.3 Préparation de suspensions bactériennes :

On fait les tests sur des colonies jeunes de 18 à 24 heures en phase exponentielle de croissance. Chaque souche est transformée en une suspension bactérienne dans de l'eau physiologique 0,85 %. La suspension bactérienne est ajustée à 0.5 Mc Farland, ce qui correspond à une densité optique (DO) = 0,08 à 0,13 à une longueur d'onde de 625 nm.

8.4 Ensemencement des boîtes :

Par écouvillonnage nous avons trempé un écouvillon sec stérile dans l'inoculum, tout en pressant fermement sur la paroi interne du tube pour éliminer l'excès d'inoculum et nous l'avons ensemencé sur la surface gélose de Muller Hinton, de haut en bas avec une répétition de trois fois.

8.5 Dépôt des disques

À l'aide de pinces stériles, nous avons placé les disques et ajouté des extraits à tester à une concentration de 1g/mL. D'autres disques imprégnés par la gentamicine (solution injectable) à une concentration de 10 mg/mL ont été utilisés comme contrôle positif.

Mettre les boîtes de Pétri à incuber à 37 °C pendant 18-24 heures à l'étuve. Le diamètre des zones d'inhibition autour des disques est mesuré au moyen d'une règle graduée.

Partie 02 : Matériel et méthodes

Selon, l'intervalle des diamètres des zones d'inhibition s'explique comme suit **(Lee, S. et al., 2007)** :

- Diamètre $\leq 6,4$ mm \rightarrow pas d'activité antibactérienne ;
- $6,5 \leq$ Diamètre $\leq 6,9$ mm \rightarrow activité antibactérienne faible ;
- $7 \leq$ Diamètre $\leq 7,9$ mm \rightarrow activité antibactérienne moyenne ;
- Diamètre ≥ 8 mm \rightarrow bonne activité antibactérienne.

Partie 03 : Résultats et interprétation

Partie 03 : Résultats et interprétation

1. Analyse phytochimique

1.1. Rendement des extraits de poudre de cacao

Les résultats relatifs aux rendements d'extraction par les différents solvants sont indiqués dans le **tableau 6**.

Les résultats d'extraction de la poudre de cacao obtenus par macération indiquent que l'extrait aqueux donne le rendement le plus élevé, environ 10 % suivi de l'extrait hydrométhanolique Avec un pourcentage de 7,6 %

Tableau 6:Rendement (%) des extraits obtenus par macération.

| Extraits | Rendements % | Couleur | Aspect | Solubilité |
|--------------------------|-------------------------|---------------------|--------------------------------|---|
| Aqueux | 10 | Marron foncé | Cristallisé | Eau distillée |
| Hydrométhanolique | 7,6 | Marron foncé | Cristallisé/ pâteux | Méthanol et Diméthylsulfoxyde (DMSO) |

D'après les résultats du tableau ci-dessus, nous remarquons que : L'extrait aqueux obtenu se présente sous forme de cristaux de couleur marron foncé qui sont entièrement solubles dans l'eau distillée.

L'extrait hydrométhanolique obtenu se présente sous forme de cristaux/pâteux de couleur marron foncé qui sont entièrement solubles dans le méthanol et le DMSO.

1.2 Criblage phytochimique

Des analyses phytochimiques effectuées sur les extraits de poudre de cacao ont mis en évidence la présence de divers métabolites secondaires, par la raison de réactions colorées ou de précipitation avec des agents chimiques spécifiques. Les résultats sont présentés dans le **tableau 7**.

Tableau 7: Résultats de l'analyse phytochimique réalisé sur les extraits de poudre de cacao.

| Extraits | | Aqueux | Hydrométhanolique |
|------------------------------------|--------|--------|-------------------|
| Tests | | | |
| Alcaloïdes | Mayer | + | - |
| | Wagner | + | + |
| Tanins | | + | + |
| Flavonoïdes | | + | + |
| Anthraquinones | | - | - |
| Quinones libres | | + | - |
| Terpénoïdes (Test de Slakowski) | | - | + |
| Saponines | | - | + |
| Composés réducteurs | | + | + |

Les résultats sont interprétés comme suit : (-) réaction négative et (+) réaction positive.

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur l'extrait aqueux ont révélé une variété de composés bioactifs, il a montré la présence des alcaloïdes, des tanins, des flavonoïdes, des quinones libres et des sucres réducteurs.

L'extrait hydrométhanolique a montré la présence des alcaloïdes, des tanins, des flavonoïdes, des terpénoïdes, des saponines et des sucres réducteurs. Cependant les anthraquinones sont absentes dans les deux extraits étudiés.

1.3. Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes

Les résultats relatifs au dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes des extraits de poudre de cacao ont été déterminés respectivement, en utilisant l'équation de régression linéaire pour la courbe standard d'acide gallique et catéchine (**Figure : 24 et 25**).

Partie 03 : Résultats et interprétation

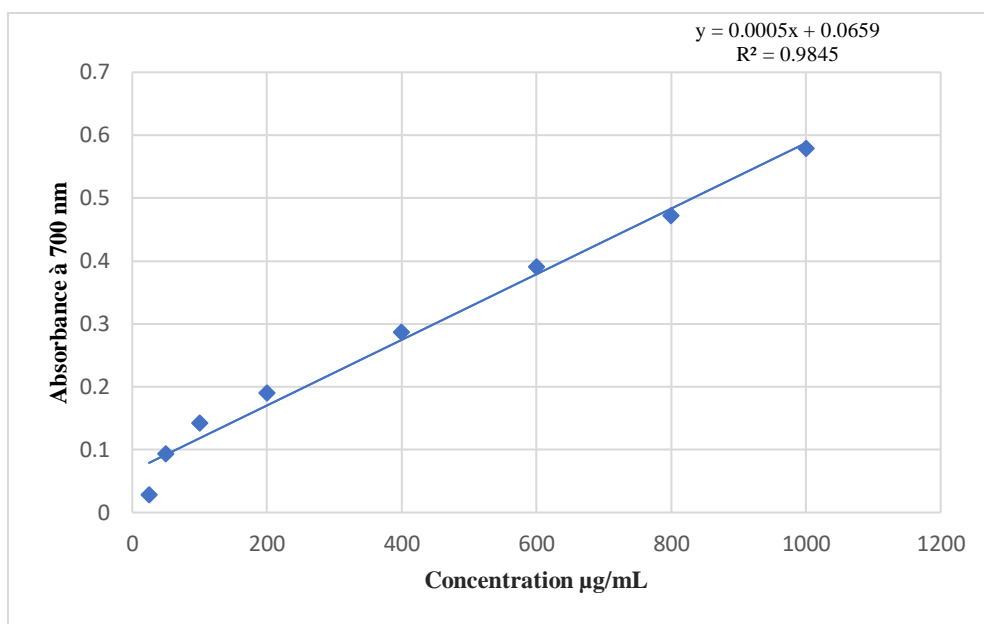


Figure 24: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

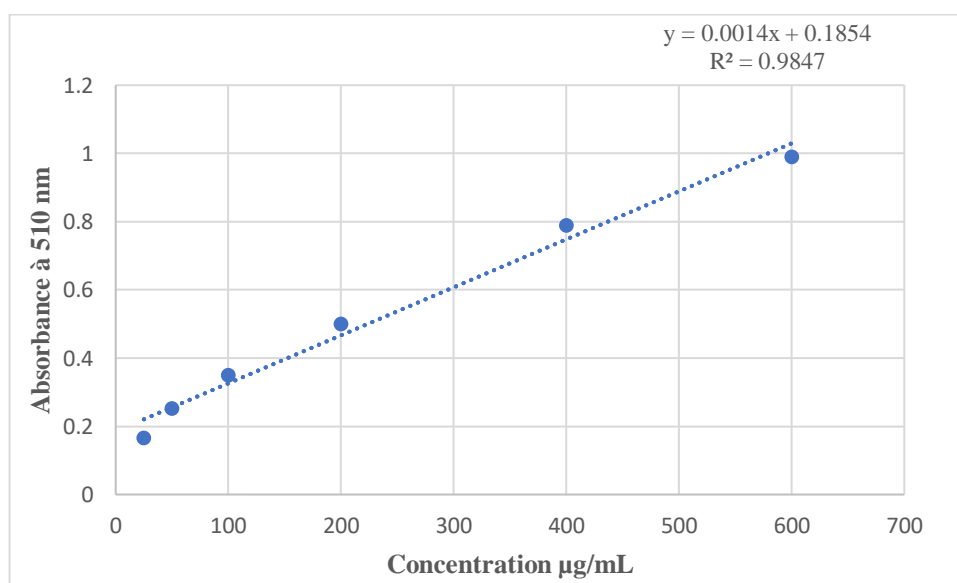


Figure 25: Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes.
Les résultats de dosages des polyphénols totaux et flavonoïdes sont regroupés dans le **Tableau 8**.

Tableau 8 : Dosage de polyphénols totaux et flavonoïdes des extraits de poudre de cacao.

| Extraits | Teneurs en polyphénols totaux ($\mu\text{g Eq AG/ mg ES}$) | Teneurs en flavonoïdes ($\mu\text{g Eq C/ mg ES}$) |
|----------------------------------|--|--|
| Extrait Aqueux | 2022,04\pm 0,0134 | 281,86 \pm0,0489 |
| Extrait hydrométhanolique | 2011,24\pm 0,0018 | 989 \pm0,0500 |

Les analyses ont montré que l'extrait aqueux de poudre de cacao contient une teneur légèrement plus élevée en polyphénols totaux (2022,04 $\mu\text{g Eq AG/mg ES}$) que l'extrait hydrométhanolique (2011,24 $\mu\text{g Eq AG/mg ES}$). En revanche, l'extrait hydrométhanolique est nettement plus riche en flavonoïdes (989 $\mu\text{g Eq C/mg ES}$) comparé à l'extrait aqueux (281,86 $\mu\text{g Eq C/mg ES}$). Ces résultats indiquent que l'eau est plus efficace pour extraire les polyphénols totaux, tandis que le mélange hydrométhanolique favorise l'extraction des flavonoïdes. Le choix du solvant influence donc la composition en composés bioactifs des extraits.

2. L'activité antioxydante

2.1. Piégeage du radical libre DPPH

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de poudre de cacao par le test de DPPH, a donné les courbes graphiques ci-dessous représentent la variation du pourcentage de pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration de chaque extrait (**Figures 26 à 28**).

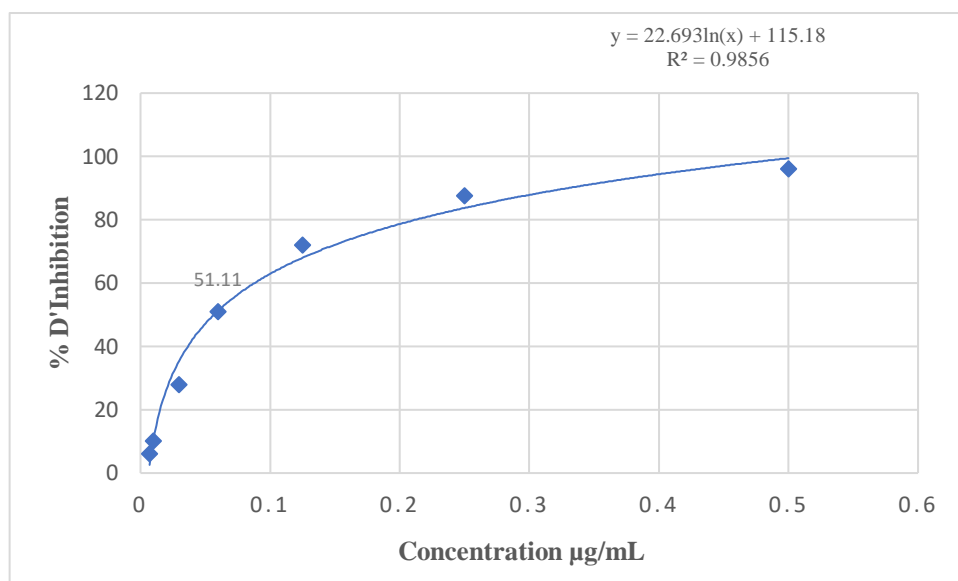


Figure 26: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de différentes concentrations de l'acide ascorbique.

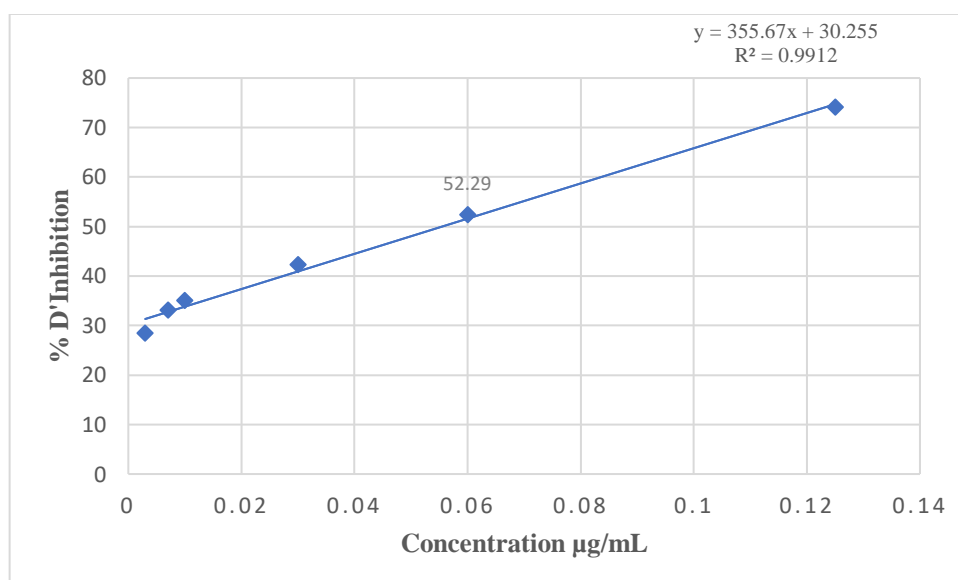


Figure 27: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de différentes concentrations de l'extrait aqueux.

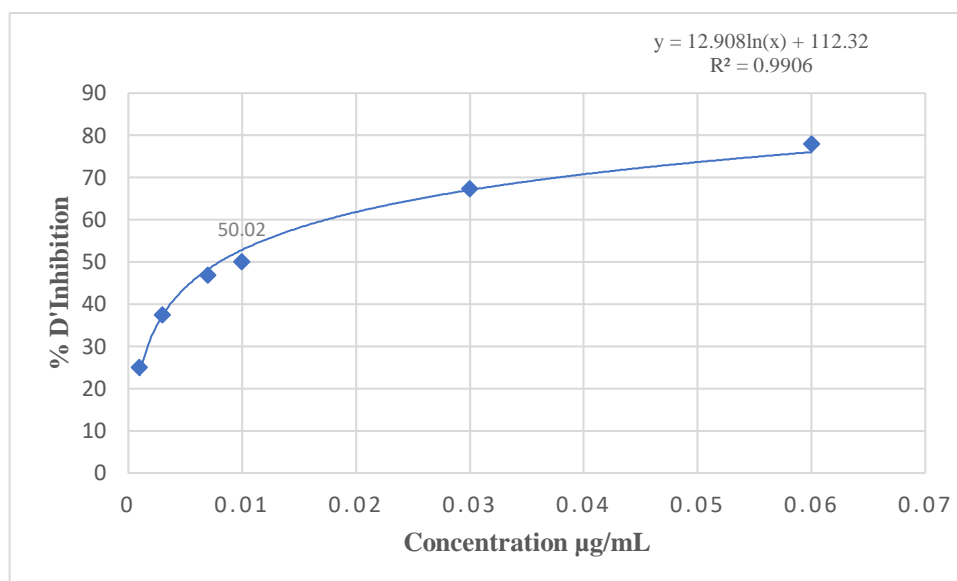


Figure 28: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique.

Les valeurs d'IC₅₀ servent à mesurer et à mettre en parallèle l'activité réductrice des extraits en comparaison avec une molécule de référence. Elles sont définies graphiquement à partir des courbes d'absorbances en relation avec les diverses concentrations des extraits examinés (Tableau 9).

Tableau 9 : Les valeurs d'IC₅₀ des extraits de poudre de cacao avec la molécule de référence.

| Extraits | IC ₅₀ (µg/mL) |
|---------------------------|--------------------------|
| Extrait Aqueux | 0,0502 |
| Extrait hydrométhanolique | 0,0149 |
| Acide Ascorbique | 0,0564 |

L'extrait hydrométhanolique présente la plus faible valeur d'IC₅₀ (0,0149 µg/mL), ce qui indique une forte activité antioxydante, tandis que l'extrait aqueux à une IC₅₀ légèrement plus élevée (0,0502 µg/mL), indique une activité antioxydante modérée.

Partie 03 : Résultats et interprétation

L'acide ascorbique, utilisé comme référence, à une IC_{50} de $0,0564 \mu\text{g/mL}$, ce qui place l'extrait hydrométhanolique comme plus puissant que la molécule de référence.

2.2. Pouvoir réducteur du fer (méthode FRAP)

La capacité des extraits de cacao en poudre à diminuer le fer a été examinée par comparaison avec celle de la molécule standard : l'acide ascorbique. Les absorbances des diverses concentrations standards ou des extraits élaborés ont été illustrées par des graphiques de régression linéaire (Figures 29 à 31).

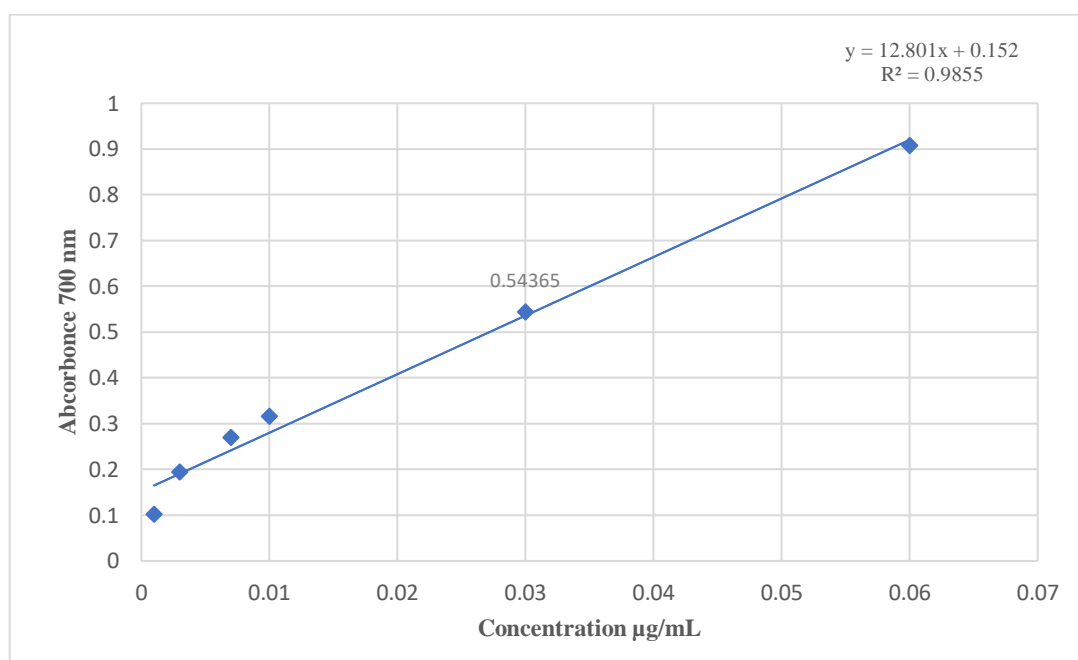


Figure 29: Pouvoir de réduction de fer par l'acide ascorbique.

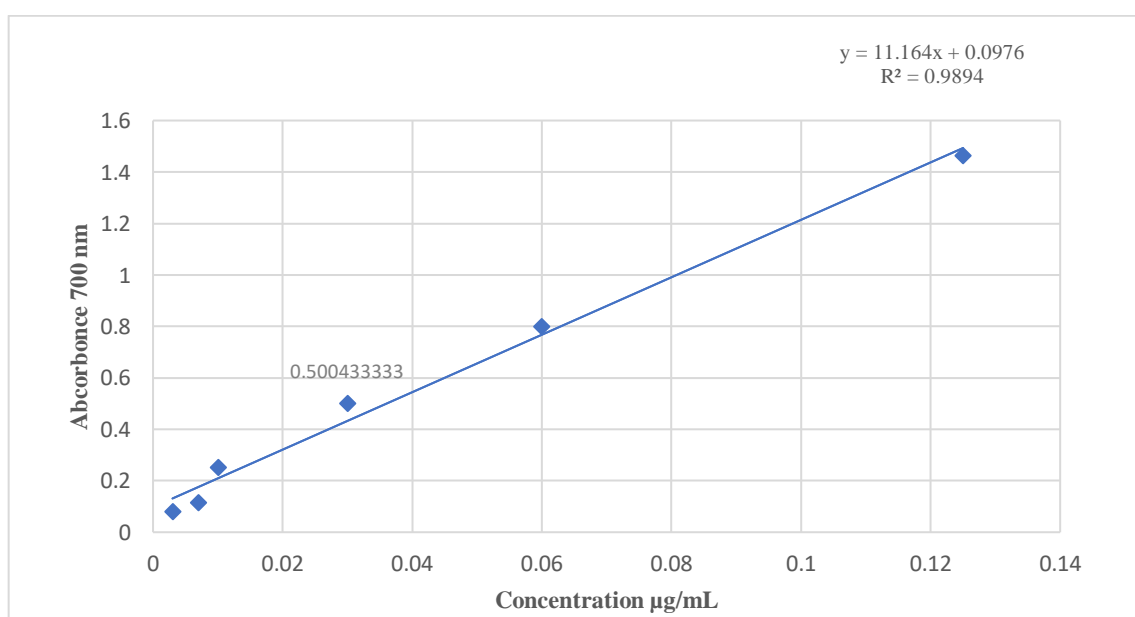


Figure 30: Pouvoir réducteur du fer par de l'extrait Aqueux

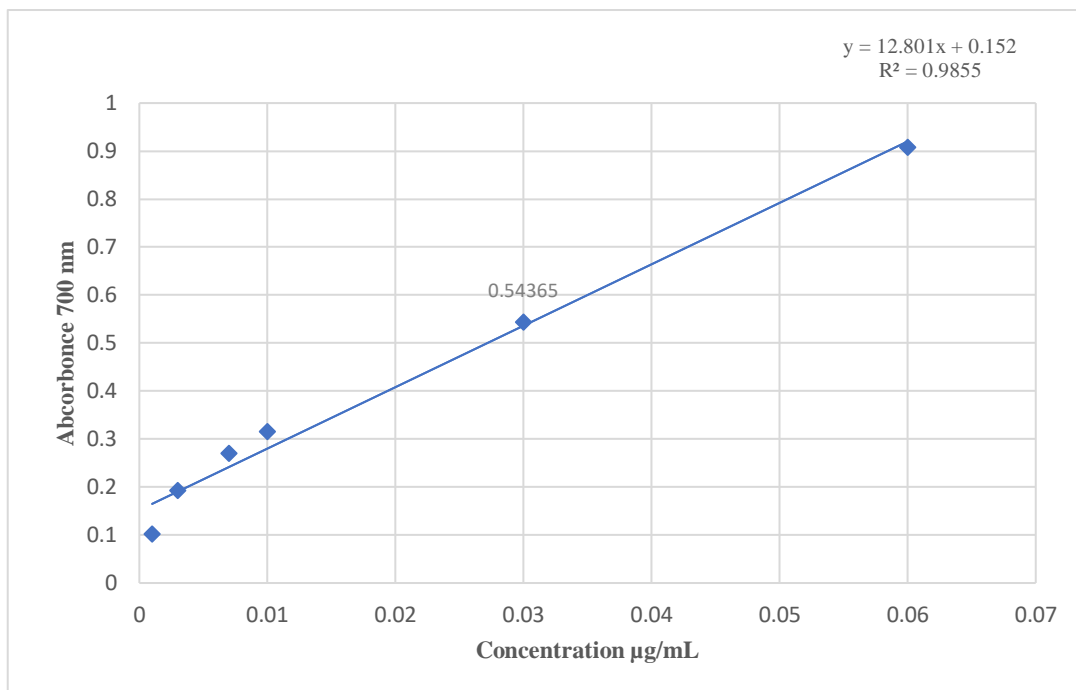


Figure 31: Pouvoir réducteur du fer par de l'extrait Hydrométhanolique

Les valeurs d'EC₅₀ permettent de quantifier et de comparer l'activité réductrice des extraits en comparaison avec la molécule de référence. Elles sont établies graphiquement à partir des courbes de régressions linéaires d'absorbance en fonction des diverses concentrations des extraits analysés (**Tableau 8**).

Tableau 10: Les valeurs d'EC₅₀ des extraits aqueux et hydrométhanolique avec la molécule de référence (l'acide ascorbique).

| Extraits | EC ₅₀ (µg/mL) |
|-------------------|--------------------------|
| Aqueux | 0,03 |
| Hydrométhanolique | 0,027 |
| Acide Ascorbique | 0,0233 |

Les deux types d'extraits (aqueux et hydrométhanolique) démontrent une activité antioxydante significative avec une valeur d'EC₅₀ presque identique, il s'agit de 0,03 µg/mL d'extrait aqueux et 0,027 µg/mL pour l'extrait hydrométhanolique. À titre de comparaison, l'acide ascorbique, qui est généralement réputé pour ses propriétés antioxydantes, affiche une valeur d'EC₅₀ de 0,0233 µg/mL, ce qui le rend plus efficace que les extraits de poudre de cacao. Ainsi, que ce soit l'extrait aqueux ou l'hydrométhanolique, on constate une activité antioxydante notable des

Partie 03 : Résultats et interprétation

extraits de cacao, bien qu'elle reste inférieure à celle de l'acide ascorbique dans cette évaluation. Ceci met en lumière la concentration élevée en composés antioxydants dans le cacao, tels que les flavonoïdes, et autres polyphénols.

3. L'activité antibactérienne

3.1 Méthode de diffusion sur milieu gélose

Les souches ensemencées sont mises en contact avec les deux extraits à tester par la méthode de diffusion sur milieu solide. Le pouvoir antibactérien se manifeste par l'apparition de zones d'inhibition, qui sont mesurés et les résultats ont été mentionné dans le **tableau 10**

Tableau 11: Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits testés vis-à-vis les différentes souches bactériennes.

| | Aqueux | Hydrométhanolique | GEN |
|--|--------|-------------------|-----|
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25933 | 6 | 6 | 30 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | 6 | 12,5 | 45 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 | 6 | 6 | 28 |
| <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 | 6 | 27,5 | 21 |

Les résultats obtenus montrent que :

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ont présenté une sensibilité forte aux extraits hydro-méthanolique testés, avec des diamètres d'inhibition compris entre 12,5 et 27,5 mm respectivement.
- *Bacillus subtilis* ATCC 6633 est la souche la plus sensible pour l'extrait hydrométhanolique avec un diamètre d'inhibition de 27,5 mm, par contre aucune sensibilité vis-à-vis l'extrait aqueux.

Partie 03 : Résultats et interprétation

- La gentamicine, antibiotique à large spectre utilisé comme témoin positif, présente des diamètres d'inhibition élevés par rapport à nos extraits vis-à-vis de toutes les souches testées.
- L'extrait aqueux ne montre aucune activité vis-à-vis les souches testées.

Partie 04 : Discussion

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des deux extraits hydro-méthanoliques et aqueux de poudre de cacao.

Le cacao, provenant des fèves de l'arbre *Theobroma cacao* L., est estimé non seulement pour ses caractéristiques organoleptiques, mais également pour ses propriétés biologiques exceptionnelles. Il renferme une large variété de composés bioactifs, notamment des flavonoïdes, mais aussi des composés phénoliques et des tanins. De nombreuses recherches scientifiques ont clairement prouvé que le cacao a une forte action antioxydante, capacité contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et à défendre les cellules face au stress oxydatif. Cette aptitude est essentiellement due à sa forte concentration en flavonoïdes (**Martín, M. A. et al., 2013**).

L'extrait aqueux de cacao a démontré un rendement d'extraction supérieur (10 %) comparé à l'extrait hydro méthanolique (7,6 %). Cette variation s'explique par le pouvoir de l'eau à dissoudre une large quantité de composés hydrophiles comme les sucres, protéines et certains tanins. Cependant, même s'il est moins performant en substance d'extraction de masse, l'extrait hydrométhanolique s'est révélé plus riche en composés bioactifs tels que les flavonoïdes et polyphénols, qui sont à l'origine de l'activité antioxydante. Dans une comparaison à d'autres recherches qui ont observé des rendements comparables avec des extraits méthanoliques de cacao, variant entre 6 et 9 % (**Niemenak, N. et al., 2006**), ce qui valide bien nos conclusions.

Les tests phytochimiques que nous avons réalisés sur les extraits aqueux et hydrométhanoliques de cacao ont permis à l'identification d'une variété de métabolites secondaires, y compris les flavonoïdes, tanins, saponines, terpénoïdes, quinones, composés réducteurs et alcaloïdes. On connaît bien ces groupes de composés pour leur rôle dans des activités biologiques importantes comme les effets antioxydants.

La présente étude a mis en évidence l'impact majeur du choix du solvant sur l'extraction des polyphénols totaux et des flavonoïdes à partir de poudre de cacao. Les résultats révèlent des profils distincts selon le type de solvant :

Polyphénols totaux : l'extrait aqueux (2022 μg Eq AG/mg ES) présente un taux légèrement supérieur à l'extrait hydrométhanolique (2011 μg Eq AG/mg ES). Ce résultat est conforme à d'autres investigations montrant que l'eau, en tant que solvant polaire, favorise l'extraction de composés phénoliques hydrophiles (**Plaza, M. et al., 2017**).

Flavonoïdes : à l'inverse, l'extrait contenant du méthanol démontre une concentration nettement plus élevée (989 μg Eq C/mg ES contre 281,9 pour l'extrait aqueux). Cela correspond à la littérature qui rapporte que les solvants mixtes polaires–semi-polaires (comme l'hydrométhanol) permettent d'extraire une plus large gamme de flavonoïdes, en particulier les molécules moins hydrophiles (**Wiyono, T et al., 2020**).

Dans notre recherche et dans la littérature, on constate toujours que les flavonoïdes sont moins présents que les polyphénols totaux, ce qui est en accord avec leurs propriétés chimiques. Effectivement, les flavonoïdes sont une sous-catégorie des polyphénols et ne constituent qu'une fraction du total des composés phénoliques extraits.

De manière similaire, dans l'étude de **Toro-Uribe, S et al., (2020)**, utilisant une extraction optimisée par ultrasons, la teneur en flavonoïdes (88,87 mg/g) reste inférieure à celle des polyphénols totaux (122,34 mg/g),

L'évaluation de l'activité antioxydante des deux extraits de poudre de cacao a été réalisée au moyen de deux méthodes : la méthode de piégeage du radical libre DPPH et la méthode de réduction du fer (FRAP).

Le test DPPH a démontré que les deux extraits de cacao présentent une activité antioxydante remarquable. L'extrait hydrométhanolique a démontré la plus grande efficacité avec une concentration inhibitrice médiane (IC_{50}) de 0,0149 $\mu\text{g/mL}$, alors que l'extrait aqueux a présenté une IC_{50} de 0,0435 $\mu\text{g/mL}$. Pour comparaison, l'acide ascorbique, qui sert de référence, a montré une valeur IC_{50} de 0,0564 $\mu\text{g/mL}$ qui affiche une efficacité intermédiaire, supérieure à l'extrait aqueux, mais inférieure à l'extrait hydrométhanolique.

Cela indique que notre extrait hydrométhanolique de cacao possède une activité antioxydante supérieure à celle de l'acide ascorbique, alors que l'extrait aqueux se révèle légèrement moins efficace. On conclut que le cacao, en particulier en tant qu'extrait hydrométhanolique, constitue une excellente activité antioxydants.

Selon les études menées par **Emelda, A Andi. En 2015**, les extraits de cacao riches en polyphénols présentent une forte activité antioxydante avec des IC_{50} souvent comprises entre 0,01 et 0,05 $\mu\text{g/mL}$, ce qui est en parfaite cohérence avec nos résultats.

L'analyse de l'activité antioxydante via la méthode de réduction du fer a révélé que l'extrait hydrométhanolique de cacao présente un EC_{50} de 0,027 mg/mL , alors que l'extrait aqueux présente un EC_{50} de 0,03 $\mu\text{g/mL}$. L'acide ascorbique, qui sert de référence, a démontré une valeur d' EC_{50} de 0,0233 $\mu\text{g/mL}$, ce qui le rend plus efficace que les extraits de poudre de cacao.

La meilleure efficacité de l'extrait hydrométhanolique pourrait s'expliquer par sa capacité à extraire une gamme plus large et plus concentrée de composés phénoliques et flavonoïdes, reconnus pour leur activité antioxydante. L'éthanol, combiné à l'eau, améliore en effet la solubilité de nombreux métabolites secondaires présents dans le cacao, ce qui pourrait expliquer cette différence.

Les tests DPPH et FRAP ont démontré que les extraits de cacao ont une forte capacité antioxydante. L'extrait hydrométhanolique a démontré la plus grande activité, possédant une

forte capacité à neutraliser les radicaux libres (DPPH) et à réduire les ions ferriques. L'activité notable de l'extrait aqueux a également été démontrée, bien qu'elle soit légèrement moins forte. L'étude de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et hydrométhanoliques de cacao a révélé une efficacité qui détermine en fonction du type d'extrait et des souches bactériennes étudiées. L'extrait hydrométhanolique a démontré les zones d'inhibition les plus larges vis-à-vis du *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 avec une valeur de 12,5 mm et *Bacillus subtilis* ATCC 6633 avec une valeur de 27,5 mm, indique une activité antibactérienne plus marquée comparativement à l'extrait aqueux qui a aucune sensibilité avec les différentes souches testées. Le phénomène de la résistance aux antibactériens, notamment face à certaines bactéries Gram négatif, est essentielle et a engendré des difficultés dans le traitement des infections. Un traitement plus efficace s'impose (**Organisation mondiale de la Santé. 2024**).

La différence dans la réponse bactérienne était possible en raison de la nature des espèces bactériennes. Il est à noter que l'extrait hydrométhanolique de poudre de cacao a montré un effet antibactérien contre les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*).

Cette supériorité d'action peut s'expliquer par la structure spécifique de leur paroi cellulaire. On observe une activité antibactérienne plus forte contre les bactéries Gram+ que Gram-. Ceci est dû à la structure de leur paroi : les Gram+ possèdent une paroi épaisse et poreuse, qui facilite la diffusion des métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes. Comme dans l'étude de (**Veiko, A, et al, 2023**) montre que des flavonoïdes comme la quercétine, la naringénine et la catéchine altèrent la membrane de *Staphylococcus aureus* (bactérie Gram +) et inhibent sa capacité à lysér les hématies, ce qui illustre bien le mécanisme évoqué dans notre discussion.

Cependant, les Gram- disposent d'une membrane externe riche en lipopolysaccharides qui fait rôle de barrière limitant la diffusion des composés actifs.

Dans d'autres recherches sur les extraits de cacao naturel (non alcalin) indiquent une activité antibactérienne significative sur les Gram+, via des concentrations élevées en polyphénols tels que l'épicatchine et la catéchine (**Todorovic, V., et al. 2017**).

L'extrait hydrométhanolique a démontré une plus grande efficacité que l'extrait aqueux, en raison de sa concentration supérieure en composés bioactifs. Ces observations indiquent que la sensibilité des bactéries est influencée tant par leur structure cellulaire que par la composition chimique des extraits.

Ces résultats montrent que le cacao pourrait être une source naturelle intéressante d'agents antibactériens, surtout contre les bactéries Gram positif. D'autres recherches sont toutefois nécessaires pour mieux comprendre son action et envisager des applications en santé humaine.

En résumé, ces résultats montrent que le cacao, surtout en tant qu'extrait hydrométhanolique, montre un potentiel antibactérien notable contre les bactéries à Gram positif que l'extrait aqueux.

Partie 05 : Conclusion et perspectives

Partie 05 : Conclusion et perspectives

Le cacao, ingrédient essentiel de tout véritable chocolat et de tout produit à base de cacao, est une source alimentaire extrêmement complexe.

Notre travail a porté sur les tests de la phytochimie des extraits aqueux et hydrométhanolique de poudre de cacao où les résultats obtenus ont montré que le cacao contient des composés efficaces capables d'agir comme antioxydants.

Concernant des tests d'activité antioxydante, les résultats ont démontré que les deux types d'extraits (aqueux et hydrométhanolique) démontrent une activité antioxydante significative dans les deux tests de piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer par la méthode FRAP. Donc la poudre de cacao montre une activité supérieure à celle de l'acide ascorbique, ce qui reflète leur richesse en composés phénoliques.

Les tests préliminaires réalisés sur l'activité antibactérienne ont montré que l'efficacité antibactérienne des extraits aqueux et hydrométhanoliques du cacao a démontré une performance qui varie selon le type d'extrait et les souches bactériennes examinées. L'extrait hydrométhanolique a montré les plus grandes zones d'inhibition contre le *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 avec une mesure de 12,5 mm et *Bacillus subtilis* ATCC 6633 qui a atteint 27,5 mm, ce qui indique une activité antibactérienne plus prononcée contre les bactéries à Gram positif par rapport à l'extrait aqueux qui n'a présenté aucune sensibilité aux diverses souches testées.

Ces résultats confirment l'intérêt potentiel des extraits de poudre de cacao comme agents antioxydants naturels, et confirment le potentiel de l'extrait hydrométhanolique de cacao comme agent antibactérien naturel, particulièrement efficace contre les bactéries à Gram positif. Cette propriété suggère un potentiel intéressant pour une utilisation de la poudre de cacao comme agent conservateur naturel dans l'industrie agroalimentaire, notamment pour limiter le développement microbien dans les produits sensibles. Son intégration dans des formulations alimentaires pourrait ainsi contribuer à une meilleure conservation, tout en répondant à la demande croissante de solutions naturelles et sans additifs chimiques.

Pour atteindre cet objectif de manière optimale, il serait approprié de poursuivre cette recherche en explorant d'autres activités biologiques telles que les activités hémolytiques, antidiabétiques, et anti-inflammatoires. L'étude de techniques d'extraction complémentaires pour optimiser la récupération des composés bioactifs.

De plus, l'identification des molécules actives responsables de diverses activités étudiées.

Références bibliographiques

• A

- **Achat, S. (2013).** Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métallique [Thèse de doctorat, Université d'Avignon].
- **Adida, H. Frioui, E. Djaziri, R. Mezouar, D. (2014).** *In vitro* antibacterial activity of *Pituranthos scoparius* from Algeria. *Int J. Biol. Chem. Sci.* 8(5): 2095-2108.
- **Ahmed, H., Rashed, M. M. A., Almoiliqy, M., Abdalla, M., Bashari, M., Zaky, M. Y., Hailin, Z., Naji, T. A. A., Eibaid, A., Wang, J., & Jiang, L. P. (2023).** Antioxidant activity and total phenolic compounds of *Commiphora gileadensis* extracts obtained by ultrasonic-assisted extraction, with monitoring antiaging and cytotoxicity activities. *Food Science & Nutrition*, 11(5), 2294–2304. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3339>
- **Akinmoladun, F. O., Olaleye, T. M., Farombi, E. O., & Komolafe, T. O. (2022).** Qualitative and quantitative phytochemical screening and antioxidant activity of selected medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 149, 334–342. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.01.011>
- **Al-Khayri, J. M., Rashmi, R., Toppo, V., Chole, P. B., Banadka, A., Sudheer, W. N., Nagella, P., Shehata, W. F., Al-Mssallem, M. Q., Alessa, F. M., Almaghasla, M. I., & Rezk, A. A. (2023).** Plant secondary metabolites: The weapons for biotic stress management. *Metabolites*, 13(6), 716. <https://doi.org/10.3390/metabo13060716>
- **Almagro, L., Fernández-Pérez, F., & Pedreño, M. A. (2015).** Indole alkaloids from *Catharanthus roseus*: Bioproduction and their effect on human health. *Molecules*, 20(2), 2973–3000.
- **Amiot, M. J., Rémésy, C., & Lobstein, A. (2016).** Effects of dietary polyphenols on metabolic syndrome features in humans: A systematic review. *Obesity Reviews*, 17(10), 950–975. <https://doi.org/10.1111/obr.12409>
- **Andújar, I., Recio, M. C., Giner, R. M., & Ríos, J. L. (2012).** Cocoa polyphenols and their potential benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012, Article 906252. <https://doi.org/10.1155/2012/906252>
- **Angiosperm Phylogeny Group. (2016).** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(1), 1–20.

• B

- **Barrau, J. (2013).** *L'homme et les plantes alimentaires* (Œuvre originale publiée en 1970). IRD Éditions.
- **Bekele, F. L., & Butler, D. R. (2003).** Evaluation and utilisation of cacao (*Theobroma cacao* L.) germplasm at the International Cocoa Genebank, Trinidad. *Euphytica*, 130(2), 207–221.
- **Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996).** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- **Boutera, K., & Hammoudi, I. (2016).** Étude extractive des alcaloïdes et évaluation de leur activité biologique [Mémoire de Master, Université Frères Mentouri Constantine 1]. <https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/biblio/mmf/2016/142.pdf>

• C

- **Cacao Barry. (s. d.).** *Poudre de cacao – Plein arôme 22–24 %, poudre, 5 kg sac.* <https://www.cacao-barry.com/fr-FR/chocolat-couverture-cacao/DCP-22PLARO-E0-91B/plein-arome-poudre-cacao-alkalinis%C3%A9-brun-chaleureux>
- **Carine. (2017).** *Les "cépages" de cacao – Mon jardin chocolaté.* Mon Jardin Chocolaté. <https://www.monjardinchocolate.com/les-cepages-de-cacao/>
- **Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chern, J. (2002).** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182.
- **Classe de Broualan. (s. d.).** *Chapitre complet pour impression – Trans.* http://www.ecoles-rpi-broualan-trans.ac-rennes.fr/spip.php?page=aff_rub_complet&id_rubrique=16
- **CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), M2-A9. (2010).** Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, approved standard, 9th ed., CLSI, Wayen, PA.
- **Coe, S. D., & Coe, M. D. (1996).** *The True History of Chocolate.* Thames & Hudson, Londres.
- **Cordell, G. A. (2013).** Mining and exploitation of natural products: The science and its impact on medicine. *Phytochemistry Reviews*, 12(1), 13–19.

- **Cordell, G. A. (2013).** Mining and exploitation of natural products: The science and its impact on medicine. *Phytochemistry Reviews*, 12(1), 13–19.
- **Crozier, A., Clifford, M. N., & Ashihara, H. (2006).** Plant secondary metabolites. Occurrence, Structure and Role in the Human Diet, Blackwell-Publishers.

• *D*

- **Dakin, K., & Wichmann, S. (2000).** Cacao and chocolate: A Uto-Aztec perspective. *Ancient Mesoamerica*, 11(1), 55–75.
- **Daymond, A. J., Giraldo Mendez, D., Hadley, P., & Bastide, P. (2022).** *A global guide to cocoa farming systems*. International Cocoa Organisation.
- **Desideri, G., Kwik-Urbe, C., Grassi, D., Necozone, S., Ghiadoni, L., Mastroiacovo, D., Raffaele, A., Ferri, L., Bocale, R., Lechiara, M. C., Marini, C., & Ferri, C. (2012).** Benefits in cognitive function, blood pressure, and insulin resistance through cocoa flavanol consumption in elderly subjects with mild cognitive impairment: The Cocoa, Cognition, and Aging (CoCoA) study. *Hypertension*, 60(3), 794–801.
- **Duguma, A., Deyno, S., Molla, F., Eyado, A., & Abebe, A. (2024).** *In vitro* antibacterial, DPPH radical scavenging activities, and in silico molecular modeling of isolated compounds from the roots of *Clematis hirsuta*. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2024, Article ID 3152929. <https://doi.org/10.1155/2024/3152929>
- **Ďuračková, Z. (2008).** Oxidants, antioxidants and oxidative stress. In A. Gvozdjaková (Ed.), *Mitochondrial medicine: Mitochondrial metabolism, diseases, diagnosis and therapy* (pp. 19–54). Springer.
- **Dwyer, D. J., Collins, J. J., & Walker, G. C. (2014).** Unraveling the physiological complexities of antibiotic lethality. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 55, 313–332.

• *E*

- **Ekor, M. (2014).** The growing use of herbal medicines: Issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Frontiers in Pharmacology*, 4, 177. <https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00177>
- **Emelda, A. (2015).** Polyphenol total content, IC50 and antioxidant activities of ethanol extract from some cocoa (*Theobroma cacao*) beans in South Sulawesi Indonesia. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7, 1211–1214.

- **Eurofins Biomnis. (2023).** *Stress oxydatif – La production de radicaux libres.* <https://www.eurofins-biomnis.com/blog/stress-oxydatif-production-radicaux-libres/>

• G

- **Garrel, C., & Bigard, X. (2017).** Stress oxydatif et micronutriments antioxydants. In *Nutrition & Sport* (p. 151).
- **Ghedadba, N., Hambaba, L., Hachemi, M., & Bensaad, M. S. (2021).** Antioxidant and anti-inflammatory activities of methanolic extract of *Marrubium deserti* de Noé leaves. *PSM Biological Research*, 6(3), 56–65.
- **Gosse, A. (2020).** *Le problème des huiles végétales (partie 2 : radicaux libres et inflammation).* Nutriludis. Repéré le 11 juin 2025, à l'adresse <https://nutriludis.wordpress.com/2020/09/21/le-probleme-des-huiles-vegetales-partie-2-radicaux-libres-et-inflammation/>
- **Gouari, S. (2021).** *Mécanismes d'action et de résistance aux antibiotiques* [Mémoire de master, Université Mohamed Boudiaf – M'sila, Algérie].
- **Grassi, D., Lippi, C., Necozione, S., Desideri, G., & Ferri, C. (2005).** Short-term administration of dark chocolate is followed by a significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(3), 611–614. <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.3.611>

• H

- **Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015).** *Free radicals in biology and medicine* (5^e éd.). Oxford University Press.
- **Hatami, A., Djafarian, K., Saeidifard, N., & Shab-Bidar, S. (2024).** Effect of dark chocolate/cocoa consumption on oxidative stress and inflammation in adults: A GRADE-assessed systematic review and dose-response meta-analysis of controlled trials. *Complementary Therapies in Medicine*, 84, 103061. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2024.103061>
- **Heinrich, U., Neukam, K., Tronnier, H., Sies, H., & Stahl, W. (2006).** Long-term ingestion of high flavanol cocoa provides photoprotection against UV-induced erythema and improves skin condition in women. *The Journal of Nutrition*, 136(6), 1565–1569. <https://doi.org/10.1093/jn/136.6.1565>
- **Hendry, G. A. F., & Houghton, J. D. (Eds.). (1996).** *Natural food colorants* (2nd ed.). Springer Science+Business Media.

- **Higdon, J. V., & Frei, B. (2003).** Tea catechins and polyphenols: Health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(1), 89–143.
- **Hooper, L., Kay, C., Abdelhamid, A., Kroon, P. A., Cohn, J. S., Rimm, E. B., & Cassidy, A. (2012).** Effects of chocolate, cocoa, and flavan-3-ols on cardiovascular health: A systematic review and meta-analysis of randomized trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 95(3), 740–751.

• I

- **Igor Passi L.B., (2002).** Étude des activités biologique de Fagarazanthoxyloïdes, lam (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, 133 p.
- **International Atomic Energy Agency. (2020).** *Infectious diseases* [PDF]. *IAEA Bulletin*. Récupéré le 14 juin 2025, de <https://www.iaea.org/sites/default/files/infectiousdiseases.pdf>
- **International Cocoa Organization. (2021).** *Quarterly bulletin of cocoa statistics: Vol. XLVII, No. 1. Cocoa year 2020/21* (pp. 6–9). ICCO.
- **International Cocoa Organization. (2023).** *Quarterly bulletin of cocoa statistics* (Vol. 49, No. 4). ICCO.
- **Inserm. (2017).** *Résistance aux antibiotiques*. <https://www.inserm.fr/dossier/resistance-antibiotiques/>

• J

- **Jean-Marie, E., Bereau, D., Poucheret, P., Guzman, C., Boudard, F., & Robinson, J. C. (2021).** Antioxydative and immunomodulatory potential of the endemic French Guiana wild cocoa "Guiana". *Foods*, 10(3), 522. <https://doi.org/10.3390/foods10030522>
- **Jeeno, P., Yadoung, S., Yana, P., & Hongsibsong, S. (2023).** Phytochemical profiling and antioxidant capacity of traditional plants, Northern Thailand. *Plants*, 12(23), 3956. <https://doi.org/10.3390/plants12233956>

• K

- **Katz, D. L., Doughty, K., & Ali, A. (2011).** Cocoa and chocolate in human health and disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, 15(10), 2779–2811. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3697>

- **Kalghatgi, S., Spina, C. S., Costello, J. C., Liesa, M., Morones-Ramirez, J. R., Slomovic, S., Molina, A., Shirihai, O. S., & Collins, J. J. (2013).** Bactericidal antibiotics induce mitochondrial dysfunction and oxidative damage in mammalian cells. *Science Translational Medicine*, 5(192), 192ra85.
- **Kazemi-Kandi, A., & Salarifar, S. (2023).** Review on oxidant and antioxidant effects of antibacterial agents: Impacts on bacterial cell death and division and therapeutic effects or adverse reactions in humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2023, 2426615.
- **Kelm, M. et Schmitz, H. H. (2006).** « (-)-Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. » *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 103 (4), 1024–1029.
- **Kleinrichert K., Bindhu A. (2019).** Comparative analysis of antioxidant and anti-amyloidogenic properties of various polyphenol rich phytoceutical extracts, *Antioxidants*, 10 :1-11.
- **Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., Hayete, B., Lawrence, C. A., & Collins, J. J. (2007).** A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell*, 130(5), 797–810.
- **Koko, L. K. (2014).** Teractiv cacao as a new fertilizer based on reactive phosphate rock for cocoa productivity in Côte d'Ivoire: A participatory approach to update fertilization recommendations. *Procedia Engineering*, 83, 348–353.
- **Kumar, M., Sarma, D. K., Shubham, S., Kumawat, M., Verma, V., Nina, P. B., Devraj, J. P., Kumar, S., Singh, B., & Tiwari, R. R. (2021).** Futuristic non-antibiotic therapies to combat antibiotic resistance: a review. *Frontiers in Microbiology*, 12, Article 609459.

• L

- **Labbani, P. (2021).** Métabolisme secondaire des plantes [Chapitre de biochimie végétale, L3-BPV-FSNV/UFMC]. Université Mohamed Premier, Oujda.
- **Larousse, É. (s. d.).** Cacaoyer – Média LAROUSSE. <https://www.larousse.fr/encycopedie/images/Cacaoyer/1000795>
- **Lazouni, H. A., & Chaouche, T. M. (2024).** *Plantes médicinales à usage traditionnel* [PDF]. Université de Tlemcen. http://dspace1.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/23484/1/plante_medicinale.pdf

- Lee, S. H. Chang, K. S. Su, M.-S. Huang, Y.-S. Jang, H.D. (2007). Effects of some Chinese medicinal plant extracts on five different fungi. *Food Control*, 18(12),
- Li, J. W., & Vederas, J. C. (2009). Drug discovery and natural products: End of an era or an endless frontier? *Science*, 325(5937), 161–165. <https://doi.org/10.1126/science.1168243>
- Liu, Y., & Imlay, J. A. (2013). Cell death from antibiotics without the involvement of reactive oxygen species. *Science*, 339(6124), 1210–1213.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118–126.

• M

- Marković, I., Milenković, L., & Živković, J. (2022). The impact of roasting on cocoa quality parameters: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(8), 4139–4165.
- Martín, M. A., Goya, L., & Ramos, S. (2016). Cocoa polyphenols in oxidative stress: Potential health implications. *Antioxidants*, 5(3), 27.
- Martín, M. A., Ramos, S., Cordero Herrero, I., Bravo, L., & Goya, L. (2013). Cocoa phenolic extract protects pancreatic β -cells against oxidative stress. *Nutrients*, 5(8), 2955–2968. <https://doi.org/10.3390/nu5082955>
- McNeil, C. L. (Ed.). (2012). *Chocolate in Mesoamerica: A cultural history of cacao*. University Press of Florida.
- Moghimi, R., Aliahmadi, A., Rafati, H., & Feizabadi, M. M. (2024). Inhibition of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* by nanoemulsion of *Satureja rechingeri* essential oil. *Journal of Essential Oil Research*.
- Mossu, G. (1990). *Le cacaoyer*. Paris : Maisonneuve et Larose. (Coll. Le technicien de l'agriculture tropicale)
- Motamayor, J. C., Lachenaud, P., da Silva e Mota, J. W., Loor, R., Kuhn, D. N., Brown, J. S., & Schnell, R. J. (2008). Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L.). *PLoS ONE*, 3(10), e3311. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003311>
- Mpondo Mpondo, E., Yinyang, J., & Dibong, S. D. (2015). Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 85, 7812–7823. <https://www.ajol.info/index.php/jab/article/view/113572>

• N

Niemenak, N., Rohsius, C., Elwers, S., Ndoumou, D. O., & Lieberei, R. (2006). Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6–7), 612–619. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.02.006>

• O

- **Organisation mondiale de la Santé. (2024).** *Résistance aux antimicrobiens.* <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- **Oro, P. A., Assiri, A. M., Kébé, I. B., N'Guessan, K. F., Kouassi, P. K., & Kobenan, K. (2012).** Characterization of a new variant of Cacao Swollen Shoot Virus (CSSV) in Côte d'Ivoire. *International Journal of Virology*, 8(3), 204–212.
- **Othman, A., Ismail, A., Ghani, N. A. & Adenan, I. (2007).** *Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans.* **Food Chemistry**, 100, 1523–1530.

• P

- **Percival, M. (1996).** Antioxidants. *CLINICAL NUTRITION INSIGHTS* 12(1), 20–28. <https://acudoc.com/Antioxidants.PDF>

Plaza, M., Oliveira, D., Nilsson, A., & Turner, C. (2017). Green and efficient extraction method to determine polyphenols in cocoa and cocoa products. *Food Analytical Methods*, 10, 2677–2691

• R

- **Robinson, T. (1974).** Metabolism and function of alkaloids in plants. *Science*, 184(4135), 430–435.
- **Rojo-Poveda, O., Barbosa-Pereira, L., Mateus-Reguengo, L., Bertolino, M., Stévigny, C., & Zeppa, G. (2022).** Cocoa bean shell: A by-product with nutritional properties and biofunctional potential. *Antioxidants*, 12(5), 1028.

• S

- **Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., & Yoga Latha, L. (2011).** Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants'

extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(1), 1–10.

- **Sellami, I., Aissat, S., & Bouamra, A. (2021).** *Le bon usage des antibiotiques au milieu hospitalier* (Mémoire de fin d'études). Université Saad Dahleb – Blida, Algérie.
- **Shrime, M. G., Bauer, S. R., McDonald, A. C., Chowdhury, N. H., Coltart, C. E., & Ding, E. L. (2011).** Flavonoid-rich cocoa consumption affects multiple cardiovascular risk factors in a meta-analysis of short-term studies. *The Journal of Nutrition*, 141(11), 1982–1988. <https://doi.org/10.3945/jn.111.145482>
- **Sies, H., & Jones, D. P. (2020).** Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(7), 363–383. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3>
- **Solano-Aguilar, G. I., Lakshman, S., Jang, S., Beshah, E., Xie, Y., Molokin, A., ... Urban, J. F. Jr. (2018).** The effect of feeding cocoa powder and *Lactobacillus rhamnosus* on the composition and function of pig intestinal microbiome. *Current Developments in Nutrition*, 2(5).
- **Sorrenti, V., Ali, S., Mancin, L., Davinelli, S., Paoli, A., & Scapagnini, G. (2020).** Cocoa polyphenols and gut microbiota interplay: Bioavailability, prebiotic effect, and impact on human health. *Nutrients*, 12(7), 1908.

• T

- **Tahouo, S. F. (2014).** *Procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments à base de plantes* (p. 13). IRD. <https://beep.ird.fr/collect/pha/index/assoc/1757-16/1757-16.pdf>
- **Tamuly, C., Hazarika, A., Boruah, J. L., & Bora, T. C. (2014).** Phytochemical screening and evaluation of antioxidant properties of various extracts of *Phlogacanthus thyrsoiflorus* Nees. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(4), 539–543.
- **Tilburt, J. C., & Kaptchuk, T. J. (2008).** Herbal medicine research and global health: An ethical analysis. *Bulletin of the World Health Organization*, 86(8), 594–599. <https://doi.org/10.2471/blt.07.042820>
- **Tixier, P. (1979).** *Le cacaoyer*. Maisonneuve et Larose.
- **Todorovic, V., Milenkovic, M., Vidovic, B., Todorovic, Z., & Sobajic, S. (2017).** Correlation between antimicrobial, antioxidant activity, and polyphenols of alkalized/nonalkalized cocoa powders. *Journal of Food Science*, 82(4), 1020–1027.

- **Toro-Uribe, S., Ibañez, E., Decker, E. A., Villamizar-Jaimes, A. R., & López-Giraldo, L. J. (2020).** Food-safe process for high recovery of flavonoids from cocoa beans: Antioxidant and HPLC-DAD-ESI-MS/MS analysis. *Antioxidants*, 9(5), 364.

- **V**

- **Veiko, A. G., Olchowik-Grabarek, E., Sekowski, S., Roszkowska, A., Lapshina, E. A., Dobrzynska, I., Zamaraeva, M., & Zavodnik, I. B. (2023).** Antimicrobial activity of quercetin, naringenin and catechin: Flavonoids inhibit *Staphylococcus aureus*-induced hemolysis and modify membranes of bacteria and erythrocytes. *Molecules*, 28(3), 1252.
- **Ventola, C. L. (2015).** The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P&T*, 40(4), 277–283.

- **W**

- **Wikipedia. (2023).** *Terpénoïde*. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Terp%C3%A9no%C3%AFde>
- **Williamson, E. M. (2001).** Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine*, 8(5), 401–409. <https://doi.org/10.1078/0944-7113-00060>
- **Wiyono, T., Nurhayati, R., Herawati, E. R. N., & Laila, U. (2020).** *The effect of time, pH and solvent composition on cocoa shell polyphenol extraction and its antioxidant activity: response surface method approach. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 462, 012029.
- **Wojtunik-Kulesza, K. A. (2020).** Approach to optimization of FRAP methodology for studies based on selected monoterpenes. *Molecules*, 25(22), 5267. <https://doi.org/10.3390/molecules25225267>
- **Wollgast, J., & Anklam, E. (2000).** Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33(6), 423–447.
- **Wollgast, J., & Anklam, E. (2007).** Correlation between antimicrobial, antioxidant activity, and polyphenols of alkalized/non-alkalized cocoa powders. *Journal of Food Science*, 82(3), 1–9.

- **Z**

- **Zarrillo, S., Gaikwad, N., Lanaud, C., Powis, T., Viot, C., Lesur, I., Fouet, O., Argout, X., Guichoux, E., Salin, F., Solorzano, R. L., & Bouchez, O. (2018).** The use

Références bibliographiques

and domestication of *Theobroma cacao* during the mid-Holocene in the upper Amazon. *Nature Ecology & Evolution*, 2(12), 1879–1888.

- **Zbadi R., Mohti H., Moussaoui F. (2018).** Stress oxydatif : évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales, *Médecine translationnelle*, 24(2) :134-141.

الملخص

ركز عملنا على الاختبارات الكيميائية النباتية وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا ومضادات الأكسدة للمستخلصات المائية والهيدروميثانولية من مسحوق الكاكاو (*Theobroma cacao*). أبرزت دراستنا الكيميائية النباتية وجود العديد من المركبات الثانوية: الفلافونويدات، العفص، القلويدات، التربينات، الكينونات، الصابونين والمركبات المختزلة. وكشفت التحاليل أن المستخلصات تحتوي على تركيز عالٍ من البوليفينول والفلافونويد، مع إظهار المستخلص الهيدروميثانولي مستويات أعلى، مما يمثل منظورًا علاجيًا مواتيًا. نشاطًا قويًا مضادًا للأكسدة، وخاصة في المستخلص الهيدروميثانولي، الذي تتجاوز إمكاناته FRAP و DPPH أظهر تقدير قدرة مضادات الأكسدة من خلال طرق. إمكانات حمض الأسكوربيك المستخدم كمعيار. أظهر التحليل المضاد للبكتيريا الذي تم إجراؤه على أربع سلالات (جرام+ وجرام-) تأثيرًا متواضعًا ولكنه إيجابي للمستخلصات، وخاصة فيما يتعلق بسلالات جرام+. وتظهر لنا نتائج هذا العمل أن مسحوق الكاكاو يتمتع بخصائص بيولوجية ملحوظة، وخاصة مضادات الأكسدة ومضادات للبكتيريا، وهو ما قد يفسر استخدامه المحتمل في القطاعات الدوائية والتغذية ومستحضرات التجميل. الكلمات المفتاحية: الفلافونويدات، البوليفينول، مضادات الأكسدة، مضادات البكتيريا، المستخلص الهيدروميثانولي مائي. DPPH FRAP *Theobroma cacao*.

Résumé

Notre travail consacré à les tests phytochimique et sur l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits aqueux et hydrométhanolique issus de la poudre de cacao (*Theobroma cacao*). L'étude phytochimique a mis en évidence l'existence de divers métabolites secondaires : les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les terpènes, les quinones, les saponines et les composés réductrices. Les analyses ont révélé que les extraits contiennent une concentration élevée en polyphénols totaux et flavonoïdes, l'extrait hydrométhanolique montre des niveaux supérieurs, ce qui représente une perspective thérapeutique favorable. L'estimation de la capacité antioxydante via les méthodes DPPH et FRAP a montré une forte activité antioxydante, surtout dans l'extrait hydrométhanolique, dont le potentiel dépasse celui de l'acide ascorbique utilisé comme standard. L'analyse antibactérienne effectuée sur quatre souches (Gram+ et Gram-) a révélé un impact modeste, mais favorable des extraits, notamment en ce qui concerne les souches Gram+. Les résultats de ce travail nous attestent que la poudre de cacao présente des caractéristiques biologiques notables, particulièrement antioxydantes et antibactérienne, qui pourraient expliquer son utilisation potentielle dans les secteurs pharmaceutique, nutritionnel et cosmétique. **Mots clés :** *Theobroma cacao*, flavonoïdes, polyphénols totaux, antioxydant, antibactérien, extrait hydrométhanolique, aqueux, DPPH, FRAP.

Abstract

Our work focused on phytochemical tests and the evaluation of the antibacterial and antioxidant activity of aqueous and hydromethanolic extracts from cocoa powder (*Theobroma cacao*). The phytochemical study revealed the presence of various secondary metabolites: flavonoids, tannins, alkaloids, terpenes, quinones, saponins, and reducing compounds. The analyses revealed that the extracts contain a high concentration of polyphenols and flavonoids, with the hydromethanolic extract showing higher levels, representing a favorable therapeutic prospect. Estimation of antioxidant capacity using DPPH and FRAP methods revealed strong antioxidant activity, especially in the hydromethanolic extract, whose potential exceeds that of ascorbic acid used as a standard. Antibacterial analysis performed on four strains (Gram+ and Gram-) revealed a modest but favorable impact of the extracts, particularly with regard to the Gram+ strains. The results of this work demonstrate that cocoa powder exhibits notable biological properties, particularly antioxidant and antibacterial properties, which could explain its potential uses in the pharmaceutical, nutritional, and cosmetic sectors. **Keywords:** *Theobroma cacao*, flavonoids, polyphenols, antioxidant, antibacterial, hydromethanolic extract, aqueous extract, DPPH, FRAP.