

UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB -BLIDA-

Faculté des sciences Agrovétérinaires

Département d'Agronomie

MÉMOIRE DE MAGISTER

En Sciences agronomiques

Spécialité : Nutrition et Transformation des aliments

EXTRACTION, PURIFICATION ET CARACTERISATION D'ANTIOXYDANTS NATURELS EN VUE D'UNE VALORISATION NUTRITIONNELLE

Par

Selma SILABDI

Devant le jury composé de :

L. BEN HADJA	MCA., U. S. D. Blida	Présidente
D. ELHADI	MCA., U. S. D. Blida	Examineur
M. KHALI	MCA., U. S. D. Blida	Rapporteur
A. BITAM	MCA., U. S. D. Blida	Co-promoteur
A. DOUMANDJI	MCB., U. S. D. Blida	Examinatrice

Blida, Décembre 2010

UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB -BLIDA-

Faculté des sciences Agrovétérinaires

Département d'Agronomie

MÉMOIRE DE MAGISTER

En Sciences agronomiques

Spécialité : Nutrition et Transformation des aliments

EXTRACTION, PURIFICATION ET CARACTERISATION D'ANTIOXYDANTS NATURELS EN VUE D'UNE VALORISATION NUTRITIONNELLE

Par

Selma SILABDI

Devant le jury composé de :

L. BEN HADJA	MCA., U. S. D. Blida	Présidente
D. ELHADI	MCA., U. S. D. Blida	Examineur
M. KHALI	MCA., U. S. D. Blida	Rapporteur
A. BITAM	MCA., U. S. D. Blida	Co-promoteur
A. DOUMANDJI	MCB., U. S. D. Blida	Examinatrice

Blida, Décembre 2010

RÉSUMÉ

Les extraits naturels des plantes contiennent une variété de composés phénoliques auxquels sont attribuées de diverses activités biologiques. Dans cette étude, nous avons tenté d'extraire l'ensemble des composés phénoliques des trois matrices végétales : dattes, thé et café.

L'extraction par macération en utilisant le méthanol, s'est avérée efficace et a donné les meilleurs rendements. La solubilité des composés phénoliques est en fonction de beaucoup de facteurs, voir le mode, la température et le temps d'extraction. Les criblages quantitatifs par la méthode de Folin-Ciocalteu des différents extraits ainsi obtenus, ont montré leur richesse en composés phénoliques, révélant ainsi que la matière première soit une source importante d'antioxydants naturels. L'analyse qualitative des extraits par chromatographie sur couche mince (CCM) a révélée la présence probable de la Quercétine dans l'EMDN, EMTV, EMRT et EMAT. L'évaluation quantitative du pouvoir piégeur des différents extraits vis-à-vis un radical libre : le DPPH confirme que ses derniers sont dotés d'une activité antioxydante à dose correspondante. Le meilleur taux d'inhibition é été représenté par la variété Degla Baïda (98,28 %). Ainsi, l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique nous a renseigné sur le pouvoir bactéricide de l'ensemble des extraits sur la souche *Micrococcus Luteus* à dose V/V. la variété Ali Ourached à enregistré un spectre d'inhibition supérieur à celui de l'antibiotique (Streptomycine) vis-à-vis la souche *Bacillus Subtilis*. Cette dernière est considérée comme étant un vrai potentiel antibactérien.

Mots clés : Polyphénols, Extraction, Activité antioxydantes, Dattes, Thé, Café.

ABSTRACT

The natural extracts of plants contain a large variety of phenolic compounds, which possess lot of biological activities. In the context of our study, we have tried to extract phenolic compounds from there vegetal moulds, which are: Dates, tea leaves and coffee beans.

The extraction by maceration, using Methanol as solvent, gave the highest yield. The solubility of phenolic compounds depends to lot of factors, the main are: tempter, time and the manner. The quantitative sievement of different extracts by Folin-Ciocalteau assay shows that the most of are reach sources of phenolics compounds. The mutual qualitative analysis by chromatography on thin layer (CTL) reflects the probable presence of Quercetine in DNME, GTME, RTME and ATME. Quantitative estimation of the DPPH scavenging power proves that extracts have an antioxydative activity “dose depended”. The summit of inhibition was recorded by Degla Baïda, which appraise 98,28 % of inhibition. Also, the evaluation of the bactericidal power proves the clear inhibition of the *Micrococcus lueus* strain at the concentration V/V. the Ali Ourached variety has recorded an inhibiting spectrum which was higher than that one given by the antibiotic (Streptomycine) against the *Bacillus Subtilis* strain. As a result, this variety can be considered as a real antibacterial potential.

Key words: phenolic compounds, Extraction, Scavenging power, dates, tea leaves, coffee beans.

ملخص

المستخلصات الطبيعية للنباتات تحتوي على نوعية من المركبات الفينولية بفضلها تساهم في عدة أنواع من النشاطات البيولوجية . في دراستنا هذه، قمنا باستخلاص مجموع المركبات الفينولية من ثلاث مصادر نباتية: التمر، الشاي و البن .

الاستخلاص باستعمال الميثانول أعطى نتائج فعالة مع أفضل مردود. عملية استخلاص المركبات الفينولية أظهرت أن قابلية ذوبان هذه المكونات متعلقة بعدة عوامل أهمها: طريقة الاستخلاص، درجة الحرارة و مدة الاستخلاص. نتائج التقييم الكمي لمختلف المستخلصات بالتحليل بطريقة Folin-Ciocalteu المتحصل عليها برهنت غناها بالمركبات الفينولية، مما تعكس المادة الأولية، إما كمصدر مهم لمضادات الأكسدة الطبيعية.

التحليل النوعي للمستخلصات بتقنية الكروماتوغرافيا على طبقة رقيقة عكست وجود محتمل للكريستين في كل من مستخلصات التمر، الشاي و البن. أما عن التقييم الكمي لخاصية النشاط الازاحية لمختلف المستخلصات المتحصل عليها تجاه جذر DPPH أكد أن هذه الأخيرة لها نشاط ازاحي بدلالة تركيز المركبات الفينولية في المستخلص. اعلي مستوى تثبيط سجله نوع دقلة بيضاء (98,28%). فيما يخص تقييم خاصية التثبيط البكتيري للمستخلصات عل عدة انواع من البكتيريا و الفطريات، النتائج المتحصل عليها أثبتت خاصية إيقاف نمو بكتيريا *Micrococcus Luteus*

كما أن نوع علي او راشد سجل تثبيط عالي لنمو بكتيريا *Bacillus Subtilis* فاق التثبيط المسجل من طرف المضاد الحيوي ستربتوميسين.

الكلمات المفتاحية:

متعدد الفينول، استخلاص، نشاط المضاد للأكسدة، التمر، الشاي، البن

REMERCIEMENTS

Comme je le fais, et je le ferai toujours, je remercie, incessamment, le bon Dieu qui m'a accordé courage, patience et volonté pour pouvoir verser cette goutte dans l'océan de la science.

La réalisation de ce mémoire a été favorisée par bon nombre de facteurs. D'abord, j'ai eu la chance d'être supervisée par deux hommes exceptionnels, Dr. KHALI M., MCA à l'université Saad DAHLAB de Blida et Dr. BITAM A., MCA à l'université Saad DAHLAB de Blida, avec qui on apprend vite que le plaisir au travail est un concept réel. Leur capacité de motivation, sans pression aucune, et surtout de valorisation sont absolument stupéfiantes! Merci pour ce respect et ce soutien!

Mes sincères remerciements à tous les membres du comité du jury, Mme. BOUTEKRABT L., MCA à l'université Saad DAHLAB de Blida, Mr. EL HADI D., MCA à l'université Saad DAHLAB de Blida, et Mme DOUMANDJI A., MCB à l'université Saad DAHLAB de Blida, pour leurs efforts, leur contribution et leurs commentaires précieux non seulement dans l'amélioration de mon mémoire, mais également dans le savoir-faire scientifique : «Vous me faites l'honneur de juger ce travail et je vous en remercie ».

Un merci spécial pour Mr. BOUTEKRABT A. et Mme. BOUTEKRABT L. pour leur présence, affection et générosité inestimables qui m'ont trop aidé et pousser vers l'avant, ainsi pour leurs conseils, leur précieux soutien moral pendant les périodes difficiles et leurs encouragements à «passer par la fenêtre quand la porte est fermée » quand rien ne marche.

Je tiens à remercier Mr. MÂAFI L., qui m'a toujours aidé activement dans les démarches administratives au sein du Ministère de la Défense Nationale et qui a également eu une grande disponibilité pour me faciliter pleins de taches favorisant ainsi la réalisation de mon mémoire.

Je remercie chaleureusement Mr. DJEBAÏRIA L., et je lui exprime toute mon amicale et immense reconnaissance de m'avoir accueillie dans son laboratoire avec gentillesse et bienveillance, ainsi que pour ses qualités intellectuelles et l'enthousiasme communicatif dont il sait faire preuve. C'est à la fois un privilège et une expérience exceptionnelle d'avoir pu bénéficier de ses conseils.

Je souhaite également remercier Mr. MILOUDI A. pour son aide précieuse, ses conseils judicieux et avisés relatifs aux analyses en laboratoire ainsi qu'à la méthodologie de travail. Je le remercie également pour sa gentillesse et sa disponibilité lors des essais d'extraction. Son intérêt porté au projet, son humilité et ses connaissances ont été sincèrement très appréciées.

Je n'oserai guerre laisser passé inaperçue une personne qui m'a aidé tout au long de mon stage pratique au LCI, une personne qui n'a cessé une seconde à me faciliter le difficile, pour avoir été là dès qu'il le fallait malgré toutes ses responsabilités, et pour toute aide précieuse je vous remercie infiniment Mr. LAKHAL A. pour tout ce que vous m'avait autant apporté. Ces quelques lignes sont bien peu pour vous montrer ma reconnaissance.

Ensuite, merci à toute l'équipe du laboratoire! Votre générosité et votre sens de l'entraide m'ont beaucoup aidé. Je me dois également de remercier très spécialement le staff du service de physicochimie du LCI, une équipe qui m'a beaucoup offert, de l'aide, de l'affection, de la charité et du sourire au quotidien, je remercie aussi l'équipe du service de toxicologie et bactériologie, des êtres des plus agréables qui savent répondre à vos nombreuses questions avec une telle intelligence et une telle patience! Merci mille fois à Samira pour sa générosité et ses capacités microbiologiques! Merci aussi à toi Amina pour ton excellent travail!

Il y a des gens que l'on n'oublie pas, qui passent rapidement à l'échelle humaine mais qui marquent. C'est pour cela que je voudrais remercier Dr. Laouati A., pour son bon exemple. Merci de m'avoir donné un peu de patience, de l'écouter et de m'avoir appris le principe de ne pas rigoler en pleine guerre.

Un merci spécial à la personne qui m'a fait souvent croire que les réelles possibilités vont faire jours, qui m'a appris à ne pas céder aux craintes et aux doutes, celle qui me pousse toujours à aller de l'avant et qui me répète toujours : « Tout ce que t'as à faire est de croire en toi », mille merci à vous Yacine !

Je remercie infiniment mon adorable stagiaire Melle. SAIM O., tu as été ma première expérience en Co-promotion et quelle expérience !. Merci pour ton sourire et ta présence durant toute cette période. Merci d'avoir osé mettre ton stage de dernière année entre mes mains, chapeau pour m'avoir supportée pour l'obtention de nos derniers résultats. Bon courage pour la suite.

Mary, je te cite ici même si tu es loin, merci d'avoir été mon guide, merci pour tes conseils et ton sens de l'humour, je tiens aussi à te remercier pour ta patience pendant ces derniers mois à me soutenir.

Au cours de mes études, le doute, le désespoir et la déprime m'ont souvent guettés. Je n'aurai pas su persister et tenir jusqu'au bout sans l'amour, le soutien, les conseils, et l'aide de *Loubna, Sarah, Feïza, Meriem, Farah et Mélita*, je vous remercie du fond du cœur d'être toujours présentes à mes côtés lorsque je pleurais autant que je riais, d'être l'épaule sur laquelle je me penchais souvent, Merci d'exister dans ma vie!

Et la famille, la dernière citée mais celle qui a le plus de place dans mon cœur. Je sais que ce mémoire c'est un peu le votre et que sans vous il ne serait pas terminé. Je vous remercie pour votre patience et votre soutien, pour votre compréhension (surtout vers la fin), pour m'avoir supporté, et avoir supporté mes absences à répétition au cours de ces deux années. Merci pour tout, et c'est encore peu de le dire !!!

Et à tous ceux que j'aurais oubliés bien involontairement, merci !

Je dédie cet humble travail à ma plus belle source d'inspiration,

Le plus beau cadeau que le bon dieu m'a offert

Et à qui je dois tant, Mes parents,

A mon petit neveu, celui qui m'a appris le vrai sens du mot courage,

A mes sœurs, frères et beaux frères,

Ma grand-mère, mes tantes et mes oncles,

Aux quatre fleurs qui parfument ma vie,

A celle qui m'a partagé les pénibles moments d'achèvement de ce travail, Safia,

A mes ami(e)s les proches ainsi que les loins...

Selma !

*Il ne suffit pas d'engranger les récoltes du savoir,
du savoir-faire, ni de vendanger les fruits
du savoir-être et du savoir-devenir,
encore faut il accepter de les offrir
pour s'agrandir ensemble.*

[Jacques Salomé]

TABLE DES MATIÈRES

RESUMÉ	1
REMERCIEMENTS	2
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	3
INTRODUCTION	4
CHAPITRE 1 : LE STRESS OXYDATIF	10
1 Le stress oxydatif	10
1.1 Historique	10
1.2 Définition	10
1.2.1 C'est quoi Un radical libre ?	11
1.2.2 Sources	11
1.3 Marqueurs de stress oxydatif	15
1.3.1 Potentiel antioxydant	15
1.3.2 Dommages oxydatifs à l'ADN	15
1.3.3 Dommages oxydatifs aux lipides	15
1.3.4 Dommages oxydatifs aux protéines	16
1.3.5 Dommages oxydatifs aux lipoprotéines	16
1.4 Le stress oxydatif comme facteur de risque des maladies chroniques	17
1.4.1 Rôle du stress oxydatif dans le développement des maladies chroniques	17

1.4.2	Théorie du vieillissement par le stress oxydatif et prédisposition aux maladies chroniques	18
2	Les antioxydants	19
2.1	Définition	19
2.2	Rôle	19
2.3	Mécanisme de défense	20
2.4	Les principaux antioxydants et leurs fonctions	20
2.4.1	Les antioxydants enzymatiques	20
2.4.2	Les antioxydants non enzymatiques	22
2.5	Consommation d'antioxydants et maladies chroniques	23

DEUXIEME CHAPITRE: LES POLYPHÉNOLS 25

1	Les polyphénols	26
1.1	Classification	26
1.1.1	Les acides phénoliques	27
1.1.2	Les flavonoïdes	28
1.1.3	Les tannins	30
1.1.4	Les stilbènes	30
1.1.5	Les lignanes	31
1.2	Biosynthèse des composés phénoliques	31
1.2.1	Les grandes lignes de la synthèse	31
2	Rôle des polyphénols chez les végétaux	35
3	Les polyphénols : des molécules aux atouts multiples	35

TROISIEME CHAPITRE : LES DATTES 38

1	Le palmier dattier	38
1.1	Etymologie	38

1.2	Origine	38
1.3	Répartition géographique du palmier dattier	38
1.3.1	En Algérie	38
1.3.2	Dans le monde	39
2	La datte	40
2.1	Aspects morphologiques	40
2.2	Classification des dattes	41
2.3	Les variétés de datte	41
2.4	Développement et maturation de la datte	42
2.5	Composition biochimique de la datte	43
2.5.1	Composition biochimique de la partie comestible « pulpe »	44
2.5.2	La composition biochimique de la partie non comestible « noyau »	50
2.6	Les bienfaits de la datte	51
QUATRIEME CHAPITRE : LE THÉ		52
1	Camellia sinensis « le théier »	52
1.1	Historique	52
1.2	Production et consommation du thé	53
1.3	La culture du thé	54
1.3.1	Le théier	54
1.3.2	Thé vert ou thé noir ?	54
1.3.3	Les procédés de traitement des feuilles de thé fraîchement cueillies	55
2	Composition des feuilles de thé	57
2.1	Les composés organiques majeurs	57
2.2	Les composés de la paroi cellulaire	57
2.3	Les autres composés organiques	57
2.3.1	Les polyphénols	57

2.3.2	Les composés volatils et les anions organiques	60
2.4	Les composés minéraux	60
3	Les bienfaits du thé sur la santé	61
3.1	Fonctions cognitives	61
3.2	Maladies cardiovasculaires	62
3.3	Prévention du cancer	62
3.4	Carie dentaire	62
3.5	Effets secondaires possibles	63
	CINQUIEME CHAPITRE : LE CAFÉ	64
1	Présentation du café	64
1.1	Historique	64
1.2	Le commerce du café	65
1.3	Le Caféier	65
1.3.1	L'arabica (Coffea arabica)	66
1.3.2	Le robusta (Coffea canephora)	66
1.4	Le grain de café	66
1.5	La production des grains de café	67
1.6	La torréfaction des grains de café vert	68
2	Composition du grain de café	70
2.1	La composition des grains de café vert	72
2.1.1	Les alcaloïdes : La caféine	72
2.1.2	Les acides	72
2.1.3	Les glucides	73
2.1.4	Les lipides	74
2.1.5	Les minéraux	74
2.1.6	Les vitamines	74

2.2	La composition des grains de café torréfiés	75
2.2.1	Les alcaloïdes et les acides	75
2.2.2	Les protéines et acides aminés	76
2.2.3	Les glucides	76
2.2.4	Les lipides	77
2.2.5	Les vitamines	78
3	Les effets bénéfiques du café sur la santé	78
3.1	L'activité antioxydante	78
3.2	L'activité anticancérogène ou antimutagène	79
3.3	Autres effets bénéfiques possibles	79
 SIXIEME CHAPITRE : MATERIEL ET METHODES		 80
1	Matériel	80
1.1	Matériel biologique	80
1.1.1	Matériel végétal	80
1.1.2	Souches bactériennes et fongiques	83
1.2	Produits chimiques	83
2	Méthodes analytiques	84
2.1	Détermination de la teneur en eau	85
2.1.1	Cas des dattes et du thé	85
2.1.2	Cas du café vert (ISO 6673)	86
2.2	Détermination du pH (NF V 05-108, 1970)	87
2.3	Détermination de l'acidité titrable (NF V 05-101, 1974)	87
2.4	Détermination de la teneur en cendres (NF V05-113, 1972)	89
2.5	Détermination de la teneur en polyphénols totaux	90
2.5.1	Extraction des polyphénols	90
2.5.2	Détermination du rendement d'extraction	94

2.5.3	Dosage des composés phénoliques extractibles totaux	95
2.5.4	Dosage des Flavonoïdes	96
2.6	Analyse de la composition chimique des composés phénoliques par Chromatographie sur couche mince “CCM”	98
2.7	Dosage de la vitamine C des trois variétés de dattes	99
2.8	Dosage de la caféine	100
2.8.1	Le Café (ISO 10095)	100
2.8.2	Le thé (ISO 10727)	103
2.9	Etude des activités biologiques des extraits phénoliques	105
2.9.1	Activité antibactérienne et antifongiques	105
1.1.	Etude de l’effet Antibactérien et antifongique (NA 282)	105
2.9.2	Test, <i>in vitro</i> , pour la détermination de l’activité antioxydante	107
2.10	Analyses statistiques	108
SEPTIEME CHAPITRE : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS		109
1	Résultats des analyses physicochimiques	109
1.1	Taux en eau et taux de cendres	109
1.2	Acidité titrable et pH	113
1.3	Extraction des composés phénoliques extractibles totaux	114
1.3.1	Rendements d’extraction	115
1.3.2	Teneur en polyphénols	118
1.3.3	Teneur en flavonoïdes	122
1.4	Teneurs en Vitamine C des Cinq variétés de dattes	125
1.5	Taux de caféine	125
1.6	Chromatographie sur couche mince (CCM)	127
1.7	L’activité antioxydante	129
1.8	L’activité antibactérienne et antifongique	132

1.8.1	Activité antibactérienne	133
1.8.2	L'activité antifongique	139
	CONCLUSION	143
	APPENDICES	144
	LISTE DES ABRÉVIATIONS	145
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	146

Liste des figures et tableaux

Figures

Figure 1.1 : Structure de la NAD(P)H oxydase des cellules musculaires lisses vasculaires.....	13
Figure 1.2 : Aperçu du système de défenses antioxydantes	22
Figure 2.1 : Structure générale du noyau des flavonoïdes.....	29
Figure 2.2 : Structures de quelques flavonoïdes.....	29
Figure 2.3 : Structures de quelques tanins.....	30
Figure 2.4 : Structures chimiques de quelques stilbènes	31
Figure 2.5 : Synthèse biologique des acides phénoliques	33
Figure 2.6 : Synthèse biologique des flavonoïdes	34
Figure 2.7 : Pouvoir antioxydant des polyphénols	36
Figure 3.1 : Propagation de la culture du palmier dattier dans l'ancien continent.....	39
Figure 3.2 : Datte et noyau du palmier dattier.....	40
Figure 3.3 : Différents stades de maturation de la datte.	43
Figure 3.4: Composition de la datte	44
Figure 3.5 : Activités biologiques et pharmacologiques de la datte.....	51
Figure 4.1 : Répartition des plantations de thé dans le monde.....	53
Figure 4.2 : Répartition de la production mondiale en 2005	54
Figure 4.3 : Principales étapes du traitement des feuilles de théier après récolte	55
Figure 4.4 : Structure de la caféine, la théobromine.....	60
Figure 5.1 : Le grain de café.....	67
Figure 5.2 : Les différentes étapes de la production des grains de café	68
Figure 5.3 : Structure chimique de la caféine.....	72
Figure 5.4 : Voies de décomposition de l'acide chlorogénique lors de la torréfaction du grain de café75	
Figure 5.5 : Représentation schématique du devenir des polysaccharides du café au cours de la torréfaction du grain	77

Figure 6.1 : Figure 6.1 : les trois variétés de dattes étudiées (a : Ghars, b : Deglet Nour, c : Degla Baïda, d : Mech Degla, e : Ali Ourached).....	81
Figure 6.2 : Café Arabica vert.....	82
Figure 6.3 : Café Arabica torréfié.....	82
Figure 6.4 : Café Robusta vert.....	82
Figure 6.5 : Café Robusta torréfié.....	82
Figure 6.6 : Thé vert.....	82
Figure 6.7: Thé noir.....	82
Figure 6.8 : Schéma général de l'étude expérimentale.....	85
Figure 6.9 : Protocole de préparation de l'extrait de datte au méthanol.....	92
Figure 6.10 : Extraction des polyphénols du thé et café par l'eau.....	93
Figure 6.11 : Diagramme d'extraction des polyphénols du thé et de café.....	93
Figure 6.12 : Diagramme d'extraction des polyphénols du thé et de café par reflux de chaleur.....	94
Figure 6.13: Colonnes de purification de la caféine.....	102
Figure 6.14 : Courbe présentant la variation de la densité optique en fonction du temps dans le test du DPPH.....	107
Figure 7.1 : Comparaison du rendement en extraction des différents modes d'extraction des composés organiques de la datte (exprimé en % de matière fraîche).....	115
Figure 7.2 : Rendement en extrait sec des deux variétés de thé (en % de matière sèche)....	116
Figure 7.3 : Rendement en extraction des différents extraits des deux variétés de café (en % de matière sèche).....	117
Figure 7.4: Teneurs en caféine des différents échantillons analysés par CLHP.....	126
Figure 7.5 : Chromatogrammes des différents extraits [(a) : thé, (b) : dattes, (c) : café].....	127
Figure 7.6 : Courbes représentant le pouvoir radicalaire des extraits des dattes, thé et café..	129
Figure 7.7: Figure 7.7 : Pouvoir antioxydants du standard et des différents extraits.....	132
Figure 7.8 : Comparaison des zones d'inhibition des cinq extraits de datte avec la Pénicilline G avec <i>Bacillus subtilis</i> à pH 6.....	136

Figure 7.9 : Comparaison des zones d'inhibition des cinq extraits de datte avec la Pénicilline G avec <i>Bacillus subtilis</i> à pH 7,2.....	137
Figure 7.10: Comparaison des zones d'inhibition des extraits avec la Pénicilline G avec <i>Bacillus subtilis</i> à pH 8.....	137
Figure 7.11 : Comparaison des zones d'inhibition des extraits avec la Streptomycine avec <i>Micrococcus luteus</i> à pH 8.....	138
Figure 7.12 : Comparaison des zones d'inhibition des extraits de datte avec les antifongiques avec <i>Candida albicans</i>	140
Figure 7.13 : Comparaison des zones d'inhibition des extraits de datte avec les antifongiques avec <i>Aspergillus Niger</i>	141

TABLEAUX

Tableau 2.1 : Les principales classes des composés phénoliques	26
Tableau 2.2 : Représentation des groupes d'acides phénols dérivants de l'acide hydroxybenzoïque	27
Tableau 2.3 : Représentation des groupes d'acide phénol dérivant de l'acide hydroxycinnamique	28
Tableau 3.1 : Stades d'évolution de la datte.....	42
Tableau 3.2 : Composition de la date en nutriment essentiels	44
Tableau 3.4 : Teneur moyenne de la date en sucres	46
Tableau 3.5 : Composition moyenne de la date en acides aminés	46
Tableau 3.6 : Composition en acides gras de la datte Deglet-Nour, en % de matière grasse ..	47
Tableau 3.7 : Composition minérale la datte en mg/100 g.....	47
Tableau 3.8 : Composition vitaminique moyenne de la datte sèche	48
Tableau 3.9 : Teneur de la datte en fibres	49
Tableau 3.10 : Teneur en composés phénoliques de quelques variétés de dattes Algériennes	49
Tableau 3.11 : Composition biochimique des noyaux de dattes Irakiennes	50
Tableau 3.12 : Composition en acides gras des noyaux de datte	50
Tableau 4.1 : Nom usuel, abréviation, formule développée des principales catéchines du thé .	58
Tableau 4.2 : Concentration totale en éléments minéraux des feuilles de thé vert et thé noir .	60
Tableau 5.1 : Composition des grains de café verts et torréfiés selon la variété (en pourcentage de la matière sèche).	71
Tableau 7.1 : Taux d'humidité et cendres des différents échantillons (% MS)	110
Tableau 7.2 : pH et Acidité titrable des échantillons analysés.	113
Tableau 7.3 : teneurs moyenne en composés phénoliques des trois variétés de dattes (en mg eqAG/ 100 g PS).	119

Tableau 7.4 : Teneurs moyennes en polyphénols des deux types de thé (en mg eqAG/ 100 g PS).	120
Tableau 7.5 : Teneurs moyennes en composés phénoliques des grains des deux variétés de café	121
(en g eqAG / 100 g PS)	123
Tableau 7.6 : teneurs moyennes des trois variétés de dattes en flavonoides (mg eqQ / 100 g PS).	123
Tableau 7.7 : teneurs moyennes des deux types de thé en flavonoides (mg eqQ / 100 g PS).	123
Tableau 7.8 : teneurs moyennes des deux variétés de cafés en flavonoides (mg eqQ / 100 g PS).	124
Tableau 7. 9: Diamètres moyens des zones d'inhibition (en mm) obtenus avec les disques d'antibiotiques	133
Tableau 7.10 : Diamètres moyens des zones d'inhibition des extraits (en mm) obtenus avec <i>Bacillus subtilis</i> à pH 6.	133
Tableau 7.11 : Diamètres moyens des zones d'inhibition des extraits (en mm) obtenus avec <i>Bacillus subtilis</i> à pH 7,2.	134
Tableau 7.12: Diamètres moyens des zones d'inhibition des extraits de dattes (en mm) obtenus avec <i>Bacillus subtilis</i> à pH 8.	134
Tableau 7.13 : Diamètres moyens des zones d'inhibition des extraits (en mm) obtenus avec <i>Micrococcus luteus</i> à pH 8	134
Tableau 7.14 : Evaluation du pouvoir antibactérien des différents extraits.	138
Tableau 7.15 : Diamètres moyens des zones d'inhibition (en mm) obtenus avec les disques d'antifongiques	139
Tableau 7.16 : Diamètres moyens des zones d'inhibition des extraits de dattes (en mm) obtenus avec <i>Candida albicans</i>	139
Tableau 7.17: Diamètres moyens des zones d'inhibition des extraits de dattes (en mm) obtenus avec <i>Aspergillus niger</i>	140
Tableau 7.18 : Evaluation du pouvoir antibactérien des cinq extraits	141

INTRODUCTION

Depuis toujours l'alimentation joue un rôle important dans le maintien et dans l'amélioration de la santé. Récemment, la science a permis d'identifier certains composants des aliments, autres que les vitamines et les minéraux, qui contribuent à améliorer la santé. Ainsi, et au cours de ces dernières années, nous avons assisté à un regain d'intérêt des consommateurs pour les produits naturels. C'est pour cela que les industriels développent de plus en plus des procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants, les antioxydants, tels que les polyphénols, ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé.

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, impliqués dans de nombreuses facettes de leurs systèmes biologiques : pigmentation, mécanismes de croissance et de reproduction, protection contre les prédateurs... Ces composés d'intérêt biologique sont principalement présents dans les végétaux (fruits, légumes, céréales...) et dans les produits qui en dérivent (vin, thé, bière, jus de fruits...).

Une des particularités des polyphénols réside dans leur incroyable diversité, puisque l'on dénombre à l'heure actuelle plus de 8000 composés phénoliques, dont 5000 pour la sous classe des flavonoïdes [1]. On peut cependant les rassembler en trois grands groupes, de la masse moléculaire la plus faible à la plus élevée : les acides phénoliques et composés phénoliques simples ; les flavonoïdes ; les tanins, condensés ou hydrolysables. D'autres composés, les stilbènes et les polyphénols de l'huile d'olive, ont été intégrés plus récemment.

Les polyphénols interviennent dans le mécanisme d'oxydo-réduction. L'oxydo-réduction est le transfert d'un ou plusieurs électrons d'un atome vers un autre. Un tel processus est nécessaire pour la vie en aérobie et pour notre organisme, puisque l'oxygène est l'accepteur ultime d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire pour former de l'énergie sous forme d'ATP. Cependant, dans le cas où il y a transfert d'un nombre d'électrons impair, nous assistons à la formation d'espèces toxiques ayant des électrons non appariés (célibataires), appelées Radicaux libres. Ces radicaux centrés sur l'oxygène (appelés ainsi parce que l'électron célibataire est porté par l'atome d'oxygène) sont reconnus par leur grande réactivité et font partie des espèces oxygénées réactives (ROS: Reactive Oxygen Species). Il a été démontré que les ROS oxydent les lipides, les protéines, les enzymes et l'ADN. Ces dommages oxydatifs sont considérés comme la cause principale de nombreuses maladies dégénératives telles que les maladies cardiovasculaires et le cancer.

Pour lutter contre les radicaux libres nocifs, notre organisme possède des systèmes de défense antioxydants. Certains sont endogènes, alors que d'autres sont obtenus à partir de molécules apportées par l'alimentation (exogènes). Parfois, et à cause des agents externes comme les polluants de l'air, les radiations UV et l'alcool, les radicaux libres peuvent être produits en excès, notre système endogène de défense se trouve incapable de réduire toutes ces espèces réactives. Pour diminuer ces dommages oxydatifs, notre organisme a alors besoin d'une alimentation riche en antioxydants exogènes. Parmi ces antioxydants, on trouve les vitamines C, E et A, ainsi que les polyphénols.

Ces molécules ont fait l'objet de plusieurs travaux. Il s'agit essentiellement des différentes techniques d'extraction végétale, leur identification, leur fonctionnalisation et des propriétés de ces molécules. L'intérêt pour ces composés est justifié par les nombreux effets biologiques qu'on leur attribue, tels que leur rôle protecteur contre les inflammations, les allergies, les maladies cardio-vasculaires, les cancers, les infections bactériennes et virales, la stimulation du système immunitaire. Ces effets sont liés à leur pouvoir antioxydant et inhibiteur d'enzymes (hydrolases, les oxydoréductases, les kinases et les isomérases).

C'est pourquoi, et dans le cadre de ce mémoire, nous nous sommes intéressés d'inscrire notre étude dans le contexte des travaux visant à mieux connaître ces composés naturels, possédant ce tant de bienfaits, et que la plupart des recherches actuelles ne portent que sur leur identification, l'évaluation de l'ensemble de leurs effets bénéfiques pour la santé et le développement de procédés technologiques nouveaux, afin de pouvoir les isoler et bénéficier d'avantage de leurs atouts innombrables.

Lors de cette étude, il sera question d'étudier les composés phénoliques de trois matrices végétale : les dattes, le thé et le café. Le thé et le café étant les sources les plus riches en polyphénols, servent, au cours de notre étude, de repère pour la caractérisation des polyphénols de trois variétés de dattes, ce fruit très consommé dans le monde arabe, et en Algérie.

Afin de pouvoir réaliser cette étude, nous nous attacherons initialement à l'extraction de ces composés antioxydants, tout en visant l'optimisation maximale de l'opération. Nous nous intéresserons par la suite à la caractérisation quantitative et qualitative des extraits ainsi obtenus. En fin, la dernière partie de cette étude sera consacrée à l'évaluation des différentes activités biologiques des composés phénoliques.

CHAPITRE PREMIER

STRESS OXYDATIF ET ANTIOXYDANTS

1 Le stress oxydatif

1.1 Historique

Radicaux libres, les espèces réactives d'oxygène (ERO), le stress oxydant et antioxydants deviennent des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et même pour le grand public. Ces notions ne sont toutes fois pas nouvelles puisqu'il faut rappeler que dans le milieu des années cinquante, R. Gerschman puis D. Hartman évoquaient déjà la toxicité de l'oxygène et la théorie dite « Free radical theory » pour expliquer le processus du vieillissement. En 1969, les Américains McCord et Fridovich isolent à partir des globules rouges humains un système enzymatique antioxydant de la SOD, démontrant ainsi pour la première fois que notre organisme produit bel et bien des ERO dont il doit se protéger. Cette découverte sera le point de départ d'une intense recherche scientifique dans le monde entier sur le stress oxydant et les antioxydants [2].

1.2 Définition

Le stress oxydatif, parfois appelé stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre de la balance oxydants-antioxydants en faveur des oxydants [3]. Il se développe lorsque les radicaux libres, des molécules oxydantes, sont produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par l'organisme.

1.2.1 C'est quoi Un radical libre ?

Un radical libre est une molécule très réactive contenant un ou plusieurs électrons non pairés dans ses orbitales. Il retrouvera sa stabilité en participant à des réactions chimiques dont la conséquence est l'oxydation des lipides membranaires, l'oxydation des acides aminés composant les protéines et l'oxydation des glucides composant les acides nucléiques [4]. De façon générale, les radicaux libres contribuent au stress oxydatif par une série de réactions en chaîne [5].

Bien que les radicaux libres aient la capacité d'infliger des dommages irréversibles aux macromolécules, ils ont un rôle essentiel à jouer dans certaines fonctions biologiques telles la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire et des signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés organiques. Toutefois, en concentrations élevées, ils deviennent hautement cytotoxiques en engendrant de sérieuses altérations aux cellules pouvant mener à la mort cellulaire [6].

Les radicaux libres impliquant un ou des atomes d'oxygène se nomment espèces réactives de l'oxygène (ERO). L'anion superoxyde (O_2^-) est la forme primaire des ERO et est formée par l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire (O_2). L'anion superoxyde peut ensuite être converti en ERO secondaires telles que le radical hydroxyle (OH), le radical peroxyde ($ROO\cdot$) ou le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ce dernier n'étant toutefois pas un radical libre puisqu'il ne contient pas d'électrons non pairés. Les radicaux libres impliquant plutôt un atome d'azote se nomment espèces réactives de l'azote, le monoxyde d'azote (NO) et le peroxyde d'azote ($ONOO$) étant deux espèces bien connues [4]. Alors que les espèces réactives de l'oxygène induisent un stress oxydatif, les espèces réactives de l'azote induisent pour leur part un stress azoté.

1.2.2 Sources

Les facteurs responsables de l'augmentation de la production de radicaux libres par l'organisme sont appelés facteurs oxydants. Ils se divisent en facteurs endogènes et exogènes.

1.2.2.1 Sources endogènes

Une des plus grandes sources endogènes de production de radicaux libres est la mitochondrie, organe utilisant de l'oxygène pour produire de l'ATP.

Au cours de la respiration cellulaire, 95 à 99/100 de l'oxygène consommé est réduit en eau. Toutefois, 1 à 5% de l'oxygène est transformé en anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) dans les complexes I et III de la chaîne de transport des électrons [7]. Ainsi, la production de radicaux libres est proportionnelle à la consommation d'oxygène, ce qui signifie que l'activité physique, malgré ses nombreux bienfaits, constitue un facteur oxydant. De plus, les peroxysomes, les microsomes ainsi que les leucocytes tels les granulocytes (neutrophiles et éosinophiles) et les macrophages sont d'importantes sources de production de radicaux libres [6 ; 8]. Les granulocytes et les macrophages, grandement impliqués dans le système immunitaire de par leur rôle à éliminer certains antigènes, sont munis d'un système NADPH-oxydase capable de produire des anions superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) [7]. Parmi les facteurs endogènes, on retrouve également le stress psychologique, l'inflammation (infection, maladies chroniques), le cancer, l'ischémie-reperfusion et la mort cellulaire [9].

Il existe également des systèmes enzymatiques qui, dans des conditions normales ou physiopathologiques, sont capables de produire le $O_2^{\cdot-}$ et ses dérivés. Ces systèmes enzymatiques sont : la NADH/NAD(P)H oxydase(s), la xanthine oxydase, l'enzyme eNOS, la cyclooxygénase, la lipooxygénase, la glucose oxydase et la myéloperoxydase [10].

La contribution relative de chacune de ces sources au cours d'un stress oxydatif n'est pas encore tout à fait élucidée. Cependant dans le contexte des maladies vasculaires, les systèmes enzymatiques NADH/NADPH oxydase(s), la xanthine oxydase et l'enzyme eNOS ont été identifiés comme étant des sources majeures d' $O_2^{\cdot-}$.

- Le système NAD(P)H oxydase(s)

La NAD(P)H oxydase est une enzyme associée aux membranes des cellules du système cardiovasculaire qui catalyse la réduction d'un électron de l'oxygène en utilisant le NADH ou le NAD(P)H comme donneur d'électron [11] selon l'équation suivante :



Plusieurs évidences expérimentales et cliniques ont révélé que l'enzyme NAD(P)H oxydase représente une source majeure d' O_2^- dans les cellules endothéliales et vasculaires dans plusieurs conditions pathologiques associées à la dysfonction endothéliale, telles que l'athéroclérose, l'hypertension, le diabète mellitus, le resténose, et l'hypercholestérolémie [12 ; 13 ; 14].

L'obésité est aussi une condition favorisant la production de radicaux libres, les responsables étant l'inflammation chronique, l'hyperglycémie, l'hyperleptinémie, des niveaux supérieurs de lipides dans les tissus et des défenses antioxydantes inadéquates [15].

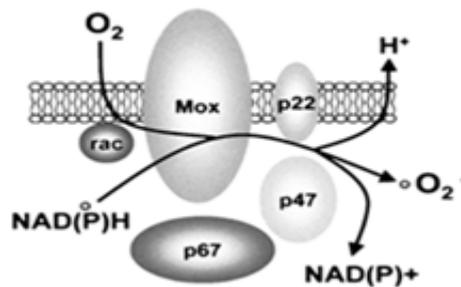


Figure 1.1 : Structure de la NAD(P)H oxydase des cellules musculaires lisses vasculaires[11].

- La xanthine oxydase

La xanthine oxydase est issue de l'oxydation et/ou de la conversion protéolytique de la xanthine déhydrogénase. La xanthine oxydase est exprimée dans les cellules vasculaires et elle peut circuler dans le plasma et se lier à la matrice extracellulaire des cellules endothéliales. Cette enzyme catalyse le métabolisme de la NADH, de l'oxygène moléculaire, de l'hypoxanthine et de la xanthine pour produire de l' O_2^- et du H_2O_2 [10]. La plupart des évidences impliquant la participation de la xanthine oxydase à la dysfonction endothéliale et dans le développement de maladies vasculaires, découle

d'études où l'utilisation d'inhibiteurs de cette enzyme, tel que l'oxypurinol ou l'allopurinol, indiquent une amélioration de la fonction endothéliale et de la réactivité vasculaire.

- L'enzyme eNOS Synthase de l'oxyde nitrique

L'observation du fait que l'enzyme eNOS puisse, dans certaines conditions, devenir une source non négligeable de production d' O_2^- (contribuant à la dysfonction endothéliale) a été, pour le moins, très intrigante. En effet, il a été démontré, *in vitro*, que dans certaines conditions, caractérisées par une réduction des concentrations de L-arginine et/ou du cofacteur BH4 [6; 12], l'enzyme eNOS présentait une activité NADPH oxydase et pouvait ainsi produire du O_2^- , un processus connu sous le nom de «NOS uncoupling reaction».

Cette propriété exceptionnelle est une conséquence de la nature dimérique de l'enzyme, duquel chaque sous unité est capable de fonctionner indépendamment l'une de l'autre [16]. Ainsi, lorsque l'enzyme est découplée, l' O_2 agit comme l'accepteur d'électron terminal (plutôt que la L-arginine), se qui résulte en la production d' O_2^- plutôt que de NO.

1.2.2.2 Sources exogènes

Les facteurs exogènes associés à une production accrue et/ou à une diminution de l'élimination de radicaux libres sont également très variés. Parmi ces facteurs, on retrouve:

- L'alimentation (antibiotiques, alcool, café, aliments riches en protéines et/ou en lipides et/ou à indice glycémique élevé, faible consommation d'antioxydants) [17;9]
- Le CO₂ atmosphérique [18]
- Les polluants (fumée de cigarette, pollution atmosphérique (SO₂, NO₂, O₃, hydrocarbures), métaux occupationnels (métaux de transition tels le mercure, le fer, le cadmium et le nickel, arsenic, amiante) [8 ; 19 ; 9].

Les métaux lourds ayant une grande affinité avec les groupements sulfhydryles (-SH), ils inactivent facilement les antioxydants contenant du soufre [20].

- Les médicaments (traitements contre le cancer, psoralène) [9];
- Les radiations (ionisantes, ultraviolets, micro-ondes) [9] ;
- L'absorption dermique (insecticides, médicaments) [9];

En ce qui concerne l'impact de la pollution sur la production de radicaux libres, une conclusion de grande envergure a été tirée dans les dernières années [21]. En se basant sur de nombreuses études effectuées dans différents pays, l'auteur affirme que le stress oxydatif a été identifié comme étant le phénomène ultime expliquant les effets toxiques des polluants atmosphériques causant des inquiétudes.

1.3 Marqueurs de stress oxydatif

1.3.1 Potentiel antioxydant

Bien que mesurer directement les quantités de dommages oxydatifs aux macromolécules soit la méthode la plus efficace pour déterminer l'impact du stress oxydatif chez un individu, il est aussi possible de mesurer le potentiel antioxydant de l'organisme. Entre autres, la capacité antioxydante totale, utilisant comme biomarqueur le TRAP pour *total radical trapping antioxidant parameter*, mesure l'action cumulative de tous les antioxydants présents dans le plasma et les liquides corporels. Le glutathion et le ratio glutathion réduit / glutathion oxydé sont également des paramètres populaires [22]. Une technique relativement nouvelle, l'analyse du condensat exhalé, consiste à recueillir des biomarqueurs de l'oxydation provenant des voies respiratoires [23]. Cette technique présente l'avantage considérable d'être non invasive.

1.3.2 Dommmages oxydatifs à l'ADN

Les espèces réactives de l'oxygène constituent la plus importante source endogène de dommages à l'ADN. Elles peuvent lui induire de nombreuses modifications covalentes telles des lésions aux bases nucléotidiques (purines et pyrimidines), des cassures de brins, des pontages (*cross-links*) inter et intra brin et des pontages protéine-ADN [24].

1.3.3 Dommmages oxydatifs aux lipides

Alors que l'oxydation des lipides représente l'utilisation du substrat énergétique, la peroxydation des lipides est la dégradation des acides gras membranaires. Elle constitue par conséquent un indice de dommages oxydatifs effectués aux lipides. La peroxydation lipidique génère une variété de produits de décomposition relativement stables, principalement des aldéhydes α , β -insaturés tels le malondialdéhyde, le 4-hydroxy-2-nonénal, le 2-propénal et les isoprostanes qui peuvent être mesurés dans le plasma et l'urine comme marqueurs indirects de stress oxydatif. Le dosage des F 2-isoprostanes est actuellement considéré comme l'approche la plus rigoureuse pour évaluer les niveaux de peroxydation lipidique causée par les radicaux libres in vivo. Les données disponibles indiquent que la quantification des F2-isoprostanes dans le plasma ou dans l'urine donne un indice de stress oxydatif hautement précis et approprié [25].

1.3.4 Dommmages oxydatifs aux protéines

Lorsque des radicaux libres réagissent avec des protéines saines, plus précisément avec le groupement radical (chaîne latérale) des acides aminés, il en résulte la formation de groupement carbonyles. Le dosage plasmatique des protéines carbonylées est actuellement le marqueur d'oxydation avancée des protéines le plus utilisé, aussi bien in vivo que in vitro, pour mesurer les dommages oxydatifs effectués aux protéines [25 ; 26]. La grande stabilité chimique des protéines carbonylées en fait une cible intéressante pour les mesures en laboratoire. La quantification des protéines carbonylées est aussi un test sensible et spécifique [22]. Parmi les marqueurs plasmatiques, on retrouve également la sulfoxydation de la méthionine et les produits de la tyrosine [27].

1.3.5 Dommmages oxydatifs aux lipoprotéines

« Les lipoprotéines sont de grands complexes de protéines et de lipides, hydrosolubles, qui transportent massivement les lipides dans tout l'organisme. La coque externe est une mono couche de phospholipides contenant du cholestérol et une ou plusieurs molécules protéiques appelées apolipoprotéines (Apo-A, Apo-B, etc.) ; la partie centrale contient des triglycérides, des esters de cholestérol et de petites quantités d'autres substances hydrophobes, comme des vitamines liposolubles. Les lipoprotéines de basse

densité (ou LDL pour *Low density lipoprotein*) sont un groupe de lipoprotéines de types et de tailles variables (18 à 25 nm de diamètre), qui transportent le cholestérol, libre ou estérifié, dans le sang et à travers le corps pour les apporter aux cellules. Les LDL sont produites par le foie à partir des lipoprotéines de très basse densité (ou VLDL). Elles portent des apolipoprotéines *B-100* et des vitamines antioxydantes (vitamine E et caroténoïdes). »

La mesure de l'oxydation des LDL peut s'effectuer de deux façons, soit par la mesure directe du nombre de molécules LDL oxydées, soit par la mesure de la susceptibilité des LDL à l'oxydation. Cette dernière est réalisée *in vitro* dans des conditions oxydantes dans le but de déterminer un temps de latence qui représente le temps nécessaire pour que toutes les LDL présentes soient oxydées. Au cours de la dernière décennie, de nombreuses méthodes ayant recours à un anticorps monoclonal ont été élaborées pour la mesure directe du nombre de LDL oxydées [28].

1.4 Le stress oxydatif comme facteur de risque des maladies chroniques

1.4.1 Rôle du stress oxydatif dans le développement des maladies chroniques

La génération d'espèces réactives de l'oxygène et d'autres radicaux libres au cours du métabolisme cellulaire est un processus normal et nécessaire qui est idéalement compensé par un système antioxydant endogène élaboré. Toutefois, en raison de différentes situations environnementales et pathologiques ainsi que certaines habitudes de vie, un excès de radicaux libres peut s'accumuler, résultant à un stress oxydatif [29].

La conséquence majeure de ce dernier est le dommage qu'il cause aux bases des acides nucléiques, aux lipides et aux protéines, lequel peut sévèrement compromettre la santé et la viabilité d'une cellule ou induire une variété de réponses cellulaires par la génération d'espèces réactives secondaires et ultimement, mener à la mort cellulaire par nécrose ou par apoptose.

Un dommage oxydatif à une seule de ces biomolécules peut, théoriquement, contribuer au développement d'une maladie [25]. Une quantité croissante d'évidences

scientifiques suggère que le stress oxydatif soit relié aux mécanismes pathophysiologiques primaires ou secondaires d'une multitude de maladies chroniques et aiguës. Cette relation est appuyée par des expérimentations qui ont démontré, *in vitro*, qu'il était possible de créer un processus dégénératif par le stress oxydatif [29]

Les ERO ont également été identifiées comme étant l'agent causal de la perte neuronale dans la maladie d'Alzheimer, l'épilepsie, l'ischémie cérébrale, la commotion cérébrale, la maladie de Parkinson, la sclérose amyotrophique latérale et dans le processus de vieillissement du cerveau en soi [30]. Bien que certaines maladies puissent être causées par des dommages oxydatifs aux protéines, à l'ADN ou aux lipides, le stress oxydatif peut parfois être une conséquence et non la cause du processus primaire du développement de la maladie. Toutefois, en tant qu'évènement secondaire, le stress oxydatif joue un rôle important dans la progression de nombreux problèmes de santé [29]. Il a été reconnu que plus d'une centaine de maladies sont associées aux radicaux libres, ces derniers contribuant au vieillissement cellulaire, à la mutagenèse, à la carcinogenèse, aux maladies coronariennes et autres pathologies cardio-vasculaires, au diabète, à la dystrophie musculaire et à la neurodégénérescence [6].

1.4.2 Théorie du vieillissement par le stress oxydatif et prédisposition aux maladies chroniques

En 1954, un dénommé Denham Barman propose la théorie du vieillissement par les radicaux libres (*free radical theory of aging*) selon laquelle le vieillissement cellulaire est dû à l'accumulation de dommages oxydatifs [31]. En 2009, cette théorie, maintenant appelée *oxidative stress theory of aging*, demeure toujours la plus plausible pour expliquer ce phénomène [32]. Plus précisément, elle postule que la réduction des fonctions physiologiques associée à l'âge est causée par une accumulation irréversible d'altérations oxydatives. Cette accumulation augmente avec l'âge et est reliée à l'espérance de vie des organismes.

Le vieillissement résulterait donc d'une protection imparfaite, due à un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants, contre les dommages tissulaires engendrés par les radicaux libres. Par conséquent, le vieillissement devrait être ralenti par l'atténuation des

dommages oxydatifs [32]. Cette théorie a été corroborée à plusieurs reprises en laboratoire, entre autres, par des expérimentations sur des souris SAM (*Senescence-accelerated Mouse*) qui ont démontré que des conditions de stress oxydatif accélèrent les processus dégénératifs ainsi que le vieillissement de l'organisme [33]. Ainsi, comme le stress oxydatif accélère le vieillissement et que ce dernier a été associé à un risque accru de développer une foule de maladies chroniques reliées à l'âge dont les maladies cardiovasculaires, le cancer et les désordres neurodégénératifs, il semble une fois de plus que le stress oxydatif soit une condition favorisant le développement des maladies chroniques [34]

2 Les antioxydants

2.1 Définition

En guise de protection contre les ERO, qui sont très dommageable pour les cellules, ces dernières possèdent des mécanismes de défense endogènes enzymatiques et non-enzymatiques qui, de manière générale, suffisent à renverser le stress oxydant résultant du métabolisme aérobie et que l'on appelle antioxydants [5].

2.2 Rôle

Tous les antioxydants ont la capacité de réagir avec les radicaux libres. Plus spécifiquement, les réactions métaboliques catalysées par les enzymes antioxydantes permettent d'éliminer les radicaux libres par la formation de composés neutres comme l'eau [35].

De par leur rôle à neutraliser les radicaux libres, les antioxydants ont donc le pouvoir de diminuer les niveaux de stress oxydatif et, par conséquent, les dommages oxydatifs. Ainsi, ils ont le potentiel de réduire les effets délétères des facteurs oxydants responsables de l'augmentation de la production de radicaux libres par l'organisme. Le lien entre les dommages oxydatifs et le développement des maladies chroniques ayant été démontré précédemment, il devient tentant de conclure que les antioxydants ont un rôle crucial à jouer dans l'amélioration du problème grandissant de la gestion des maladies chroniques.

2.3 Mécanisme de défense

Parmi les différents antioxydants, les plus communs sont les vitamines A, C et E, et les enzymes SOD, catalase et glutathion peroxydase. D'autres antioxydants comme l'acide lipoléique, les caroténoïdes, la coenzyme Q10, plusieurs bioflavonoïdes, les antioxydants minéraux (cuivre, zinc, manganèse et le sélénium) et les cofacteurs (l'acide folique, les vitamines B1, B2, B6, B12) peuvent aussi défendre l'organisme [36].

Tous ces antioxydants travaillent de façon synergique contre les différents types de radicaux libres. Par exemple, la vitamine E élimine la propagation de la peroxydation des lipides, tandis que les vitamines C et E inhibent la formation d'hydroperoxyde [36]. Ces antioxydants ont donc un potentiel intéressant dans le traitement de conditions pathologiques associées au stress oxydatif. De leur côté, les enzymes SOD (conversion de l' O_2^- en H_2O_2) et catalase (conversion du H_2O_2 en H_2O) semblent être les meilleures candidates pour le développement d'une médication antioxydante [5].

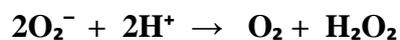
2.4 Les principaux antioxydants et leurs fonctions

Les antioxydants peuvent être divisés en deux groupes selon leur mode d'action : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non-enzymatiques (piégeurs) [5].

2.4.1 Les antioxydants enzymatiques

2.4.1.1 La Superoxyde dismutase

La SOD est l'une des plus importantes enzymes cellulaires qui possède une fonction antioxydante. En fait, elle est l'enzyme antioxydante contre les O_2^- la plus importante dans toutes les cellules vasculaires [10]. La SOD catalyse la dismutation de l' O_2^- de la manière suivante :



L'absence de cette enzyme est létale et une trop grande quantité, durant un stress oxydatif, entraîne une production d' H_2O_2 excessive qui devient rapidement toxique pour la cellule. La quantité de SOD produite est contrôlée par des gènes spécifiques sensibles aux réactions d'oxydo-réduction [10].

2.4.1.2 Le système du glutathion

Le glutathion (GSH) est un antioxydant non enzymatique synthétisé à partir de la cystéine, du glutamate et de la glycine et nécessite de l'ATP [37]. Les glutathion peroxydases sont présentes dans le cytoplasme où elles jouent un rôle majeur dans la régulation de l'état d'oxydoréduction intracellulaire dans les cellules vasculaires [10]. On peut retrouver le glutathion sous deux formes, soit la forme thiol-réduite (GSH) ou bien sous la forme oxydée où une molécule de GSH peut se fixer à un thiol d'une autre molécule (R-SSG) ou d'un autre GSH (GSSG). Cette dernière forme oxydée se retrouve sous forme disulfure suite à la réduction du H_2O_2 et d'autres peroxydes en eau (ROOH ou $\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{GSH} \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{GSSG}$) et ce, aux niveaux cytosolique et mitochondrial [37 ; 38 ; 39].

2.4.1.3 La catalase

La catalase est une enzyme intracellulaire de l'hème qui catalyse la réaction de détoxification du H_2O_2 (généralement produit par les SOD) [10]. Elle se retrouve normalement dans les peroxysomes, mais pour les cellules ne possédant pas cette organelle (ex : les érythrocytes) l'enzyme se situe dans le cytoplasme. La catalase et la glutathion peroxydase ont des rôles protecteurs similaires et leur contribution relative est assez variable. La catalase est surtout active lorsque le niveau de stress oxydatif est élevé ou que la quantité de glutathion peroxydase est limitée et elle joue un rôle significatif dans le développement d'une tolérance au stress oxydatif dans la réponse adaptative des cellules [10].

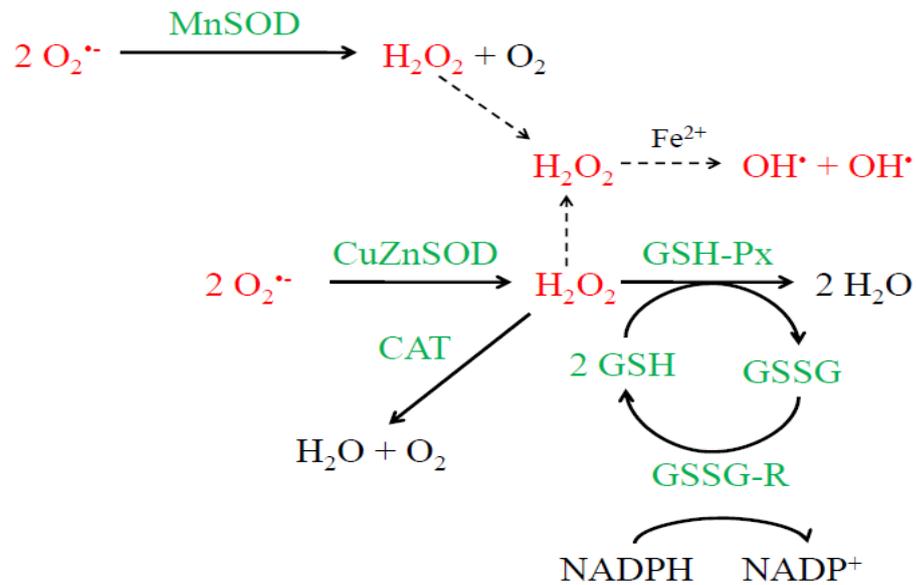


Figure 1.2 : Aperçu du système de défenses antioxydantes. CAT: catalase; Fe^{2+} : fer ferreux; GSH: glutathion réduit; GSSG: glutathion oxydé disulfure; GSH-Px: glutathion peroxydase; GSSG-R: glutathion réductase; H_2O : eau; H_2O_2 : peroxyde d'hydrogène; NADPH/ $NADP^+$: nicotinamide adénine dinucléotide phosphate sous forme réduite/oxydée; O_2 : oxygène; $O_2^{\bullet-}$: superoxyde; OH^{\bullet} : radical hydroxyle; SOD: superoxyde dismutase.

2.4.2 Les antioxydants non enzymatiques

Une bonne partie des antioxydants non enzymatiques sont obtenus par les aliments (exogènes), notamment par la consommation de fruits et de légumes de même qu'en suppléments nutritionnels. Ils permettent de renforcer les défenses antioxydantes endogènes (Glutathion et enzymes). Les plus importants d'entre eux seront abordés ci-dessous :

2.4.2.1 La vitamine C

C'est un antioxydant hydrosoluble qui réduit les superoxydes ($O_2^{\bullet-}$), les radicaux hydroxyles ($\bullet OH$) et les peroxydes ($ROO\bullet$). Elle devient donc oxydée à son tour et est ensuite réduite par le système du glutathion. Elle se retrouve en grande concentration dans le foie, le cerveau, la rate, le pancréas et les glandes hypophysaires et surrénales [15].

2.4.2.2 La vitamine E

est un puissant antioxydant liposoluble et, bien qu'elle existe sous diverses formes dans les aliments (α -, β -, γ -, δ -tocophérols et -tocotriénols), c'est la forme α - tocophérol qui est la plus répandue *in vivo* puisque la protéine de transfert du tocophérol (-TTP) hépatique, permettant de véhiculer le tocophérol vers le plasma, a plus d'affinité avec le α - tocophérol qu'avec les autres formes de vitamine E [40]. Cette vitamine réduit les radicaux peroxydes et hydroxyles en leur livrant un électron, ce qui permet d'empêcher et d'arrêter le processus de peroxydation des lipides et d'autres molécules. La vitamine E devient donc oxydée et sera réduite à l'aide de la vitamine C afin de retrouver son pouvoir antioxydant. Elle se retrouve dans les lipoprotéines, les membranes cellulaires et les fluides extracorporels [15].

2.4.2.3 Les carotènes

Sont la seule forme de vitamine A possédant un pouvoir antioxydant et d'origine végétale seulement. Ils sont liposolubles et se retrouvent dans les membranes cellulaires des tissus et les lipoprotéines [41]. La forme la plus connue est le β -carotène, sans parler des autres de plus en plus étudiées : lycopène, lutéine et zéaxanthine. Le β - carotène réagit davantage avec l'oxygène singulet (1O_2 : oxygène excité), un autre type de ERO, ainsi que les radicaux peroxydes [41].

Évidemment, bien d'autres antioxydants se retrouvent dans les aliments, notamment les polyphénols et les diverses formes de caroténoïdes, ceux-ci seront abordés dans le chapitre suivant de ce mémoire.

2.5 Consommation d'antioxydants et maladies chroniques

Nombre d'études ont prouvé que certains antioxydants ont bel et bien la capacité de prévenir les dommages oxydatifs aux diverses macromolécules. C'est le cas de la vitamine C qui a été jugée efficace pour inhiber la peroxydation des lipides et l'oxydation des protéines dans le plasma humain exposé à divers stress oxydatifs pathophysiologiques [42] et pour prévenir les dommages oxydatifs à l'ADN. Elle exerce son action antioxydante en neutralisant efficacement les radicaux superoxydes, hydroxyles et peroxydes [43]. Même chose pour la vitamine E, l'antioxydant liposoluble le plus important de l'organisme [44],

ayant le potentiel de contrer la peroxydation lipidique [45], l'oxydation des protéines [46] (sa concentration plasmatique est inversement corrélée à la concentration de protéines carbony liées [47] et les dommages oxydatifs à l'ADN de par sa capacité à neutraliser les radicaux peroxydes [43].

Les vitamines C et E agissent également en synergie contre le stress oxydatif puisque la vitamine C a la capacité de régénérer la vitamine E sous sa forme antioxydante. À titre d'exemple, elles diminuent davantage les dommages oxydatifs à la peau causés par les rayons ultraviolets ensemble que lorsque leur protection respective est additionnée [48].

CHAPITRE 2

LES COMPOSÉES PHÉNOLIQUES

Les plantes sont connues pour produire un grand nombre de composés à faible poids moléculaire dont leurs structures ont été identifiées récemment, malgré leur exploitation et leur utilisation, depuis toujours, comme médicaments ou aliments [49]

Dans le passé, la plupart de ces composés ont été classés comme des métabolites secondaires parce qu'ils n'ont pas semblé avoir une fonction claire dans les organismes qui les produisent. De nos jours, il a été reconnu que même si ces molécules ne sont pas indispensables pour la croissance et la reproduction des plantes, elles jouent un rôle très important dans plusieurs fonctions biologiques. Beaucoup de composés secondaires sont maintenant connus non seulement en raison de leur rôle protecteur contre les effets nocifs de la lumière U.V ou d'autres facteurs abiotiques, mais également en tant que défenseurs contre les herbivores et les microbes pathogènes. De plus, ils sont reconnus pour aider au processus de pollinisation, ou même à titre de molécules clés dans beaucoup de processus physiologiques d'importance pour les plantes. Par ailleurs, beaucoup de métabolites secondaires permettent d'augmenter les perspectives de la survie des plantes en interaction avec l'environnement [50].

Un des groupes largement distribués de ces métabolites secondaires : les composés phénoliques. Il s'agit d'un groupe très répandu et est représenté par divers types de composés définis comme des composés aromatiques portant plus qu'une fonction hydroxyle sur un noyau benzénique.

1 Les polyphénols

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, largement distribués possédant plusieurs groupements phénoliques, avec d'autres fonctions [51], allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tel que les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tanins. Ils font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale [52].

Ils sont caractérisés par la présence d'au moins un motif phénolique (cycle aromatique sur lequel viennent se greffer un ou plusieurs groupements –OH).

Une des particularités des polyphénols réside dans leur incroyable diversité, puisque l'on dénombre à l'heure actuelle plus de 8000 composés phénoliques, dont 5000 pour la sous classe des flavonoïdes [53].

1.1 Classification

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (tableau 2.1) qui se différencient d'abord pour la complexité du squelette de base (allant d'un simple C₆ à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...), en fin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques...) [54]

Tableau 2.1 : Les principales classes des composés phénoliques [53 ; 55]

Classe	Squelette carbonée	Exemple
Acides phénoliques	C ₁ -C ₆	Acide gallique, ac. vanillique, ac. Tannique
Acides hydroxycinnamiques	C ₆ -C ₃	Ac. férulique, ac. caféique, Ac. p-coumarique
Coumarines, Isocoumarines	C ₆ -C ₃	Scopolétine, esculetine, umbélliférone.

Stiblenes	$C_6-C_2-C_6$	
Anthraquinones	$C_6-C_2-C_6$	Resveratrol
Flavonoides	$C_6-C_3-C_6$	Kaempférol, quercétine, Cyanidine, pélargonidine
	$(C_6-C_3)_2$	Catéchine, épicatechine, Naringénine, Daidzéine
Lignanes, neolignanes	$(C_6-C_3)_2$	Pinorésinol
Lignines	$(C_6-C_3)_n$	
Tanins	(C_{15})	

1.1.1 Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont largement répons chez les plantes. Ils dérivent principalement de l'acide benzoïque et l'acide cinnamique [56].

Tableau 2.2 : Représentation des groupes d'acides phénols dérivants de l'acide hydroxybenzoïque [57].

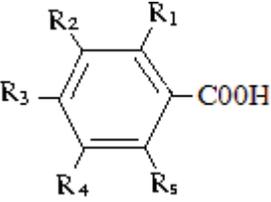
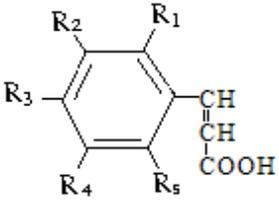
Structure	R1	R2	R3	R4	R5	Dénomination
	H	H	H	H	H	Ac. benzoïque /non phénolique
	H	H	OH	H	H	Ac. P-hydroxybenzoïque
	H	OH	OH	H	H	Ac. protocatéchique
	H	OCH ₃	OH	H	H	Ac. vanillique
	H	OH	OH	OH	H	Ac. Gallique

Tableau 2.3 : Représentation des groupes d'acide phénol dérivant de l'acide hydroxycinnamique [57]

Structure	R1	R2	R3	R4	R5	Dénomination
	H	H	H	H	H	Ac. Cinnamique /non phénolique
	H	H	OH	H	H	Ac. P-coumarique
	H	OH	OH	H	H	Ac. Caféique
	H	OCH ₃	OH	H	H	Ac. Férulique
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	H	Ac. Sinapique

La liste des acides phénoliques présents dans les plantes ne s'arrête pas là, nous tenons à mentionner en particulier : l'acide méthylgallique, l'acide chlorogénique et l'acide rosmarinique.

Les acides phénoliques comportent un radical COOH. Ils se trouvent souvent sous la forme de glycosides ou d'esters.

1.1.2 Les flavonoïdes

De structure générale en C₁₅ (C₆-C₃-C₆), ce groupe comprend à lui seul plusieurs milliers de molécules regroupées en plus de dix classes dont certaines ont une très grande importance biologique et technologiques comme les anthocyanes, pigments rouges des fleurs et des fruits [57].

Les flavonoïdes existent généralement dans la nature sous forme hydroxylée et combinés à diverses molécules, ce qui explique la grande variété de ces composés.

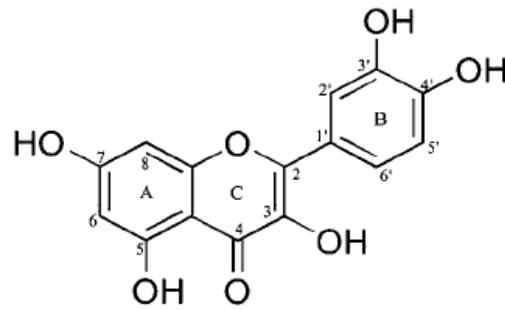


Figure 2.1 : Structure générale du noyau des flavonoïdes [58].

Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C [59], 14 groupes différents ont été identifiés dont six groupes sont particulièrement les plus répondus et les mieux caractérisés : flavones, isoflavones, flavanones, flavanols, flavonols et anthocyanidines[58]. Les figures suivantes représentent quelques structures des éléments de la principale sous-classe des flavonoïdes :

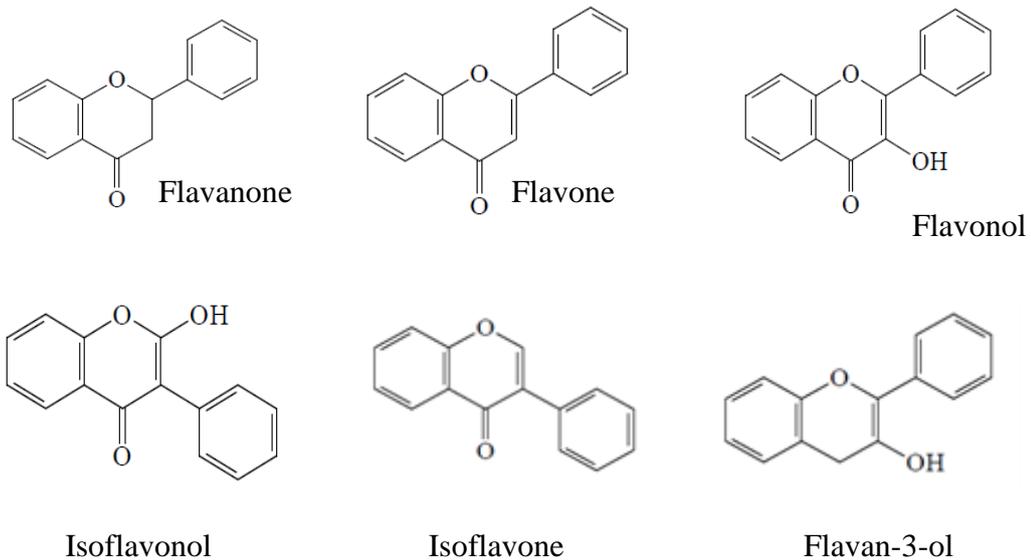
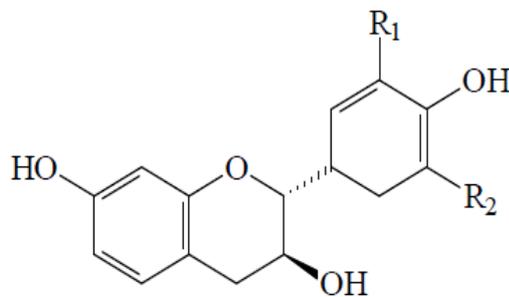


Figure 2.2 : Structures de quelques flavonoïdes.

1.1.3 Les tannins

Les tannins sont des composés polyphénoliques, solubles dans l'eau, dont les masses molaires se situent entre 500 et 3000. En plus de présenter les réactions caractéristiques des phénols en général, ils sont capables de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les autres protéines [60]. Cette réactivité avec les protéines est à l'origine des propriétés tannantes qu'ils exercent sur le collagène de la peau au cours de la transformation de la peau en cuir, la rendant imputrescible et moins perméable à l'eau. Les tannins sont très répandus dans le monde végétal, leur teneur et leur nature varient d'une espèce à l'autre. On distingue, d'après leur structure et leurs propriétés, deux types de tannins : les tannins hydrolysables et les tannins condensés.



Tanins	R ₁	R ₂
Afzéléchol	H	H
Catéchol	OH	H
Gallocatéchol	OH	OH

Figure 2.3 : Structures de quelques tanins [61].

1.1.4 Les stilbènes

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, le resvératrol et le ptérostilbène font partie de la famille des stilbènes et sont des composés synthétisés par la plante suite à un stress. Ces molécules peuvent s'oxyder sous l'action d'enzymes, la stilbène oxydase et les

peroxydases [62]. Contrairement aux flavonoïdes, ces composés sont peu répandus chez les végétaux ; le raisin et le vin rouge constituent leur source alimentaire la plus importante [63]

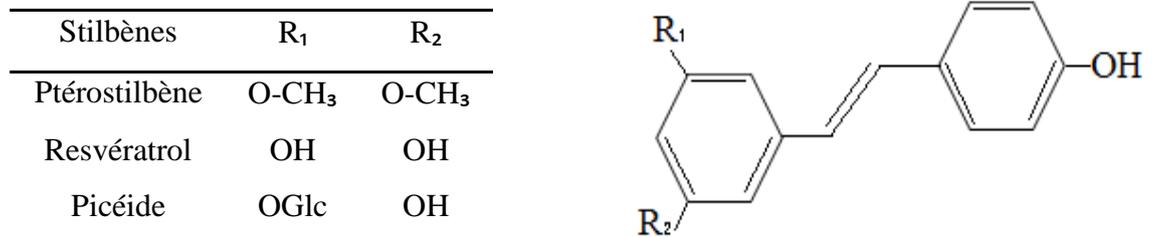


Figure 2.4 : Structures chimiques de quelques stilbènes [62].

1.1.5 Les lignanes

Les lignanes sont des composés dont les deux noyaux aromatiques sont reliés par quatre atomes de carbone. Elles se trouvent souvent dans le bois des gymnospermes et dans les tissus soumis à lignification chez les angiospermes [64]

1.2 Biosynthèse des composés phénoliques

L'évolution des plantes vasculaires est directement liée au développement de la capacité de lignification ou plus précisément à l'expansion du métabolisme phénylpropane (impliquant l'acide shikimique comme intermédiaire obligatoire).

1.2.1 Les grandes lignes de la synthèse

Les grandes lignes de biosynthèse des principaux composés phénoliques sont maintenant bien connues (Figure 2.5) [55]. Leur étude relève de trois approches complémentaires dont la dernière a pu être développée au cours des dernières années :

identification et dosage des intermédiaires des voies métaboliques, caractérisation et purification des enzymes qui catalysent les réactions de biosynthèse, clonage et étude de l'expression des gènes impliqués. Par ailleurs, l'utilisation des mutants obtenus soit à l'aide des techniques traditionnelles soit grâce aux apports de la biologie moléculaire et du génie génétique ont permis de mieux comprendre la régulation du métabolisme phénolique. Dans tous les cas, de nombreuses informations ont été apportées en étudiant simultanément la modulation de ce métabolisme par les facteurs externes, biotiques ou abiotiques.

Les deux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) sont présents dans les protéines mais sont également à l'origine de la formation de la plupart des molécules phénoliques chez les végétaux. Ils sont formés, à partir des sucres simples issus du métabolisme primaire, par la voie bien connue de l'acide shikimique, conduisant à la formation de phénylalanine qui, par désamination, donne le précurseur immédiat des phénols, l'acide cinnamique. La séquence biosynthétique qui suit, dénommée séquence des phénylpropanoïdes, permet la formation des principaux acides hydroxycinnamiques : acides coumariques, caféiques, féruliques et sinapiques, généralement présents dans le matériel végétal sous forme d'esters (esters quiniques comme l'acide chlorogénique, esters glucosés...) ou de glucosides.

En fait, les formes métaboliquement actives des acides hydroxycinnamiques sont leurs esters avec le coenzyme A qui permettent alors d'accéder aux principales classes de composés phénoliques.

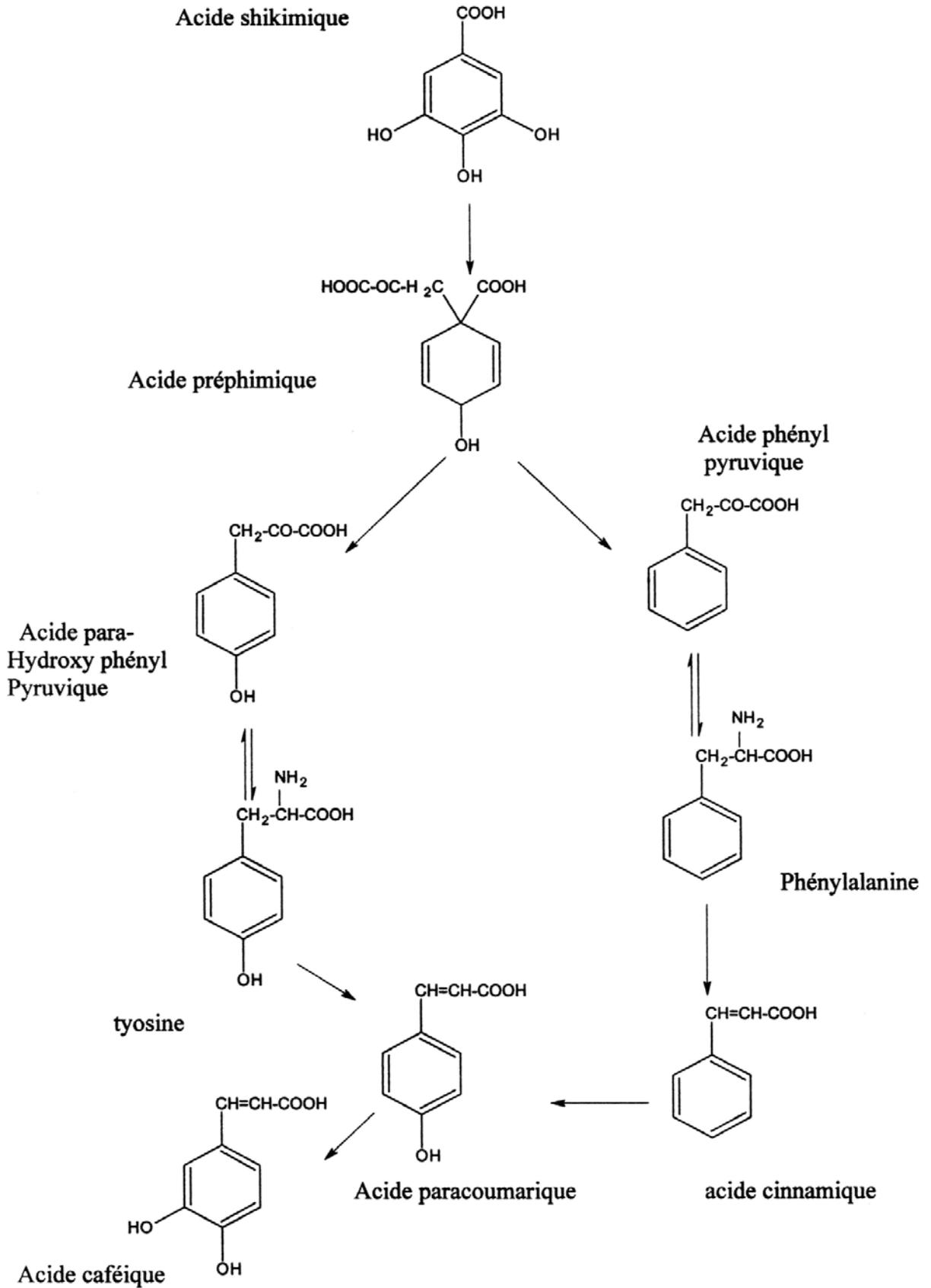


Figure 2.5 : Synthèse biologique des acides phénoliques [65].

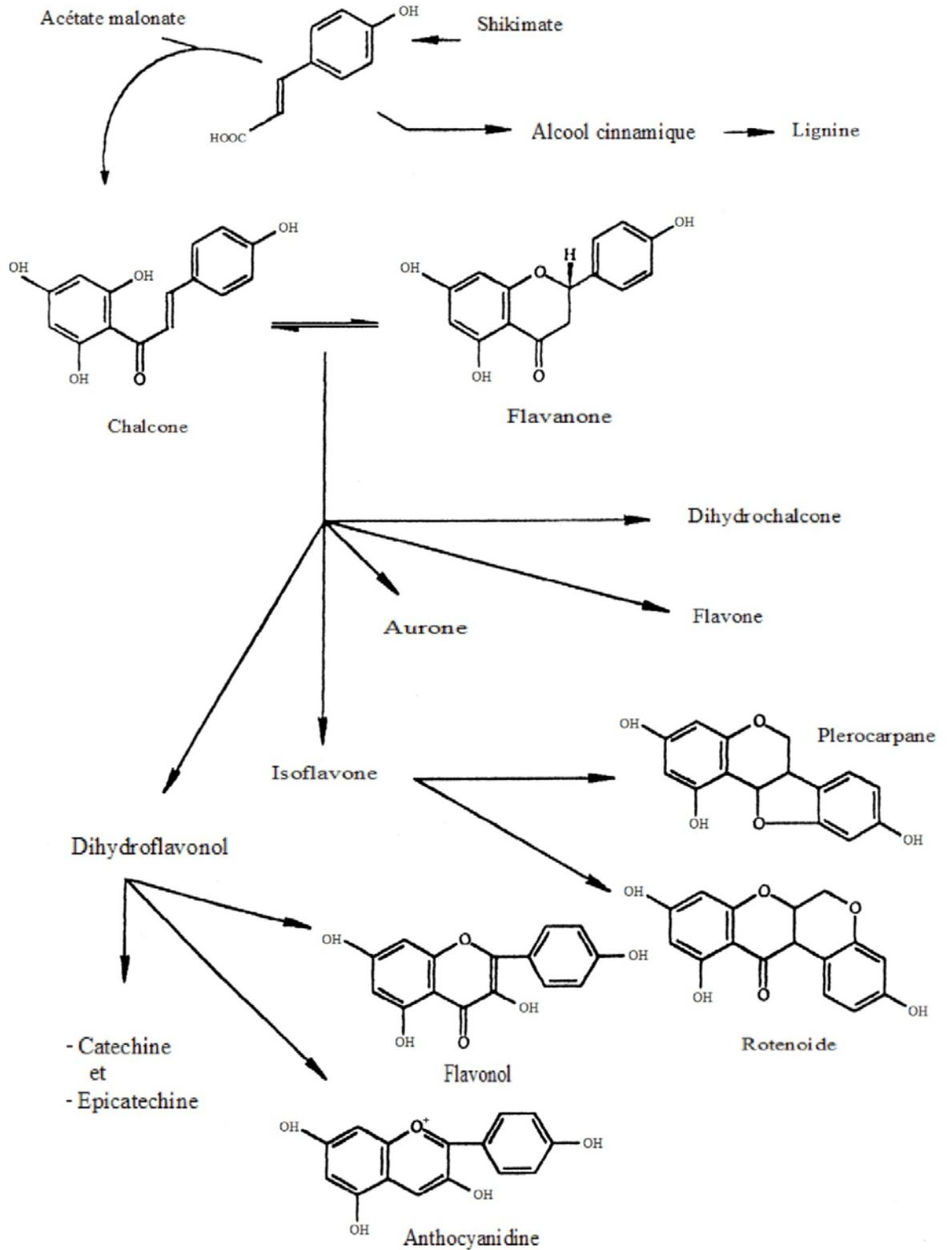


Figure 2.6 : Synthèse biologique des flavonoïdes [65]

2 Rôle des polyphénols chez les végétaux

- Les composés phénoliques sont d'une importance en tant que matériel et support des parois cellulaires, principalement sous forme de polymères telle que la lignine, servant d'appui et de barrière mécanique contre l'invasion microbienne [66].
- Les polyphénols contribuent à la coloration des fleurs et des fruits. Ce qui permet d'attirer les insectes et les oiseaux vers la pollinisation et la dispersion des graines [66 ; 67].
- Les composés phénoliques peuvent influencer la concurrence entre les plantes, un phénomène appelé allélopathie [66 ; 68].
- Les polyphénols, particulièrement les flavonoïdes, peuvent agir en tant que molécules de signal dans l'interaction entre la plante et les bactéries fixatrices d'azote dans certaines plantes légumineuses [66].
- Les polyphénols jouent un rôle dans les mécanismes de défense de la plante contre l'excès des rayons UV ; destruction des cellules en protégeant l'ADN contre la dimérisation et la rupture ; blessures ou infections [66].

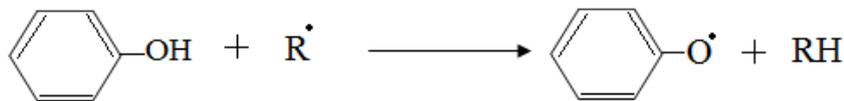
3 Les polyphénols : des molécules aux atouts multiples

Les polyphénols végétaux ont d'abord été étudiés pour leurs effets protecteurs contre les pathogènes ou le rayonnement UV. Souvent présents en grande quantité dans les plantes consommées par les herbivores, ils limitent leur appétence et digestibilité. Ils ont donc été pendant longtemps considérés comme des facteurs antinutritionnels. C'est un regard tout à fait différent qu'on leur porte aujourd'hui, après la reconnaissance de leurs propriétés antioxydantes et de leurs effets présumés sur la santé. Les recherches sur les effets santé des polyphénols ont cependant débuté beaucoup plus tardivement que pour les autres antioxydants.

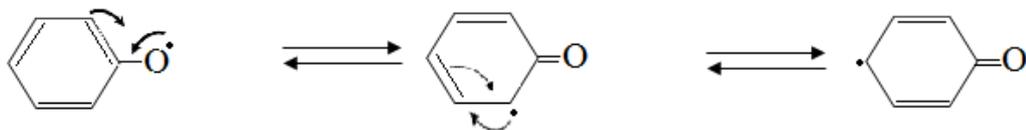
En tant qu'antioxydants, tous les polyphénols sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infections, etc.). Ingérés avec nos aliments, ces composés renforcent nos défenses naturelles en protégeant les constituants tissulaires (lipides et autres macromolécules) contre le stress oxydant et préviendraient ainsi les

diverses maladies chroniques associées, telles que cancers, maladies cardio-vasculaires ou ostéoporose. Ils ont aussi des propriétés spécifiques (affinité pour des récepteurs cellulaires comme les récepteurs des estrogènes, impact sur la signalisation cellulaire) qui induisent des réponses cellulaires très diverses. La somme de ces effets se traduit par des effets santé que l'on commence tout juste à comprendre à travers les expérimentations animales et cliniques.

Les polyphénols sont capables de piéger les radicaux libres découlant aussi bien des réactions d'oxydations de différents nutriments que de celles de l'organisme. Le mécanisme global de cette réaction est schématisé dans la figure suivante :



Réduction d'un radical réactif



Stabilisation par conjugaison

Figure 2.7 : Pouvoir antioxydant des polyphénols [69].

En effet, en outre que leurs propriétés antioxydantes, des propriétés bénéfiques des polyphénols pour la santé humaine seraient nombreuses : effets protecteurs contre les maladies cardio-vasculaires, effets anti-inflammatoires, ou encore anti-viraux pour n'en citer que quelques-uns [70]. Ils peuvent également participer à la bonne conservation de certains aliments transformés, comme l'huile d'olive, en limitant l'oxydation des lipides qu'ils contiennent [71].

CHAPITRE 3

LES DATTES

Dans un certain nombre de versets coraniques, l'humble datte est honorée comme l'un des bienfaits du paradis (Coran, 55 : 68). Lorsqu'on examine ce fruit, on note qu'il présente un grand nombre de caractéristiques très importantes. L'une des espèces de plantes les plus anciennes, la datte, est aujourd'hui un aliment de choix, pas seulement pour sa délicieuse saveur mais aussi pour ses propriétés nutritionnelles. Chaque jour de nouveaux bienfaits sont découverts dans la datte et elle est maintenant utilisée à la fois comme médicament et comme aliment.

La datte (*Phoenix Dactylifera* L.) est le fruit du palmier dattier, produit dans les régions sahariennes et considéré comme un aliment de grande importance pour la population habitant ces régions.

L'Algérie avec son riche patrimoine en palmiers dattiers, plus de 13 millions de palmiers et 940 cultivars sont recensés avec une production totale de dattes évaluée à 440 000 tonnes [72], compte parmi les grands producteurs de datte en occupant le 7ème rang mondiale.

1 Le palmier dattier

1.1 Etymologie

Le palmier dattier : dénommé *Phoenix dactylifera* L. par Linne en 1734 [73], provient du mot « Phoenix » qui signifie dattier chez les phéniciens, et « Dactylifera » dérive du terme grec « dactulos » signifiant doigt, allusion faite à la forme du fruit [74].

Le genre Phoenix comporte au moins douze espèces, la plus connue est le dactylifera, dont les fruits 'dattes' font l'objet d'un commerce international important [75].

Sur le plan botanique, le dattier est une espèce dioïque, monocotylédone arborescente, appartenant à une grande famille d'arbres à palmes et produit des dattes [76 ; 77].

1.2 Origine

Le dattier est un arbre probablement originaire du golfe persique, cultivé dans les régions chaudes et humides [76 ; 77]. Les palmiers les plus anciens remontent au miocène [73]. Le palmier dattier a été cultivé dans les zones chaudes entre l'Euphrate et le Nil vers 4500 ans avant J.C. De là, sa culture fut introduite en Basse Mésopotamie vers l'an 2500 ans avant J.C. Depuis, elle progressa vers le Nord du pays et gagna la région côtière du plateau Iranien puis la vallée de l'Indus. Depuis l'Egypte, les techniques culturales du dattier gagnèrent la Libye puis se propagèrent d'abord vers les autres pays du Maghreb comme la Tunisie, l'Algérie et le Sud Marocain et arrivèrent ensuite dans l'Adrar Mauritanien (Figure 3.1).

1.3 Répartition géographique du palmier dattier

1.3.1 En Algérie

La culture du palmier dattier occupe toutes les régions situées sous l'Atlas saharien soit 6000 ha depuis la frontière Marocaine à l'Ouest jusqu'à la frontière Est Tuniso-

Libyenne. Du Nord au Sud du pays, elle s'étend depuis la limite Sud de l'Atlas saharien jusqu'à Reggane à l'Ouest, Tamanrasset au centre et Djanet à l'Est [78].

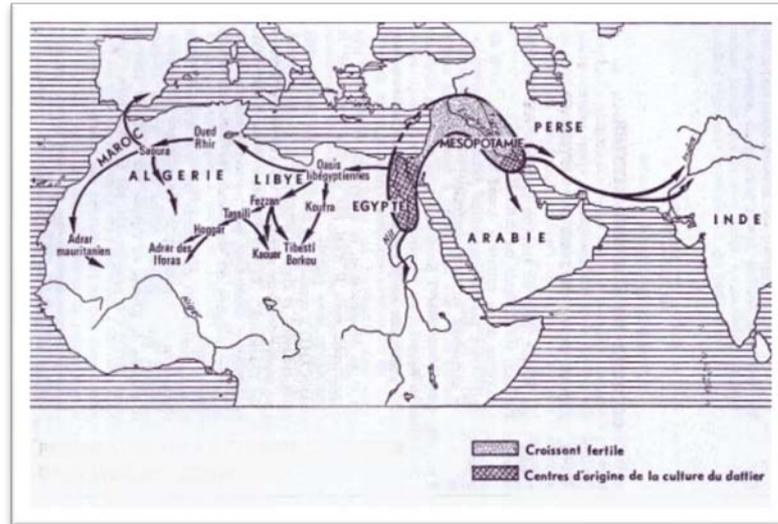


Figure 3.1 : Propagation de la culture du palmier dattier dans l'ancien continent [73].

Les principales régions productrices sont celles de l'Est indemnes de Bayoud et qui concentrent toute la production de la variété *Deglet-Nour*, avec principalement les palmeraies des Ziban, d'Oued souf, de la cuvette d'Ouargla et du Mzab. A l'Ouest ce sont les palmeraies de l'Oued Saoura, du Touat, du Gourara et du Tidikelt.

1.3.2 Dans le monde

Le palmier dattier fait l'objet d'une plantation intensive en Afrique méditerranéenne et au Moyen-Orient. L'Espagne est l'unique pays européen producteur de dattes principalement dans la célèbre palmeraie d'Elche [79]. Le palmier dattier est également cultivé à plus faible échelle au Mexique, en Argentine et en Australie [80].

2 La datte

2.1 Aspects morphologiques

Selon Dowson et Aten [81] et Richard [82] la datte, fruit du palmier dattier, est une baie constituée d'une partie dure non comestible (la graine) et d'une partie comestible (pulpe). La datte est constituée de deux parties, une partie non comestible « noyau » et une partie comestible « pulpe » ou « chair ».

Selon Espiard [75] ,la partie comestible de la datte est constituée de :

- Un péricarpe ou enveloppe cellulosique fine dénommée peau.
- Un mésocarpe généralement charnu, de consistance variable selon sa teneur en sucres et de couleur soutenue.
- Un endocarpe de teinte plus claire et de texture fibreuse, parfois réduit à une membrane parcheminée entourant le noyau.

Les dimensions de la datte sont très variables, de 2 à 8 cm de longueur et d'un poids de 2 à 8 grammes selon les variétés. La couleur va du blanc jaunâtre au noir en passant par les couleurs ambre, rouge, brune plus au moins foncée [74]. Les dattes sont généralement de forme allongée, oblongue ou ovoïde, mais on rencontre également des dattes sphériques.

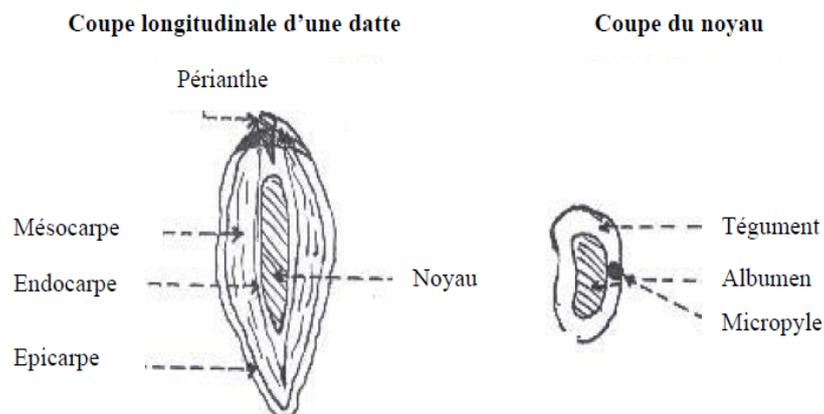


Figure 3.2 : Datte et noyau du palmier dattier [83].

2.2 Classification des dattes

D'après Espiard [75], la consistance de la datte est variable. Selon cette caractéristique, les dattes sont réparties en trois catégories :

- Dattes molles : Ahmar (Mauritanie), Kashram et Miskani (Egypte, Arabie-Saoudite).
- Dattes demi-molles : Deglet-Nour (Tunisie, Algérie), Mehjoul (Mauritanie), Sifri et Zahidi (Arabie-Saoudite).
- Dattes sèches de consistance dure : Degla-Beïda et Mech-Degla (Tunisie et Algérie), Amersi (Mauritanie).

2.3 Les variétés de datte

Les variétés de dattes sont très nombreuses, seulement quelques unes ont une importance commerciale. Elles se différencient par la saveur, la consistance, la forme, la couleur, le poids et les dimensions [83 ; 74].

En Algérie, les principales variétés cultivées sont représentées par :

- La Deglet-Nour : Variété commerciale par excellence. C'est une datte demi-molle, considérée comme étant la meilleure variété de datte du fait de son aspect, son onctuosité et sa saveur. A maturité la datte est d'une couleur brune ambrée avec un épicarpe lisse légèrement plissé et brillant, le mésocarpe présente une texture fine légèrement fibreuse ;
- Les dattes communes : Ces variétés sont de moindre importance économique par rapport à Deglet-Nour. Les variétés les plus répandues sont : Ghars, Degla-Beïda et Mech-Degla ;
- Les variétés secondaires : elles comptent plus de 150 variétés dont la majorité est très peu appréciée. Les plus répandues sont : Hamra, Tinnaceur, Tegaza, Tezerzait et takerbouchet (qui présentent un intérêt par sa résistance au Bayoudh) .

2.4 Développement et maturation de la datte

Pendant sa formation et sa maturation, le fruit passe par un certain nombre de phases, qui se résument en quatre stades appelés par leur dénomination arabe : Kimri, Khalal, Routab et Tamr [84].

On peut distinguer différents stades d'évolution de la datte [85]; chaque stade porte une appellation particulière selon les pays. En Algérie, se sont : Loulou, Khlal, Bser, Martouba et Tmer ; cependant, la majorité des auteurs ont adapté la terminologie utilisée en Irak et de nombreux pays arabes.

Le tableau 3.1 illustre les stades d'évolution et les appellations utilisées en Afrique du Nord et en Irak

Tableau 3.1 : Stades d'évolution de la datte [74]

Pays	Stades de développement de la datte				
	I	II	III	IV	V
Irak	Hababouk	Khimiri	Khlal	Routab	Tamr
Algérie	Loulou	Khlal	Bser	Martouba	Tamr
Lybie	-	Gamag	Bser	Routab	Tamr
Mauritanie	Zeï	Tefejena	Engueï	Blah	Tamr

De nombreux auteurs ont adapté la terminologie utilisée en Irak. Les différents stades peuvent être définis comme suit [74] :

- Hababouk : Ce stade commence juste après la fécondation et dure environ cinq semaines. A ce stade le fruit est entièrement recouvert par le périanthe et se caractérise par une croissance lente [85] ;
- Kimiri : Il se caractérise par la couleur verte, un grossissement rapide du fruit, une augmentation de la concentration en tanins et en amidon, une légère augmentation des sucres totaux et de la matière sèche. Ce stade dure neuf à quatorze semaines ;

- Khalal : Au cours de ce stade, la couleur du fruit passe du vert au jaune clair, puis vire au jaune, au rose ou rouge selon les variétés. Cette phase est marquée par une augmentation rapide de la teneur en sucres totaux, de l'acidité active, par contre la teneur en eau diminue. Elle dure trois à cinq semaines.
- Routab : La couleur jaune ou rouge du stade khalal passe au foncée ou au noir. Certaines variétés deviennent verdâtres comme la khadraoui (Irak) et la Bouskri (Maroc). Ce stade se caractérise par :
 - La perte de la turgescence suite à la diminution de la teneur en eau.
 - L'insolubilisation des tanins qui se fixent sous l'épicarpe du fruit.
 - L'augmentation de la teneur des monosaccharides.
- Tamr : C'est le stade final de la maturation de la datte. Le fruit perd beaucoup d'eau, ce qui donne un rapport sucre/eau élevé.



Figure 3.3 : Différents stades de maturation de la datte.

2.5 Composition biochimique de la datte

Tous les travaux sur l'étude de la composition chimique de la datte, ont montrés que le sucre et l'eau sont les principaux constituants de la chair.

Parmi tous les fruits, la datte a l'un des taux de sucre le plus élevé, à savoir 65-70 %, dont la plupart sont simples, ce qui rend ce fruit une très importante source d'énergie [86] Elle contient également une grande quantité de vitamines et de minéraux. Elles sont très riches en fibres, elles contiennent aussi du sodium, du potassium, du calcium, du

magnésium, du fer, du soufre, du phosphore et du chlore, ainsi que de la vitamine A, du beta-carotène et des vitamines B1, B2, B3 et B6.

2.5.1 Composition biochimique de la partie comestible « pulpe »

La pulpe de la date représente une proportion de 80% à 95% du poids total du fruit, selon la variété et les conditions pédoclimatiques. Elle se distingue par son taux d'humidité et sa forte teneur en sucre [87]

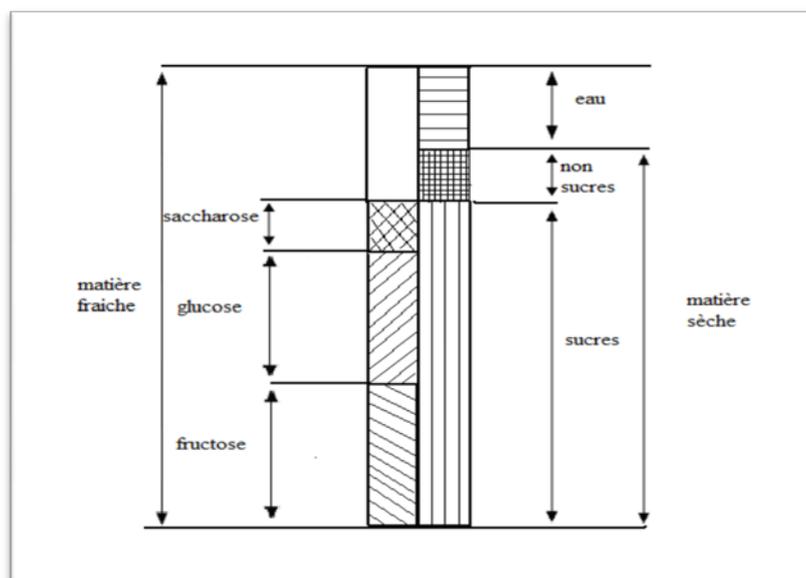


Figure 3.4: Composition de la datte [88].

Le tableau suivant démontre la composition biochimique approximative de la datte :

Tableau 3.2 : Composition de la date en nutriment essentiels [86].

Composition	Minimum	Maximum
Eau (g/100 g)	7,2	50,4
Matière grasse (g/100 g)	0,1	1,4
Amidon (g/100 g)	1,0	1,9
Protéines (g/100 g)	1,1	2,6

Fibres (g/100 g)	3,57	10,9
Glucides (g/100 g)	52,6	88,6
Minéraux (mg/100 g)	417,37	1913,2
Vitamines (μ g/100 g)	2254,61	20023,2
Polyphénols (mg/100 g)	3,91	661

2.5.1.1 L'eau

La teneur en eau est en fonction des variétés, du stade de maturation et du climat. Elle varie entre 8 et 30 % du poids de la chair fraîche avec une moyenne d'environ 19 % [89]

Tableau 3. 3 : Teneur en eau de quelques variétés de dattes de la région Fliache (Biskra), en % [89].

Variétés	Consistance	Teneur en eau (%)
Deglet-Nour	Demi-molle	22,60
Mech-Degla	Sèche	13,70
Ghars	Molle	25,40

2.5.1.2 Les sucre

Les sucres sont les constituants majeurs de la datte. L'analyse des sucres de la datte a révélé essentiellement la présence de trois types de sucres : le saccharose, le glucose et le fructose [86]. Ceci n'exclut pas la présence d'autres sucres en faible proportion tels que : le galactose, le xylose et le sorbitol [90; 91].

La persistance du saccharose est manifestement liée au durcissement de la datte [92]. Les dattes molles sont à sucre inverti (fructose, glucose) alors que les dattes sèche sont à saccharose, les dattes demi-molles occupent une position intermédiaire.

La teneur en sucres totaux est très variable, elle dépend de la variété et du climat. Elle varie entre 60 et 80 % du poids de la pulpe fraîche [91].

Tableau 3.4 : Teneur moyenne de la date en sucres [86].

Sucres (g/100g)	Minimum	Maximum
Glucose	17,6	41,4
Fructose	13,6	36,8
Saccharose	0,5	33,9

2.5.1.3 Les acides aminés

Parmi les constituants intéressants de la date, on peut mentionner encore les protéines, mais la pulpe de la date n'en renferme qu'une faible quantité. Le taux diffère selon les variétés et surtout selon le stade de maturité, il est en général de l'ordre de 1,75% du poids de la pulpe [92].

Tableau 3.5 : Composition moyenne de la date en acides aminés (mg/100 g)
[86].

Acides aminés	Minimum	Maximum
Alanine	30	133
Arginine	34	148
Acide aspartique	59	309
Cystéine	13	67
Acide glutamique	100	382
Glycine	42	268
Histidine	0,1	46
Isoleucine	4	55
Leucine	41	242
Lysine	42	154
Methionine	4	62
Phénylalanine	25	67
Proline	36	148
Serine	29	128
Tryptophan	7	92
Tyrosine	15	156

2.5.1.4 Les acides gras

La datte renferme une faible quantité de lipides. Leur taux varie entre 0,43 et 1,9 % du poids frais [93]. Cette teneur est en fonction de la variété et du stade de maturation.

Selon [87], la teneur en lipides passe de 1,25 % au stade Hababouk à 6,33 % au stade Kimiri (tableau 3.1). Cette teneur diminue progressivement au stade Routab pour atteindre une valeur de 1.97 % de matière sèche au stade Tamar.

Tableau 3.6 : Composition en acides gras de la datte Deglet-Nour, en % de matière grasse [87]

Acides gras	Teneur en % de matière grasse
Acide linoléique (C18 : 3)	12,30
Acide linoléique (C18 : 2)	11,47
Acide oléique (C18 : 1)	10,74
Acide stéarique (C18 : 0)	10,47
Acide palmitique (C16 : 0)	7,89
Acide myristique (C14 : 0)	8,66

2.5.1.5 Les éléments minéraux

L'étude de 58 variétés de dattes cultivées dans la région des Zibans faite par [94], montre que le taux de cendres est compris entre 1,10 et 3,69 % du poids sec. La datte est l'un des fruits les plus riches en éléments minéraux essentiellement le potassium, le magnésium, le phosphore et le calcium.

Le tableau ci-dessous, donne la teneur en éléments minéraux de la datte selon [86]

Tableau 3.7 : Composition minérale la datte en mg/100 g [86].

Eléments minéraux	Teneur (mg/100 g)	
	Minimum	Maximum
Magnésium (Mg)	31,0	150
Sodium (Na)	1,00	261

Calcium (Ca)	5,00	206
Phosphore (P)	35,0	74
Potassium (K)	345,0	1287
Manganèse (Mn)	0,01	0,4
Fer (Fe)	0,10	1,5
Zinc (Zn)	0,02	0,6
Cuivre (Cu)	0,01	0,8

2.5.1.6 Les vitamines

En général, la datte ne constitue pas une source importante de vitamines. La fraction vitaminique de la datte se caractérise par des teneurs appréciables des vitamines du groupe B. Ce sont des précurseurs immédiats des coenzymes indispensables à presque toutes les cellules vivantes et jouent un rôle primordial [95].

Tableau 3.8 : Composition vitaminique moyenne de la datte sèche [90].

Vitamines	Teneur moyenne pour 100g
Vitamine C	2,00 mg
Thiamine (B1)	0,06 mg
Riboflavine (B2)	0,10 mg
Niacine (B3)	1,70 mg
Acide pantothénique (B5)	0,80 mg
Vitamine (B6)	0,15 mg
Folates (B9)	28,00 mg

2.5.1.7 Les fibres

La datte est riche en fibres, elle en apporte 8,1 à 12,7 % du poids sec [85]. Selon [96], les constituants pariétaux de la datte sont : la pectine, la cellulose, l'hémicellulose et la lignine.

Tableau 3.9 : Teneur de la datte en fibres [86]

Fibres (g/100 g)	Minimum	Maximum
Solubles	0,4	13
Insolubles	3,03	7,4

Du fait de leur pouvoir hydrophile, les fibres facilitent le transit intestinal et exercent un rôle préventif des cancers colorectaux, des appendicites, de la diverticulose, des varices et des hémorroïdes. Elles ont également un effet hypocholestérolémiant [97; 98].

2.5.1.8 Les composés phénoliques

Les analyses physico-chimiques des dattes ont révélé la présence de substances dites phénoliques [87 ; 99].

L'étude menée par [100] sur sept variétés de dattes algériennes, a révélé une teneur phénolique variant de 2,49 à 8,3mg/100g du poids frais.

Tableau 3.10 : Teneur en composés phénoliques de quelques variétés de dattes Algériennes [100]

Variétés	Teneur en mg/100g du poids frais
Tazizaout	2 ,49
Ougherouss	2,84
Akerbouche	3,55
Tazarzait	3,91
Tafiziouine	4,59
Deglet-Nour	6,73
Tantbouchte	8,36

Au sein de cette même étude, l'analyse qualitative de ces composés phénoliques a montré la présence d'acides cinnamiques, féruliques, cinapiques et coumariques, et dont cette teneur importante en acides cinnamiques libres n'est pas fréquente dans les autres

fruits, ainsi que la présence de certains flavonoïdes : les flavones, flavonols et flavanones glucosides dont l'identification était difficile et la teneur s'est révélée très faible.

Selon Henk et al., [101] les polyphénols jouent un rôle important dans le corps : elles ont des effets anti-inflammatoires, antioxydants, abaissant la tension artérielle et renforçant le système immunitaire.

2.5.2 La composition biochimique de la partie non comestible « noyau »

Le noyau présente 7 à 30 % du poids de la dattes. Il est composé d'un albumen blanc, dur et corné protégé par une enveloppe cellulosique [75]. Le tableau suivant montre la composition biochimique moyenne des noyaux de dattes Irakiennes [73]

Tableau 3.11 : Composition biochimique des noyaux de dattes Irakiennes [73].

Constituants	Teneur en %
Eau	6,46
Glucides	62,51
Protides	5,22
Lipides	8,49
Cellulose	16,20
Cendres	1,12

D'autres données analytiques sur la composition chimique du noyau de dattes montrent qu'il renferme plusieurs acides gras avec une proportion plus importante d'acide oléique et laurique [102]

Tableau 3.12 : Composition en acides gras des noyaux de dattes [102].

Acides gras	Teneur en mg/100g d'acides gras totaux
Acide caprique	0,3
Acide laurique	21,8

Acide myristique	10,9
Acide palmitique	9,6
Acide stéarique	1,5
Acide oléique	42,3
Acide linoléique	13,7

2.6 Les bienfaits de la datte

Depuis l'antiquité, la datte et son noyau ont été utilisés dans la médecine traditionnelle, dans les régions où le palmier dattier fut cultivé [103]. Une recherche menée par [104] a montré que les dattes ont été traditionnellement utilisées pour soigner l'hypertension et le diabète. Il a été prouvé aussi que la consommation de la datte fortifie le corps, prévient la chute précoce des cheveux, l'apparition des rides et donne à la peau un aspect reluisant.

Autre que sa valeur énergétique élevée grâce à sa richesse en sucres réducteurs facilement assimilables, son profil minéral et vitaminique important, la datte est dotée de nombreux effets bénéfiques pour la santé, la figure suivante illustre brièvement les plus importants de ces effets :

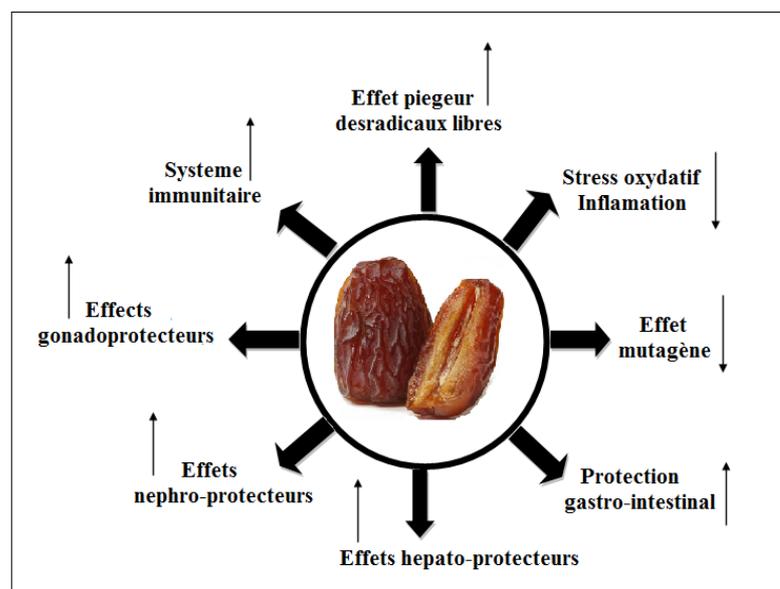


Figure 3.5 : Activités biologiques et pharmacologiques de la datte [105].

CHAPITRE 4

LE THÉ

Le thé vert, découvert par les Chinois il ya de cela environ 5 000 ans, a longtemps été exclusivement considéré comme un remède. On lui attribuait le pouvoir de détoxifier l'organisme, de délasser les membres et d'éclaircir l'esprit. Ce n'est que bien plus tard qu'on commença à le boire pour le simple plaisir. Ces dernières décennies, de nombreuses études ont été réalisées sur l'action du thé vert et l'on s'est aperçu que celui-ci avait davantage d'effets bénéfiques sur la santé qu'on l'avait cru jusque-là. Il a notamment été prouvé qu'il agit sur le cœur, les vaisseaux sanguins, la digestion et le système immunitaire [106]

1 Camellia sinensis « le théier »

1.1 Historique

Les infusions ou liqueurs de thé représentent la boisson préparée à partir des feuilles du théier, *Camellia sinensis*. L'histoire de cette boisson remonterait, selon la légende chinoise, à 3 000 ans avant Jésus-Christ. Par contre, elle n'est apparue en Europe qu'au XVIIème siècle par la voie maritime mise en place par les Hollandais. Depuis, sa consommation n'a cessé d'augmenter pour devenir, de nos jours, la seconde boisson la plus consommée au monde après l'eau plate.

En Chine, Le thé vert est le thé le plus consommé. En Europe, même si la consommation de thés verts est en forte augmentation suite aux nombreuses publications

reprises dans les médias vantant leurs propriétés bénéfiques pour la santé, le thé noir est encore le plus apprécié.



Figure 4.1 : Répartition des plantations de thé dans le monde [107].

1.2 Production et consommation du thé

Actuellement, le thé est la boisson la plus consommée dans le monde. La production mondiale a atteint 3 459 000 tonnes en 2005 [108], répartie principalement entre la Chine et l'Inde (Figure 4.2). Ces deux pays sont aussi les premiers pays consommateurs ce qui rend le marché du thé assez singulier. En effet, le plus grand pays exportateur est le Kenya, 3ème pays producteur avec seulement 9 % de la production mondiale. Par ailleurs, les pays producteurs consomment en moyenne moins de thé par an et par habitant que les pays importateurs. En France, la consommation moyenne n'est que de 0,250 kg par an et par habitant mais est en constante augmentation depuis une dizaine d'années.

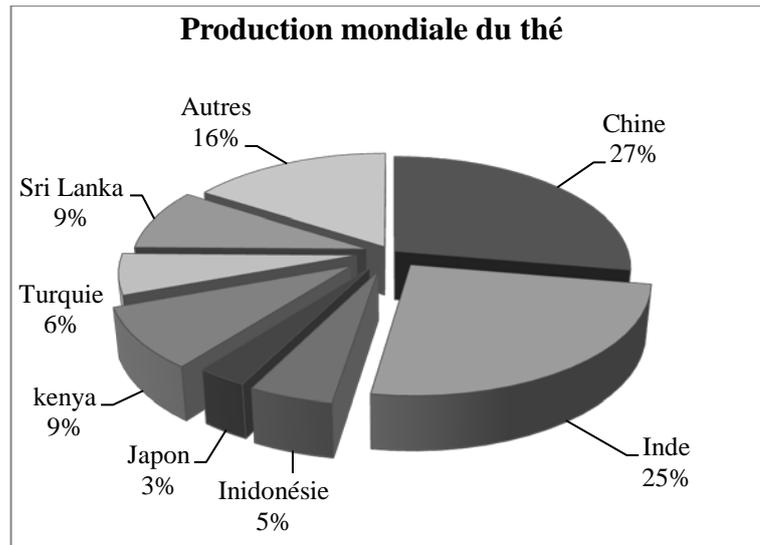


Figure 4.2 : Répartition de la production mondiale en 2005 [108].

1.3 La culture du thé

1.3.1 Le théier

Le théier ou *Camellia (L.) O. Kuntze* (espèce) appartient au genre *Camellia L.* de la famille des *theaceae* de l'ordre des *Theales*. Il existe deux variétés principales, la variété *sinensis* (de Chine) utilisée plus particulièrement pour la production de thés verts avec des feuilles petites et vert olive et la variété *assamica* (d'Assam) utilisée pour les thés noirs à la pousse large, claire et charnue. Le théier est un arbre à feuilles persistantes pouvant atteindre 10 à 15 m voire 30 m pour des arbres plusieurs fois centenaires [109].

1.3.2 Thé vert ou thé noir ?

Avant d'aborder la question des différents thés verts et leur mode de préparation respectifs, il convient de dire quelques mots de la distinction entre les deux principaux types de thé, le thé noir et le thé vert. La différence entre le thé vert et le thé noir, qui proviennent les deux de la même plante, réside dans le procédé de fabrication :

- Pour le thé vert, les jeunes feuilles fraîchement cueillies sont directement passées à la vapeur, roulées puis séchées. Elles conservent ainsi leur couleur verte.
- Pour le thé noir, les feuilles subissent d'abord une fermentation, ce processus provoque une modification de la composition chimique de la feuille de thé. Sa teneur en tanins diminue et la théine, en partie libre, est plus active et plus vite absorbée par l'organisme, raison pour laquelle le thé noir excite davantage que le thé vert.

1.3.3 Les procédés de traitement des feuilles de thé fraîchement cueillies

Les feuilles de thé sont commercialisées sous trois formes principales : les théés verts (25 % de la production mondiale en 2005), noirs (70 % de la production mondiale en 2005) et semi-fermentés ou *Oolong* (5 %). La différence est due aux traitements subis par les feuilles fraîchement cueillies (Figure 4.3).

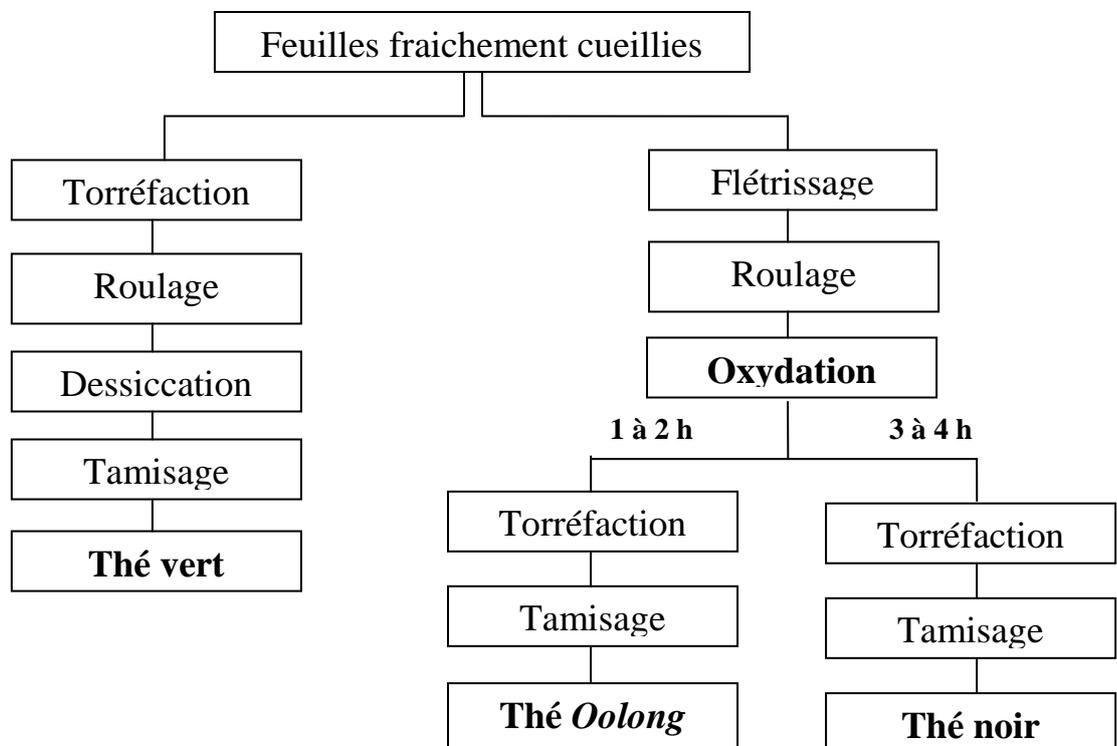


Figure 4.3 : Principales étapes du traitement des feuilles de théier après récolte [110]

- La torréfaction : consiste à chauffer les feuilles quelques minutes à 100 °C en atmosphère humide pour inhiber les enzymes responsables de l'oxydation. Cette phase dure entre 30 s et 5 min pour les thés verts et *Oolong* et entre 15 et 20 min pour les thés noirs [109].
- Le flétrissage : au cours de cette phase, qui dure entre 16 et 32 h suivant le procédé utilisé, les feuilles sont exposées à de l'air chauffé (< 35 °C) afin de les déshydrater pour les rendre plus souples et permettre de les rouler sans les briser. La teneur en eau des feuilles est réduite de 50 % environ.
- Le roulage : dans le cas des thés verts et *Oolong*, a pour but de donner une forme de bâtonnet aux feuilles. Dans le cas des thés noirs, les feuilles sont roulées afin de rompre la paroi cellulaire et permettre la libération des enzymes polyphénoloxydases et peroxydases qui vont oxyder les polyphénols [111].
- L'oxydation : Par la suite, les feuilles subissent l'étape d'oxydation qui est l'étape la plus importante pour l'obtention des thés noirs et semi-fermentés. Elle est souvent appelée à tort « fermentation » [112].

Les feuilles des thés verts ne subissent pas cette étape d'oxydation et sont immédiatement séchées avec de l'air chaud pendant 2 à 3 min avec alternance de périodes de 30 min de repos pour atteindre 5 à 6 % d'eau. Concernant les thés noirs, la dessiccation consiste à stopper l'oxydation puis à ajuster la teneur en eau des feuilles à une valeur inférieure à 5 %. Les feuilles sont ensuite tamisées et classées en trois catégories : feuilles entières, brisées ou broyées. L'apparence des feuilles, leur type et le procédé subi déterminent le grade du thé.

2 Composition des feuilles de thé

2.1 Les composés organiques majeurs

Les feuilles de thé fraîches contiennent en règle générale 36 % de composés polyphénoliques, 25 % de glucides, 15 % de protéines, 6,5 % de lignines, 4 % d'acides aminés, 2 % de lipides, 1,5 % d'acides organiques, 0,5 % de chlorophylles et de caroténoïdes et enfin moins de 0,1 % de substances volatiles [113] ainsi que des éléments minéraux environ 3 %. Les éléments constitutifs de la paroi cellulaire représentent environ 45 % de la matière sèche des feuilles de thé [114].

2.2 Les composés de la paroi cellulaire

La paroi cellulaire joue un rôle essentiel dans le contrôle des échanges entre l'eau et les feuilles. Les éléments constitutifs de la paroi cellulaire sont majoritairement des polysaccharides (celluloses, hémicelluloses, substances pectiques) ainsi que des protéines constituées d'acides aminés tels que la glycine, la lysine et la thréonine entre autres [115].

2.3 Les autres composés organiques

En plus des composés de la paroi, les feuilles de thés contiennent différentes familles de composés organiques dont les principaux sont les polyphénols (environ 30 % de la matière sèche) et les alcaloïdes. La teneur en chacun de ces composés dépend de paramètres comme la variété de théier, les conditions de cultures et le procédé de manufacture.

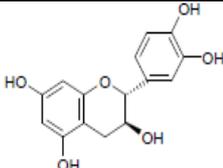
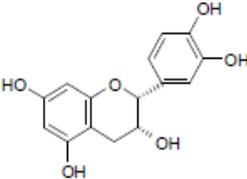
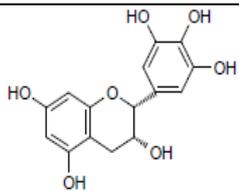
2.3.1 Les polyphénols

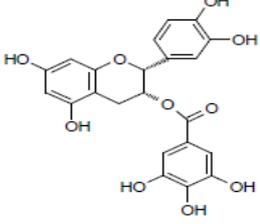
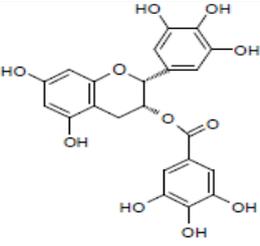
2.3.1.1 Les flavan-3-ols

Les feuilles du thé représentent une riche source des polyphénols extractibles, et spécialement les flavan-3-ols, qui regroupent les majeures formes des catéchines [116 ; 117]. Les principales catéchines du thé sont reportées dans le Tableau 4.1.

Dans le thé vert, les catéchines représentent plus de 85% des polyphénols totaux, [118 ; 119]. environ 30 % de la matière sèche des feuilles fraîchement cueillies, 10 à 25 % des feuilles de thé vert et 8 à 21 % des feuilles de thé noir [120]. A base fraiche, le thé contient 04–140 mg/g, avec une extrême variabilité entre espèces, marques, zones et saisons de récolte. Les EGCG prédominent dans le thé vert avec des teneurs allant de 07 à 74 mg/g, suivis par les EGC : 0–55 mg/g, les ECG (1–41 mg/g), les EC : 0,1–17 mg/g, et enfin les catéchine : 0–8 mg/g [121 ; 122].

Tableau 4.1 : Nom usuel, abréviation, formule développée des principales catéchines du thé [123-125]

Nom	Abréviation	Formule développée
Catéchine	C	
Épicatéchine	EC	
Épigallocatechine	EGC	

Épicatéchine gallate	ECG	
Épigallocatechine gallate	EGCG	

2.3.1.2 Les composés issus de l'oxydation des flavan-3-ols

Lors de la phase d'oxydation, les catéchines incolores, principalement l'EGC, l'EGCG et l'ECG [126], sont oxydées par les enzymes polyphénoloxydases et peroxydases pour former différents composés dont les plus connus sont les théaflavines (TF) et les théarubigines (TR) qui représentent respectivement jusqu'à 2 % et 20 % de la matière sèche des feuilles de thé noir [111]. Les quantités d'acide gallique et de catéchine semblent rester constantes durant cette phase car les réactions de dégallatation en produisent à partir de l'EGCG, l'ECG et l'EGC [126].

2.3.1.3 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes ou méthylxanthines appartenant au groupe de la purine présents dans les Feuilles de thé sont la caféine (CAF), la théobromine (TB) et la théophylline (TP) [127]. La caféine découverte en 1819 et la théine découverte en 1837 ont été identifiées comme étant une seule et même molécule en 1838. La caféine représente entre 2 et 5 % de la matière sèche des feuilles de thé ; la théobromine entre 0,05 et 0,5 % et la théophylline est souvent inférieure à 0,5 %.

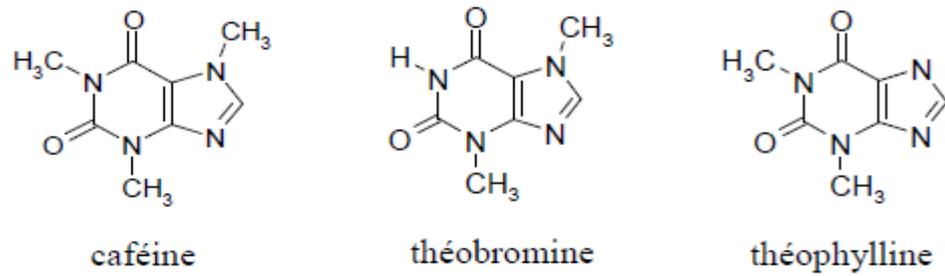


Figure 4.4 : Structure de la caféine, la théobromine [128] et la théophylline [129].

2.3.2 Les composés volatils et les anions organiques

Les feuilles de thé contiennent également des composés volatils aromatiques. L'étude de ces derniers a commencé il y a 60 ans avec l'identification du linalol, du géraniol et du (Z)-3- hexénol comme composés présents dans la fraction volatile des feuilles ou des liqueurs [116]. Depuis, de nombreuses études ont permis de porter à plus de 600 le nombre de composés volatils identifiés [130; 131]. Les feuilles de thé contiennent également des anions organiques simples comme les formiates, acétates et oxalates [132].

2.4 Les composés minéraux

L'analyse de feuilles de thé d'origine diverses a montré la présence d'un minimum de quarante éléments minéraux différents dont les ordres de grandeurs des concentrations varient du nanogramme au milligramme par gramme de matière sèche [133; 134]. Les teneurs moyennes des feuilles en ces éléments sont reportées dans le Tableau suivant :

Tableau 4.2 : Concentration totale en éléments minéraux des feuilles de thé vert et thé noir [133; 135].

Eléments	Concentration (mg.g ⁻¹)	
	Thé vert	Thé noir
K	/	17±1
Ca	4,5±0,2	4,6±0,1
Mg	2,28±0,02	2,07±0,03

Al	0,90±0,01	0,81±0,06
Mn	0,73±0,02	0,5±0,01
Fe	0,13±0,01	0,13±0,01
Na	/	37±4
Zn	28±2	36,6±0,7
Cu	19±1	27,7±0,7
Ni	6±1	8,1±0,2

L'élément majoritaire est le potassium avec des teneurs de l'ordre de 20 mg·g⁻¹ puis viennent le calcium, le magnésium, l'aluminium, le manganèse et le fer. Les teneurs en zinc, cuivre et nickel sont de l'ordre du µg·g⁻¹. Les feuilles de thé contiennent également des anions comme les fluorures, les chlorures, les sulfates et les phosphates présents respectivement à des concentrations de l'ordre de 2 mg/l, 20 mg/l, 30 mg/l et 20 mg/l [132; 136].

3 Les bienfaits du thé sur la santé

A l'origine, le thé vert n'était pas considéré comme une boisson d'agrément, mais plutôt comme un remède. On lui attribuait le pouvoir de soigner différentes affections, comme les maux de tête, l'apathie ou la baisse d'acuité visuelle. Dans l'antiquité, les chinois disaient de lui qu'il stimulait la circulation, purifiait le corps, faisait briller les yeux, délassait les membres et éclaircissait l'esprit [106].

Les recherches récentes démontrent, entre autres, qu'il permet d'améliorer temporairement les fonctions cognitives, qu'il pourrait prévenir les maladies cardiovasculaires, l'incidence de certains cancers et la carie dentaire [137 ; 138]. Ce sont principalement ses catéchines qui, grâce à leur effet antioxydant, seraient responsables de ses propriétés [139].

3.1 Fonctions cognitives

Plusieurs études ont démontré que le thé et le café stimulaient les fonctions cognitives en rendant l'esprit plus alerte [140 ; 141]. Ces effets sont généralement attribués à la caféine présente dans ces boissons quoique certains chercheurs croient que d'autres composés pourraient également y être pour quelque chose [140]. Des études [140 ; 141] démontrent que les effets augmentent en fonction de la dose consommée bien qu'on observe déjà des effets avec la consommation de quantités modérées de thé (60 mg de caféine) [137].

3.2 Maladies cardiovasculaires

Les résultats de certaines recherches indiquent que le thé pourrait aider à prévenir les maladies cardiovasculaires. Ainsi les auteurs d'une étude cas-témoins désirant observer le lien entre la consommation de café, de café décaféiné et de thé et les risques d'infarctus du myocarde, ont trouvé que seule la consommation de thé était associée à une réduction des risques de crises cardiaques [142]. Une étude prospective auprès de 8 552 japonais, montre que les risques relatifs de mort par maladies cardiovasculaires diminuaient avec la consommation de plus de 10 tasses de thé vert par jour [143]. Une étude transversale, auprès de 1 341 hommes japonais âgés de 40 ans et plus, montre que la consommation de 10 tasses et plus de thé vert par jour était associée avec une diminution du cholestérol total, des triglycérides et de l'index athérogène [144].

3.3 Prévention du cancer

Les résultats de nombreuses recherches en laboratoire révèlent que les antioxydants polyphénoliques du thé protègent du cancer [145]. Les études épidémiologiques, quoique peu probantes, suggèrent aussi que la consommation de thé est associée avec une diminution du risque de cancer. Une analyse des études de cohortes publiées jusqu'en 1997 n'a pas réussi à démontrer que le thé avait un effet protecteur sur l'incidence du cancer en général [146]. Tout de même, quelques études suggèrent que le thé aurait un effet protecteur sur le cancer [143 ; 146]. Il apparaît que les gros buveurs de thé (10 tasses ou

plus par jour) sont davantage protégés du cancer que les personnes qui boivent peu ou pas de thé (trois tasses ou moins). La plupart des travaux ont été faits sur le thé vert donc, il reste à déterminer si ces résultats peuvent aussi s'appliquer au thé noir.

3.4 Carie dentaire

Des expériences en laboratoire indiquent que les catéchines du thé vert et du thé noir pourraient avoir des propriétés anti-caries. Quelques recherches cliniques chez l'humain suggèrent, que la consommation régulière de thé pourrait réduire l'incidence et la sévérité des caries [139]. Les catéchines du thé agiraient en ayant un effet bactéricide direct, en prévenant l'adhérence des bactéries sur les dents et en inhibant certaines enzymes salivaires.

3.5 Effets secondaires possibles

Le thé peut être consommé pour les bénéfices de ses antioxydants mais il ne faut pas oublier qu'il contient aussi de la caféine. Ainsi donc, consommé en grande quantité, le thé (et sa caféine) peut causer des effets indésirables comme l'irritabilité, la nervosité, l'insomnie, un effet diurétique, une altération du rythme cardiaque ou des désordres gastro-intestinaux (ex. : reflux gastrb-oesophagien) [147]

CHAPITRE 5

LE CAFÉ

Depuis le début du XIXème siècle, la production du café a été en constante augmentation. Il est donc un produit de première importance sur le marché mondial des produits agroalimentaires.

1 Présentation du café

1.1 Historique

Le café demeure l'un des produits les plus consommés au monde et constitue la deuxième boisson après l'eau. On estime à 400 milliards le nombre de tasses de café bues par an dans le monde, soit environ 12 000 tasses par seconde [148].

Le premier caféier était née en Afrique dans la région Éthiopienne de Kaffa. A partir de là, Il s'était propagé au Yémen, Arabie saoudite et l'Égypte, où sa consommation développa considérablement et franchit la vie quotidienne populaire. Par la fin des années 1500, des premiers commerçants de café le vendaient en Europe. Dans les années 1800-1850, le café était cultivé pour la première fois à Rio de Janeiro et en Brésil, après, la culture du café se développait, jusqu'à ce qu'elle devint la plus importante ressource économique du Brésil.

Dans la période allant de 1740 à 1805, la culture du café était intensivement propagée dans l'Amérique Centrale et l'Amérique de Sud, et était introduite aux États-Unis vers 1920 ; et depuis, la qualité générale de la boisson de café s'est considérablement améliorée.

1.2 Le commerce du café

La culture du café représente un enjeu économique majeur puisqu'elle est longtemps demeurée la seconde production mondiale, en terme d'échanges commerciaux, après le pétrole, et représente de 20 à 25 millions d'exploitations, situées dans 70 pays producteurs de la zone tropicale humide (source : International Coffee Organization).. On estime à 125 millions le nombre de personnes vivant de la caféiculture, dont 25 millions de petits producteurs. Les enjeux sociaux sont aussi considérés très importants.

Depuis plusieurs années la production mondiale annuelle dépasse les 6 à 7 millions de tonnes de café, alors qu'en 1825 on en produisait seulement 100 000 tonnes. Cette production ne cesse d'augmenter, avec une progression de 20% entre 1997 et 2005, soit deux fois plus vite que la demande. Actuellement le plus gros producteur est de loin le Brésil (35% environ du commerce du café), particulièrement l'Etat de Sao Paulo où se situe le port de Santos, premier port caféier du monde. Les autres gros producteurs sont la Colombie (10%) et le Viêtnam (12%), ce dernier étant le plus important producteur de robusta.

1.3 Le Caféier

Originaire d'Ethiopie et de la Corne d'Afrique, le caféier constitue le genre *Coffea* (créé par C. Linné) et appartient à la grande famille des Rubiacées qui comprend plus de 500 genres et 6000 espèces, pour la plupart tropicales. Il existe au moins 25 espèces différentes de *Coffea*, toutes indigènes d'Afrique tropicale et de certaines îles de l'océan Indien [149].

Le caféier est un arbuste appartenant au genre *Coffea* de la famille des Rubiacées, pouvant atteindre 12 mètres de hauteur et poussant dans la zone intertropicale. Un caféier n'est rentable qu'au bout de 5 ans et sa durée de vie est de 25 à 50 ans. Il produit des fruits charnus, le plus souvent rouges ou violets, semblables à des cerises (d'où leur appellation « cerises de café »). Ces fruits renferment deux noyaux, contenant chacun un grain de café.

Il existe un grand nombre d'espèces de caféiers (plus de 80) mais seules deux d'entre elles sont réellement exploitées dans le monde : *Coffea arabica* L. et *Coffea canephora* [150]. Le café robusta constitue la variété la plus répandue de *Coffea canephora*. Ses grains sont généralement ronds, irréguliers et assez petits, avec un goût corsé, alors que les grains de l'arabica sont plutôt ovales et longs. Ces derniers présentent un goût plus fin et un arôme plus fruité que les grains de robusta, ce qui explique la plus forte consommation d'arabica de par le monde.

1.3.1 L'arabica (*Coffea arabica*)

Originaire d'Éthiopie, *Coffea arabica* L. comporte de nombreuses variétés. La culture de l'arabica est plus délicate et moins productive que celle du robusta. C'est la raison pour laquelle il est essentiellement cultivé dans des plantations situées entre 1000 et 2000 m d'altitude en climat tropical tempéré par l'altitude, tel que celui de l'Amérique Latine, de l'île de la Réunion ou de l'Indonésie. Il occupe la première place dans le monde pour la production de café (environ 60%) car ses qualités aromatiques sont supérieures à celles du robusta. Son prix est d'ailleurs en moyenne 20 à 25% plus élevé que celui du robusta. Cependant, sa teneur en caféine reste très inférieure : 1% contre 3% pour le robusta [151].

1.3.2 Le robusta (*Coffea canephora*)

Le café robusta est originaire d'Afrique centrale et occidentale. En deuxième place pour la production (40%), il est surtout cultivé en plaine en Afrique (Afrique occidentale, Ouganda, Angola, Afrique du sud, etc.) et en Extrême-orient (Viêtnam, Inde, Indonésie, Philippines). C'est une espèce plus vigoureuse que l'arabica, avec une croissance plus rapide. Son goût est puissant et corsé, il donne un café très tonique [151].

1.4 Le grain de café

Le fruit du caféier est une sorte de drupe, c'est-à-dire un fruit charnu à noyau. La cerise de café est entourée d'une peau très résistante, lisse et rouge, qui correspond à l'exocarpe (Figure 5.1). Celle-ci recouvre le mésocarpe riche en glucides et en pectine,

mais surtout en eau (70 à 85%). Le mésocarpe représente, selon les espèces, entre 40 et 65% du poids du fruit et correspond à la pulpe.

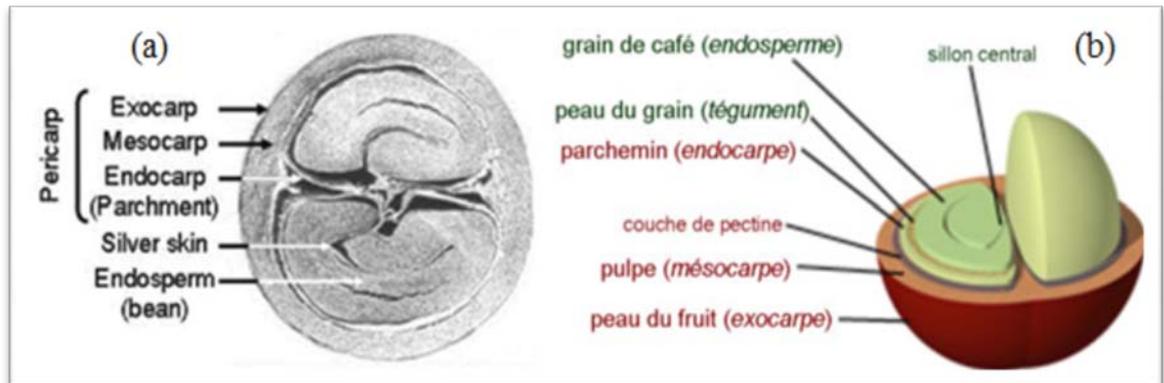


Figure 5.1 : Le grain de café [152].

(a) : Représentation schématique des tissus présents dans le fruit de *Coffea* sp. à maturité

(b) : Structure du fruit et de la graine du caféier.

Le fruit renferme deux graines qui deviendront les grains de café vert, également appelées fèves. Chaque graine est formée d'un albumen corné recouvert de deux enveloppes, l'une interne (le tégument séminal ou pellicule argentée), l'autre externe (l'endocarpe, également appelé parche ou parchemin).

L'obtention des grains de café vert nécessite donc de dépulper chaque fruit récolté, puis de départcher chaque grain. Pour cela, deux méthodes peuvent être mises en œuvre, une méthode dite humide (par immersion dans l'eau) et une méthode dite sèche (à l'aide libre).

1.5 La production des grains de café

La production des grains de café nécessite différentes étapes successives :

- la récolte des fruits(ou cerises) ;
- la séparation des grains de café vert des fruits (dépulpage / départchage) ;
- la torréfaction des grains.

Ces différentes étapes sont schématisées sur la Figure 5.2.

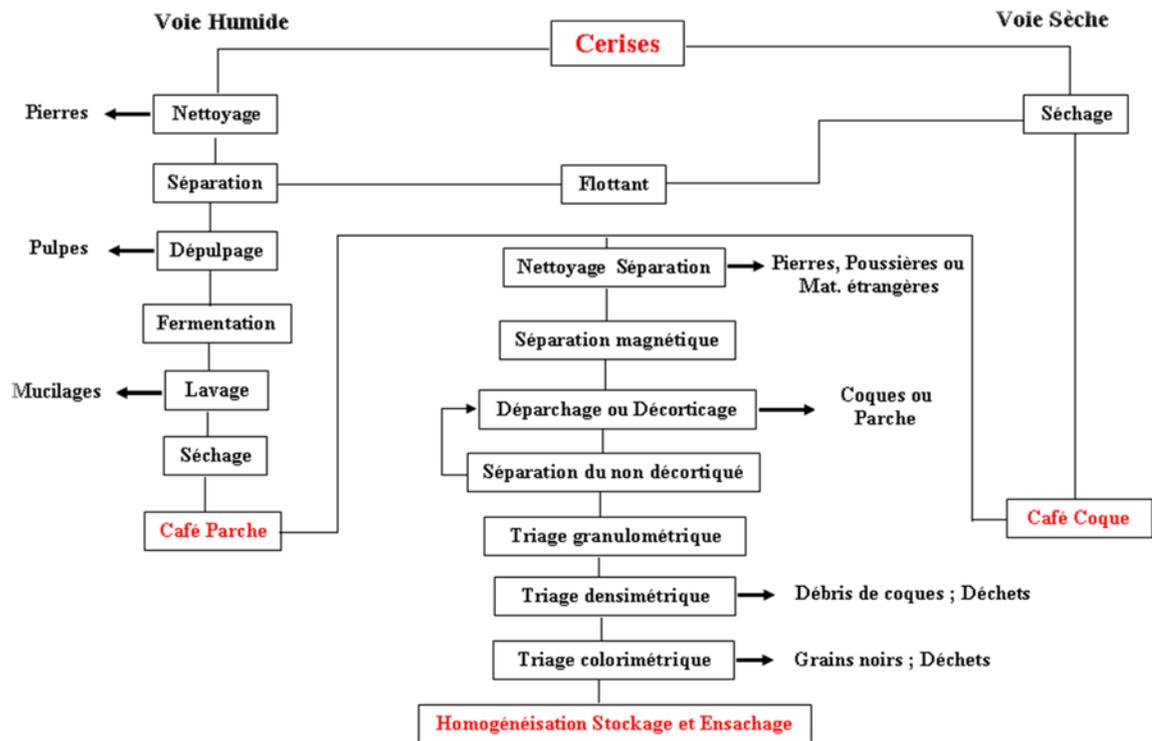


Figure 5.2 : Les différentes étapes de la production des grains de café [152].

1.6 La torréfaction des grains de café vert

La torréfaction est un procédé qui consiste à traiter les grains de café vert par la chaleur sèche et élevée, tout en permettant au café d'acquérir l'essentiel de ses propriétés organoleptiques (couleur, arôme, goût, « corps »). Cette technique permet donc d'accroître progressivement la température dans les torréfacteurs, par chauffage direct, chauffage indirect ou fluidisation dans un courant d'air chaud.

Le chauffage indirect est le procédé le plus utilisé dans l'industrie du café [153]. Au cours de cette transformation du café, des réactions chimiques se développent et s'accompagnent d'importantes modifications morphologiques (forme, volume, couleur, perte de poids). Les réactions génèrent du dioxyde de carbone, dont une partie s'échappe tandis qu'une autre est retenue dans les cellules du grain [153-155]. Au cours de la torréfaction du café, il a été mis en évidence trois phases successives [153 ; 154 ; 156-158].

- Une première phase appelée *séchage*, ayant lieu à des températures du grain inférieures à 150-160°C, au cours de laquelle on observe des réactions endothermiques (grâce à un apport extérieur de chaleur). De l'eau et des substances volatiles sont éliminées au cours de cette première phase, et le grain passe de la couleur verte au jaune.
- Une deuxième phase appelée *torréfaction*, exothermique, pour des températures du grain comprises entre 150-160 et 260°C. Elle correspond aux réactions chimiques de dégradation et de polymérisation des précurseurs d'arômes (réactions dites de Maillard et de Strecker, et réactions de pyrolyse). En général, la torréfaction est menée entre 200 et 250°C pendant 0.75 à 25 min, selon le degré de torréfaction souhaité (léger, moyen ou fort), le type de torréfacteur mis en œuvre, ainsi que la nature du café vert initial (variété, teneur en eau, âge du grain, etc.). Au cours de cette phase, le grain subit d'importantes modifications, tant physiques que chimiques comme nous le verrons ultérieurement. De grandes quantités de dioxyde de carbone, d'eau et de substances volatiles sont éliminées, et le grain devient marron (en raison de réactions de caramélisation et de la réaction de Maillard).
- Une troisième phase appelée *refroidissement*, qui s'avère indispensable pour éviter de brûler le grain de café. Dans certains cas, du sucre peut être rajouté au café avant de le torréfier, afin d'obtenir un café torréfié plus amer et plus foncé.

La torréfaction modifie non seulement la composition des grains, mais également leur texture [159]. En effet, juste après la torréfaction, les grains de café sont très friables. Plusieurs raisons à cela : le volume du grain augmente sous l'effet de la pression des gaz produits à l'intérieur du grain par des réactions chimiques (principalement de la vapeur d'eau et du dioxyde de carbone, mais également des produits de pyrolyse), alors que sa masse diminue (perte de gaz et de substances volatiles), ce qui a pour conséquence une baisse de la densité du grain (elle passe d'environ 1200-1300 à environ 600-650 kg.m⁻³) [160]. En outre le grain devient poreux, et la perte d'eau est très importante (environ 5-12% en masse pour le café vert, et seulement 0-5% pour le café torréfié). Pour cette raison, les grains doivent donc être refroidis avant d'être moulus, afin de devenir durs et cassants. Plus la torréfaction a été intense, plus le grain sera facile à mouler. La torréfaction des

grains de café est une étape cruciale, qui nécessite donc un contrôle rigoureux afin de maîtriser les réactions chimiques se produisant, et par là même la qualité des grains de café torréfiés. Ces réactions de pyrolyse et de brunissement non-enzymatique (réaction dite de Maillard) modifient la couleur du grain, qui passe du vert au brun plus ou moins foncé selon le degré de torréfaction.

Il est important de souligner que, si les grains de café vert de *Coffea arabica* et *Coffea canephora* peuvent être différenciés à l'œil nu par une personne experte en café (de par des formes et couleurs différentes), ceci n'est plus possible une fois que les grains sont torréfiés, et *a fortiori* moulus. Or, compte tenu du prix plus élevé pour *Coffea arabica*, il est nécessaire de trouver des indicateurs permettant une authentification rapide de la variété de café considérée.

2 Composition du grain de café

La composition du café est très complexe, avec plus d'une centaine de substances chimiques identifiées. Elle est également variable car les espèces, les variétés végétales et les procédés technologiques contribuent à la diversité des caractéristiques organoleptiques des cafés. Le facteur influençant le plus fortement la composition du café est avant tout l'espèce et la variété de café vert. Pour une même variété, la composition du café est également fonction, dans une moindre mesure, de la méthode de culture, du degré de maturation des cerises et des conditions de stockage des grains verts. En outre, les procédés technologiques de préparation (dépulpage, déparchage) et de traitement industriel (torréfaction) des grains verts, modifient les teneurs des constituants des grains de café. Enfin, le mode de préparation de la café boisson par le consommateur influence directement la composition de la boisson obtenue.

Ainsi que l'écrit Smith (1985) [161] « le café est probablement un des éléments dont la gamme de produits formés au cours des traitements industriels est la plus grande ». De plus, il existe un grand nombre de méthodes analytiques différentes si bien que, malgré les tentatives d'établissement d'une table de composition des cafés, aucune n'a été unanimement admise.

Les valeurs moyennes qui sont proposées pour rendre compte de la composition de chaque type de café ne doivent donc être considérées que comme des données approximatives. Cette étude de la composition du café est limitée à celle des deux principales espèces, *Coffea arabica* L. et *Coffea canephora* (variété robusta). La composition chimique moyenne des grains de café verts et torréfiés est donnée dans le Tableau 5.1

Tableau 5.1 : Composition des grains de café verts et torréfiés selon la variété (en pourcentage de la matière sèche). [162-166].

Composants	Coffea arabica		Coffea canephora	
	Vert	Torréfié	Vert	Torréfié
Caféine	0.8-1.4	0.9-1.6	1.7-4.0	1.2-2.6
Trigonelline	0.6-1.2	0.1-1.2	0.3-1.0	0.1-1.2
Acides aliphatiques	1.0-3.0	1.0-4.6	1.0-2.0	1.0-4.6
dont l'acide quinique	0.4	0.8	0.4	1.0
Acides chlorogéniques totaux	5.5-9.0	0.2-3.5	7.0-12.0	0.2-4.6
Oligosaccharides	6.0-8.0	0.0-3.5	5.0-7.0	0.0-3.5
dont saccharose (ou sucrose)	8.0	0.0	4.0	0.0
Polysaccharides totaux	50.0-55.0	24.0-39.0	37.0-47.0	--
Protéines	11.0-14.0	13.0-15.0	11.0-14.0	13.0-15.0
Acides aminés libres	2.0	0.0	2.0	0.0
Lipides totaux	10.0-18.0	14.5-20.0	8.0-13.0	8.3-16.0
Minéraux	3.0-4.2	3.5-4.5	3.5-4.5	4.6-5.0
dont potassium				
Eau	5-12	0-5	5-12	0-5

2.1 La composition des grains de café vert

2.1.1 Les alcaloïdes : La caféine

La caféine, ou 1,3,7-triméthylxanthine, est l'alcaloïde majoritaire du café (voir structure sur la Figure 5.3). On trouve également, mais en quantités bien plus faibles, la théobromine (ou 3,7-diméthylxanthine) et la théophylline (1,3-diméthylxanthine). La caféine serait synthétisée à partir des purines dans les grains de café vert. Elle joue un rôle protecteur en raison de ses propriétés antifongiques, voire peut-être insecticides.

La teneur en caféine des grains de café vert dépend en premier lieu de la variété de café : elle est sensiblement plus élevée pour le robusta (1.2 à 3.3% en masse par rapport à la matière sèche) que pour l'arabica (0.9 à 2.1%) [150; 167 ; 168].

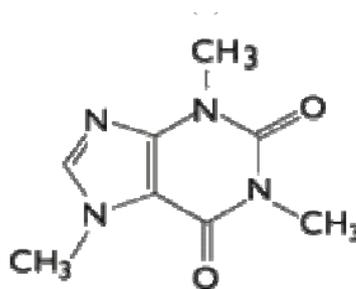


Figure 5.3 : Structure chimique de la caféine.

2.1.2 Les acides

L'acidité constitue l'une des caractéristiques les plus importantes du café, au même titre que l'amertume ou l'arôme. Le pH moyen des grains de café vert est de l'ordre de 5.5 [160]. Plusieurs types d'acides contribuent à cette acidité : aliphatiques, chlorogéniques, alicycliques et phénoliques.

- Les acides chlorogéniques

Les acides chlorogéniques constituent une famille d'esters formés entre certains acides transcinnamiques (caféique ou férulique) et l'acide quinique. Ils représentent environ

07-10 % et 05-07,5% en masse de la matière sèche pour le robusta et l'arabica respectivement [169]. Le composé majoritaire reste l'acide n-chlorogénique (ou acide 5-caffeoylquinique) pour tous les cafés, puisqu'il représente 60 et 75% de l'ensemble des acides chlorogéniques dans le café robusta et arabica respectivement [165]. Selon la variété et l'origine géographique du café vert, sa concentration peut varier entre environ 2.7 et 5.6% (en masse par rapport à la matière sèche) [167].

Les acides chlorogéniques constituent la source principale de polyphénols dans le café vert. Ces composés sont bien connus comme sujets à des réactions rédox, en particulier à des oxydations enzymatiques ou des auto-oxydations (processus intervenant spontanément en présence d'oxygène).

1.2.1.3 Les protéines et acides aminés libres

Les acides aminés présents dans le café vert sont principalement liés aux protéines, la fraction libre ne représentant qu'environ 5% du total, avec une teneur sensiblement plus élevée pour le robusta que pour l'arabica [168]. Parmi les principaux acides aminés qui composent cette fraction, on trouve les acides glutamique, aspartique et g-aminobutyrique. Les teneurs en protéines de *Coffea arabica* et de *Coffea canephora robusta* sont comparables, et varient entre 8.7 et 13.6% de la matière sèche du grain vert. Ces protéines se composent de deux fractions en quantités comparables, l'une soluble dans l'eau, l'autre insoluble.

Plusieurs enzymes ont également été mises en évidence dans le café vert, notamment la polyphénoloxydase, responsable de la décoloration des grains défectueux en catalysant l'oxydation des acides chlorogéniques. Cependant ces enzymes ne représentent qu'une part faible des protéines, et de plus elles sont détruites par la torréfaction.

2.1.3 Les glucides

Les glucides représentent environ 48-60% de la matière sèche du café vert. *Coffea arabica* en est généralement un peu plus riche que *Coffea canephora*. Ils sont constitués de glucides solubles cytoplasmiques (monosaccharides, oligosaccharides et polysaccharides)

et de glucides insolubles constitutifs des parois végétales (hémicellulose et holocellulose). Le mannose semble être le monosaccharide majoritaire (environ 45%), suivi du galactose (25%), du glucose (17%) et de l'arabinose (10%) [170 ; 171].

2.1.4 Les lipides

Les grains de café vert de *Coffea arabica* contiennent en moyenne 12 à 20% de lipides totaux et ceux de *Coffea canephora robusta* 9 à 17% [172]. Les lipides du grain sont répartis entre la couche externe entourant le grain (0.2 à 0.3% des lipides totaux : il s'agit de la cire) et l'endosperme (on parle alors d'huile de café). Plusieurs constituants lipidiques sont présents: les triglycérides (très largement majoritaires), les acides gras libres, les esters de diterpènes, les diterpènes libres, les triterpènes, les stérols, les esters de méthylstérols, les 5- hydroxytryptamides, les tocophérols, et les phospholipides.

2.1.5 Les minéraux

Les cendres du café représentent environ 3 à 5.4% de la matière sèche. La composition moyenne en minéraux des grains verts, exprimée en pourcentage de la matière sèche, est la suivante [173] : potassium 1.63-2%, magnésium 0.16–0.31%, sulfates 0.13%, calcium 0.07–0.035%, phosphates 0.13–0.22%. La grande majorité (90%) des minéraux sont hydrosolubles, et donc présents dans la boisson [163].

2.1.6 Les vitamines

Le café vert contient plusieurs vitamines, à savoir les vitamines B1 (thiamine), B2 (riboflavine), B3 ou PP (acide nicotinique, amide nicotinique), B5 (acide panthoténique), B12 (cyanocobalamine) et C (acide ascorbique, acide folique).

2.2 La composition des grains de café torréfiés

2.2.1 Les alcaloïdes et les acides

La torréfaction n'a pas d'effet significatif sur la teneur en caféine des grains de café [160] ; par contre, l'acidité du grain diminue au cours de la torréfaction, avec un pH moyen proche de 6, voire 6.5 pour un café de mauvaise qualité. Les différents acides (aliphatiques, chlorogéniques, alicycliques et phénoliques) constituent environ 6% en masse du grain.

Au cours de la torréfaction, l'acide n-chlorogénique se dégrade pour donner lieu à différents dérivés du phénol, en particulier l'acide caféique, l'acide quinique, le catéchol, le pyrogallol et l'hydroquinone. Ces composés contribuent à l'amertume du café.

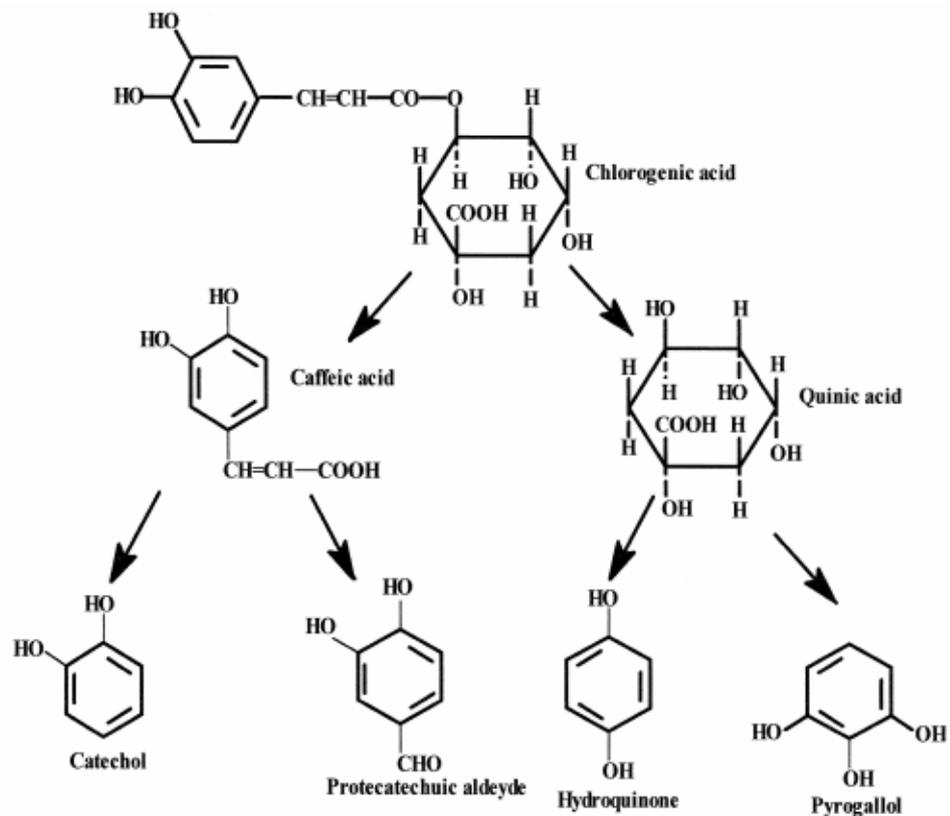


Figure 5.4 : Voies de décomposition de l'acide chlorogénique lors de la torréfaction du grain de café [174].

2.2.2 Les protéines et acides aminés

Sous l'effet de la torréfaction, et en fonction de son intensité, la perte en acides aminés varie de 20 à 40% du fait de la destruction d'une partie des protéines. Les proportions respectives des acides aminés sont modifiées en raison de la plus grande thermorésistance de certains d'entre eux tels que l'alanine, la tyrosine, la leucine, la phénylalanine et la valine. D'autres sont thermosensibles comme l'arginine, la cystéine, la serine, la thréonine, la lysine, la méthionine et l'histidine. Les fractions libres sont également dégradées, plus ou moins rapidement selon les composés. De plus, sous l'effet de la torréfaction, une partie des acides aminés se racémise (fractions libre et liée), pour donner les énantiomères D- (certains de ces énantiomères pouvant avoir des effets toxiques), et ce d'autant plus que la température de torréfaction est élevée [168].

2.2.3 Les glucides

La torréfaction altère et dégrade les glucides présents initialement dans le café vert, notamment en induisant des réactions de dépolymérisation, de modifications structurales, ou de condensation avec des protéines ou des fragments de protéines. Ainsi, à partir des glycoprotéines, des glucides solubles et de l'holocellulose des grains verts, des monosaccharides sont libérés (galactose, mannose, arabinose, ribose). Le saccharose (ou sucrose) est dégradé à 97 –100% selon le degré de torréfaction [166].

Réagissant avec les acides aminés (libres ou liés), les monosaccharides (glucose, fructose, arabinose, galactose) forment des polymères bruns (dont les mélanoidines) et des substances aromatiques via la réaction de Maillard ; des produits de pyrolyse se forment également. Il s'ensuit une diminution de la quantité totale en glucides pouvant atteindre 20-37% selon le degré de torréfaction, si l'on prend en compte la perte en matière sèche observée (environ 8%) [171]. Le devenir des polysaccharides au cours de la torréfaction est illustré par la Figure 5.5. Des réactions d'hydrolyse entraînent une meilleure solubilisation des polysaccharides dans un premier temps, puis des oligosaccharides sont formés, eux-mêmes transformés ensuite en monosaccharides, puis en produits de dégradation. Toutefois, dans le même temps, une linéarisation de certains polysaccharides (arabinogalactanes et galactomannanes) diminue leur solubilité.

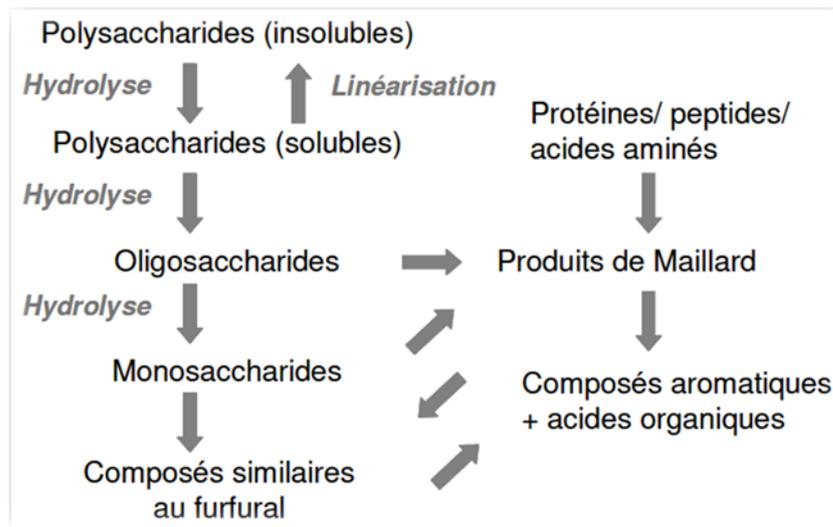


Figure 5.5 : Représentation schématique du devenir des polysaccharides du café au cours de la torréfaction du grain [171].

2.2.4 Les lipides

Le café torréfié a une teneur élevée en lipides : environ 16% (pourcentage en masse) pour l'arabica et 11% pour le robusta. Dans la fraction saponifiable on retrouve la même composition en acides gras libres ou liés que pour le café vert, à savoir majoritairement des acides linoléique (C18:2) (40-45%) et palmitique (C16:0) (30-35%), puis des acides oléique (C18:1) et stéarique (C18:0) (environ 6-10% pour chacun de ces deux acides), suivis des acides arachidique (C14:0) et linoléique (C18:3) (0.6-3.5% chacun), et enfin des acides myristique (C14:0), palmitoléique (C16:1), eicosénoïque (20:1) et béhénique (C22:0) (moins de 1% chacun) [167]. La torréfaction n'a donc aucun effet sur les acides gras du café.

La fraction insaponifiable est riche en diterpènes libres mais surtout estérifiés. En ce qui concerne les stérols, la torréfaction est sans effet sur eux. Leur teneur dans le café torréfié peut donc servir à déterminer les proportions de *Coffea arabica* et de *Coffea canephora robusta* dans un mélange de café donné [163 ; 175 ; 176]. Par contre, la torréfaction entraîne une augmentation des teneurs en tocophérols dans le café (en

particulier du α -tocophérol), vraisemblablement due à une libération des isomères présents initialement sous forme liée [177].

2.2.5 Les vitamines

Les vitamines B1 et C sont détruites lors de la torréfaction, contrairement à la vitamine B3 (ou PP) qui augmente du fait de la dégradation de la trigonelline.

3 Les effets bénéfiques du café sur la santé

De très nombreuses études ont mis en évidence des effets bénéfiques de la consommation de café sur la santé, principalement une activité anti-oxydante, anti-cancérigène et antimutagène. Ces deux effets sont vraisemblablement corrélés, les anti-oxydants permettant de réduire l'occurrence de cancers en limitant la production d'entités oxygénées très réactives. D'autres effets physiologiques intéressants sont possibles, tels qu'une réduction du diabète de type 2, ou un rôle protecteur contre l'apparition de la maladie de Parkinson ou de certaines maladies hépatiques.

3.1 L'activité antioxydante

Plusieurs constituants du café sont susceptibles de chélater certains ions métalliques, comme par exemple le fer ferreux, et donc d'avoir une activité antioxydante en limitant la dégradation de l'ADN. C'est le cas des polyphénols (principalement l'acide n-chlorogénique) et des mélanoidines (polymères bruns formés par la réaction de Maillard au cours de la torréfaction) [178].

En fait, bien que la teneur en acide chlorogénique diminue durant la torréfaction des grains comme nous l'avons déjà mentionné, l'activité antioxydante du café boisson obtenu à partir de café torréfié est plus élevée que celle du café vert grâce à la formation de produits de Maillard, en particulier les mélanoidines [179].

3.2 L'activité anticancérogène ou antimutagène

Plusieurs constituants du café semblent être à l'origine d'une activité protectrice du café contre certains types de cancer, en particulier celui du colon. Parmi ceux-ci, citons la caféine, des polyphénols (dont les acides chlorogéniques), ainsi qu'une fraction lipidique essentiellement constituée de cafestol et kahweol.

De nombreuses études ont été menées sur l'effet protecteur du café boisson envers le cancer colorectal. Si certains résultats ne montrent aucun effet particulier [180], d'autres font état d'une association entre consommation de café (au moins 3 ou 4 tasses par jour) et moindre occurrence du cancer du colon ou du rectum [181 ; 184]. Une étude épidémiologique récente met en évidence le rôle protecteur du café boisson envers les cancers de la bouche, de la gorge et de l'oesophage, probablement grâce à la présence de molécules anti-oxydantes présentes dans la boisson [182].

3.3 Autres effets bénéfiques possibles

La consommation de café semblerait limiter l'apparition de diabète de type 2 [185]. En outre, au vu de certaines études épidémiologiques, la consommation de café jouerait un rôle protecteur contre l'apparition d'autres maladies, telle la maladie de Parkinson ou des maladies hépatiques (cirrhose ou carcinome hépatique) [186].

CHAPITRE 6

MATERIEL ET MÉTHODES

Cette partie présente l'ensemble des réactifs, du matériel et des méthodes analytiques utilisés au cours de notre étude.

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire central de l'intendance et ce, durant une période allant du 09/05/2010 au 09/11/2010

1 Matériel

1.1 Matériel biologique

1.1.1 Matériel végétal

Le choix du matériel végétal, cas de la datte, était basé sur la représentativité des principaux types de dattes: datte sèche, demi-molle et molle. Les cinq variétés retenues sont : Degla Beïda, Mech Degla, Deglet Nour, Ali Ourached et Ghars. La variété Ali Ourached est une variété spécifique de la Wilaya de EL-Oued, est de provenance de ses Oasis. Les autres variétés proviennent de la wilaya de Biskra, et ont été récoltés en printemps 2009.

Le thé et le café ont été choisis comme référence, ainsi que sur le plan comparatif vue leur richesse en polyphénols. Les deux types de thé étudiés sont le thé vert et le thé

noir. Pour le café, les deux variétés choisies sont celles très commercialisées et consommées dans le monde, le café arabica et le café robusta. Ce choix se justifie aussi par la grande consommation de ces deux boissons en Algérie, faisant d'elles, une très bonne référence des produits antioxydants consommés quotidiennement. On a travaillé sur les deux variétés de café à l'état vert et après torréfaction. Le thé vert et le thé noir sont originaires de chine, récolté et conditionné en 2009, Le café est d'origine Brésilienne, récolté en 2009.



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)

Figure 6.1 : les trois variétés de dattes étudiées

(a : Ghars, b : Deglet Nour, c : Degla Baïda, d : Mech Degla, e : Ali Ourached)



Figure 6.2 : Café Arabica vert.



Figure 6.3 : Café Arabica torréfié.



Figure 6.4 : Café Robusta vert.



Figure 6.5 : Café Robusta torréfié.



Figure 6.6 : Thé vert.



Figure 6.7: Thé noir.

1.1.2 Souches bactériennes et fongiques

Les souches bactériennes utilisées au cours de cette étude sont des souches de référence :

- Souches bactériennes de *Micrococcus Luteus* ATCC 9341 et *Bacillus subtilis* BGA.
- Souches fongiques de *Candida albicans* ATCC 10231 et *Aspergillus niger* ATCC 20611.

1.2 Produits chimiques

Les différents polyphénols (acide gallique, acide benzoïque, acide valérique, Quercétine et vanilline) proviennent de Merck. Le réactif de Folin provient de Sigma, ainsi que les antioxydants standards (BHT) et la caféine. Le DPPH (1,1-diphényl-picryl-2-hydrazyl) provient de Fluka. Les autres réactifs et solvants sont obtenus auprès de Panreac, Cheminova, Prolabo, Aldrich, Organics et Janssen.

2 Méthodes analytiques

Notre étude a été surtout guidée par deux idées majeures :

- Une comparaison entre les différents modes et solvants d'extraction des composés phénoliques par :
 - ✓ Dosage quantitatifs des composés phénoliques ;
 - ✓ Caractérisation qualitatifs des extraits par CCM ;
 - ✓ Dosage de la caféine du thé et du café par HPLC;
 - ✓ Mesure de l'activité antioxydante des extraits.
- Etude, *in vitro*, des activités biologiques des extraits par :
 - ✓ Etude de l'activité antibactérienne ;
 - ✓ Etude de l'activité antifongique ;
 - ✓ Etude de l'activité antioxydante.

dans l'optique de découvrir de nouveaux effets thérapeutiques possibles.

Le diagramme suivant illustre en détaille la démarche suivie pour la réalisation de cette étude :

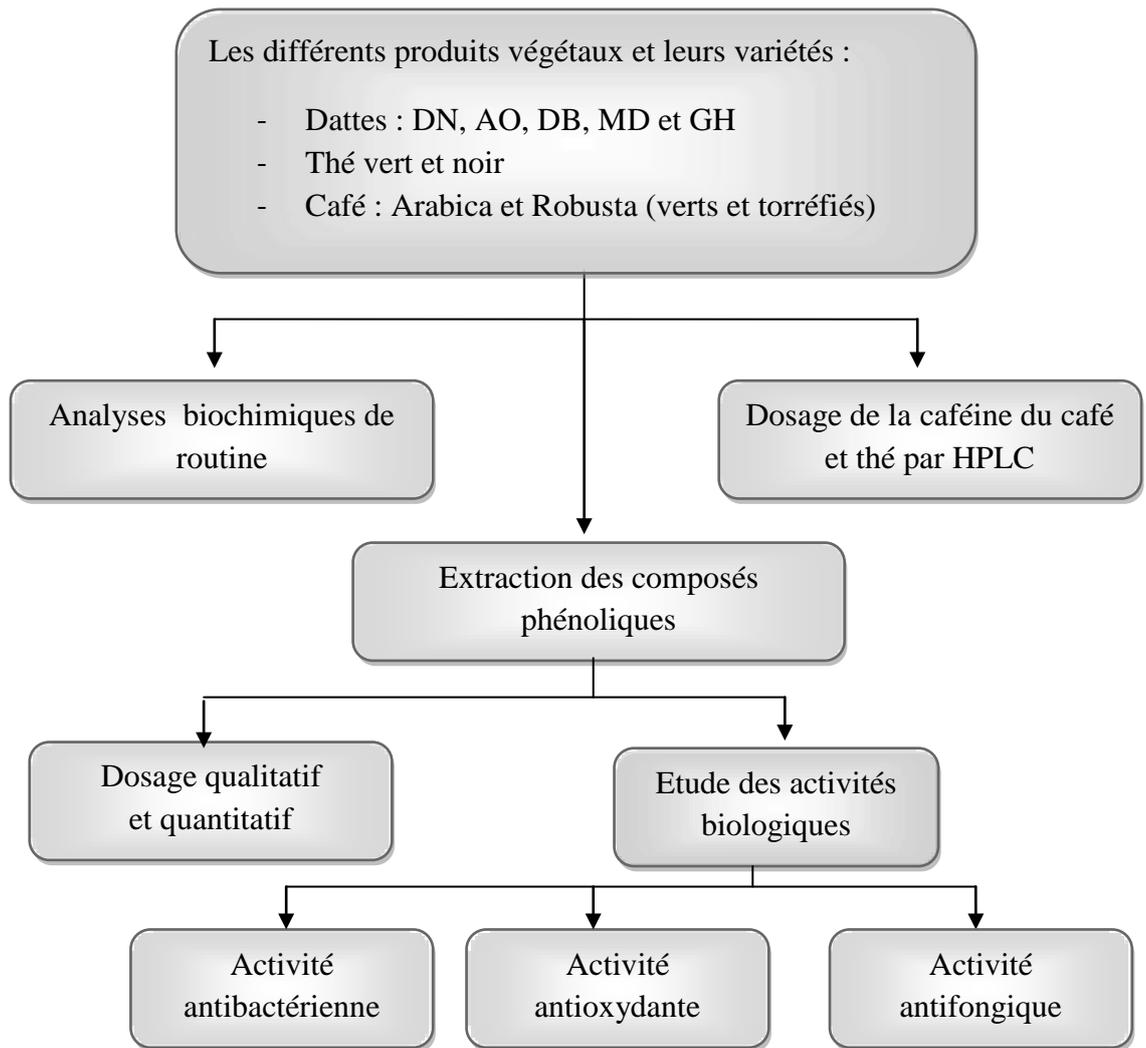


Figure 6.8 : Schéma général de l'étude expérimentale.

2.1 Détermination de la teneur en eau

2.1.1 Cas des dattes et du thé

➤ Principe

La teneur en eau est déterminée sur une partie aliquote de 1 g d'échantillon étalé dans une capsule en porcelaine puis séché dans une étuve, à la pression atmosphérique, à une température de 103 ± 2 °C [187]

➤ Mode opératoire

Les échantillons ont été séchés à 103 ± 2 °C pendant 3 heures, puis pesés et l'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant (en réduisant la durée de séchage à 30 mn).

➤ Expression des résultats

La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante :

$$H\% = \frac{(M1 - M2)}{P} \cdot 100$$

Soit :

H % : Humidité.

M₁ : Masse de la capsule + matière fraîche avant étuvage.

M₂ : Masse de l'ensemble après étuvage.

P : Masse de la prise d'essai.

La teneur en matière sèche est calculée comme suit :

$$MS \% = 100 - H\%$$

2.1.2 Cas du café vert (ISO 6673)

➤ Principe

Chauffage d'une prise d'essai à 105° C, durant 16 h, à la pression atmosphérique.

➤ Mode opératoire

Sécher une prise d'essai de 10 g de café vert (il faut répartir les grains uniformément au fond de la capsule) durant $16 \pm 0,5$ h , et répéter l'opération jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

Le taux d'humidité est déterminé en utilisant la formule citée ci-dessus

2.2 Détermination du pH (NF V 05-108, 1970)

➤ Principe

Détermination en unité pH de la différence de potentiel existant entre deux électrodes en verre plongées dans une solution aqueuse de la pulpe de datte broyée.

➤ Mode opératoire

Les échantillons ont été chauffés au bain-marie pendant 30 mn en remuant de temps en temps avec une baguette de verre ; puis le mélange obtenu est broyé dans un mortier à la détermination a été effectuée en prenant soin que l'électrode soit complètement immergée dans la solution.

2.3 Détermination de l'acidité titrable (NF V 05-101, 1974)

➤ Principe

Titration de l'acidité d'une solution aqueuse avec une solution d'hydroxyde de sodium en présence de phénolphthaléine comme indicateur.

➤ Mode opératoire

- Peser à 0,01g près au moins 25 g de l'échantillon à analyser ;
- Placer l'échantillon dans une fiole conique avec 50 ml d'eau distillée chaude récemment bouillie et refroidie, puis mélanger jusqu' à l'obtention d'un liquide homogène ;
- Adapter un réfrigérant à reflux à la fiole conique puis chauffer le contenu au bain-marie pendant 30 mn ;
- Refroidir, transvaser quantitativement le contenu de la fiole conique dans une fiole jaugée de 250 ml et compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée récemment bouillie et refroidie, bien mélanger puis filtrer ;
- Prélever à la pipette 25 ml du filtrat et les verser dans un bêcher ;
- Ajouter 0,25 à 0,5 ml de phénolphtaléine et tout en agitant, titrer avec de la solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

➤ Expression des résultats

L'acidité titrable est exprimée en grammes d'acide citrique pour 100 g de produit :

$$A\% = \frac{(250 \cdot V_1 \cdot 100)}{(V_0 \cdot M \cdot 10)} \cdot 0,07$$

Soit :

M : La masse, en grammes de produit prélevé.

V : Le volume en millilitres de la prise d'essai.

V : Le volume en millilitres de la solution d'hydroxyde de sodium utilisée (0,1 N).

0,07 : Facteur de conversion de l'acidité titrable en équivalent d'acide citrique.

2.4 Détermination de la teneur en cendres (NF V05-113, 1972)

➤ Principe

La pulpe de datte est calcinée à 550 °C dans un four à moufle jusqu'à obtention d'une cendre blanchâtre de poids constant.

➤ Mode opératoire

- Dans des capsules en porcelaine, peser 2 g d'échantillon broyé ;
- Placer les capsules dans un four réglé à 550 ± 15 °C durant 5 heures jusqu'à l'obtention d'une couleur grise, claire ou blanchâtre;
- Retirer les capsules du four et les mettre à refroidir dans le dessiccateur, puis les peser.

➤ Expression des résultats

$$MO\% = \frac{(M1 - M2)}{P} \times 100$$

Soit :

MO % : Matière organique.

M1 : Masse de la capsule + prise d'essai

M2 : Masse de la capsule + cendres.

P : Masse de la prise d'essai.

La teneur en cendres (**Cd**) est obtenue en appliquant :

$$Cd = 100 - MO\%$$

2.5 Détermination de la teneur en polyphénols totaux

2.5.1 Extraction des polyphénols

Les composés phénoliques solubles sont généralement extraits en utilisant des solvants polaires tels que l'eau, le méthanol, l'éthanol ou l'acétone [188].

Au cours de notre recherche, nous avons procédé à une extraction solide-liquide. Les solvants ainsi utilisés sont respectivement : l'eau, l'éthanol pur (99%) et le méthanol pur (99 %). Celui-ci possède l'avantage d'être plus facilement éliminé sous vide. Il donne en plus un meilleur rendement d'extraction [189-192] dépassant celui obtenu avec l'eau de 7 fois. Le rendement d'extraction en polyphénols augmente aussi avec le temps de contact [193].

2.5.1.1 Cas des dattes

L'extraction des composés phénoliques à partir des cinq variétés de datte a été effectuée par l'eau et par solvants organiques.

Les dattes ont été dénoyautées, coupées en morceaux et réduites en pâte à l'aide d'un broyeur.

2.5.1.1.1 Extraction par l'eau

Deux types d'extraction ont été effectués : la décoction et la macération

- La macération :

Une macération à l'eau a été réalisée sur 100 g de pâte de datte des différentes variétés dans 1 litre d'eau distillée chacune avec agitation pendant 24 heures. Les Cinq macérés ont été filtrés et les filtrats obtenus ont été conservés à 4°C.

- La décoction :

100 g de pâte de datte des différentes variétés ont été portés à ébullition dans 1 litre d'eau distillée pendant une demi-heure, puis filtrés et les filtrats ont été conservés à 4°C.

2.5.1.1.2 Extraction par solvant organique

Le solvant organique utilisé pour l'extraction des composées phénoliques de la datte est le méthanol pur (99%)

➤ Mode opératoire

- ✓ Dénoyer les dattes et les couper en petits morceaux ;
- ✓ Prélever une aliquote de 100g de pulpe de datte ;
- ✓ Ajouter 300ml du solvant d'extraction qui est un mélange méthanol-eau ;
- ✓ Mixer le tout à l'aide d'un broyeur ultraturax ;
- ✓ Mettre sur un agitateur magnétique à 20° C. et ce, pendant 5h ;
- ✓ Filtrer l'extrait sur papier Whatman ;
- ✓ Centrifuger le filtrat à 4000 tr/min pendant 10min ;
- ✓ Concentrer le surnageant sous pression à 40°C. pendant 3h avec un évaporateur rotatif ;
- ✓ L'extrait de datte brut est conservé dans des bouteilles en verre foncé et conserver à 4°C jusqu'à utilisation [194].

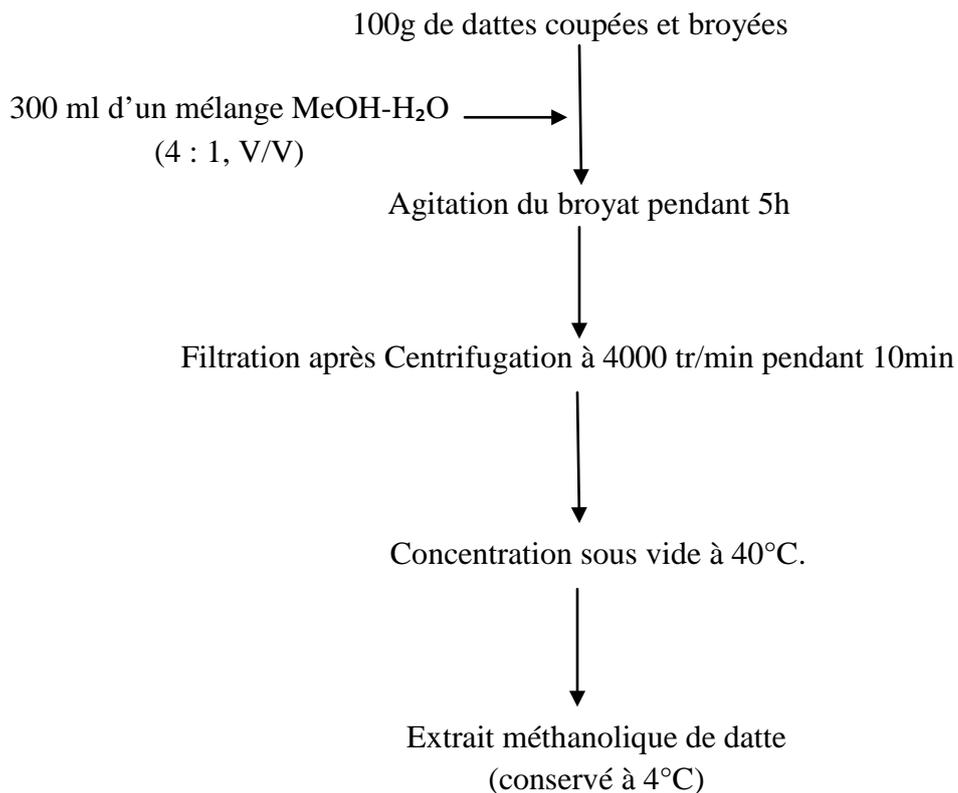


Figure 6.9 : Protocole de préparation de l'extrait de datte au méthanol [194].

2.5.1.2 Cas de thé et café

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des polyphénols à partir des feuilles du thé, les plus utilisées sont celles par reflux de chaleur [195; 196], extraction à température ambiante [197], extraction par ultra-son [196], et l'extraction par micro-ondes [198].

Dans cette étude, on a choisi deux types d'extraction : celles a température ambiante et l'extraction par reflux de chaleur. Ces deux méthodes d'extraction ont été appliquées pour extraire les composés phénoliques du thé ainsi que ceux du café. En premier lieu, on a extrait les composés phénoliques totaux par l'eau par un simple embouillement, puis on a utilisée deux solvants organiques : le méthanol et l'éthanol, les deux à 50%. Les diagrammes ci-dessous illustrent en détail les démarches principales de chaque type d'extraction :

2.5.1.2.1 Extraction par l'eau

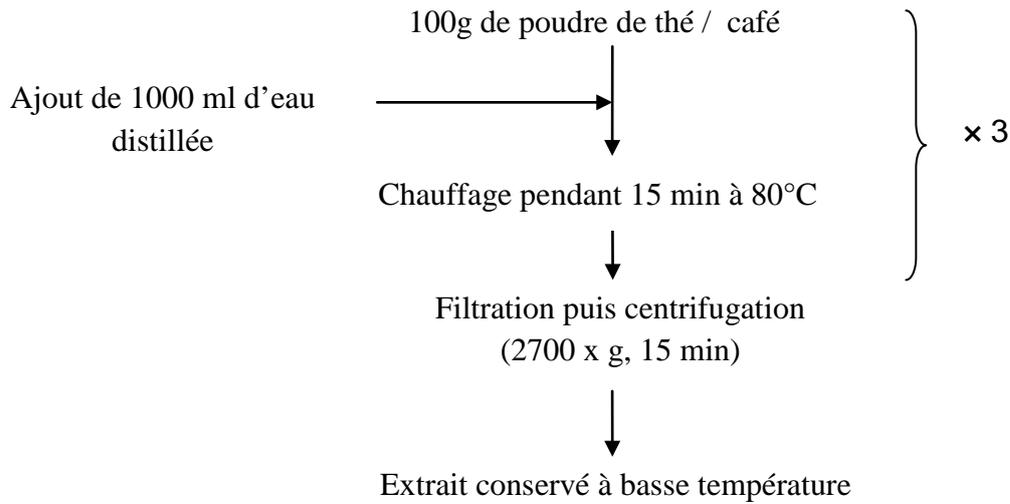


Figure 6.10 : Extraction des polyphénols du thé et café par l'eau [199].

2.5.1.2.2 Extraction par solvants organiques

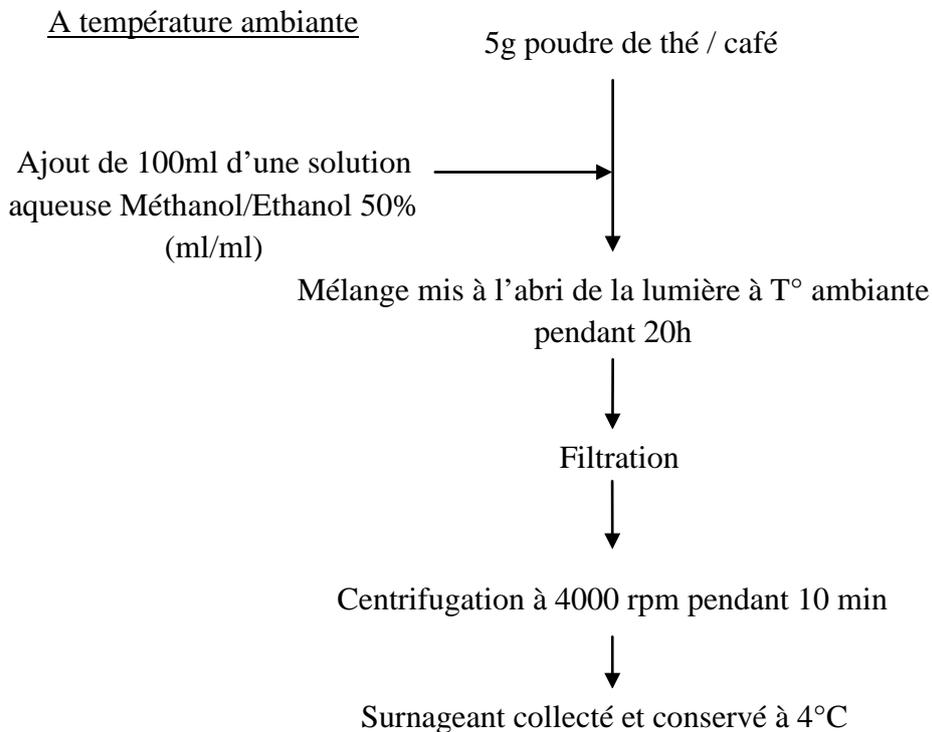


Figure 6.11 : Diagramme d'extraction des polyphénols du thé et de café [197].

Extraction par reflux de chaleur

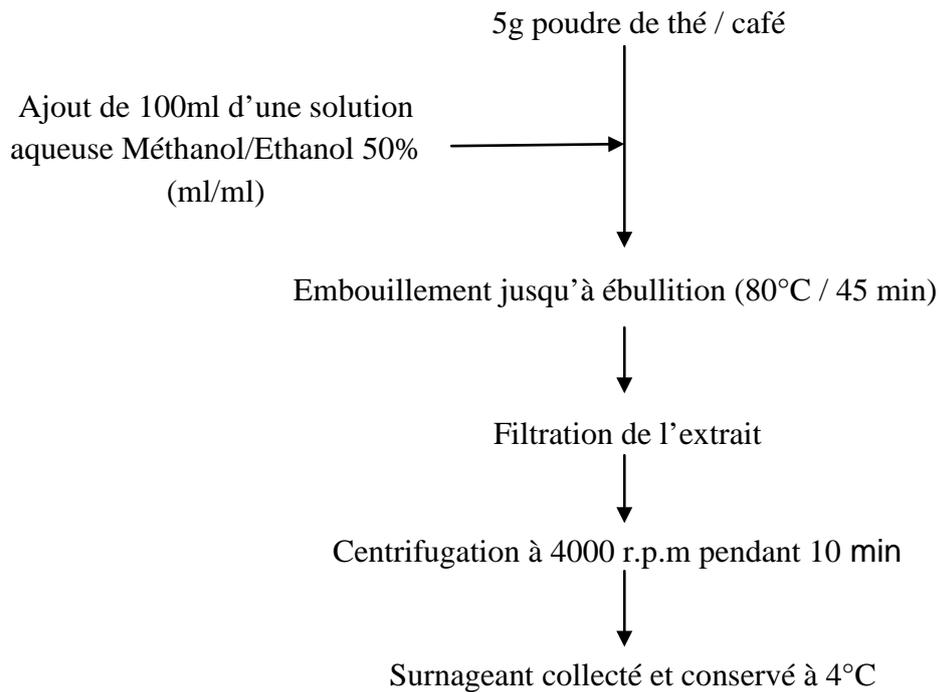


Figure 6.12 : Diagramme d'extraction des polyphénols du thé et de café par reflux de chaleur [195]

2.5.2 Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction exprime le rapport entre le poids du résidu sec de l'extrait et le poids du produit à traiter [200]. Le rendement, exprimé en pourcentage, est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{\text{masse du résidu extrait}}{\text{masse de la prise traitée}} \times 100$$

2.5.3 Dosage des composés phénoliques extractibles totaux

L'estimation de la teneur en composés phénoliques extractibles totaux a été réalisée par la méthode de Folin-Ciocalteu [201]

➤ Principe

Le réactif de Folin-ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) [202]. Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760nm.

➤ Réactifs et extraits utilisés :

- Un polyphénol témoin : l'acide gallique pour la réalisation de la gamme d'étalonnage en milieu aqueux.
- Réactif de Folin-Ciocalteu : à 10ml du réactif Folin-Ciocalteu auquel on a ajouté 90ml d'eau distillée.
- Bicarbonate de sodium à 7,5% : 15 g de bicarbonate de sodium ont été dissoutes dans 200ml d'eau distillée.
- Tous les extraits des différentes variétés de dattes, de thé et de café.

➤ Mode opératoire

Préparation de la gamme étalon de l'acide gallique :

Une gamme de neuf concentrations d'acide gallique allant de 0 à 0.17mg/ml a été préparée à partir d'une solution mère de 0.2mg/ml de concentration.

N° de tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Volume pris de la solution mère (en ml)	0	0.5	0.1	0.25	0.4	0.5	0.65	0.75	0.85
Volume ajouté d'eau distillée (en ml)	1	0.95	0.9	0.75	0.6	0.5	0.35	0.25	0.15
Concentration finale de l'acide gallique (en mg/ml)	0	0.01	0.02	0.05	0.08	0.1	0.13	0.15	0.17

La courbe d'étalonnage des composés phénoliques totaux est illustrée appendice 1.

Analyse du standard et des extraits :

- ✓ introduire 300 µl de la solution d'acide gallique à différentes concentrations dans les tubes à essais de la première série et 300 µl de chaque échantillon à analyser dans les tubes de la deuxième série ;
- ✓ Ajouter 1500 µl du réactif Folin-Ciocalteu puis de 1200 µl de la solution de bicarbonate de sodium à 7,5% dans chaque tube ;
- ✓ Agiter puis incuber à l'obscurité pendant une heure ;
- ✓ lecture des absorbances à 760nm ;
- ✓ Le blanc est représenté par 300 µl d'eau distillée, additionnée de 1.5 ml du réactif Folin-Ciocalteu et 1.2 ml de bicarbonate de sodium à 7.5%.

➤ Expression des résultats

La concentration en composés phénoliques extractibles totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

2.5.4 Dosage des Flavonoïdes

La méthode utilisée pour l'estimation des taux de Flavonoïdes dans les cinq variétés de dattes est celle décrite par [51].

➤ Principe

La coloration jaunâtre donnée dans cette méthode est due à la formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes [203].

➤ Réactifs et extraits utilisés

- ✓ 2g de chlorure d'Aluminium ($AlCl_3$) dissouts dans 100ml de méthanol absolu;
- ✓ Solution mère du standard : 4 mg de quercetine dissoute dans du méthanol absolu ;
- ✓ Tous les extraits des variétés de dattes, thé et café.

➤ Mode opératoire

➤ Préparation de la gamme étalon

Une gamme de 10 concentrations de quercetine allant de 0 à 40 $\mu\text{g} / \text{ml}$ a été préparée à partir d'une solution mère de 40 $\mu\text{g} / \text{ml}$ de concentration (400 μg de Quercétine dissoute dans 10ml de méthanol)

N° de tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Volume pris de la solution mère (en ml)	0	0.2	0.4	0.8	1.1	1.5	1.8	2.3	2,6	3,0
Volume ajouté d'eau distillée (en ml)	3	2.8	2.6	2.2	1.9	1.5	1.2	0.7	0.4	0,0
Concentration finale de l'acide gallique (en mg/ml)	0	2.5	5,0	10	15	20	25	30	35	40

La courbe d'étalonnage des flavonoïdes est illustrée en appendice 2.

Analyse du standard

- ✓ Des aliquotes de 0 à 3ml de la solution mère de Quercétine ont été introduites dans une série de tube à essai, le volume final dans chaque tube a été complété à 3ml par addition de méthanol absolu ;
- ✓ 1ml a été prélevé de chaque tube et transféré à un autre ;
- ✓ 1ml de la solution méthanolique de chlorure d'aluminium à 2% y a été ajouté ;
- ✓ Après 10 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est lue à 430 nm.

Analyse des extraits

- ✓ Deux séries de tubes à essai ont été préparées ;
- ✓ 1ml de chaque extrait a été introduit dans un tube de chacune des deux séries ;
- ✓ 1ml de la solution méthanolique de chlorure d'aluminium à 2% a été additionné à chacun des tubes de la première série;
- ✓ 1ml de méthanol absolu a été ajouté à chacun des tubes de la deuxième série ;
- ✓ Après 10 mn d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est lue à 430 nm.

➤ Expression des résultats

Les absorbances des extraits des tubes de la 2^{ème} série sont soustraites de celles de la 1^o série pour éviter d'éventuelles interférences des pigments tels que les caroténoïdes. La concentration en flavonoïdes est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la Quercétine comme standard.

2.6 Analyse de la composition chimique des composés phénoliques par Chromatographie sur couche mince "CCM"

➤ Principe

La chromatographie sur couche mince est essentiellement une chromatographie liquide exécutée sur une couche de particules d'une substance polymérisée immobilisée sur un support planaire [204].

➤ Mode opératoire

Pour analyser les différents extraits, une CCM a été utilisée sur plaques de gel de silice avec indicateur fluorescent (20×20 cm, 60 F254). Dans un système de migration constitué de chloroforme : acétate d'éthyle : acide formique (50 :40 :10, V/V/V) [205].

5µl de chaque extrait (100mg/ml) et standards (5mg/ml) sont déposés sur les plaques à l'aide des micropipettes appropriées, les plaques sont ensuite introduites dans la chambre de migration préalablement saturée par les vapeurs de la phase mobile.

➤ Révélation

Après développement, les plaques sont séchées sous hotte, puis visualisées par trois systèmes de révélation :

- Révélation physique sous lampe UV à 254 nm ;
- Révélation chimique par une solution aqueuse de trichlorure de fer et de ferricyanide de potassium (FeCl_3 , $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, 1/10%) pour la détection des composés phénolique [206].
- Révélation chimique par une solution méthanolique de DPPH (2%) pour la détection des extraits ainsi que les composés ayant une activité antioxydante [207].

Les rapports frontaux des spots issus de la séparation sont calculés et comparés à ceux témoins permettant ainsi l'identification des constituants des différents extraits.

2.7 Dosage de la vitamine C des trois variétés de dattes

➤ Principe

La Chromatographie liquide à haute performance CLHP permet de quantifier simultanément l'acide ascorbique et l'acide érythorbique [208].

➤ Mode opératoire

La vitamine C des trois variétés de dattes a été extraite par l'acide métaphosphorique à 0,5% contenant 0,2% de dithiothréitol. L'extraction est suivie par une dilution avec un tampon d'acétate à pH 4,8 contenant 0,2% de dithiothréitol ; puis filtration à travers un filtre de 0,45 µm.

La teneur en vitamine C est déterminée par CHLP dans ces conditions :

- ✓ Colonne : Acier inoxydable ; 250 × 4,0 mm ;
- ✓ Phase stationnaire : Hypersil ODS (Shandon), 5µm ;
- ✓ Phase mobile :
 - Tampon acétate : méthanol : eau (15 :40 : 945)
 - 1,5 mL/L diméthylhexylamine
- ✓ Débit : 0,8 mL/min ;
- ✓ Pression : 90 bars ;
- ✓ Volume d'injection : 10-20 µL ;
- ✓ Détection : UV : 254nm ;
- ✓ Temps de rétention : environ 6 à 8 min ;
- ✓ Standard : environ 10µg/mL ;
- ✓ Calcul : Technique de l'étalonnage externe ; mesure de la surface ou de la hauteur.

2.8 Dosage de la caféine

2.8.1 Le Café (ISO 10095)

➤ Principe

Il s'agit de :

- L'extraction de la caféine d'une prise d'essai avec de l'eau à 90°C en présence d'oxyde de Magnésium. Filtration puis purification d'une partie aliquote sur une micro-colonne de silice greffée d'un groupement phényle.

- Dosage de la caféine par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) avec détection aux ultraviolets.

➤ Mode opératoire

Extraction de la caféine

- Peser, à 0,001 g près, 1g d'échantillon préalablement broyé (630 μ m) ;
- Transférer la prise d'essai dans une fiole conique de 250ml. Ajouter 4g \pm 0,5g d'oxyde de magnésium et 100ml d'eau distillée. Peser à 0,1g près la fiole et son contenu ;
- Boucher la fiole conique et homogénéiser. La placer dans un bain-marie à 90°C et chauffer sous agitation pendant 20min ;
- Refroidir la fiole et la peser à nouveau à 0,1g près, la masse obtenue doit être identique à celle déterminée précédemment, si ce n'est pas le cas, effectuer une nouvelle extraction à partir d'une nouvelle prise d'essai.
- Laisser reposer le contenu, prélever une partie de la solution et la filtrer sur un filtre seringue ;

Purification de l'échantillon

Avant toute opération, il faut activer la colonne de purification en la rinçant avec 5ml de Méthanol après avoir ouvert le robinet, et en laissant le méthanol s'écouler goutte à goutte. Lorsqu'il reste 1mm à 2mm de méthanol au-dessus de la surface de la silice, fermer le robinet. Ajouter 5ml d'eau distillée, ouvrir le robinet et le fermer dès qu'il reste 1mm à 2mm d'eau au-dessus de la surface de la silice (ne pas laisser la colonne s'assécher sinon la préparation doit être répétée)

Absorption de la caféine

- A l'aide d'une pipette, introduire dans la colonne 2mm de la solution filtrée obtenue après extraction ;
- Ouvrir le robinet et laisser la solution s'écouler goutte à goutte. Fermer le robinet dès que celle-ci est passée dans la silice.

Elimination des composés indésirables

- Ouvrir le robinet et ajouter 2,5ml du mélange hydroxyde d'ammonium/méthanol. Fermer le robinet dès que ce mélange est passé dans la silice. Ajouter à nouveau 2,5ml du même mélange et le laisser s'écouler totalement. Insuffler environ 20ml d'air à travers la colonne de façon à éliminer le mélange le plus complètement possible ;

Elution de la caféine

- Placer une fiole jaugée de 10 ml sous la colonne. Ouvrir le robinet et ajouter 7,5ml du solvant d'élution, le laisser s'écouler goutte à goutte en totalité dans la fiole jaugée, compléter au trait de jauge avec de l'eau bi-distillée et homogénéiser.



Figure 6.13: Colonnes de purification de la caféine.

Analyse par HPLC

Régler le chromatographe et l'ajuster comme suit :

- Débit de la phase mobile : 0,5ml/min
- Température de la colonne : 40°C
- Une fois la phase mobile ajustée aux propriétés de la colonne et l'équilibre atteint, injecter dans la colonne 10 μ l de la solution d'essai puis un volume identique de la solution étalon de caféine

➤ Expression des résultats

La teneur en caféine de l'échantillon, exprimée en gramme pour 100g de matière sèche est égale à :

$$\frac{Ax}{Ac} \times C_1 \times \frac{10 \times 100}{2 \times m_0 \times 1000} \times \frac{100}{RS} \times 100$$

Où :

Ax : l'aire de pic de la caféine obtenu avec la solution d'essai ;

Ac : l'aire de pic de la caféine obtenu avec la solution étalon de caféine ;

C₁ : la concentration de la solution étalon de caféine en g/l ;

m₀ : la masse en gramme de la prise d'essai ;

RS : la teneur en matière sèche, exprimée en pourcentage en masse, de l'échantillon.

➤ Le thé (ISO 10727)

➤ Principe

Extraction de la caféine d'une prise d'essai avec de l'eau à 90°C en présence d'oxyde de magnésium, filtration puis détermination de la teneur en caféine par HPLC avec détection aux ultraviolets.

➤ Mode opératoire

- Peser, à 0,001g près, 1g de l'échantillon (thé vert ou noir) ;
- Ajouter au thé placé dans un flacon 4,5g ± 0,5g d'oxyde de magnésium et 300ml d'eau distillée. Placer un bouchon à vis et peser à 0,1g près la fiole et son contenu.

- Remuer pour mélanger le contenu, le placer dans un bain-marie à 90°C et chauffer sous agitation pendant 20min ;
- Oter le flacon du bain-marie, le refroidir, le sécher et le peser à nouveau à 0,1g près. La masse obtenue doit être identique à celle déterminée précédemment. Si ce n'est pas le cas, effectuer une nouvelle extraction à partir d'une nouvelle prise d'essai;
- Laisser reposer le contenu, ôter le bouchon et filtrer une partie de la solution sur un filtre ;
- Placer 1ml du filtrat obtenu dans une fiole jaugée de 10ml. Compléter au trait repère avec de l'eau bi-distillée et homogénéiser ;
- Régler le chromatogramme et l'ajuster comme suit :
 - ✓ Débit de la phase mobile : 0,5ml/min à 1,5ml/min selon la colonne utilisée
 - ✓ T° de la colonne : 40°C
- Une fois la phase mobile ajustée aux propriétés de la colonne et l'équilibre atteint, injecter dans la colonne 10µl de la solution d'essai puis un volume identique de la solution étalon de caféine.

➤ Expression des résultats

La teneur en caféine de l'échantillon, exprimée en grammes pour 100 g de matière sèche est égale à :

$$\frac{Ax}{Ac} \times Cb \times \frac{10 \times 300}{1 \times m^0 \times 100} \times \frac{100}{W} \times 100$$

Où :

Ax : air de pic de la caféine obtenu avec la solution d'essai ;

Ac : air de pic de la caféine obtenue avec la solution étalon ;

Cb : concentration de la solution étalon de caféine en g/l

m₀ : la masse, en g, de la prise d'essai ;

W : la teneur en matière sèche, exprimée en % en masse de l'échantillon.

2.9 Etude des activités biologiques des extraits phénoliques

2.9.1 Activité antibactérienne et antifongiques

1.1. Etude de l'effet Antibactérien et antifongique (NA 282)

A fin de pouvoir réaliser cette étude, on a fait recours à la méthode des quatre boîtes NA 282 adaptée pour nos extraits de dattes, et qu'on a appliqué ainsi pour ceux du thé et du café.

➤ Principe

L'essai est effectué par diffusion en gélose, et des disques imbibés de la solution d'extrait de dattes, thé et café sont déposés à la surface de quatre géloses coulées en boîtes de Pétri etensemencer avec des spores de *Bacillus subtilis* à pH (6; 7,2 et 8) et de *Micrococcus luteus* à pH (8,0). Le Triméthoprim est incorporé au milieu à pH 7,2 pour augmenter la sensibilité de l'essai pour les résidus en sulfamides. La diffusion d'une substance antimicrobienne se traduit par la formation de zones d'inhibition dans les cultures ou des deux microorganismes.

➤ Réactifs utilisés :

- Milieux de culture type :
 - . Agar test pH 6 ; 7,2 et 8 pour le test d'inhibition
 - . Agar de Sabouraud à 1% de glucose et 1% de maltose.
- Solution de triméthoprim.
- Souches bactériennes de *Micrococcus Luteus* ATCC 9341 et *Bacillus subtilis* BGA.
- Souches fongiques de *Candida albicans* ATCC 10231 et *Aspergillus niger* ATCC 20611.
- Disques d'antibiotiques et d'antifongiques.

➤ Mode opératoire

- ✓ Préparer les milieux de culture en ajoutant la solution de triméthoprim au milieu à pH 7,2 de façon à avoir 5µg/ml de gélose ;

- ✓ Préparer les suspensions bactériennes et fongiques à partir de cultures fraîches (moins de 18H) sauf pour *Aspergillus* qui requière une semaine d'incubation ;
- ✓ Introduire les suspensions dans son milieu adéquat : *B. subtilis* en milieu à pH 6 ; 7,2 et 8, *M. luteus* en milieu à pH 8,
- ✓ Couler les milieux en boîtes de Pétri de manière uniforme environ 2mm d'épaisseur;
- ✓ Les souches de *C. albicans* et *A. niger* sontensemencées par inondation sur le milieu Sabouraud ;
- ✓ Préparer deux concentrations différentes (V/V) d'extraits de dattes en broyant chaque variété de datte, thé et café aseptiquement prélevée, dans de l'eau physiologique à l'aide d'un stomacher ;
- ✓ Imbiber les disques stériles (Ø 6mm) avec 50µl d'extrait de datte, thé et café (les deux concentrations séparément);
- ✓ Placer les disques à la surface des boîtes de Pétri préparées pour ce fait ;
- ✓ Incuber les boîtes de *B. subtilis* à 30°C., alors que *M. luteus* et *C. albicans* seront incubées à 37°C., quant à *A. niger* , il est placé à 27°C., pendant 24H.
- ✓ Réaliser en parallèle des boîtes témoins avec les disques d'antibiotiques et d'antifongiques comme suite :

Boîtes à essai	Disques d'antimicrobiens
<i>B. subtilis</i> (pH 6)	Pénicilline G.Na
<i>B. subtilis</i> (pH 7,2)	Sulfadimidine
<i>B. subtilis</i> (pH 8)	Streptomycine
<i>M. luteus</i> (pH 8)	Streptomycine
<i>C. albicans</i>	Kétoconazole /Conazole
<i>A. niger</i>	Kétoconazole /Conazole

2.9.2 Purification des extraits en vue de l'application *in vitro*

Afin d'étudier l'activité antioxydante *in vitro*, les extraits des différentes variétés de dattes, du thé et du café ont été purifiés selon la méthode d'Amiot. Les extraits préparés pour ce test, étaient tous extraits par un mélange hydro- alcoolique méthanol/eau (50 : 50, V/V). Après avoir extrait les composés phénoliques par les méthodes citées précédemment, on a procédé à une opération de purification selon les étapes suivante :

- Dépigmentation :

Après avoir évaporé le méthanol sous pression réduite à 40°C, la phase aqueuse était lavée plusieurs fois avec un demi-volume d'éther de pétrole jusqu'à l'épuisement total des pigments.

Pour le café, un lavage avec du chloroforme a été préalablement effectué afin d'éliminer la matière grasse.

- Purification des composés phénoliques :

La phase aqueuse est ensuite extraite trois fois à l'acétate d'éthyle, après adjonction des solutions aqueuses de 20% de sulfate d'ammonium, 2% et 4% d'acide ortho-phosphorique qui facilitent le passage des composés phénoliques dans la phase organique. Les phases organiques sont regroupées et séchées en ajoutant une quantité suffisante du sulfate de sodium anhydre, puis elles sont évaporées sous pression à 40°C. Le résidu obtenu est repris par 5ml de méthanol et filtrer à travers un filtre de 0,22 µm donnant ainsi l'extrait phénolique purifié qui est conservé a 4°C jusqu'à utilisation.

2.9.3 Test, *in vitro*, pour la détermination de l'activité antioxydante

Pour étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH (diphényl picryl-hydrayl) comme un radical libre relativement stable, selon le protocole décrit par [201].

➤ Principe

Dans ce test les antioxydants réduisent le diphényl- picryl-hydrayl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphényl-picryl-hydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons [209].

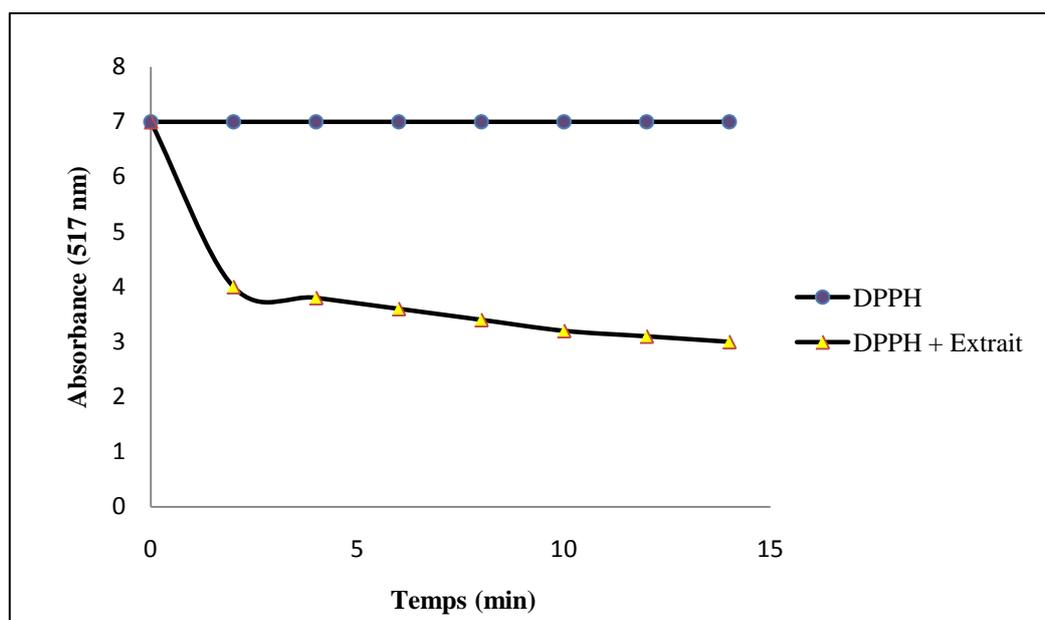


Figure 6.14 : Courbe présentant la variation de la densité optique en fonction du temps dans le test du DPPH [210].

➤ Mode opératoire

La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. 25 μ L des solutions d'extraits ou standards (Quercétine) sont ajoutés à 975 μ L DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517 nm.

➤ Expression des résultats

L'activité anti radicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\%PI = \frac{(Abs\ controle - Abs\ echantillon)}{Abs\ controle} \times 100$$

Les concentrations des extraits dans le milieu réactionnel sont comprises entre 0 et 0,3 mg/ml, alors que celles des antioxydants standards (Quercétine et TBHQ) sont comprises entre 0 et 10 µg/ml

2.10 Analyses statistiques

Toutes les expériences en été réalisées en triple, les résultats sont exprimés tous en moyenne \pm SD (n=3) pour chaque cas. Les résultats sont analysés par test Anova univarié suivies par le test Dunnet/Tukey pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les valeurs de $P \leq 0,05$ sont considérés statistiquement significatives.

CHAPITRE 7

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Les dattes, le thé et le café ont été retenus comme système d'étude, à la fois car ils sont couramment consommés en Algérie, et ils présentent tous les trois un profil phénolique simple (acides phénoliques, flavonoïdes et acides chlorogéniques respectivement majoritaires) et dont les expérimentations récentes ont montré leurs divers effets surtout antioxydants, faisant des ces derniers de bons agents de protection contre les maladies chroniques et le vieillissement.

Notre étude a porté en premier lieu, sur la quantification des composés phénoliques, puis elle s'est étendue sur l'évaluation des activités biologiques des ces composés contenus dans les trois produits étudiés afin de pouvoir mettre en évidence leur efficacité. Les résultats que nous avons obtenus sont représentés ci-dessous :

1 Résultats des analyses physicochimiques

1.1 Taux en eau et taux de cendres

Les résultats obtenus après la dessiccation et la calcination des différents échantillons sont représentés dans le tableau ci-dessus :

Tableau 7.1 : Taux d'humidité et cendres des différents échantillons (% MF)

Variétés	Teneur en eau (%)	Taux de cendres (% MF)
DB	15,32 ± 0,0089 ^a	2,84 ± 0,0041
MD	13,67 ± 0,0075	2,67 ± 0,0057
DN	22,46 ± 0,0037	1,94 ± 0,0029
AO	12,76 ± 0,0250	2,42 ± 0,0260
GH	28,26 ± 0,0278	1,69 ± 0,0006
TV	6,95 ± 0,0096	7,02 ± 0,0002
TN	7,25 ± 0,0004	6,84 ± 0,0018
CRV	10,72 ± 0,001	4,22 ± 0,0008
CRT	4,06 ± 0,0001	4,10 ± 0,0030
CAV	11,35 ± 0,0026	3,64 ± 0,0007
CAT	6,18 ± 0,0004	5,24 ± 0,0006

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD

La détermination du taux d'humidité permet d'exprimer les résultats obtenus en fonction de la matière sèche. Il est à signaler que la teneur en eau est étroitement liée à l'humidité du milieu extérieur. De ce fait, ces valeurs peuvent varier franchement d'une région à une autre et même selon les conditions de transformation et de conditionnement.

Concernant la première matrice végétale considérée à savoir les dattes, les valeurs trouvées sont proches de celles décrites par la littérature [211 ; 214 ; 215]. Ainsi, La variété Degla Baïda (DB) et Mech Degla (MD) étant de consistance sèche n'ont présenté que des valeurs de 15,32 % et 13,67 % respectivement, la première étant légèrement supérieure à celle trouvée par Açourene et Tama (1997) [211], qui ont enregistré une valeur de 14,75% d'humidité. Les variétés Deglet Nour (DN) et Ali Ourached (AO) contiennent 22,46 % et 12,87% d'eau respectivement. La première est en accord avec la valeur donnée par Aziez (2007) [212] qui avance une teneur de 25% pour les variétés demi-molles, alors que la deuxième en est inférieure ; une baisse qui s'explique par une perte d'eau au cours du stockage. La variété Ghars (GH) contient 28,26 %, un chiffre supérieur des valeurs de la même région de provenance de cette variété, et qui sont de 22 % [213], 19,5 % [214] et 25,4 % [215].

D'après la littérature [216], les thés broyés sont légèrement plus humides que les thés en feuilles entières. Le thé noir utilisé au cours de notre étude avait l'aspect d'une poudre à grosses particules représentées par des morceaux feuilles de thé, alors que le thé vert était de type gun powder, représenté par des feuilles de thé, quasiment entières et enroulées de façon à avoir la forme des petites graines rondes. Les résultats que nous avons obtenus sont en concordance avec ces données, avec une valeur moyenne de 6,95 % pour le thé vert et 7,25 % pour le thé noir

Bien que ces valeurs soient comparables à celles citées par la littérature [216], sur le plan technologique, elles semblent être légèrement supérieures à celles obtenues en fin de procédé de manufacture qui sont normalement inférieures à 5 %. Ces différences peuvent être dues à une modification de l'activité de l'eau dans les feuilles au cours du stockage [216].

Les résultats des trois essais concernant chaque type de café démontrent ainsi une très bonne reproductibilité vue qu'un écart-type inférieur à 0.1 % est constaté entre les valeurs obtenues. La teneur en eau résiduelle des grains de café broyés et séchés s'élève alors à environ 10,72 % pour les grains de Robusta verts, 4,06 % pour ceux torréfiés et à 11,35 % pour les grains d'Arabica verts et 6,18% pour ceux torréfiés. La tendance n'est pas identique à celle citée dans la littérature, à savoir que les cafés verts Robusta contiennent généralement plus d'eau que ceux d'Arabica [217]. Il est difficile de donner ici précisément les valeurs attendues étant donné que selon l'origine et le stockage du café, la teneur en eau peut varier fortement. En outre, la différence est clairement légère et qui peut s'expliquer par une reprise d'humidité soit lors du stockage, soit résultante des traitements technologiques des cerises de café (au cours du dépulpage et déparchage par voie humide). La teneur en eau est un paramètre important à contrôler dans le café vert car elle gouverne les réactions de fermentation et de développement de moisissures durant le stockage et le transport des grains, qui peuvent entraîner le développement d'arômes indésirables ou la formation de mycotoxines, et donc altérer la qualité du café [218].

La teneur en cendres représente la quantité totale des sels minéraux présents dans l'échantillon analysé.

Dans le cas des dattes, on peut constater que la maximale valeur est représentée par la variété Degla Baïda et qui est de 2,84 % MF, suivie par celle de la variété Mech Degla, qui a enregistré 2,67 % MF, des valeurs qui se limitent dans la marge des données cités par de nombreux auteurs dont Favier et al., (1993) [90] et Lambiote, (1983) [219] qui ont affirmé que la dattes peut représente des teneurs en cendres allant de 2 % à 2,9 %. La variété Ghars enregistre la valeur minimale avec 1,69 % MF, alors que la variété Ali Ourached et Deglet Nour marquent des valeurs intermédiaires avec 2,42 % et 1,94 % MF. Ces données permettent de conclure que la variété Degla Baïda et Mech Degla sont celles contenant plus de minéraux que les autres variétés.

Le thé vert et le thé noir enregistrent les deux, respectivement, 7,02 % MS et 6,84 % MS de cendres. Ces valeurs s'expliquent par la richesse des feuilles de thé en éléments minéraux. Généralement, la somme de tous les éléments minéraux représente environ 3 % de la masse des feuilles de thé. Il est important de remarquer que la composition minérale des feuilles de thé issues d'une même région présente une variabilité aussi importante que celle de feuilles de thés provenant de régions différentes. Ces différences de composition peuvent s'expliquer par la disparité des sols de culture mais aussi par les différents apports dus aux pesticides et/ou engrais [220 ; 221].

Les cendres du café représentent environ 3 % à 5.4 % de la matière sèche [152]. Il ressort du tableau 7.1 que les valeurs trouvées pour les différents cafés sont en totale concordance avec les données de références [152 ; 222]. Pour la variété Robusta, le grain vert contient 4,22 % MS de cendre alors que le grain torréfié en contient 4,10 % MS. Cette diminution peut s'expliquer par une évaporation au cours de l'opération de torréfaction. Les pertes en éléments minéraux seraient dues au fait qu'au cours de la torréfaction, la chaleur d'entraînement du torréfacteur, provoque une agitation moléculaire au sein de l'aliment. Ceci a pour conséquence une ionisation de ces éléments minéraux. Cette ionisation a pour effet de permettre la liaison de ces minéraux aux molécules organiques avec formation de sels hydrosolubles qui sont entraînés hors de l'aliment avec la vapeur d'eau [222]. Pour la variété Arabica, le grain de café vert représente 3,64 % MS de cendres, tandis que le grain torréfié marque une teneur relativement élevée, et qui est de 5,24 %. Cette augmentation peut toujours s'expliquer par le fait que le grain soit torréfié dans des conditions favorisant la calcination de certains composés sensibles, ce qui fait augmenter considérablement le taux de matière minérale.

En comparant les deux valeurs obtenues pour chaque variété, le café Robusta contient davantage d'éléments minéraux que l'Arabica, ce qui permet de constater que la variété de café a une grande influence sur les concentrations en minéraux des grains. En outre, le mode de production des grains de café vert a également une influence. Ainsi on observe que, lorsque le dépulpage – déparchage est réalisé par voie humide, la teneur en minéraux des grains de café vert obtenus est sensiblement plus faible que par voie sèche.

1.2 Acidité titrable et pH

Les valeurs du pH et de l'acidité titrable des différentes matrices végétales analysées sont mentionnées dans le tableau suivant :

Tableau 7.2 : pH et Acidité titrable des échantillons analysés.

Produits	pH	Acidité titrable (%)
DB	4,92 ± 0,1473	0,24 ± 0,0004
MD	5,25 ± 0,029	0,317 ± 0,015
DN	5,67 ± 0,0321	0,28 ± 0,0002
AO	5,73 ± 0,071	0,27 ± 0,005
GH	5,7 ± 0,0200	0,19 ± 0,0004
TV	6,10 ± 0,0009	/
TN	5,24 ± 0,0006	/
CRV	5,91 ± 0,0002	/
CRT	5,60 ± 0,0007	/
CAV	6,23 ± 0,0012	/
CAT	5,51 ± 0,0008	/

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD

Il ressort du tableau 7.2, que les valeurs de pH trouvées pour les Cinq variétés de dattes sont légèrement faibles par rapport aux données citées par la littérature ainsi que les résultats obtenus par nombreux auteurs [223]. Cette diminution peut être due au non respect des conditions soit du conditionnement ou de stockage. Ce pH étant légèrement acide, avec une moyenne de $5,45 \pm 0,059$, il peut donc favoriser la multiplication des

levures et moisissures et parallèlement inhiber le développement des bactéries à l'exception des acidophiles. Aussi il peut être favorable pour la conservation de certaines vitamines du groupe B telles que B1, B2, B5, B9 et B12 [224].

Le pH des liqueurs de thé est acide quel que soit le thé utilisé et varie entre 5,24 pour le thé noir et 6,1 pour le thé vert. Cette acidité est due à la présence des composés organiques, notamment les catéchines, contenus dans les feuilles de thé qui se comportent comme des acides faibles plus ou moins dissociés. De plus, les liqueurs préparées avec les feuilles de thé noirs sont souvent plus acides (4,2 à 5,4) que celles réalisées avec les feuilles de thé verts (5,6 à 6,0), ce qui confirme nos résultats, et qui pourrait être dû aux formes différentes des polyphénols, monomères dans les thé verts et formes polymérisées dans le thé noir, et donc au nombre de fonctions acides [221].

Dans le cas du café, les valeurs obtenues pour la variété Robusta sont 5,91 pour le grain vert et 5,6 pour le grain torréfié, et celles pour la variété Arabica sont de l'ordre de 6,23 pour le grain vert et 5,51 pour le grain torréfié. Ces résultats montrent une nette différence entre les deux variétés. Le café Robusta est plus acide que le café Arabica. Ainsi, ces valeurs nous renseignent sur l'effet clair de la torréfaction sur le grain de café, qui fait augmenter relativement l'acidité du grain de café vert en modifiant sa composition initiale.

Notant que l'acidité est un facteur important des qualités organoleptiques du café infusé, la qualité du café est en partie fonction des proportions respectives des acides mono- et dichlorogéniques. La valeur du rapport entre ces deux acides est un peu plus basse dans le Robusta que dans l'Arabica. L'excès d'acides dichlorogéniques peut être responsable de la saveur métallique rémanente éventuelle de la boisson [154]. La saveur aigre du café maintenu longtemps à la chaleur est due, d'une part à l'augmentation de ses teneurs en acides libres (notamment de l'acide quinique) ainsi qu'à celles des lactones, et d'autre part à la diminution de sa concentration en pyridine [225]

1.3 Extraction des composés phénoliques extractibles totaux

Au cours de cette étude, l'extraction des polyphénols à partir des dattes, thé et café a été effectuée selon différents modes. La solubilité des composés phénoliques semble être en fonction de leur degré de polymérisation, les interactions avec d'autres composés et la nature du solvant utilisé.

Le méthanol a été recommandé et fréquemment employé pour l'extraction des composés phénoliques [226].

1.3.1 Rendements d'extraction

Les composés phénoliques ont été extraits à partir du matériel végétal frais pour les Cinq variétés de dattes et des matériaux végétaux secs pour le thé et le café. Les rendements varient beaucoup en fonction de la matrice végétale, la nature du solvant d'extraction et la méthode d'extraction, aussi bien de la température et du temps de contact.

Les rendements d'extraction de chaque mode pour chaque matériel végétal sont représentés par les figures 7.1, 7.2 et 7.3 :

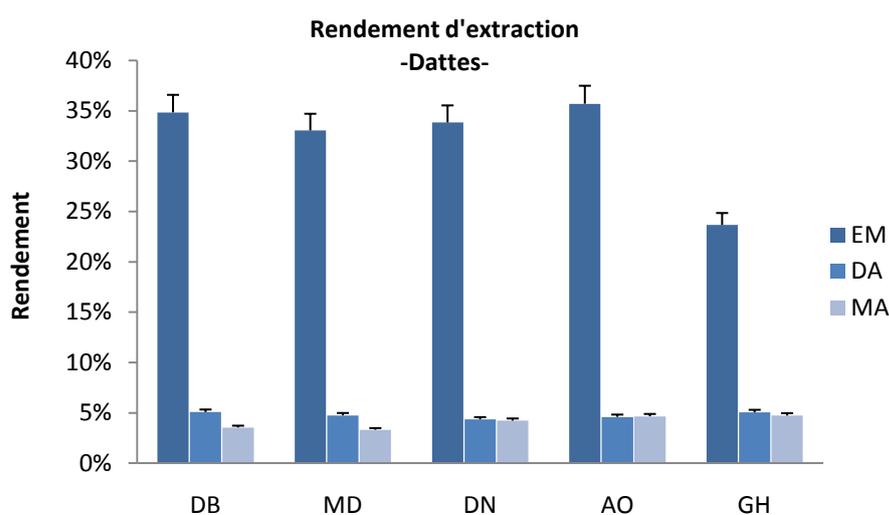


Figure 7.1 : Comparaison du rendement d'extraction des différents modes d'extraction des composés organiques de la datte (exprimé en % de matière fraîche).

Le rendement en extraction pour chaque variété de dattes, montre que l'extraction en utilisant le méthanol (EM) donne le meilleur rendement par rapport à l'extraction par décoction (DA) ou par macération (MA). Le méthanol étant très polaire, a pu extraire la totalité des composés polyphénoliques contenus dans la datte, ainsi que la fraction qui est liée aux autres composés organiques (généralement les sucres).

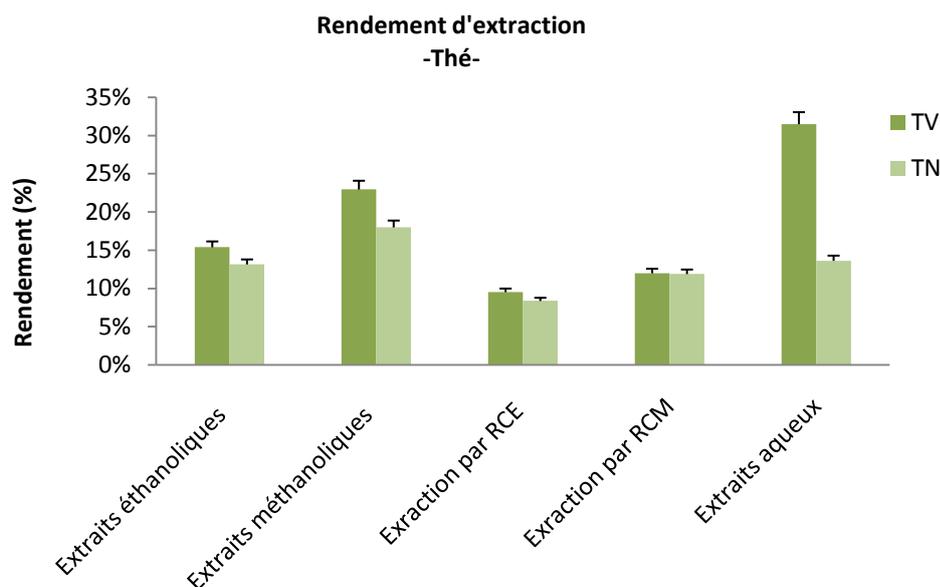


Figure 7.2 : Rendement en extrait sec des deux variétés de thé
(En % de matière sèche).

La figure 7.2 illustre le rendement des différents extraits de thé vert et noir selon le mode d'extraction ainsi que le solvant utilisé. Comme on peut clairement le constater, le rendement des extraits aqueux du thé vert (31,5 %) est significativement supérieur à celui du méthanol (22,96%) et de l'éthanol (9,3 %). Dans le cas du thé noir, le meilleur rendement était celui obtenu par extraction utilisant le méthanol, atteignant les 18 %, suivi de l'extrait aqueux avec une valeur de 13,63 %. Les autres modes d'extraction ont donné des valeurs proches mais qui demeurent inférieure à celles obtenues avec deux modes cités précédemment.

Ces différences peuvent être attribuées aux différentes affinités des solvants d'extraction pour les constituants des feuilles du thé, ainsi les différentes conditions d'extraction, voire la polarité du solvant et la température d'extraction [227].

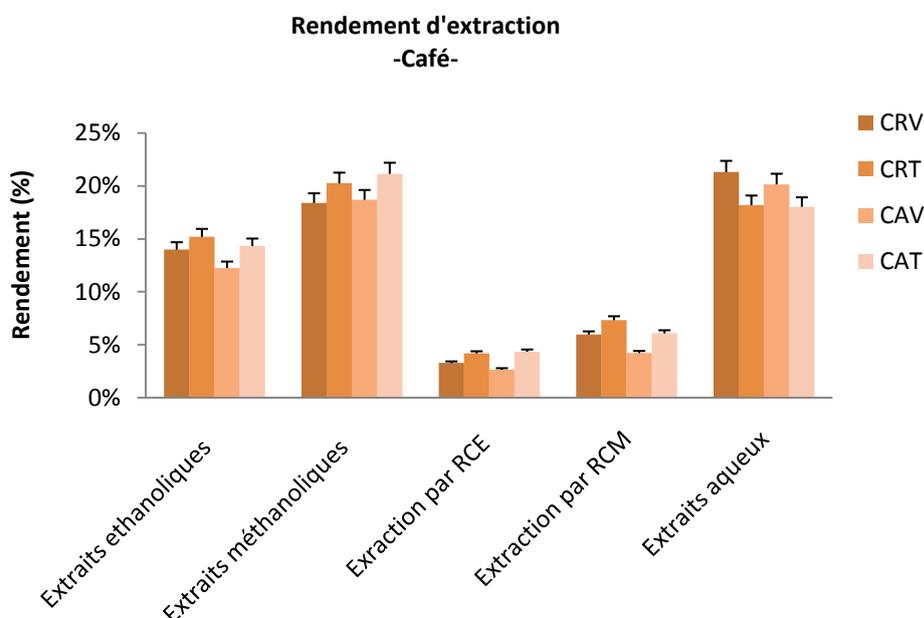


Figure 7.3 : Rendement d'extraction des différents extraits des deux variétés de café (en % de matière sèche).

En ce qui concerne le café, les meilleurs rendements ont été enregistrés pour les deux modes d'extraction : par méthanol et par l'eau. Les rendements en extraits aqueux obtenus à partir des grains verts des deux variétés (Robusta : 21,32% et Arabica : 20,16%) excèdent légèrement ceux méthanoliques, qui sont de l'ordre de 18,40 % pour Robusta et 18,70 % pour Arabica. Quant aux grains torréfiés, le méthanol a enregistré le meilleur rendement avec 20 % et 21,15 % respectivement. Cette différence s'explique par le fait que les composés du grain de café, et sous l'effet de la température deviennent plus solubles dans l'eau que dans les solvants organiques. Le rendement enregistré en extraction par éthanol, pour chaque variété de café, a révélé des valeurs voisines et pour le grain vert et pour le grain torréfié. La minimale enregistrée était celle du grain vert d'Arabica (12,26 %) et la maximale celle du grain Robusta torréfié (15 %). On peut ainsi conclure que les

fractions éthanolo-solubles sont égales dans l'ensemble des variétés analysées (Arabica et Robusta).

Les rendements obtenus par extraction aux solvants organiques, couplée à un reflux de chaleur, sont faibles comparativement aux autres modes d'extraction (macération organique et aqueuse). Cela peut être dû à l'évaporation rapide des solvants au cours de l'extraction laissant juste une faible fraction d'eau en contact avec la matrice, ce qui empêche d'extraire la totalité des composés organiques.

Ces résultats nous conduisent à conclure que le rendement d'extraction n'est que relatif et il dépend de la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée. Il faut bien noter que la méthode d'extraction affecte également le contenu total en polyphénols et les capacités antioxydantes [228].

1.3.2 Teneur en polyphénols

Afin de caractériser nos différents extraits, un dosage quantitatif des polyphénols extractibles ainsi des flavonoïdes a été effectué. La raison principale pour le choix de ces substance réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes leurs sont attribuées.

Ce dosage a été réalisé selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin comme agent de détection. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour la détermination de la teneur en polyphénols des végétaux et l'acide gallique est le standard le plus souvent utilisé pour cette méthode [229]. Cette méthode est aussi souvent utilisée vue que :

- ✓ Elle satisfait aux critères de faisabilité et de reproductibilité ;
- ✓ Elle est standardisée, et la disponibilité du réactif de Folin;
- ✓ La large bande d'absorption du chromophore (760 nm), qui permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent colorée ;
- ✓ Un test largement utilisé dans les laboratoires de recherche d'antioxydants alimentaire à travers le monde [230].

Les tableaux 7.3, 7.4 et 7.5 représentent les différentes valeurs obtenues selon les différents modes d'extraction et pour chaque produit utilisé séparément.

1.3.2.1 Dattes

Le tableau ci-dessous représente les teneurs en polyphénols des différents extraits des Cinq variétés de dattes. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique/ 100 g MF :

Tableau 7.3 : Teneurs moyenne en composés phénoliques des Cinq variétés de dattes (en mg eqAG/ 100 g PS).

M. d'extraction	DB	MD	DN	AO	GH
E. Méthanoliques	335,5±17,9	318,3±0,08	233,7±8,3	372,6±0,09	172,5±3,1
Macérés aqueux	230,5±2,64	218,5±0,092	162,4±3,5	258,7±0,02	137,2±0,5
Décoctés aqueux	158,1±5,42	148,99±0,02	139,6±0,4	175,45±0,0	84,8±1,53

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD

Les résultats mentionnés dans le tableau 7.3 révèlent que, quelque soit le mode d'extraction, la variété Ali Ourached (AO) est la plus riche en composés phénoliques, elle en contient 372,6 mg eqAG/ 100 g MF, suivie par la variété Degla Baïda (DB) (335,5 mg eqAG/ 100 g MF). Les variétés Mech Degla (MD) et Deglet Nour (DN) ont enregistré des teneurs intermédiaires à savoir 318,3 mg eqAG/ 100 g MF pour MD et 233,7 mg eqAG/ 100 g MF pour Deglet Nour. La variété Ghars montre la teneur la plus faible en polyphénols avec 172,5 mg eqAG/ 100 g MF. Les valeurs maximales, sont celles obtenues par extraction au méthanol. En ce qui concerne les autres modes d'extraction (par décoction et par macération), la variété Ali Ourached enregistre toujours les teneurs les plus élevées, alors que la variété Ghars chute pour les deux modes, de la moitié.

Ces valeurs sont nettement supérieures à celles trouvées par Mansouri et *al.* (2005) [204] qui sont entre 2mg et 6,73mg/100g et ceux de Ghazi et Saharaoui (2005) [231], qui donnent 16,6 mg eqAG pour la Deglet Nour et 26,66 mg eqAG pour la Hamraia.

En comparant les résultats obtenus pour chaque mode d'extraction, la décoction semble être très déficiente pour extraire les composés phénoliques à partir des dattes. La macération à température ambiante favorise mieux l'extraction de ces composés. En outre,

l'usage d'un solvant organique semble très efficace pour optimiser l'opération de l'extraction et accélérer le procès en minimisant le temps de contact de ce dernier avec la matrice végétale afin d'éviter toute altération des composés phénoliques.

Le méthanol est le solvant le plus recommandé, par plusieurs auteurs [195 ; 2004], pour l'extraction des composés phénoliques à partir des matrices végétale, voir les différentes variétés de dattes, ce qui confirme les résultats obtenus.

1.3.2.2 Thé

Les teneurs en polyphénols enregistrés pour les deux types de thé sont illustrées dans le tableau suivant, exprimées en g eqAG / 100 g MS :

Tableau 7.4 : Teneurs moyennes en polyphénols des deux types de thé (en mg eqAG/ 100 g MS).

Mode d'extraction	TV	TN
EM	4,306 ± 0,292	2,457 ± 0,206
EE	2,809 ± 0,084	2,208 ± 0,107
EMRC	2,99 ± 0,011	1,648 ± 0,029
EERC	1,573 ± 0,064	1,260 ± 0,031
EA	3,636 ± 0,230	1,459 ± 0,047

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD

La composition des feuilles du thé vert varie en fonction du climat, de la variété et surtout de l'âge des feuilles [232]. Afin de comparer les résultats des différents modes d'extraction, des feuilles de thé vert et noir provenant du même lot ont été utilisées, ainsi que les techniques d'extraction des différentes méthodes ont été précisément les mêmes citées par la littérature [200 ; 201 ; 202].

Les résultats obtenus après dosages des composés phénoliques pour les deux types de thé (vert et noir) montrent que le thé vert est plus riche en polyphénols que le thé noir. Les extraits méthanoliques enregistrent les teneurs en polyphénols les plus élevées, avec 4,306 g eqAG / 100g MS pour le thé vert et 2,457 g eqAG / 100 g MS pour le thé noir. La teneur en composés phénoliques des extraits éthanoliques est inférieure à celles des extraits méthanoliques. La différence est nettement remarquable dans le cas du thé vert, qui chute

jusqu'au 2,809 g eqAG / 100 g MS, légère dans le cas du thé noir (2,208 g eqAG / 100 g MS). Cette différence résulte du fait que les degrés de solubilité des composés phénoliques du thé noir dans les deux solvants sont voisins, contrairement au thé vert, dominé par la fraction méthanol-soluble que celle éthanolo-soluble.

L'extrait aqueux du thé vert contient 3,636 g eqAG / 100 g MS de polyphénols. Cette teneur est élevée par rapport à celles obtenues en utilisant les deux solvants séparément par reflux de chaleur. En ce qui concerne le thé noir, les différents extraits aqueux, EMRC et EERC représentent des valeurs voisines dont la maximale est égale à 1,648 g eqAG / 100 g MS, enregistrée par le EMRC, et une minimale de 1,260 g eqAG / 100 g MS enregistrée par le EERC.

1.3.2.3 Café

Le tableau 7.5 représente les teneurs en composés phénoliques des deux variétés de café à l'état vert et torréfié. Les résultats obtenus pour chaque mode d'extraction sont exprimés en g eqAG / 100 g MS :

Tableau 7.5 : Teneurs moyennes en composés phénoliques des grains des deux variétés de café (En g eqAG / 100 g MS)

Mode d'extraction	CRV	CRT	CAV	CAT
EM	1,081 ± 0,028	1,326 ± 0,020	1,0203 ± 0,038	1,724 ± 0,069
EE	1,585 ± 0,435	1,824 ± 0,114	1,461 ± 0,063	1,446 ± 0,036
EMRC	0,711 ± 0,010	0,842 ± 0,015	1,574 ± 0,003	1,286 ± 0,027
EERC	0,431 ± 0,055	1,327 ± 0,146	1,025 ± 0,057	0,987 ± 0,195
EA	2,075 ± 0,094	1,577 ± 0,347	0,527 ± 0,527	2,015 ± 0,022

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD

La teneur en polyphénols des deux variétés de café, à l'état vert ainsi qu'à l'état torréfié diffèrent considérablement selon le mode d'extraction utilisé.

Pour la variété Robusta, la teneur moyenne en polyphénols des extraits aqueux obtenus à partir des grains verts est de l'ordre de 2,075 g eqAG / 100 g MS, cette teneur est

la plus élevée, comparativement aux autres modes d'extraction, qui enregistrent des valeurs de 1,081 g eqAG / 100 g MS pour les extraits méthanoliques, 1,585 g eqAG / 100 g MS pour ceux éthanoliques, 0,711 g eqAG / 100 g MS et 0,431 g eqAG / 100 g MS pour les extraits EMRC et EERC respectivement .

En comparant ces résultats avec ceux du grain d'Arabica vert, les différences sont légères entre les extraits méthanoliques et ceux éthanoliques, quant aux extraits EMRC et EERC, des différences importantes sont à noter ; elles grimpent au double, en enregistrant 1,461 g eqAG / 100 g MS et 1,574 g eqAG / 100 g MS respectivement. Les composés polyphénoliques contenus dans le café vert Arabica semblent être plus solubles dans l'éthanol en présence de la chaleur. Les extraits aqueux obtenus à partir du grain vert Arabica étaient pauvres en composés phénoliques comparativement au grain torréfié de la même variété. Cela peut être expliqué par perte par oxydation lors de la mouture des grains verts, sachant que ce dernier est une matière hygroscopique, de manipulation et de conservation délicate. Ceci étant plus marqué pour le café Arabica que pour le café Robusta [217].

D'après le même tableau, l'extrait éthanolique du café Robusta torréfié représente l'extrait le plus riche en composés phénoliques. L'extrait aqueux enregistre ainsi une valeur moyenne de 1,577 g eqAG / 100 g MS, excédant ainsi celle de l'extrait méthanolique (1,326 g eqAG / 100 g MS). Les mêmes résultats sont constatés dans le cas de l'extrait aqueux du café Arabica, sauf que pour ce dernier, l'extrait éthanolique enregistre une teneur plus faible que celles des extraits méthanoliques et aqueux.

De cela, il en ressort que l'éthanol semble être le solvant organique le plus efficace pour extraire les composés phénoliques du café, tout en signalant que l'eau est efficace et donne aussi de considérables résultats, en minimisant fortement tout risque de dénaturation de ces derniers.

1.3.3 Teneur en flavonoïdes

La raison pour la quelle le dosage des polyphénols a été suivi par un dosage des flavonoïdes s'explique par la grande importance de cette classe, comportant plus de 5000 composés déjà décrits [233]. Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode

d' AlCl_3 en utilisant la Quercétine comme standard [234]. Les tableaux 7.6, 7.7 et 7.8 représentent les différentes valeurs obtenues pour chaque mode d'extraction ainsi que pour chaque produit analysé, exprimées en μg équivalent Quercétine / 100 g de matière sèche :

Le tableau 7.6 représente les teneurs en flavonoïdes des Cinq variétés de dattes. Les résultats sont exprimés en mg eq Quercétine / 100 g MS :

1.3.3.1 Dattes

Tableau 7.6 : Teneurs moyennes des Cinq variétés de dattes en flavonoïdes
(mg eqQ / 100g MS).

Mode d'extraction	DB	MD	DN	AO	GH
E.Méthanoliques	4,95± 0,25	3,16±0,65	7,983±1,82	12,91±0,13	3,751±0,22
Macérés aqueux	3,27±0,045	2,1±0,02	5,37±1,74	8,65±0,102	2,976±0,17
Décoctés aqueux	2,343±0,29	1,59±0,31	4,733±0,43	7,67±0,21	1,836±0,12

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures \pm SD

Le tableau 7.6 montre que l'extraction par le méthanol donne les meilleurs rendements en flavonoïdes. La variété Ali Ourached montre la teneur la plus élevée en flavonoïdes, avec 12,91 mg eqQ / 100 g MS, suivie par Deglet Nour qui en contient 7,98 mg eqQ / 100 g PS, tandis que la variété Mech Degla enregistre la valeur la plus faible de 3,751 mg eqQ / 100 g MS.

1.3.3.2 Thé

Tableau 7.7 : Teneurs moyennes des deux types de thé en flavonoïdes
(mg eqQ / 100 g PS).

Mode d'extraction	TV	TN
EM	270,75 \pm 2,09	193,69 \pm 3,472
EE	175,62 \pm 7,189	161,23 \pm 2,161
EA	227,11 \pm 1,87	100,24 \pm 2,088

Selon les données du tableau 7.7, le thé vert et le thé noir sont riches en flavonoïdes par rapport aux dattes. C'est la classe des polyphénols majoritaires des feuilles de thé vert. Il ressort de ce tableau, que l'extrait méthanolique ainsi que l'extrait aqueux contiennent 270,75 mg eqQ / 100 g MS et 227,11 mg eqQ / 100 g MS respectivement. Ces valeurs sont supérieures à celles de l'extrait éthanolique enregistrant 175,62 mg eqQ / 100 g MS. Par contre, l'extrait éthanolique du thé noir contient 161,23 mg eqQ / 100 g MS, valeur qui excède celle de l'extrait aqueux, notant que l'extrait méthanolique enregistre la valeur maximale (193,69 mg eqQ / 100 g MS). Les valeurs enregistrés par les différents extraits du thé noir sont inférieures à celles obtenues pour le thé vert, vue la nette différence de la composition des deux thés étudiés.

1.3.3.3 Café

Tableau 7.8 : teneurs moyennes des deux variétés de cafés en flavonoides

(mg eqQ / 100 g MS).

Mode d'extraction	CRV	CRT	CAV	CAT
EM	16,98 ± 0,09	29,74 ± 0,78	8,15 ± 0,002	9,45 ± 0,004
EE	24,88 ± 0,58	42,55 ± 3,069	0,745 ± 0,004	1,323 ± 0,008
EA	31,05 ± 1,09	22,26 ± 1,09	0,308 ± 0,048	2,083 ± 0,205

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD

Comparativement au thé, le café contient très peu de flavonoïdes. La classe majoritaire des polyphénols du café est celle représentée par les acides chlorogéniques. D'après le tableau 7.8, le café Robusta semble être plus riche en flavonoïdes que le café Arabica. Les extraits aqueux marquent la valeur maximale avec 31,05 mg eqQ / 100 g MS pour le grain vert, alors que l'extrait éthanoliques en est le plus riche avec 42,55 mg eqQ / 100 g MS pour le grain torréfié. Le grain de l'Arabica, à l'état vert ou qu'il soit torréfié, représente des valeurs faibles comparativement à celles du grain Robusta, avec 8,15 mg eqQ / 100 g MS pour l'extrait méthanolique obtenu à partir du grain vert et 9,45 mg eqQ / 100 g MS du même extrait obtenu à partir du grain torréfié.

Notant qu'en plus des aspects quantitatifs, quelque soit la méthode d'extraction appliquée elle doit tenir compte de la qualité de l'extrait, autrement dit, de la bio-activité de ses principes actifs. Au cours de notre recherche, on a pu découvrir que l'extraction par macération permet d'accélérer le processus et de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait tout en préservant la bio-activité de ses constituants. De même, la réalisation de l'opération à température ambiante ainsi que l'élimination du solvant à pression réduite permettent d'obtenir le maximum des composés antioxydants et de prévenir leur dénaturation probable que provoquent les autres modes extractions

1.4 Teneurs en Vitamine C des Cinq variétés de dattes

Le dosage de la vitamine C des Cinq variétés de dattes a été effectué par CLHP. Le but étant de quantifier avec précision la teneur en vitamine C des dattes. Ceci s'est traduit par un ou plusieurs pics à un temps de rétention correspondant à 6min, en se basant sur ces données, notre bilan s'avère être négatif pour l'ensemble des cultivars.

Les chromatogrammes obtenus après analyse (appendice 2) affichent clairement, par la platitude constante, une absence totale d'acide ascorbique : 0mg/100g de dattes, Alors que beaucoup de données bibliographiques rapportent, néanmoins, une présence à l'état de traces. Favier *et al.* (1995) [90] avancent un chiffre de 2mg/100g de dattes sèches, aussi Bessas (2008) [235] cite une teneur allant de 2mg à 5mg/100g de dattes.

Cette absence, peut s'expliquer par le fait que la vitamine C est une molécule très fragile (photosensible, thermosensible, facilement oxydable ...etc.), sa perte a été probablement occasionnée durant la période de stockage ou par des conditions de conservation défavorables.

1.5 Taux de caféine

Le dosage de la caféine ne se fait, depuis quelques années, que par Chromatographie liquide haute performance (HPLC), utilisée généralement pour la détermination de la teneur en caféine du café boisson et non pas le café moulu [236].

Le dosage de la caféine du café et celle du thé a été déterminé, au cours de cette étude, par HPLC selon la norme ISO 10095.

Les chromatogrammes représentant les différents airs de pic obtenus pour chaque échantillon analysé ainsi que celui de la caféine étalon sont illustrés dans l'appendice 3. La figure suivante, représente les teneurs en caféine en % de MS des différents produits analysés:

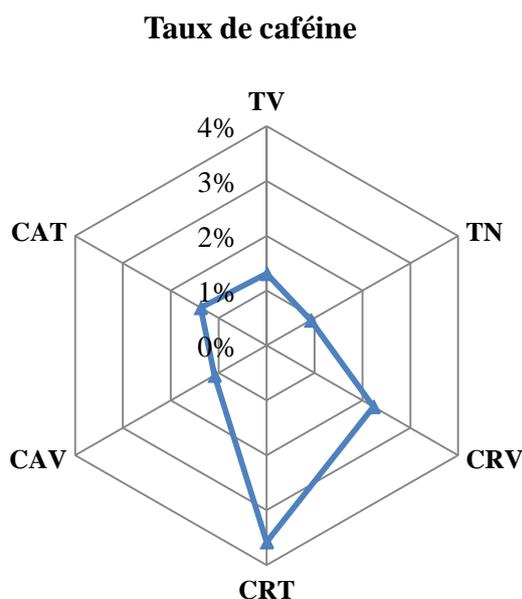


Figure 7. 4: Teneurs en caféine des différents échantillons analysés par CLHP.

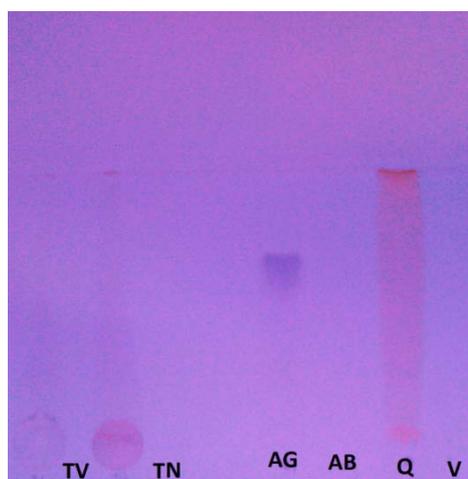
Avant de commenter la figure illustrant les différentes teneurs en caféine des différentes matrices analysés, il est important de noter que, dans le thé et café, la molécule la plus connue pour sa bioactivité est bien la caféine. Cette molécule connue pour ses effets stimulants au niveau du système nerveux central et du cœur, est le plus souvent consommée par le biais des boissons obtenues à partir des grains de café et des feuilles de thé. Le café étant plus riche en cette molécule que le thé, sa teneur en caféine la plus élevée a été enregistrée dans le cas du café Robusta torréfié avec une valeur de 3,58 %, suivie par celle du grain vert de la même variété et qui enregistre 2,23 % de caféine. Notant qu'il a été démontré que l'Arabica contient moins de caféine que la variété Robusta, cela confirme nos résultats, le grain de l'Arabica, quant à lui, contient 1,09 % à l'état vert, et 1,38% à l'état torréfié.

La caféine, étant une molécule hygroscopique, risque de se dégrader rapidement si le matériel végétal qui la renferme est conservé dans des conditions d'humidité relative élevée. Cela peut expliquer la baisse de sa teneur dans les échantillons de thé vert et noir, qui doivent, selon la littérature [162-166], en contenir jusqu'à 2 % et 1,6 % respectivement.

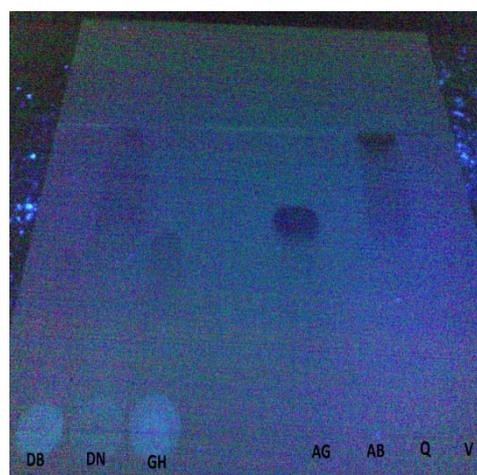
1.6 Chromatographie sur couche mince (CCM)

Par ses faibles contraintes techniques, son emploi simple et son coût modeste, la CCM est un outil de choix pour l'analyse phytochimique de routine d'extraits bruts, de fractions, ainsi que de produits purs isolés. De ce fait, nous avons opté pour cette technique afin de caractériser les extraits des dattes, thé et café.

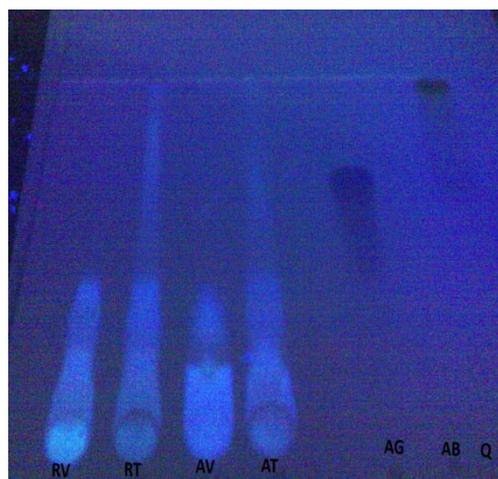
Le système de migration utilisé est constitué de chloroforme, acétate d'éthyle et acide formique (50 :40 :10 ; V/V), un mélange qui a donné une bonne migration et des spots plus au moins visibles. Les chromatogrammes ainsi obtenus comportent une série des spots, dont l'identification des composés était basée la comparaison entre les R_f, ainsi la couleur observée sous UV de chaque spot avec ceux des étalons. Suite au nombre très réduit des étalons, on s'est arrêté à l'identification de principaux composés des classes phénols simples et flavonoïdes.



(a)



(b)



(c)

Figure 7.5 : Chromatogrammes des différents extraits

[(a) : thé, (b) : dattes, (c) : café]

Le chromatogramme des dattes révèle que la variété Deglet Nour contient principalement de la Quercétine, faisant partie des classes des flavonoïdes, les deux variétés Degla Baïda et Ghars ont donné des spots dont le Rf est identique à celui de l'acide gallique, notant aussi que sous UV, on constate l'apparition de petites tâches de couleurs variables, qu'on a qualifié de composés appartenant de la famille des polyphénols, mais que nous n'avons pas pu identifier.

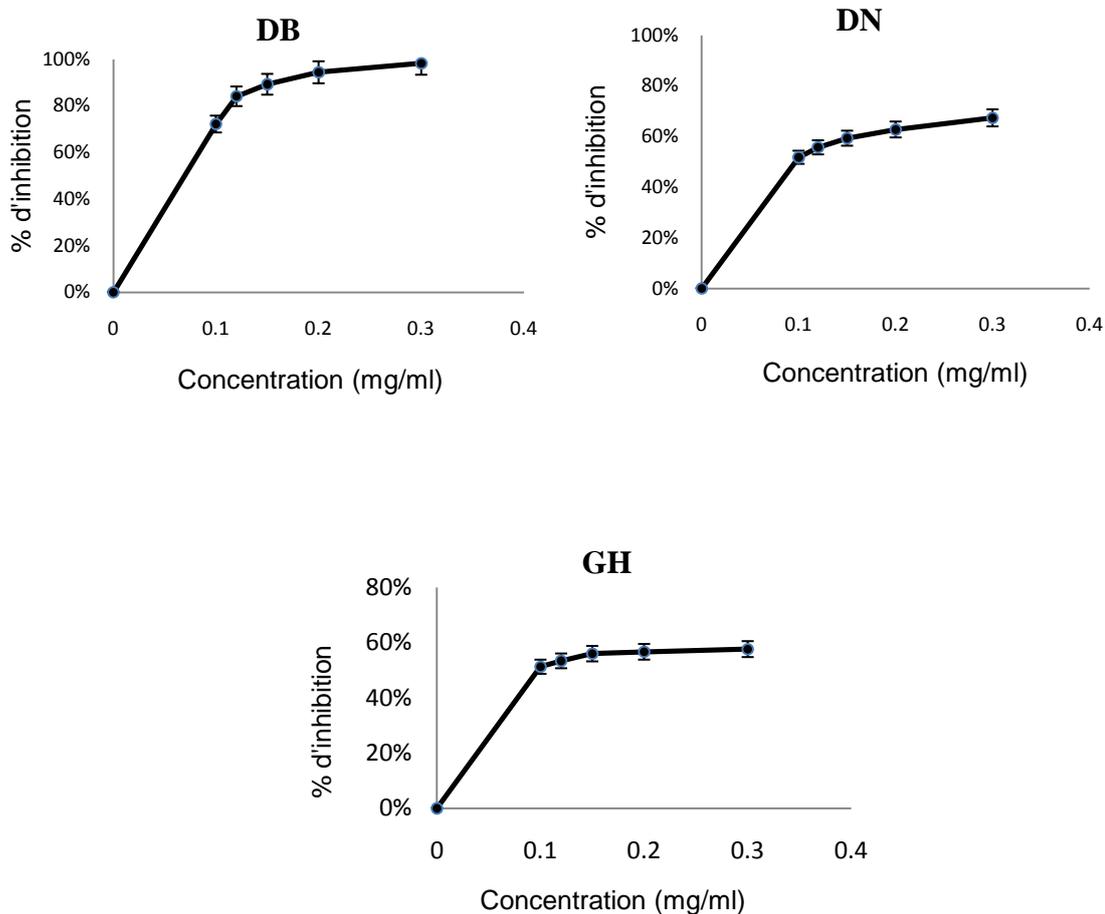
A partir des extraits du thé vert et thé noir, une migration claire des spots de couleur jaune avec un Rf de 0,53 cm et 0,51 cm qui sont proches du Rf de la Quercétine, un étalon injecté dans les mêmes conditions expérimentales. Des tâches de couleur jaune pale, violet et bleu blanc fluorescent ont été observées, et qui nous informent sur la présence probable des flavonols, flavones et isoflavones.

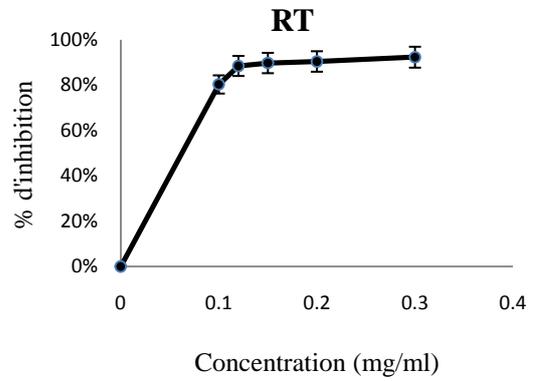
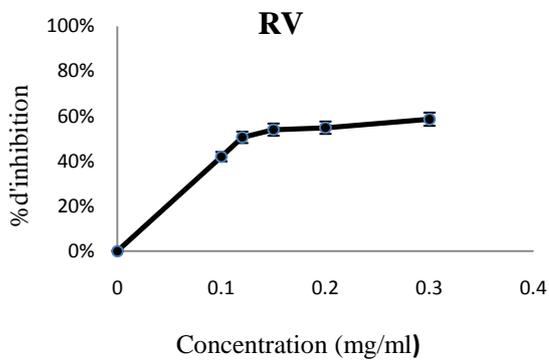
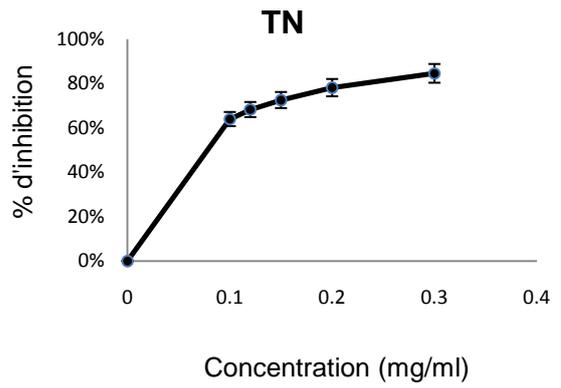
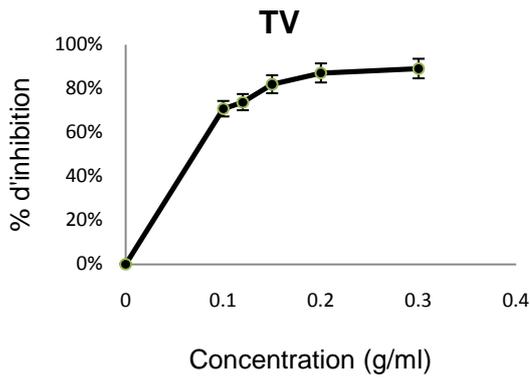
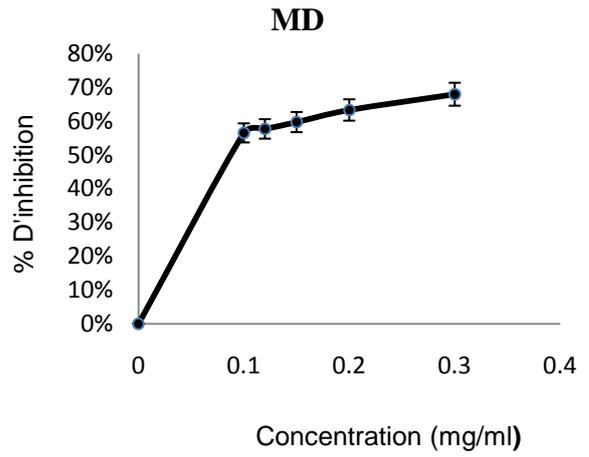
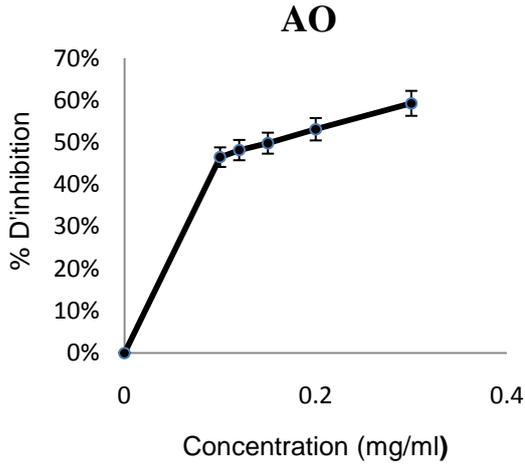
Dans le cas du café, les extraits des grains Robusta et Arabica torréfiés ont données, seuls, des spots avec des Rf compatibles à celui de la Quercétine. Une multitude de petits spots ont été révélés avec des couleurs et des Rf variables, reflétant ainsi la large gamme de composés phénoliques du grain de café vert et torréfié, qui sont représentés principalement par les acides chlorogéniques

1.7 L'activité antioxydante

Les profils d'activité antiradicalaire obtenus sont rapportés en courbes afin de pouvoir mieux caractériser cette activité. Les différentes courbes révèlent que chaque extrait étudié possède un effet antioxydant à dose correspondante.

D'après la figure 7.6, les courbes de l'activité antioxydante de l'ensemble des extraits semblent prendre une même tendance. On remarque une forte ascension de la courbe à la concentration 0,1 mg/ml qui continue graduellement son ascension aux concentrations 0,12 mg/ml et 0,15 mg/ml, en prenant une tendance constante à partir de 0,2 mg/ml correspondant à l'optimum de l'activité anti radicalaire de l'extrait.





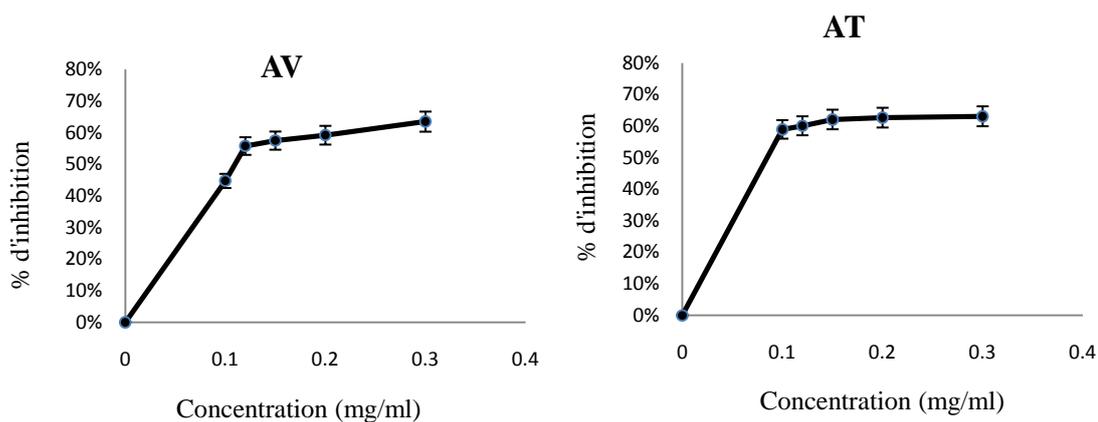


Figure 7.6 : Courbes représentant le pouvoir radicalaire des extraits des dattes, thé et café

Cette augmentation exponentielle est présente dans toutes les courbes. Elle correspond à une cinétique R_0 qui traduit l'inhibition effective du radical DPPH, qui est suivie, pour chaque extrait, par la phase stationnaire (à partir de 0,2 mg/ml). Cette cinétique est observée pour tous les extraits et elle est synonyme du fort pouvoir antiradicalaire des composés phénoliques ainsi extraits de chaque matrice végétale.

En comparant nos résultats avec la courbe d'étalonnage du BHT (Appendice 4) il s'avère que l'ensemble des extraits phénoliques présentent une très bonne activité antioxydante à des degrés près, la Degla Beida enregistre le meilleur pourcentage d'inhibition avec une valeur de 98,28%, suivie par celui du café Robusta torréfié atteignant les 92,27 % d'inhibition. Le thé vert et le thé noir représentent des valeurs très proches, qui sont de l'ordre de 89,12 % et 84,55 % respectivement, malgré la richesse du thé vert en composés antioxydants que le thé noir, cela nous renseigne sur l'efficacité des composés phénoliques, qui est, dans certains cas, non liée à leur taux élevé. Cette constatation est confirmée par un taux d'inhibition de 59,29 % représenté par la variété Ali Ourached, malgré sa richesse en composés phénoliques par rapport aux autres variétés (372,6 mg eqAG/ 100 g PF) . La variété Deglet Nour marque toujours une valeur intermédiaire, avec 67,37 %, suivie par celle du café Arabica vert qui enregistre une valeur identique à celle du grain torréfié, avec 63,51 % et 63,09 % respectivement. La variété Ghars quant à elle

affiche une plus faible activité antiradicalaire avec 57,7%. Cette baisse du pouvoir antiradicalaire de cette variété peut être due à sa faible teneur en composés phénoliques, ainsi, son état physique (souvent pilé) a facilité l'oxydation de ces derniers et par la suite la réduction de leur pouvoir piègeur vis-à-vis des agents radicalaires.

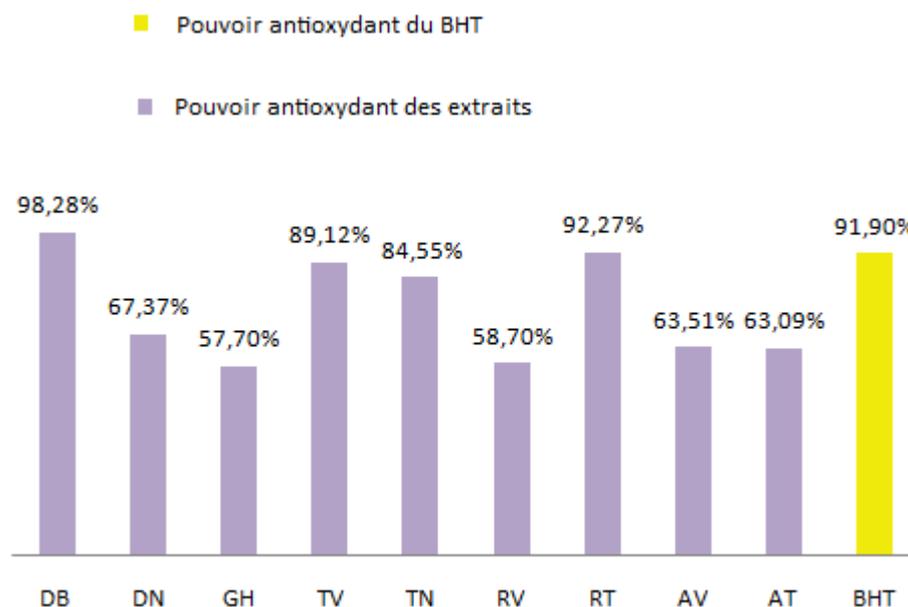


Figure 7.7 : Pouvoir antioxydants du standard et des différents extraits.

En comparant nos résultats avec ceux de l'antioxydant standard (BHT), tous les extraits semblent avoir des activités antioxydantes proches sinon inférieures, sauf pour la variété Degla Baïda et celle du café Robusta torréfié, marquant tous les deux un pouvoir antiradicalaire légèrement supérieur à celui du BHT.

Le pouvoir antioxydant du café semble en grande partie être renforcé par les produits de la réaction de Maillard, également extraits lors de la préparation de la boisson, bien que le pouvoir antioxydant apporté par les polyphénols représente jusqu'à la moitié du pouvoir antioxydant total [237].

1.8 L'activité antibactérienne et antifongique

Les activités antibactériennes des différents extraits ont été dépistées selon la méthode des quatre boîtes NA 282, adaptée pour le dépistage des résidus d'antibiotiques dans les produits carnés.

Après incubation des boîtes de Pétri, les antibiogrammes et les antifongigrammes ont donné les résultats que nous avons converti sous forme de tableaux et ce, pour l'ensemble des microorganismes ainsi que les disques d'antibiotiques et d'antifongiques.

1.8.1 Activité antibactérienne

Les diamètres des zones d'inhibitions des antibiotiques et des différents extraits sur les différentes souches utilisées sont illustrés par les tableaux suivants :

Diamètre des zones d'inhibition donné par les disques d'antibiotiques

Tableau 7. 9: Diamètres moyens des zones d'inhibition (en mm) obtenus avec les disques d'antibiotiques :

	<i>B. subtilis</i> (pH 6)	<i>B. subtilis</i> (pH 7,2)	<i>B. subtilis</i> (pH 8)	<i>M. luteus</i> (pH 8)
Pénicilline G	21,5 ± 0,33	/	/	/
Sulfadimidine	/	17,8 ± 0,21	/	/
Streptomycine	/	/	6,2 ± 0,12	27,3 ± 0,67

(/) : Non valable pour ce germe

Diamètre des zones d'inhibition donné par les différents extraits

- Avec *Bacillus subtilis* à pH 6

Tableau 7.10 : Diamètres moyens des zones d'inhibition des extraits (en mm) obtenus avec *Bacillus subtilis* à pH 6 :

	DB	MD	DN	GH	AO	TV	TN	CRV	CR T	CAV	CAT
Ø	8,8	5,2	0,2	0,1	2,3	2,46	1,72	/	5,28	/	4,34
d'inhibition	±	±	±	±	±	±	±		±		±
	0,26	0,34	0,5	0,02	0,03	0,1	0,04		0,15		0,2

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD

- Avec *Bacillus subtilis* à pH 7,2

Tableau 7.11 : Diamètres moyens des zones d'inhibition des extraits (en mm) obtenus avec *Bacillus subtilis* à pH 7,2 :

	DB	MD	DN	AO	GH	TV	TN	RV	RT	AV	AT
Ø	1,15	1,02	9,31	1,16	6,63	3,6	2,6	/	3,41	/	4,38
d'inhibition	±	±	±	±	±	±	±		±		±
	0,09	0,06	0,37	0,02	0,51	0,1	0,04		0,15		0,2

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD

- Avec *Bacillus subtilis* à pH 8

Tableau 7.12: Diamètres moyens des zones d'inhibition des extraits de dattes (en mm) obtenus avec *Bacillus subtilis* à pH 8:

	DB	MD	DN	AO	GH	TV	TN	RV	RT	AV	AT
Ø	3,08	0,0	4,5	15,3	9,2	3,74	0,12	/	2,52	/	1,0
d'inhibition	±	±	±	±	±	±	±		±		±
	0,09	0,0	0,7	0,67	0,42	0,1	0,04		0,15		0,3

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD

- Avec *Micrococcus luteus* à pH 8

Tableau 7.13 : Diamètres moyens des zones d'inhibition des extraits (en mm) obtenus avec *Micrococcus luteus* à pH 8 :

	DB	MD	DN	AO	GH	TV	TN	CRV	CRT	CAV	CAT
Ø	6,36	5,42	12,4	2,54	11,8	12,76	15,2	6,3	12,72	5,7	12,36
d'inhibition	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,33	0,72	0,65	0,04	0,44	0,1	0,06	0,05	0,1	0,3	0,02

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD

Comme le montrent les tableaux 7.10-7.13, les différents extraits présentent une activité antibactérienne avérée pour certaines souches, moindre ou nulle pour d'autres.

Dans le cas de *Bacillus subtilis*, beaucoup de facteurs influencent le pouvoir antibactérien. Cela se manifeste par la large différence des diamètres des zones d'inhibition. On remarque que pour une même variété des trois produits analysés, le pH du milieu et la concentration de l'extrait sont les composantes qui conditionnent les résultats.

La variété Ghars enregistre, dans les pH 7,2 et 8 pour la même souche, une inhibition moyenne, avec des diamètres allant de 6,63 mm à 9,2 mm. A pH 6, la variété Degla Baïda domine avec un diamètre de 8,8 mm. Les extraits des grains verts d'Arabica et de Robusta semblent ne pas avoir d'effet sur la souche *Bacillus subtilis*.

Dans le cas de la même souche (*B. subtilis*), la Deglet Nour enregistre un diamètre de 9,31 mm à pH 7,2 comme maximale alors qu'à pH 6 et 8 le diamètre décline avec des valeurs respectives à 0,2 mm et 4,5 mm. La variété Ali Ourached tout comme la Ghars affichent les maximales, avec 15,3 mm à pH 8 pour Ali Ourached tandis que Ghars donne les diamètres de 6,63 mm à pH 7,2 mm et 9,2 mm à pH 8.

Une remarquable activité antibactérienne a été enregistrée dans le cas de *Micrococcus luteus*. Le thé noir était le seul à chiffrer un diamètre d'inhibition de 15,2 mm. Le thé vert, café Robusta torréfié et Arabica torréfié ont enregistré des valeurs voisines, avec 12,76 mm, 12,72 mm et 12,36 mm respectivement. Les variétés Deglet Nour et Ghars semblent être plus efficaces que la variété Degla Baïda, qui n'a enregistré qu'un diamètre de 6,36 mm, une valeur qui chute de la moitié par rapport à celles enregistrées par les deux variétés Deglet Nour et Ghars.

De cela, on peut conclure que l'activité antibactérienne des différents extraits semble être en fonction de plusieurs paramètres, tels le pH, la concentration et la sensibilité de la souche, qui conditionnent tous l'efficacité de l'activité biologique des composés qui en ont responsables.

Conformément à la norme suivie (NA 2821) on ne peut parler d'un effet antibactérien que si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur ou égal à 6 mm.

Suivant cette norme et d'après les résultats trouvés précédemment pour les souches bactériennes (tableaux 7.10 – 7.13) et les antibiotiques (tableau 7.9), il s'avère que seuls les extraits pour les variétés :

- Degla Baïda (8,8 mm) avec *S. subtilis* à pH 6 à l'instar de la Pénicilline G (21,5 mm) ;
- Deglet Nour (9,31 mm) et Ghars (9,2 mm) avec *S. subtilis* à pH 7,2 à l'exemple de la Sulfadimidine (17,8 mm) ;
- Tous les extraits à l'exception de ceux des grains de café vert des deux variétés, avec *M. luteus* à pH 8 à l'exemple de la Streptomycine (27,3 mm).

Ont une activité antibactérienne plus au moins inhibitrice, car les diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques sont nettement plus élevés que ceux donnés par les différents extraits.

Les figures 7.7-7.10 représentent une comparaison des zones d'inhibition des différents extraits avec différentes souches à différents pH 6 et à la concentration volume pour volume.

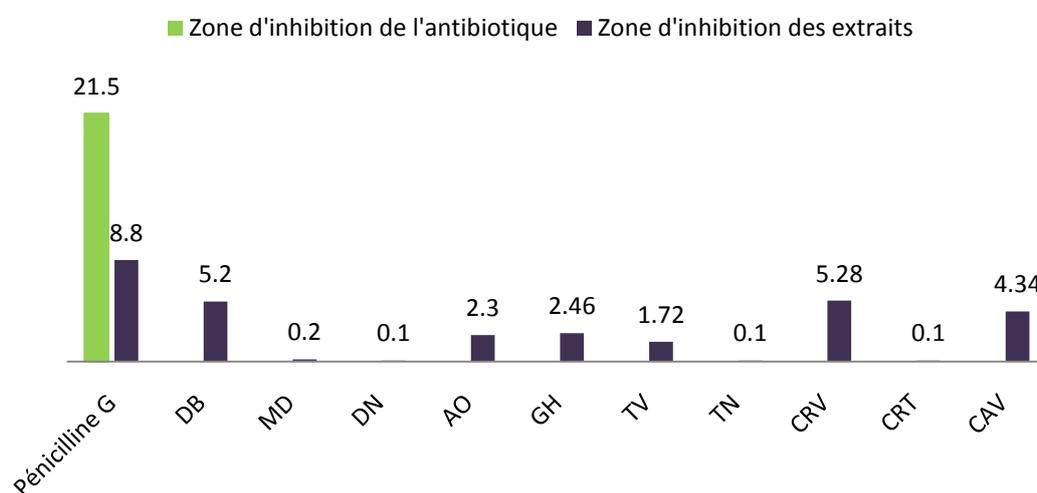


Figure 7.8 : Comparaison des zones d'inhibition des cinq extraits de datte avec la Pénicilline G avec *Bacillus subtilis* à pH 6.

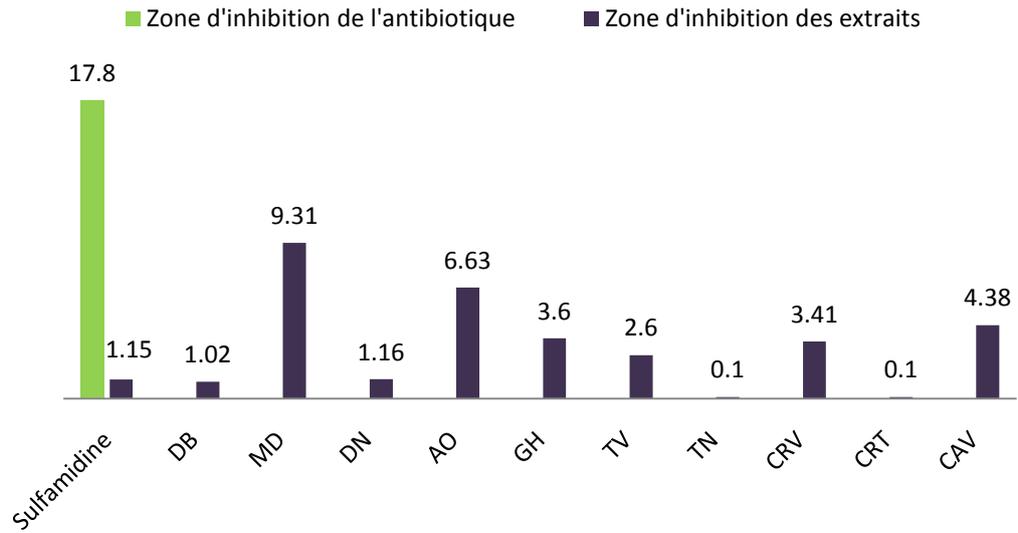


Figure 7.9 : Comparaison des zones d’inhibition des cinq extraits de datte avec la Pénicilline G avec *Bacillus subtilis* à pH 7,2.

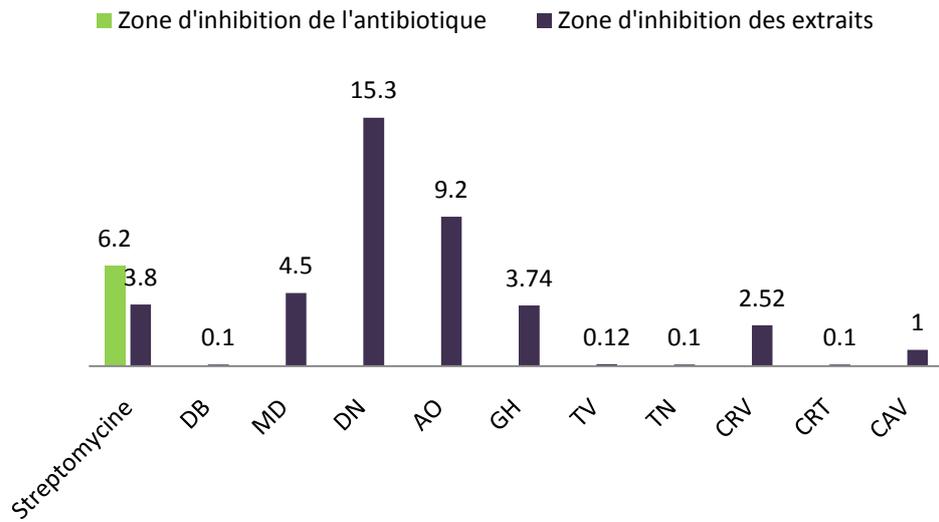


Figure 7.10: Comparaison des zones d’inhibition des extraits avec la Streptomycine avec *Bacillus subtilis* à pH 8.

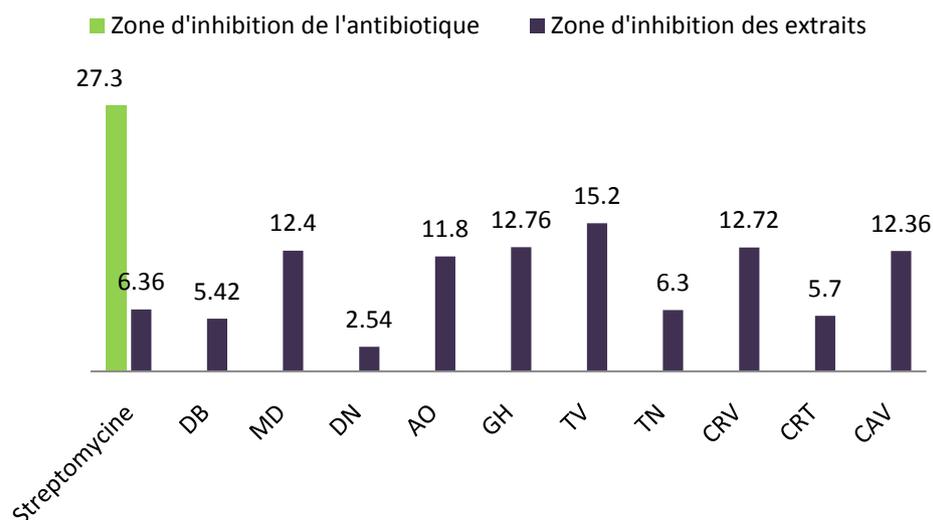


Figure 7.11 : Comparaison des zones d'inhibition des extraits avec la Streptomycine avec *Micrococcus luteus* à pH 8.

A partir de ces résultats, nous avons établi le tableau 7.14, qui illustre une évaluation de l'activité antibactérienne de chaque extrait.

Tableau 7.14 : Evaluation du pouvoir antibactérien des différents extraits.

	DB	DN	GH	TV	TN	CRV	CRT	CAV	CAT
<i>B. subtilis</i> à pH 6	+++	-	-	+	+	-	++	-	++
<i>B. subtilis</i> à pH 7,2	-	++	+	++	+	-	+	-	+
<i>B. subtilis</i> à pH 8	+	+	+++	+	-	-	+	-	+
<i>M. luteus</i> à pH 8	++	++++	++++	++++	++++	+++	++++	+++	++++

(-) : Négatif (+) : Faible (++) : Moyen (+++) : Bon (++++) : Très bon

1.8.2 L'activité antifongique

Les tableaux ci-dessous représentent les diamètres d'inhibition des antifongiques et des extraits vis-à-vis les deux souches fongiques utilisées (*C. albicans* et *A. niger*):

Diamètres des zones d'inhibition donnés par les disques d'antifongiques

Tableau 7.15 : Diamètres moyens des zones d'inhibition (en mm) obtenus avec les disques d'antifongiques :

	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
Kétoconazole	15,2 ± 0,06	3,28 ± 0,1
Conazole	5,03 ± 0,04	18,2 ± 0,22

Diamètres des zones d'inhibition donnés par les extraits de dattes

- Avec *Candida albicans*

Tableau 7.16 : Diamètres moyens des zones d'inhibition des extraits de dattes (en mm) obtenus avec *Candida albicans* :

	Degla Beida	Mech Degla	Deglet Nour	Ali Ourached	Ghars
∅ d'inhibition	5,15 ± 0,62	2,49 ± 0,05	1,57 ± 0,12	12,2 ± 0,22	6,07 ± 0,13

- Avec *Aspergillus niger*

Tableau 7.17: Diamètres moyens des zones d'inhibition des extraits de dattes (en mm) obtenus avec *Aspergillus niger* :

	Degla Beida	Mech Degla	Deglet Nour	Ali Ourached	Ghars
\emptyset d'inhibition	13,5 ± 0,32	14,8 ± 0,54	6,21 ± 0,08	9,6 ± 0,06	1,3 ± 0,01

L'analyse générale des tableaux 7.16 et 7.17 nous permet de constater que la totalité des extraits possèdent au moins un effet sur l'une des souches fongiques.

En effet, les extraits de la Degla Beida, Mech Degla et de la Deglet Nour donnent des résultats plus probants avec la moisissure *A. niger* (13,5 mm, 14,8 mm et 6,21mm) qu'avec la levure *C. albicans* (5,15 mm, 2,49 mm et 1,51mm), tandis que, Ghars est plus concluante avec *C. albicans* (6,07mm) qu'avec *A. niger* (1,3mm).

L'extrait de Ali Ourached montre une efficacité avec les deux souches fongiques, avec 9,6 mm de diamètre pour *A. niger* et 12,2 mm pour *C. albicans*

Les figures 7.11 et 7.12 représentent une comparaison entre les zones d'inhibition des deux antifongiques avec ceux des différents extraits.

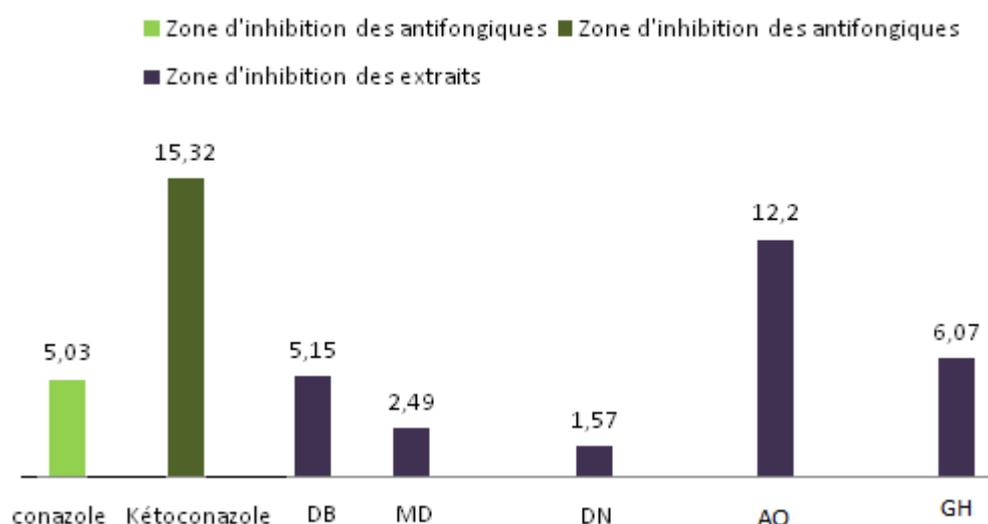


Figure 7.12 : Comparaison des zones d'inhibition des extraits de datte avec les antifongiques avec *Candida albicans*.

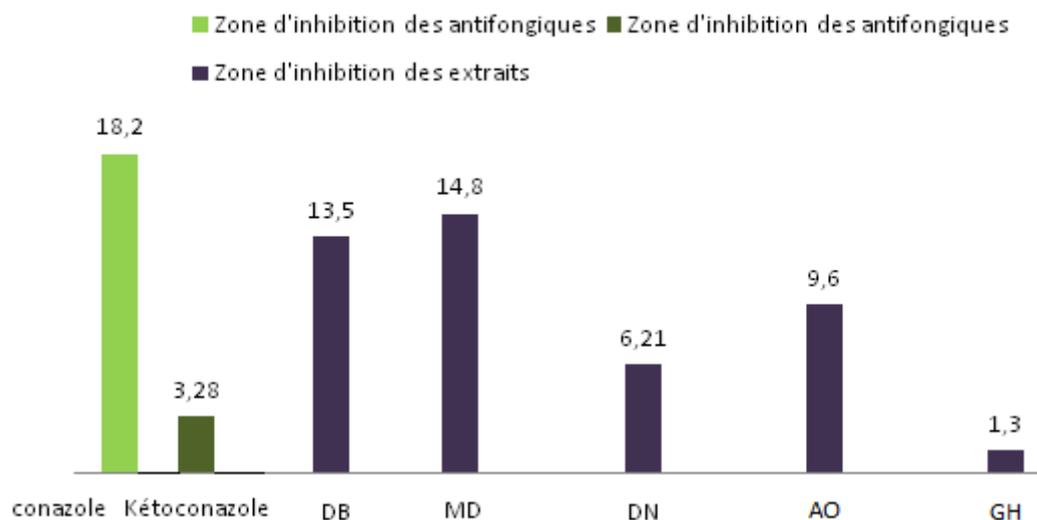


Figure 7.13 : Comparaison des zones d'inhibition des extraits de datte avec les antifongiques avec *Aspergillus Niger*.

En comparant les résultats des diamètres d'inhibition de la Moisissure *A. niger* et de la levure *C. albicans* avec ceux des antifongiques (tableau 7.15), on peut dire qu'à l'instar de la Kétoconazole l'extrait de Ghars a un pouvoir fongistatique qui inhibe la croissance de *C. albicans*.

Les extraits de Mech Degla, Degla Beida, Deglet Nour et Ali Ourached ont un pouvoir fongistatique qui inhibe la croissance de *A. niger*.

En se basant sur ces résultats, le tableau 7.18 vient pour consolider l'idée de l'efficacité de nos extraits comme antifongiques :

Tableau 7.18 : Evaluation du pouvoir antibactérien des cinq extraits :

	Degla Beida	Mech Degla	Deglet Nour	Ali Ourached	Ghars
<i>C. albicans</i>	++	+	-	++++	++
<i>A. niger</i>	++++	++++	+	+++	-
(-) : Négatif (+) : Faible (++) : Moyen (+++) : Bon (++++) : Très bon					

Les extraits du thé et du café ont donné des résultats relativement faibles pour les deux souches, pour certaines boites ; l'inhibition était très faible. Ainsi, la diffusion de l'extrait dans le milieu a rendu difficile l'évaluation du taux d'inhibition et la détermination du diamètre de ce dernier.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au cours de ces dernières années, un intérêt croissant pour les molécules possédant naturellement des activités antioxydantes a été manifesté.

Les composés phénoliques sont connus depuis l'ancien temps comme étant des métabolites secondaires des végétaux, mais ce n'est que récemment, que leurs activités biologiques ont été démasquées.

Le but principal de notre étude était de mieux extraire et caractériser ces composés trésors à partir des dattes, thé et café. Les différents modes d'extraction des composés phénoliques, réalisés au cours de notre étude, ont montré que, pour chaque matrice, chaque solvant, et chaque condition d'extraction, les composés phénoliques se comportent différemment. La solubilité des polyphénols semble être fortement liée au degré de polarité des solvants organiques servant à les extraire. La température semble en avoir aussi, un effet déterminant lors de l'extraction des polyphénols. Elle facilite l'extraction à des températures modérées, au-delà d'un certain seuil, le rendement décline et l'efficacité est affectée.

Le criblage chromatographiques des extraits, mettant en évidence la présence de la Quercétine dans la plus part des extraits, nous renseigne sur la possibilité que le pouvoir antiradicalaire détecté, soit en grande partie due à la présence de cette molécule.

Les résultats du test au DPPH servant à déterminer l'activité antioxydante de nos extraits indiquent la présence d'une corrélation linéaire significative entre le pouvoir antiradicalaire des extraits et leur teneur en composés phénoliques sauf pour le thé vert et la variété Ali Ourached. Le thé vert étant le plus riche en composés phénoliques, n'a présenté que 89,12 % d'inhibition, une valeur qui voisine le chiffre enregistré par le thé noir (84,55%). La même constatation a été notée dans le cas de la variété Ali Ourached, qui a enregistré la teneur la plus élevée en polyphénols, mais n'a représenté que 59,29 % d'inhibition, une valeur faible comparativement à celle enregistré par la variété Degla Baïda, et qui est de 98,28%.

Les résultats qu'on a obtenus lors de l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits, sont prometteurs vue qu'on a enregistré des spectres d'inhibition, moyennement inférieurs à ceux des antibiotiques de référence, mais qui restent satisfaisants, pratiquement, et qui peuvent être amplifiés à des concentrations plus croissante ($[C] > V/V$). La variété Ali Ourached a enregistré un spectre d'inhibition supérieur à celui donnée par la Streptomycine vis-à-vis la souche *Bacillus Subtilis* à pH 8 ; ce résultat fait de la variété un réel potentiel antibactérien à exploiter.

Les extraits de thé et de café se sont révélés inactifs vis-à-vis les deux souches fongiques testées (*Candida Albicans* et *Aspergillus Niger*) et aucune synergie n'a été détectée pendant l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Ces résultats contribuent à une meilleure connaissance des pouvoirs antioxydants et antibactériens de ces espèces végétales. Les mécanismes d'action de chaque composé phénolique contre diverses bactéries semblent être très compliqués, il serait dès lors nécessaire d'approfondir cet aspect et de mieux comprendre le rapport entre l'activité antibactérienne et antioxydante.

Ces résultats restent préliminaires. Des études complémentaires approfondies touchant à l'identification des composés phénoliques par des méthodes plus performantes semblent être nécessaires, à fin de pouvoir isoler les molécules qui sous tendent les diverses activités biologiques détectées dans les différents extraits, et mieux caractériser et

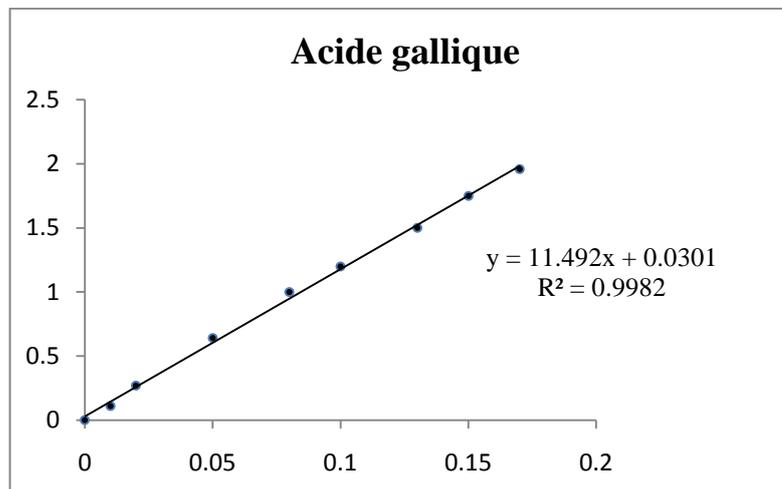
évaluer ces activités, pour chaque composé séparément. Il serait aussi intéressant de diversifier la gamme des produits testés, à savoir d'autres variétés des dattes vue le large patrimoine variétal que l'Algérie possède.

Pour mieux évaluer l'activité antioxydante des extraits riches en polyphénols, une purification suivie par des études *in vivo* semblent être un moyen efficace et prometteur visant des marqueurs biologiques bien définis telle la peroxydation lipidique, en se basant sur des notions de la pharmacocinétique et de la pharmacodynamique afin de pouvoir déterminer les bonnes doses préventives et thérapeutiques.

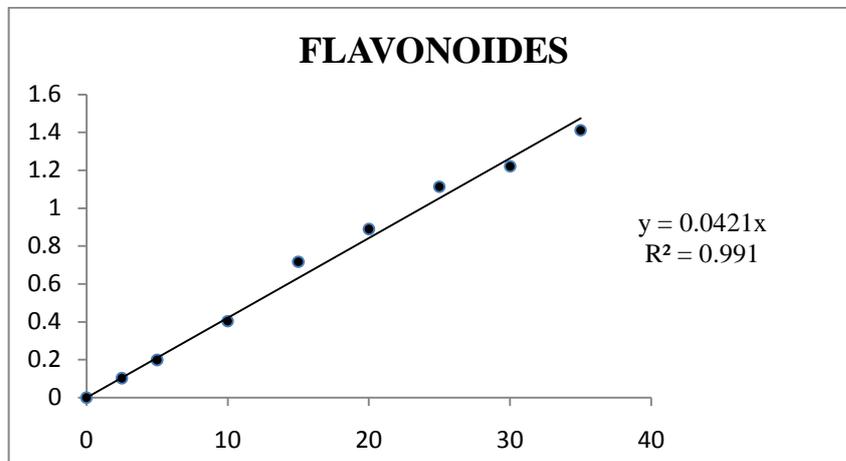
APPENDICES

-1-

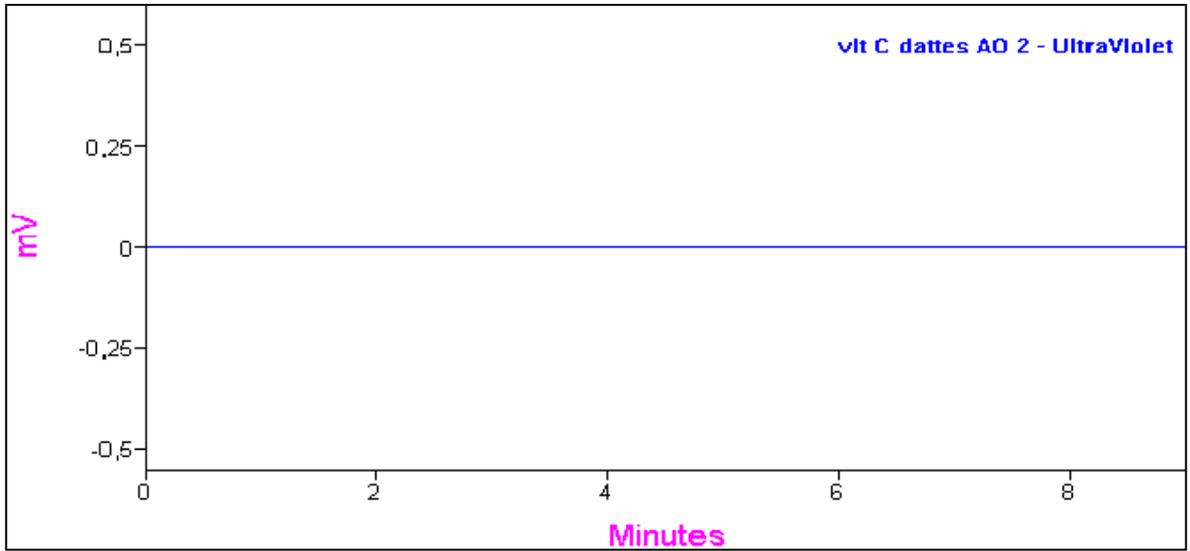
1 Gamme d'étalonnage des polyphénols



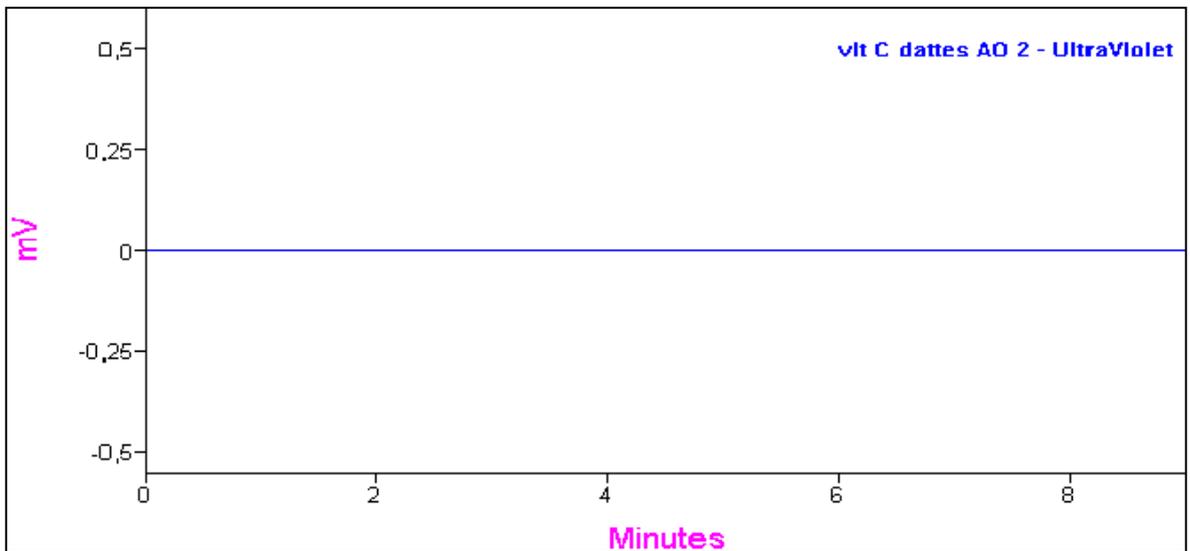
2 Gamme d'étalonnage des flavonoïdes



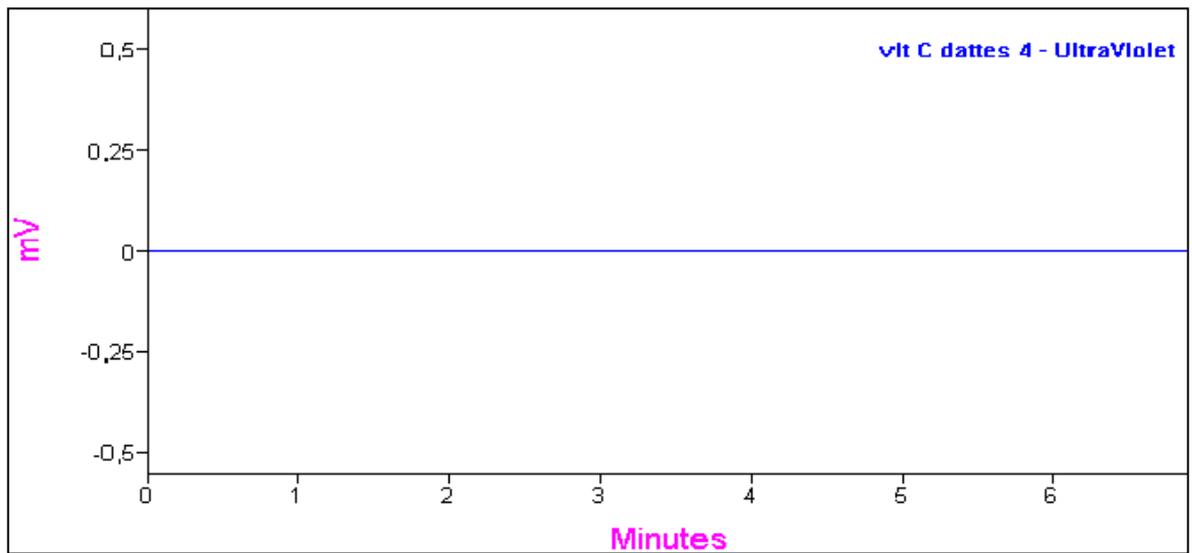
3 Chromatogramme du dosage de la vitamine C de la variété Ali Ourached



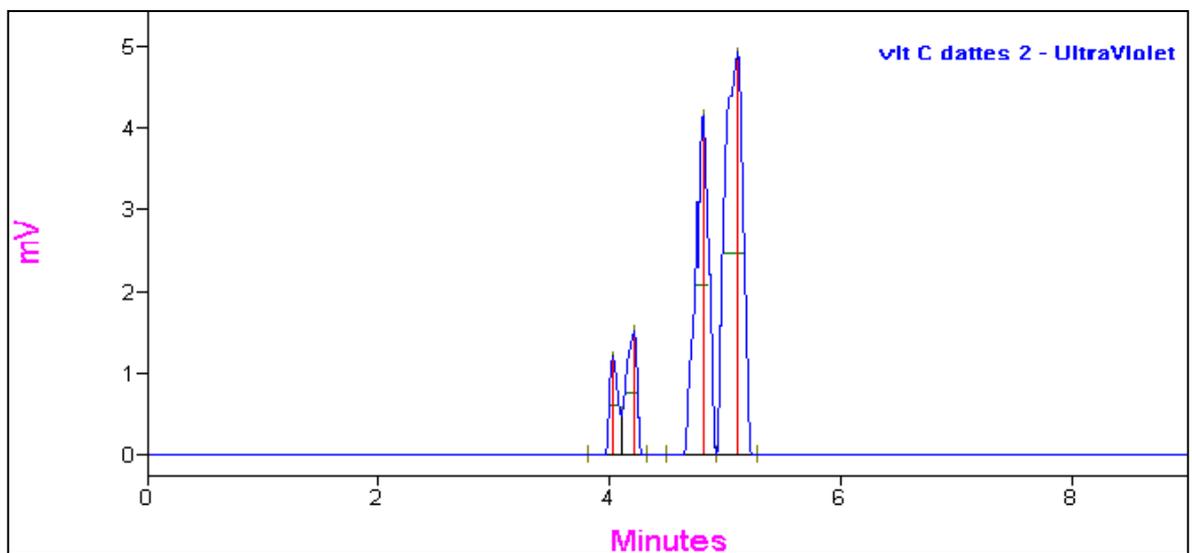
4 Chromatogramme du dosage de la vitamine C de la variété Deglet Nour



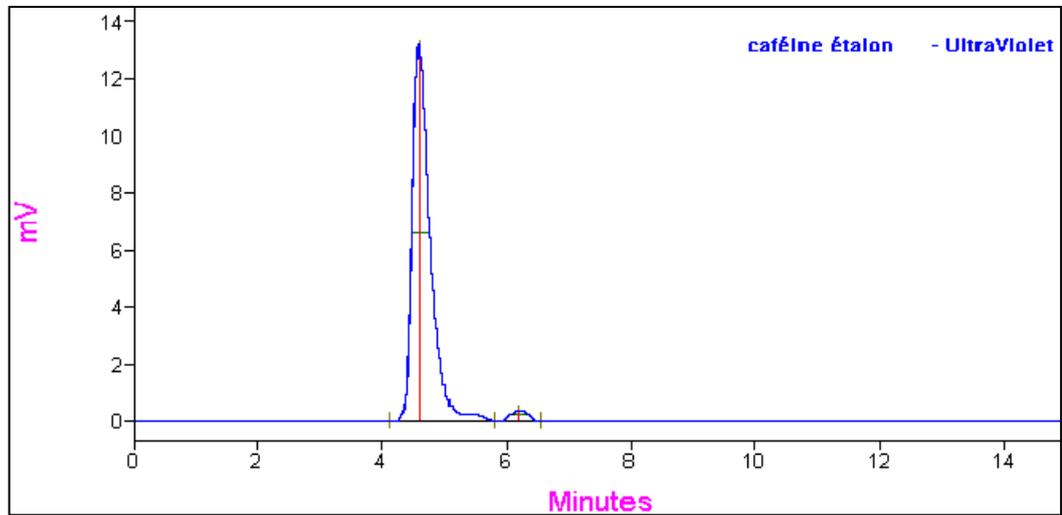
5 Chromatogramme du dosage de la vitamine C de la variété Degla Beida



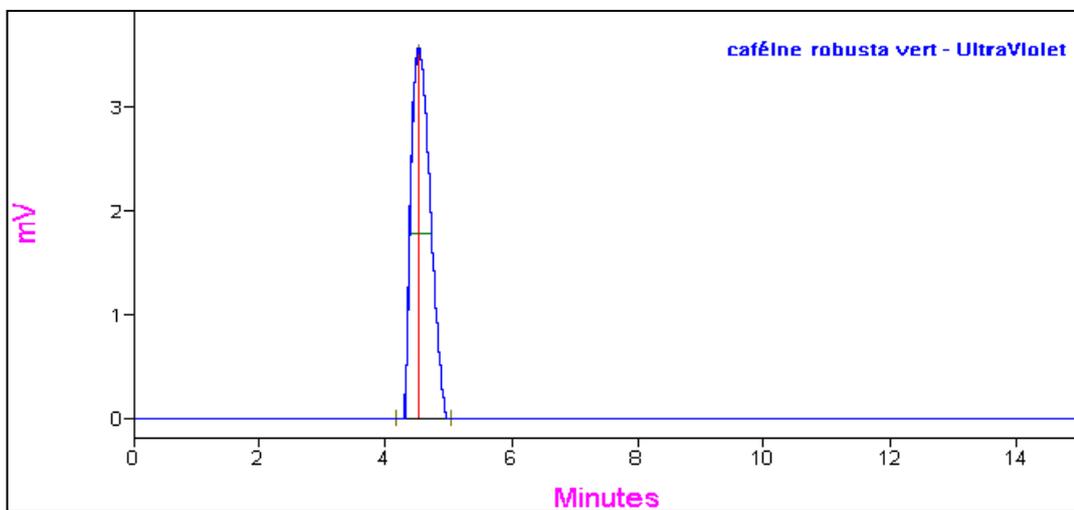
6 Chromatogramme du dosage de la vitamine C de la variété Ghars



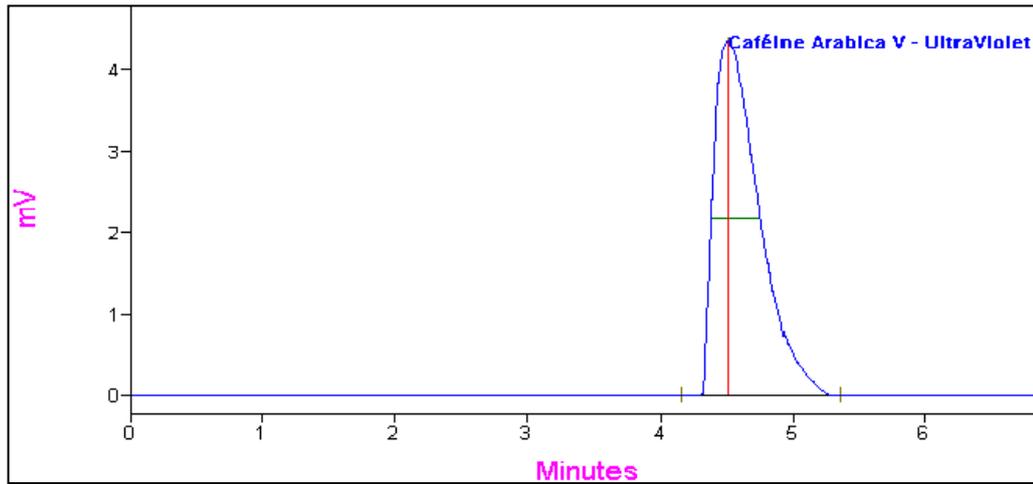
7 Chromatogramme de la caféine étalon.



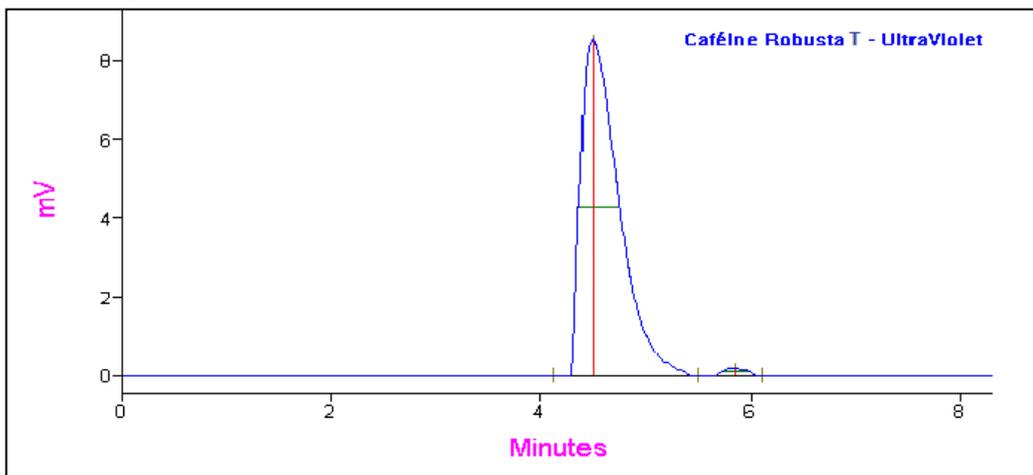
8 Chromatogramme du café Robusta vert



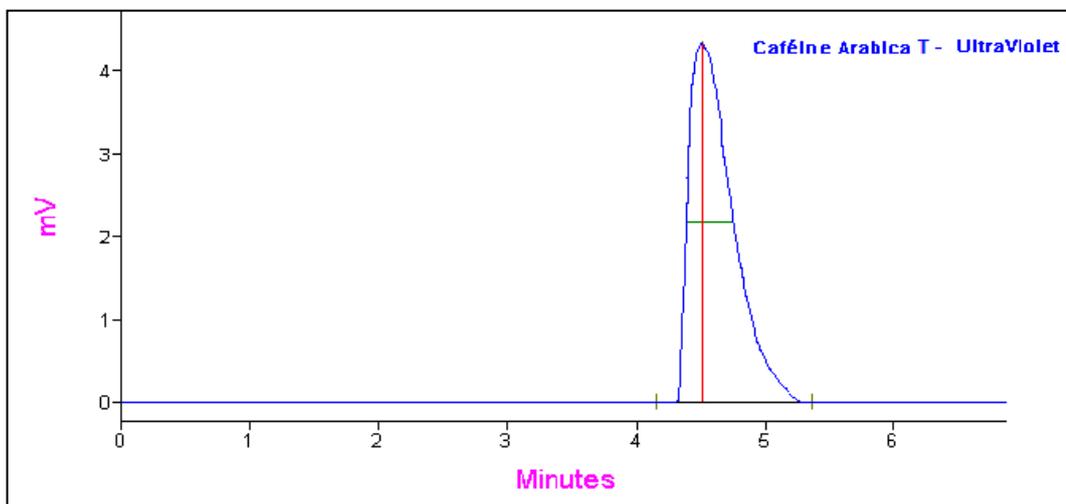
9 Chromatogramme du café Arabica vert.



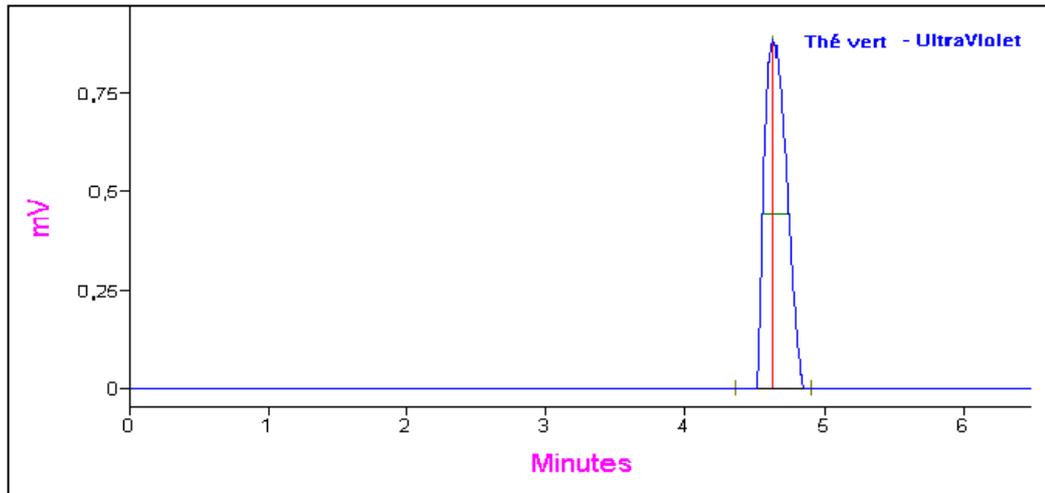
10 Chromatogramme du café Robusta torréfié.



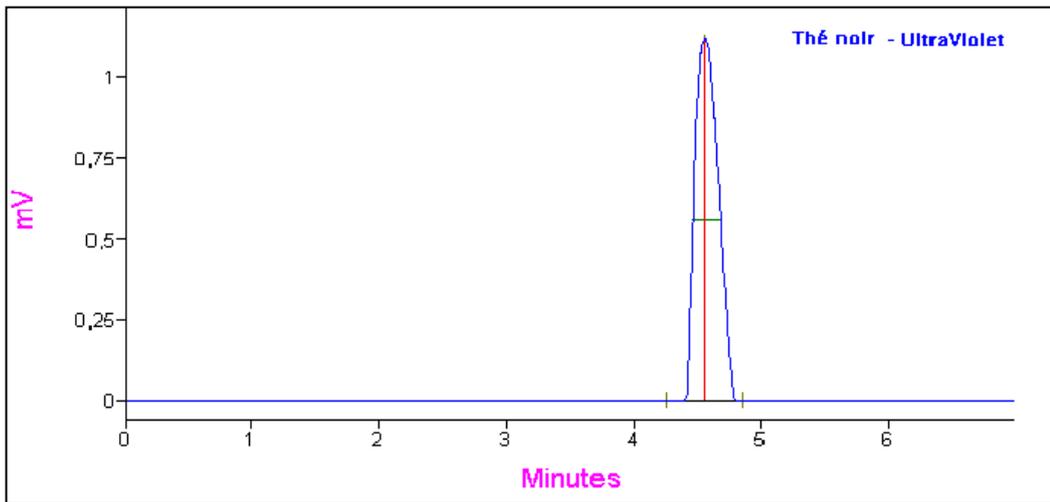
11 Chromatogramme du café Arabica torréfié.



12 Chromatogramme du thé vert.

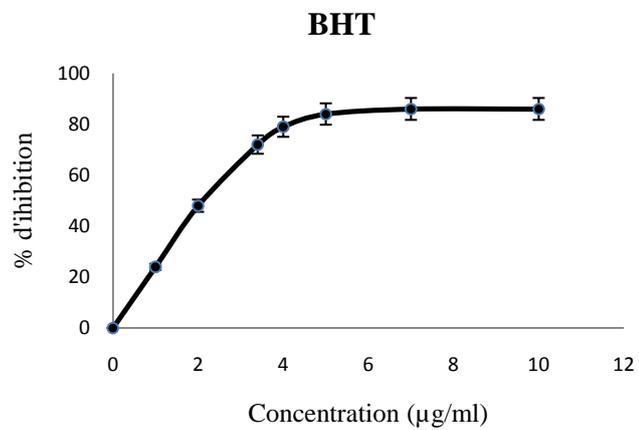


13 Chromatogramme du thé noir.



-4-

14 Pouvoir d'inhibition du BHT



15 Les milieux de culture

➤ Milieux de cultures pour les tests des activités antibactériennes

- Agar test pH 6,0 pour substances inhibitrices (g/l) :

Peptone de caséine tryptique.....	3,45
Peptone de viande	3,45
Chlorure de sodium	5,10
Agar agar	13,0

- Agar test pH 8,0 pour substances inhibitrices (g/l) :

Peptone de caséine	3,45
Peptone de viande	3,45
Chlorure de sodium	5,10
Phosphate tri sodium	2,40
Agar agar	15,0

- Agar test pH 7,2 pour substances inhibitrices (g/l) :

Peptone de caséine	3,68
Peptone de viande	3,60
Chlorure de sodium	5,00
Phosphate tri sodium	0,80
Agar agar	15,0

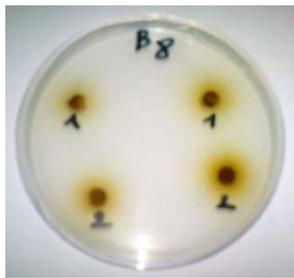
➤ Milieux de cultures pour les tests des activités antifongiques

- Agar de Sabouraud à 1% de glucose et à 1% maltose (g/l) :

Peptone de caséine	5
--------------------------	---

Peptone de viande	5
D(+) Glucose	10
Agar agar	15

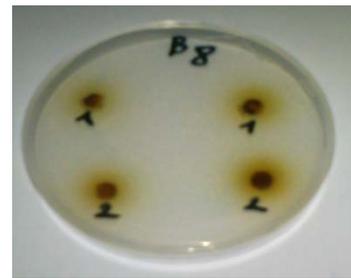
16 Antibiogrammes des différents extraits



1 : CAT
2 : CRT



3 : CAV
4 : CRV



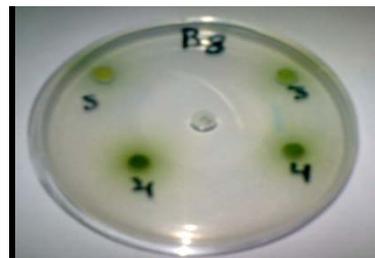
1 : CAT
2 : CRT



3 : CAV
4 : CRV



5 : TN
6 : TV



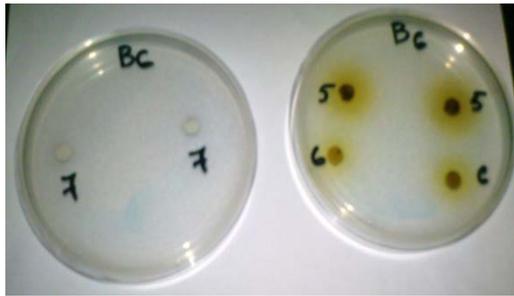
3 : CAV
4 : CRV



5 : TN 6 : TV
7 : BD



3 : CAV 4 : CRV
1 : CAT 2 : CRT



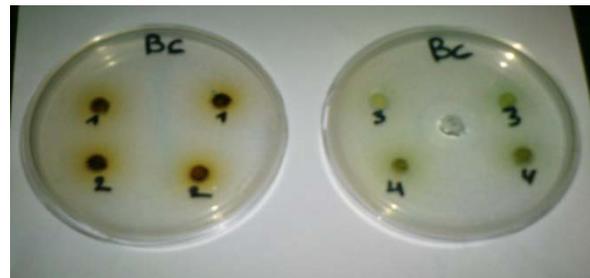
5 : TN 6 : TV
7 : BD



3 : CAV 4 : CRV
1 : CAT 2 : CRT

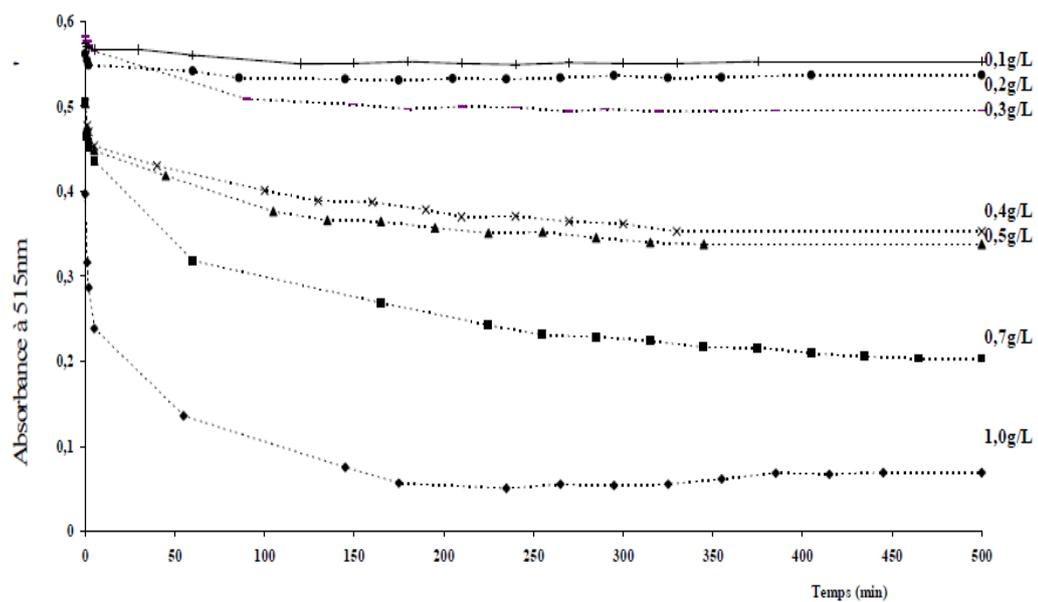


5 : TN 6 : TV
7 : BD



3 : CAV 4 : CRV
1 : CAT 2 : CRT

17 Evolution de l'absorbance à 515 nm en fonction du temps de solutions contenant du DPPH et différentes concentrations de café



LISTE DES ABRÉVIATIONS

ATP : Adénosine triphosphate

AO : Ali Ourached

BH₄ : Tétrahydrobioptérine

CAF : Caféine

CAV : Café arabica vert

CAT : Café arabica torréfié

CRV : Café robusta vert

CRT : Café robusta torréfié

DA : Décoctés aqueux

DB : Degla Baida

DN : Deglet Nour

EA : Extrait aqueux

EE : Extraits éthanoliques

EC : Épicatéchine

EGC : Épigallocatechine

ECG : Épicatéchine gallate

EGCG: Épigallocatechine gallate

EM: Extrait méthanolique

eNOS : Synthase endothéliale de l'oxyde nitrique

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

FAO : Food and agriculture organisation

GH : Ghars

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion oxydé disulfure

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HPLC : High Performance Liquide Chromatography

LDL: Low density lipoprotein

MA : Macérés aqueux

MD : Mech Degla

NO: monoxyde d'azote

OH: Radical hydroxyle

O₂⁻: Anion superoxyde

O₃: Ozone

ONOO: Péroxynitrite

RC : Reflux de chaleur

ROO·: Radical peroxyde

ROS: Reactive Oxygen Species

R-GSSG: Glutathion réductase

SOD: Super-oxyde dismutase

TF: Théaflavine

TB: Théobromine

TN : Thé noir

TP: Théophylline

TR: Théarubigine

TV : Thé vert

VLDL: Very low density lipoprotein

UV: ultra-violet

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Bravo, L., Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance, *Nutrition Reviews*, V. 56, n°11, (1998), 317 - 333.
- [2] Favier, A., Guillard, J.C., Potier de Courcy, G., Galan, P. and Hercberg, S., Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor or a simple marker of vascular disease? 1. Basic data, *Pathol Biol (Paris)*, V. 51, n°2, (2003), 101-10.
- [3] Atamer, A., Bilici, A., Yenice, N., Selek, S., Ilhan, N., and Atamer, Y., The importance of paraoxonase activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis, *J. Int. Med. Res.*, (2008), 771-776.
- [4] Tremellen, K., Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective, *Hum. Reprod Update*, (2008), 243-258.
- [5] Muzykantov, V.R., Targeting of superoxide dismutase and catalase to vascular endothelium, *J. Control Release*, V. 71, n°1, (2001), 1-21.
- [6] Zou, Y., Qian, Zl., Li, Y., Kim, MM., Lee, SH. and Kim, SK. Antioxidant Effects of Phlorotannins Isolated from *Ishige okamurae* in Free Radical Mediated Oxidative Systems, *J. Agric. Food. Chem.*, (2008).
- [7] Finaud, J., Lac G and Filaire, E., Oxidative stress: relationship with exercise and training, *Sports Med.*, V. 36, (2006), 327-358.

- [8] Valko, M., Rhodes, C.I., Moncol, J., Izakovic M and Mazur M., Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chem Biol Interact.*, (2006), 1-40.
- [9] Moller, P, Wallin, H. and Knudsen, L.E., Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors, *Chem Biol Interact.*, V. 102, (1996). 17-36.
- [10] Wassmann, S., Wassmann, K., and Nickenig, G., Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells, *Hypertension*, V. 44, n°4, (2004), 381-6.
- [11] Griending, K.K., Sorescu, D., and Ushio-Fukai, M., NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease, *Circ Res*, V. 86, n°5, (2000), 494-501.
- [12] Bayraktutan, U., Free radicals, diabetes and endothelial dysfunction, *Diabetes Obes Metab*, V. 4, n°4, (2002), 224-38.
- [13] Hwang, J., et al., Pulsatile versus oscillatory shear stress regulates NADPH oxidase subunit expression: implication for native LDL oxidation, *Circ. Res.*, V. 93, n°12, (2003), 1225-1232.
- [14] Laight, D.W., M.J. Carrier, and Anggard, E.E., Antioxidants, diabetes and endothelial dysfunction, *Cardiovasc Res*, V. 47, n°3, (2000), 457-464.
- [15] Vincent, H.K. and Taylor, A.G., Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans, *Int. J. Obes., (Lond)*, V. 30, (2006), 400-418.
- [16] Andrew, P.J. and Mayer, B., Enzymatic function of nitric oxide synthases, *Cardiovasc Res*, V. 43, n°3, (1999), 521-531
- [17] Hu, Y., Block, G., Norkus, E.P., Morrow, J.D., Dietrich, M. and Hudes, M., Relations of glycemic index and glycemic load with plasma oxidative stress markers, *Am. J. Clin. Nutr.*, V. 84, 70-76, (2006), 266-267.

- [18] Bentes de Souza, A.M., Wang, C.C., Chu, C.Y., Briton-Jones, C.M., Haines, C.J. and Rogers, M.S., In vitro exposure to carbon dioxide induces oxidative stress in human peritoneal mesothelial cells, *Hum Reprod.*, V. 19, (2004), 1281-1286.
- [19] Valko M, Morris H and Cronin MT Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem.*, (2005). 12, 1161-1208.
- [20] Houston, M.C., The role of mercury and cadmium heavy metals in vascular disease, hypertension, coronary heart disease, and myocardial infarction. *Altern. Ther. Health Med.*, V.13, (2007), 128-133.
- [21] Kelly, F.J., Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects. *Oecup Environ Med.*, V. 60, (2003), 612-616.
- [22] Romieu, I., Castro-Giner, F., Kunzli, N. and Sunyer, J., Air pollution, oxidative stress and dietary supplementation: a review, *Eur. Respir.*, V. 31, (2008), 179-197.
- [23] Rahman, I. and Biswas, S.K., Non-invasive biomarkers of oxidative stress: reproducibility and methodological issues, *Redox Rep.*, (2004). 9, 125-143.
- [24] Wang, Y., Bulky DNA lesions induced by reactive oxygen species, *Chem. Res. Toxicol.*, V. 21, (2008), 276-281.
- [25] Dalle-Donne, L., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D. and Milzani, A., Biomarkers of oxidative damage in human disease, *Clin. Chem.*, V. 52, (2006), 601-623.
- [26] Chevion, M, Berenshtein, E. and Stadtman, E.R., Human studies related to protein oxidation: prote in carbonyl content as a marker of damage, *Free Radie Res.* 33 Suppl, (2000), 99-108.

- [27] Kadiiska, M.B., Gladen, B.C., Baird, D.D. et Germolec, D., Biomarkers of oxidative stress study II: are oxidation products of lipids, proteins, and DNA markers of CCl₄ poisoning? *Free Radic Biol. Med.* V. 38, (2005), 698-710.
- [28] Rietzschel, E.R., Langlois, M., De Buyzere, M.L., Segers, P., De Bacquer, D., Bekaert, S., Cooman, L., Van Oostveldt, P., Verdonck, P., De Backer, G.G. et Gillebert, T.C., Oxidized low-density lipoprotein cholesterol is associated with decreases in cardiac function independent of vascular alterations, *Hypertension*, V.52, (2008), 535-541.
- [29] Willcox, L.K., Ash, S.L. et Catignani, G.L., Antioxidants and prevention of chronic disease, *CrU Rev. Food Sei. Nutr.*, V. 44, (2004), 275-295.
- [30] Carney, M. et Camey, A.M., Role of protein oxidation in aging and in age-associated neurodegenerative diseases, *Life Sei.*, V. 55, (1994), 2097-2103.
- [31] Harman, D., Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry, *J. Gerontol II*, (1956), 298-300.
- [32] Chehab, O. , Ouertani M, Souiden Y, Chaieb K et Mahdouani, K., Plasma antioxidants and human aging: a study on healthy elderly tunisian population. *Mol Bioteehnol*, V. 40, (2008), 27-37.
- [33] Chiba, Y., Shimada, A., Kumagai , N., Yoshikawa, K., Ishii, S., Furukawa, A., Takei, S., Sakura, M., Kawamura, N. et Hosokawa, M., The Senescence-accelerated Mouse (SAM): A Higher Oxidative Stress and Age-dependent Degenerative Diseases Model. *Neuroehem Res.*, (2008).
- [34] Rahman, K., Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin. Interv. aging*, (2007), 219-236.
- [35] Couillard, C., Antioxydants et systèmes biologiques. In *Antioxydants et santé: NTR- 67049* (U Laval, editor). Québec, (2006).

- [36] Maritim, A.C., R.A. Sanders, and Watkins, J.B., 3rd Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem. Mol. Toxicol.*, V. 17, n°1, (2003), 24-38.
- [37] Lu, S.C., Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies. *Faseb. J.*, V. 13, (1999), 1169-83.
- [38] Fernandez-Checa, J.C. et Kaplowitz, N., Hepatic mitochondrial glutathione: transport and role in disease and toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, V. 204, (2005), 263-73.
- [39] Gallogly, M.M., Mieyal, J.J., Mechanisms of reversible protein glutathionylation in redox signaling and oxidative stress. *Curr. Opin. Pharmacol.*, V.7, (2007), 381-391.
- [40] Traber, M.G., Frei, B. et Beckman, L.S., Vitamin E revisited: do new data validate benefits for chronic disease prevention? *Curr Opin. Lipido.*, V. 119, (2008), 30-38.
- [41] Stahl, W. et Sies, H., Antioxidant activity of carotenoids. *Mol Aspects Med*, V. 24, (2003), 345-51.
- [42] Frei, B., Efficacy of dietary antioxidants to prevent oxidative damage and inhibit chronic disease. *J. Nutr.*, V. 134, (2004), 3196S-3198S.
- [43] Kadirvel, R., Sundaram, K., Mani S, Samuel S, Elango, N. et Panneerselvam, C., Supplementation of ascorbic acid and alpha-tocopherol prevents arsenic-induced protein oxidation and DNA damage induced by arsenic in rats. *Hum Exp Toxicol*, V. 26, (2007), 939-946.
- [44] Sabat, R., Guthmann, F. et Rustow, B., Formation of reactive oxygen species in lung alveolar cells: effect of vitamin E deficiency. *Lung*, V. 186, (2008), 115-122.
- [45] Singh, U., Devaraj, S. et Jialal, L., Vitamin E, oxidative stress, and inflammation. *Annu. Rev. Nutr.* , V. 25, (2005), 151-174.

- [46] Gatellier, P., Mercier, Y., Rock, E. et Rennerre, M., Influence of dietary fat and vitamin E supplementation on free radical production and on lipid and protein oxidation in turkey muscle extracts. *J. Agric. Food Chem.*, V. 48, (2000), 1427-1433.
- [47] Anlasik, T., Sies, H., Griffiths, H.R., Mecocci, P., Stahl, W. et Polidori, M.C., Dietary habits are major determinants of the plasma antioxidant status in healthy elderly subjects, *Br. J. Nutr.*, V. 94, (2005), 639-642.
- [48] Murray, J.C., Burch, J.A., Streilein, R.D., Lannacchione, M.A, Hall, R.P. et Pinnell, S.R., A topical antioxidant solution containing vitamins C and E stabilized by ferulic acid provides protection for human skin against damage caused by ultraviolet irradiation, *J. Am. Acad Dermatol*, V. 59, (2008), 418-425.
- [49] Rhodes, M.J.C., Physiological rôles for secondary metabolites in plants: some progress, many outstanding problems, *Plant Mol. Biol.*, V. 24, (1994), 1-20
- [50] Graglia, E., Julkunen-Tiito, R. et Shaver, G.R., Environmental control and intersite variations of phenolics in *Betula nana* in tundra ecosystems. *New Phytologist*, V. 151, (2001), 227-236.
- [51] Bahourun, T., Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle, *Food Agric.*, N° special, (1997), 83-95.
- [52] Martin, S. et Andriantsitohaina, R., Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium, *Annales de cardiologie et d'angéologie*, V. 51, (2002), 304-315.
- [53] Bravo, L., Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance, *Nutr. Rev.*, V. 56, (1998), 317-333.

- [54] Macheix, J. J., Fleuriet, A. et Christian J.A., Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importances économiques. Collection biologie, Presses polytech. Et universitaires Romandes, (2005), 192p.
- [55] Macheix, J. J., Fleuriet, A. et Billot, J., Fruit phenolics, CRC press, Boca Raton, (1990), 378p.
- [56] Dacosta, Y., les phytonutriments bioactifs, Edition Yves Dacosta, (2003).
- [57] Sarni-Manchado, P. et Cheynier, V., Les polyphénols en agroalimentaire, Ed Tec et Doc, Paris, (2006), 258p.
- [58] Heim, E.K., Tagliaferro, A.R. et Bobilya, D.J., Flavonoid antioxydants: Chemistry, Métabolism and structure-activity relationships, The Journal of Nutritional Biochemistry, V. 13, (2002), 572-584.
- [59] Pietta, P.G., Flavonoids as antioxydants, Journal of natural products, V. 63, (2000), 1035-1042.
- [60] Stevanovic, T., Automne : Chimie du bois. CHM-22170, Université Laval, Québec, Canada, (2005), 6.6-6.20
- [61] Nacoulma-Ouedraogo, G., Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso, cas du plateau central, Tome I et II Thèse de Doctorat d'Etat. Université d'Ouagadougou, (1996).
- [62] Perret, C., Analyse des tannins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite pour *Botrytis cinerea*, Thèse de Doctora, (2001).
- [63] Krisa, S., Waffo Teguo, P., Deffleux, G., Huguet, F., M'rillon, J.M., Production, purification et activité biologique des stilbènes extraits des cultures cellulaires de *Vitis vinifera* L., Bull. Soc. Pharm., V. 136, (1997), 7-18.
- [64] Krief, S., Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observation de l'alimentation de chimpanzé en Ouganda,

activités biologiques et étude chimique de plantes consommées, Thèse de Doctora, Brunoy, (2003), 237p.

- [65] Bruneton, J., Flavonoides In: Pharmacognosie, phytochimie: plantes médicinales, 3^{ème} édition, Techniques de Documentation, Paris, (1999), 331-353.
- [66] Häkkinen, S., Flavonols and phenolic acids in berries and berry products. Thèse doctorale. KUOPIO, (2000), 93 p.
- [67] Naczk, M. et Shahidi, F., Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Article in press, (2006).
- [68] Bouton, F., Mise en évidence du potentiel allélopatique de la graminée *Festuca paniculata* dans les prairies subalpines, Rapport de stage de Master 1, Université JOSEPH FOURIER –UFR de biologie, Grenoble, (2005), 18p.
- [69] Rolland, R., Antioxydants naturels végétaux. Oléagineux Corps Gras et Lipides, V.11, n°6, (2004), 419-424.
- [70] Chung, K.T., Wong, T. Y., Wei, C.I., Huang, Y.W. et Lin, Y., Tannins and human health: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, V. 38, n°6, (1998), 421-464.
- [71] Servili, M., Selvaggini, R., Esposto, S., Taticchi, A., Montedoro, G. et Morozzi, G., Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. Journal of Chromatography A, (2004), 113-127.
- [72] Hanachi, S., Khitri, D., Benkhalifa, A. et Brac de Perrière, R.A., Inventaire variétal de la palmeraie algérienne, (1998), 225 p.
- [73] Munier, P., Le palmier dattier, Ed. MAISONNEUVE, Paris, (1973), 221 p.

- [74] Djerbi, M., Précis de phoeniciculture. FAO, (1994), 192 p.
- [75] Espiard, E., Introduction à la transformation industrielle des fruits. Ed. Tech et Doc-Lavoisier, (2002), 360 p.
- [76] Mazoyer, M., Larousse agricole, le monde agricole au XXI ème siècle, Ed. MATHILDE MAJOREL, (2002), 224 p.
- [77] Gilles, P., Cultiver le palmier dattier .Ed. CIRAS, (2000), 110 p.
- [78] Bouguedoura, N., Connaissance de la morphogenèse du palmier dattier. Etude in situ et in vitro du développement morphogénétiques des appareils végétatifs et reproducteurs, Thèse de doctorat, U.S.T.H.B., Alger, (1991), 201 p.
- [79] Toutain, G., Rapport synthèse de l'atelier "Techniques culturelles du palmier dattier". In Options méditerranéennes, série, n° 28, Le palmier dattier dans l'agriculture d'oasis des pays méditerranéens, Ed. IAM, Zaragoza, Spain, (1996), 201-205.
- [80] Matallah M.A.A., 2004. Contribution à l'étude de la conservation des dates variété Deglet-Nour : Isotherme d'adsorption et de désorption, Mémoire d'Ingénieur, INA. El-Harrach, 79 p.
- [81] Dowsen ,V. H. W. et Aten, A., Récolte et conditionnement des dattes, F.A.O, Rome, (1963), 397 p.
- [82] Richard, R., Le précis de la phéniciculture, F.A.O, Tunis, (1972), 192 p.
- [83] Buelguedj, M., Caractéristiques des cultivars de dattiers du Sud-Est du Sahara algérien, (1996).
- [84] Booij, I., Piombo, G., Risterucci, J.M., Coupe, M., Thomas, D., et Ferry M., Etude de la composition chimique de dattes à différents stades de maturité pour la

caractérisation variétale de divers cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) *Fruits*, V. 47, n°6, (1992), 667-678.

- [85] Al-Shahib, W., Marshall, R.J., Dietary fibre content of dates from 13 varieties of date palm *Phoenix dactylifera* L. *International Journal of Food Science and Technology*, V. 37, (2002), 719-721.
- [86] Al Farsi, M. A. et Lee, C. Y., Nutritional and functional properties of dates: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, V. 48, (2008), 877–887.
- [87] Yahiaoui, K., Caractérisation physico-chimique et l'évolution du brunissement de la datte Deglet-Nour au cours de la maturation. Thèse Magister, INA. El-Harrach, Alger , (1998), 103 p.
- [88] Estanove P., Note technique : Valorisation de la datte. In *Options méditerranéennes, série A, N°11. Systèmes agricoles oasiens*. Ed. CIHEAM, (1990), 301-318.
- [89] Noui, Y., Caractérisation physico-chimique comparative des deux tissus constitutifs de la pulpe de datte Mech-Degla. Thèse de Magister spécialité génie alimentaire, Université de Boumerdès, (2007), 62 p.
- [90] Favier, J.C., Ireland, R.J., Laussucq, C. et Feinberg, M., Répertoire général des aliments., Table de composition des fruits exotiques, fruits de cueillette d'Afrique. Tome III, Ed. ORSTOM Edition, Lavoisier, INRA Editions, (1993), 27-28.
- [91] Siboukeur, O., Qualité nutritionnelle, hygiénique et organoleptique du jus de dattes. Thèse Magister, INA. El-Harrach, Alger, (1997), 106 p
- [92] Djidel, A., Production de l'acide lactique par *Lactobacillus casei* ssp. Sur jus de datte : cinétique et optimisation en cultures discontinues, semi-continues et continues, Thèse de Doctora, Université de Nancy, (2007), 246 p.

- [93] Djouab, A., Essai de formulation d'une margarine allégée à base d'un extrait de dates Mech-degla. Thèse de Magister, spécialité génie alimentaire, Université de Boumerdès, (2007), 102 p.
- [94] Açourene, S., Buelguedj, M., Tama, M. et Taleb, B., Caractérisation, évaluation de la qualité de la datte et identification des cultivars rares de palmier dattier de la région des Zibans. Recherche Agronomique, N° 8. Ed. INRAA, (2001), 19-39.
- [95] Vilkas, M., Vitamines. Ed. Hermann, (1993), 158 p.
- [96] Benchabane, A., Rapport de synthèse de l'atelier "Technologie et qualité de la datte". In Options méditerranéennes, série A, N° 28. Séminaires méditerranéens. Ed. IAM, Zaragoza, Spain, (1996), 205-210.
- [97] Albert L., La santé par les fruits, Ed. VEECHI, (1998), 44-74.
- [98] Jaccot, B. et Campillo, B., Nutrition humaine, Ed. MASSON, Paris, (2003), 311 p.
- [99] Barreveled ,W.H., Date Palm Products. FAO, Agricultural services, Bulletin N° 101, Rome. (1993).
- [100] Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E. et Kefalas, P., Phenolic profile and antioxydant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). Food chemistry, V. 89, (2005), 411-426.
- [101] Henk, J., Zwir, E. et Rik L., Caroténoïdes et flavonoïdes contre le stress oxydatif. Arômes Ingrédients Additifs, n° 44, (2003), 42-45.
- [102] Devshony, S., Eteshola, E. et Shani, A., Characteristics and some potential applications of date palm (*Poeinix Dactylifera L.*) seeds and seed oil, Journal of the American Oil chemists' Society, V. 69, (1992), 595-597.
- [103] Khare, C. P., Indian medicinal plants: An illustrated dictionary : Springer Reference. (2007).

- [104] Tahraoui, A., El-Hilaly, J., Israili, Z. H., et Lyoussi, B., Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in southeastern Morocco (Errachidia province). *Journal of Ethnopharmacology*, V. 110, (2007), 105–117.
- [105] Baliga, M.S., et al., A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (*Phoenix dactylifera* L.), *Food Research International*, (2010), 10.1016.
- [106] Schwarz, A. et Schweppe, R., *Thé vert, Elixir de vie pour le corps et l'esprit*, Vigot, (Mai, 2008), 96 p.
- [107] Mariage Frères, *L'Art du Thé*, M. Frères, (1992), 103 p.
- [108] FAO, *Production / ProdStat / Crops*. by Food and Agriculture Organisation of the United Nations from <http://faostat.fao.org/>. C: (2007).
- [109] Delmas, F.X. et Minet, M., *Le guide de dégustation de l'amateur de thé*, Les éditions du Chêne, Paris, (2007), 239 p.
- [110] Mossion, A., *Etude de la composition minérale et des liqueurs de thé et de leurs caractéristiques organoleptiques : Influence des paramètres physico-chimiques de l'eau*, Thèse de Doctora, Université de Toulouse, (2007), 213 p.
- [111] Haslam, E., *Practical Polyphenolics: from Structure to Molecular Recognition and Physiological Action*, Cambridge University Press, Cambridge, (1998), 438p.
- [112] Goodsall, C. W., Hodges, R. C., Jones, T. G., Mawson, J. D. et Stabler, P. J., *Tea manufacture, Application: WO*, Unilever Plc, UK; Unilever N.V.; Hindustan Lever Limited, (1999).
- [113] Luczaj, W. and Skrzydlewska, E., Antioxidative properties of black tea. *Prev. Med.*, V. 40, n°6, (2005), 910-918.

- [114] Selvendran, R. R. et Perera, B. P. M., Chemical composition of tea leaf cell-wall. *Chem. Ind.*, V. 21, (2007), 577-578.
- [115] Jöbstl, E., Fairclough, J. P. A., Davies, A.P. et Williamson, M. P., Creaming in black tea, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 53, n°20, (2005), 7997-8002.
- [116] Yamanishi, T. and Kobayashi, A., Progress of tea aroma chemistry in *Flavor Chemistry: Thirty Years of Progress*. Ed. R. Teranishi, E. L. Wick and I. Horstein. Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York, (1999), 135-145 p.
- [117] Zeeb, D. J., Nelson, B. C., Albert, K. et Dalluge, J. J., Separation and Identification of Twelve Catechins in Tea Using Liquid Chromatography/Atmospheric Pressure Chemical Ionization-Mass Spectrometry, *Anal. Chem.*, V.72, n°20, (2000), 5020-5026.
- [118] Astill, C., Birch, M. R., Dacombe, C., Humphrey, P. G. et Martin, P. T.. Factors affecting the caffeine and polyphenol contents of black and green tea infusions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 49, n°11, (2001), 5340-7.
- [119] Yao, L.H., Caffin, N., D'Arcy, B., Jiang, Y.M., Shi, J., Singanusong, R., et al. Seasonal variations of phenolic compounds in Australia-grown tea (*Camellia sinensis*), *J. Agric. Food Chem.*, V. 53, (2005), 6477–6483.
- [120] Zhu, Q. Y., Zhang, A., Tsang, D., Huang, Y. et Chen, Z. Y., Stability of Green Tea Catechins, *J. Agric. Food Chem.*, V. 45, n°12, (1997), 4624-4628.
- [121] Friedman, M., Kim, S.Y., Lee, S.J., Han, G.P., Han, J.S., Lee, K.R., et al. Distribution of catechins, theaflavins, caffeine, and theobromine in 77 teas consumed in the United States, *J. Food Sci.*, V.70, (2005), C550–9.
- [122] Sakakibara, H., Honda, Y., Nakagawa, S., Ashida, H. et Kanazawa, K., Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas, *J. Agric. Food Chem.*, V. 51, (2003), 571–581.

- [123] Kennedy, J. A., Munro, M. H. G., Powell, H. K. J., Porter, L. J. et Foo, L. Y., The protonation reactions of catechin, epicatechin and related compounds. *Aust. J. Chem.*, V. 37, n°4, (1984), 885-892.
- [124] Kumamoto, M., Sonda, T., Nagayama, K. and Tabata, M., Effects of pH and metal ions on antioxidative activities of catechins, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, V. 65 n°1, (2001), 126-132.
- [125] Jovanovic, S. V., Hara, Y., Steenken, S. et Simic, M. G., Antioxidant potential of gallocatechins, A pulse radiolysis and laser photolysis study, *Journal of American Chemical Society*, V.117, n°39, (1995), 9881-9888.
- [126] Muthumani, T. et Kumar, R. S. S., Influence of fermentation time on the development of compounds responsible for quality in black tea, *Food Chem.*, V.101 n°1, (2006), 98-102.
- [127] Moreau, F., *Alcaloïdes et plantes alcaloïfères*, Puf, 3^{ème} édition, Paris, (1964),158 p.
- [128] Del Rio, D., Stewart, A. J., Mullen, W., Burns, J., Lean, M. E. J., Brighenti, F. et Crozier, A., HPLCMSn Analysis of Phenolic Compounds and Purine Alkaloids in Green and Black Tea, *J. Agric. Food Chem.*, V. 52, n°10, (2004), 2807-2815
- [129] Zhu, X., Chen, B., Ma, M., Luo, X., Zhang, F., Yao, S., Wan, Z., Yang, D. et Hang, H., Simultaneous analysis of theanine, chlorogenic acid, purine alkaloids and catechins in tea samples with the help of multidimension information of on-line high performance liquid chromatography/electrospray-mass spectrometry, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, V. 34, n°3, (2004), 695-704.
- [130] Shimoda, M., Shigematsu, H., Shiratsuchi, H. et Osajima, Y., Comparison of the odor concentrates by SDE and Adsorptive column method from green tea infusion, *J. Agric. Food Chem.*, V. 43, (1995), 1616-1620.

- [131] Schuh, C. et Schierberle, P., Characterization of the key aroma compounds in the beverage prepared from Darjeeling black tea: Quantitative differences between tea leaves and infusion, *J. Agric. Food Chem.*, V. 54, n°3, (2006), 916-924.
- [132] Spiro, M. et Lam, P.-L. L., Kinetics and equilibria of tea infusion. Part 12. Equilibrium and kinetic study of mineral ion extraction from black Assam Bukial and green Chun Mee teas, *Food Chem.*, V. 54, n°4, (1995), 393-396.
- [133] Odegard, K. E. and Lund, W., Multi-element speciation of tea infusion using cation-exchange separation and size-exclusion chromatography in combination with inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, V. 12, n°4, (1997), 403-408.
- [134] Matsuura, H., Hokura, A., Katsuki, F., Itoh, A. et Haraguchi, H., Multielement determination and speciation of major-to-trace elements in black tea leaves by ICP-AES and ICP-MS with the aid of size exclusion chromatography, *Anal. Sci.*, V. 17 n°3, (2001), 391-398.
- [135] Odegard, K. E. et Lund, W., Multi-element speciation of tea infusion using cation-exchange separation and size-exclusion chromatography in combination with inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, V. 12, n° 4, (1997), 403-408.
- [136] Lu, Y., Guo, W.-F. et Yang, X.-Q. Fluoride Content in Tea and Its Relationship with Tea Quality, *J. Agric. Food Chem.*, V. 52, n°14, (2004), 4472-4476.
- [137] Durlach, P.J., The effects of a low dose of caffeine on cognitive performance. *Psychopharmacology (Berl)*, V. 140, n°1, (1998), 116-9.
- [138] Nakachi K, Matsuyama S, Miyake S, et al. Preventive effects of drinking green tea on cancer and cardiovascular disease: epidemiological evidence for multiple targeting prevention. *Biofactors*, V. 13, n°1-4, (2000), 49-54.
- [139] Hamilton-Miller, J.M.T., Anti-cariogenic properties of tea (*Camellia sinensis*), *J.*

Med. Microbiol., 50(4), (2001), 299-302.

- [140] Hindmarch, L., Quinlan, P.T., Moore, K.L., et al., The effects of black tea and other beverages on aspects of cognition and psychomotor performance. *Psychopharmacology (Berl.)*, V. 139, n°3, (1998), 230-238.
- [141] Jarvis, M.J., Does caffeine intake enhance absolute levels of cognitive performance? *Psychopharmacology (Berl.)*, V. 110, n°1-2, (1993), 45-52.
- [142] Sesso, H.O., Gaziano, J.M., Buring, J.E., et al., Coffee and tea intake and the risk of myocardial infarction, *Am. J. Epidemiol.*, V. 149, n°2, (1999), 162-7.
- [143] Nakachi, K., Matsuyama, S., Miyake, S., et al., Preventive effects of drinking green tea on cancer and cardiovascular disease: epidemiological evidence for multiple targeting prevention. *Biofactors.*, V. 13, n°1-4, (2000), 49-54.
- [144] Imai, K. et Nakachi, K., Cross sectional study of effects of drinking green tea on cardiovascular and liver diseases, *BMJ.*, V. 310, n°6981, (1995), 693-696.
- [145] Mukhtar, H. et Ahmad, N., Green tea in chemoprevention of cancer, *Toxicol. Sei.*, V. 52, n°2, (1999), 111-117.
- [146] Kohlmeier, L., Weterings, K.G., Steck, S., et al. Tea and cancer prevention: an evaluation of the epidemiologic literature, *Nutr. Cancer.*, V. 27, n°1, (1997), 1-13.
- [147] Nawrot, P., Jordan, S., Eastwood, J., et al. Effects of caffeine on human health, *Food Addit Contam.*, V. 20, n°1, (2003), 1-30.
- [148] Comité Français du Café, Café, <http://www.cafes-negrta.fr/liensaut.html>.
- [149] Thorn, J., “Le Café, le guide du connaisseur“, Modus Vivendi, Canada, (2002).

- [150] Campa, C., Doubeau, S., et al. Diversity in bean caffeine content among wild Coffea species : Evidence of a discontinuous distribution, Food Chemistry, V. 91, (2005), 633-637.
- [151] Café Malongo, La culture du café, <http://www.malongo.com/fr/public/culture.html>.
- [152] Houessou, J.K., Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans le café : mise au point de méthodes analytiques et étude de l'étape de torréfaction, Thèse de Doctorat, I.S.I.V.E, Paris, (Février, 2007), 271 p.
- [153] Guyot, G., Torréfaction : mécanismes, transformation physiques et chimiques, Journées du CAFE, CIRAD-CP à Montpellier, (1993).
- [154] Illy, A. et Viani, R., Espresso Coffee, Academic press., San Diego, CA 92101, U.S., (1998).
- [155] Schwartzberg, H. G., Engineering and Food for the 21st Century : Chapter Modelling bean heating during batch roasting of coffee beans, CRC Press LLC. London, New York, Boca Raton, (2002).
- [156] Raemy, A. et Lambelet, P., A calorimetric study of self-heating in coffee and chicory, Journal of Food Technology, V. 17, (1982), 451-460.
- [157] Raemy, A., Differential thermal analysis and heat flow calorimetry of coffee and chicory products, Thermochimica Acta, V. 43, (1981), 229-236.
- [158] Oliveira, M. B. P. P., Franca, A. S., Gloria, M. B. A. et Borges, M. L. A., The effect of roasting on the presence of bioactive amines in coffees of different qualities, Food Chemistry, V. 90, (2005), 287-291.
- [159] Pittia, P., Dalla Rosa, M. et Lerici, C. R. ,Textural changes of coffee beans as affected by roasting conditions Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, V. 34, (2001), 168-175.

- [160] Franca, A. S., Oliveira, M. B. P. P., Mendonça, J. C. F., et Silva X. A. Physical and chemical attributes of defective crude and roasted coffee beans. *Food Chemistry*, V. 90, (2005), 89-94.
- [161] Smith, R. F., A history of coffee. In *coffee, Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverages*, Ed : M.N. Clifford, K. C. Wilson. Avi Publ. Comp., (1985), 1-12.
- [162] Clarke, R.J., "Quality Control in the Food Industry" (*Coffee Technology*), V.4, (1987).
- [163] Viani, R., The composition of coffee. In: S. Garattini Ed. *Caffeine, Coffee and Health*, Raven Press, (1993), 17-41.
- [164] Debry, G., « Le café. Sa composition, sa consommation, ses incidences sur la santé», Centre de Nutrition Humaine, (1995).
- [165] Ky, C. L., Louarn, J., et al., Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. *Food Chemistry*, V. 75, (2001), 223-230.
- [166] Vasconcelos, A. L. S., Franca A. S., et al. A comparative study of chemical attributes and levels of amines in defective green and roasted coffee beans. *Food Chemistry*, V.101, (2007), 26-32.
- [167] Martin, M.J., Pablos, F. et Gonzalez, A.G., Discrimination between arabica and robusta green coffee varieties according to their chemical composition, *Talanta*, V.46, (1998), 1259-1264.
- [168] Casal, S., Mendes E., Oliveira, M. B. P. P. et , M. M., Roast effects on coffee amino acid enantiomers, *Food Chemistry*, V.89, (2005), 333-340.

- [169] Montavon, Ph., Duruz, E., Rumo, G. et Pratz G. Evolution of green coffee protein profiles with maturation and relationship to coffee cup quality, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V.51, (2003), 2328-2334.
- [170] Fischer, M., Reimann, S., et al., Polysaccharides of green Arabica and Robusta coffee beans, *Carbohydrate Research*, V. 330, (2001), 93-101.
- [171] Oosterveld, A., Harmsen, J. S., Voragen, A. G. J. et Schols, H. A., Extraction and characterization of polysaccharides from green and roasted *Coffea arabica* beans, *Carbohydrate Polymers*, V.52, (2003), 285-269.
- [172] Carrera, F., Leon-Camach, M., Pablos, F. et Gonzalez, A.G., Authentication of green coffee varieties according to their sterolic profile, *Analytica Chimica Acta.*, V.370, (1998), 131-139.
- [173] Debry, G., « Le café. Sa composition, sa consommation, ses incidences sur la santé », Centre de Nutrition Humaine, (1995).
- [174] Duarte, M. P., Laires, A., et al. Genotoxicity of instant coffee: possible involvement of phenolic compounds, *Mutation Research*, V. 442, (1999), 43-51.
- [175] Ogawa, M., Kamiya, C., Iida, Y., Contents of tocopherols in coffee beans, coffee infusions and instant coffee, *Nippon Shokuhin Gakkaishi*, V. 36, (1989), 490-494.
- [176] Saltor, M, Duplatre, A, et Boatella, J., Identification of coffee species on the basis of sterols, *Ann. Bromatol.*, V.41, (1989), 1-8.
- [177] Gonzalez, A. G., Pablos F., et al., HPLC analysis of tocopherols and triglycerides in coffee and their use as authentication parameters, *Food Chemistry*, V. 73, (2001) 93-101.
- [178] Morales, F. J., Assessing the non-specific hydroxyl radical scavenging properties of melanoidins in a Fenton-type reaction system. *Analytica Chimica Acta*, V. 534, (2005),171-176.

- [179] Del Castillo, M. D., Ames, J. M., et al., Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brews, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 50, (2002), 3698-3703.
- [180] Hartman, T. J., Tangrea, J. A., Pietinen, P., Malila, N., Virtanen, M., Taylor, P.R., et Albanes, D., Tea and coffee consumption and risk of colon and rectal cancer in middle aged Finnish men, *Nutrition Cancer*, V. 31, N° 1, (1998), 41-48.
- [181] Inoue, M., Tajima, K., Hirose, K., Hmajima, N., Takezaki, T., Kuroishi, T., et Tominaga, S., Tea and coffee consumption and the risk of digestive tract cancers: data from a comparative case-referent study in Japan, *Cancer Causes Control*, V. 9, (1998), 209-216.
- [182] Tavani, A., Pregnolato, A., La Vecchia, C., Negri, E., Talamini, R., et Franceschi, S., Coffee and tea intake and risk of cancers of the colon and rectum: a study of 3,530 cases and 7,057 controls, *International Journal of Cancer*, V. 73, (1997), 193-197.
- [183] Woolcoot, C. G., King, W. D., et al., Coffee and tea consumption and cancers of the bladder, colon and rectum, *European Journal of Cancer*, V. 11, n° 2, (2002) 137-145.
- [184] Tavani, A., et La Vecchia, C., Coffee and cancer: a review of epidemiological studies, 1990-1999, *European Journal of Cancer Prevention*, V.9, n°4, (2000), 241-256.
- [185] Van Dam, R. M., et Feskens, E. J. M., Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus, *The Lancet*, V. 360, n° 9344, (2002), 1477-1478.
- [186] Higdon, J. V., et Frei, B., Coffee and health: a review of recent human research. *Critical Review of Food Science and Nutrition*, V. 42, n°2, (2006), 101-123.
- [187] Audigie, C.L., *Manipulation d'analyse biochimique*, Ed. Doin. Paris, (1978), 27-74.

- [188] Escribano-Bailon, M.T., Santos-Buelga, C., Polyphenols extract from food In “Methods in polyphenols analysis, Ed. Royal Society of Chemistry, (2003), 1-16.
- [189] Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traoré, A., Coulibaly, K. et Maïga, A., Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam.(Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali, *C. R. Chimie*, V. 7, (2004), 1073–1080.
- [190] Owen, P.L., et Johns, T., Xanthine oxidase inhibitory activity of north eastern North American plant remedies used for gout, *Journal of Ethnopharmacology*, V.64, (1999), 149-160.
- [191] Vercauteren, J., Cheze, C., et Triau, J., Polyphenols 96. Edition : INRA, Paris, (1996), 31-43.
- [192] Ribéreau-Gayon, P., Les composés phénoliques des végétaux, Ed. Dunod Paris, (1968), 254 p.
- [193] Lapornik, B., Prosek, M., et Wondra, A.L., Comparison of extracts prepared from plant byproducts using different solvents and extraction time, *Journal of Food Engineering*, Article in press, (2004).
- [194] Biglari, F., Abbas, F., AlKarkhi, M. et Mat Easa, A., Antioxydant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) Fruits from Iran. *Food Chem.*, V. 107, (2008), 1636–1641.
- [195] Ge, Y.Z. et Jin, H., New methods for extraction of tea polyphenols. *Chin. Herbal Med.*, V. 25, (1994), 124–125.
- [196] Hu, Q.H., Jiang, M. et Zhu, J.C., Research on technology of extraction of tea caffeine and polyphenols. *Nat. Prod. Res. Dev. China*, V. 9, (1997), 63–66.

- [197] Lu, Y.R., Chinese Medicine Chemistry. Xueyuan Publishing House, Beijing, (1995), 10–11.
- [198] Pan, X.J., Niu, G.G., Liu, H.Z., Microwave-assisted extraction of tea polyphénols and tea caffeine from green tea leaves. Chem. Eng. Process. V. 42, (2003),129–133.
- [199] Gramza-Michalowska, A., et Regula, J., Use of tea extracts (*Camelia sinensis*) in jelly candies as polyphenols sources in human diet ,*Asia Pac J Clin. Nutr.* V. 16 (2007),43-46.
- [200] Carré, P., Précis de technologie et de chimie industrielle, T3, Ed. Ballière et fils, (1953).
- [201] Mansouri, A., Emberek, G., Kokkalou, E. et Kefalas, P., Phenolic profile and antioxydant activity of the Algerian ripe date fruit (*Phoenix dactylifera*), Food chem., V. 48, (2005), 411- 426
- [202] Benamara, S., Gougam, H., Amellal, H., Djaouab, A., Benammed, A. et Noui, Y., Some technologic proprieties of common date (*Pheonix dactylifera* L.)*Am. J. Food technol.*, V. 3, n°2, (2008), 79-88.
- [203] Lagnika, L., Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises, Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur, Strasbourg, (2005), 249p.
- [204] Yrjönen, T., Extraction and planar Chromatographic separation techniques in the analysis of natural products, Conference room 513 at Wiikki Infocentre, Faculty of pharmacy, University of Helsinki, (2004), 64 p.
- [205] Riov, J. et Gottlieb, H.E., Métabolism of auxin in pine tissues: Indole-3-acetic acid conjugaison, *Physiogia Plantarum*, V. 50, (1980), 347-352.

- [206] Wettasinghe, M., Characterisation of natural antioxydants of meals of borage and evening primrose, Thèse de Doctorat, Département de Biochimie, Memorial University of Newfoundland, Canada, (1999).
- [207] Juma, B.F. et Majinda, R.R.T., Erythraline alkaloids from the flowers and pods of *Erythrina lysistemon* and their DPPH radical scavenging properties, *Phytochemistry*, V. 65, (2004), 1397-1404.
- [208] Schüep. W. et Keck, E., Measurement of ascorbic acid and erythorbic acid in processed meat by HPLC, *Z Lebens Unters Forsch*, V. 191, (1990), 290-292.
- [209] Sanchez-Moreno, C., Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems, *International Journal of Food Science and Technologie*, V. 8, (2002), 121-37.
- [210] Maamri, S. et Djireb, F., Effets des extraits phénoliques de quelques plantes médicinales locales sur la carboxylesterase, *Mémoire Ing., Génie Biol.*, (2005).
- [211] Açourene, S., Tama, M. et Taleb, B., Synthèse bibliographique sur la valorisation de datte. I.N.R.A. Station Sidi-Mehdi, Touggourt, (1997), 59-66.
- [212] Aziez W., Etude comparative de trois pieds mâles du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*), et l'impacte de leurs pollens sur quelques caractéristiques physico-chimiques des dattes, dans la région d'El-Maleh (Biskra). Mémoire d'ingénieur. Département d'agronomie., Biskra, (200), 12 p.
- [213] Belguedj , M., Caractéristiques des cultivars de dattier dans les palmeraies du sud-est Algérien. Ed. 3D. Alger, (2002), 289 p.
- [214] Kaid, K., Caractérisation biochimique de rob préparé apartir de deux varieties Mech Degla et Ghars, Mémoire d'ingénieur, université de Batna, (2007), 39 p.
- [215] Kenfhar, B., Contribution a l'étude de quelques caractéristiques morphologiques de quatre cultivars de palmier dattier (*Phoenix Dactylifera L.*) dans la région de Droh (Wilaya de Biskra), Mémoire d'ing., Université de Batna, (2004), 87 p.

- [216] Chen, A. O., Tsai, Y. S. and Chiu, W. T. F., The shelf-life of tea in Shelf-life studies of foods and beverages: Chemical, Biological, physical and nutritional aspects. Ed. G. Charalambou. Elsevier science Ltd., (1993). 1224 p.
- [217] Hahn D., "Etude de l'influence éventuelle de la granulométrie du café vert sur la détermination de la teneur en eau par les deux méthodes ISO", Ve Colloque International sur la Chimie des Cafés, Lisbonne, ASCI (Paris), (1971), 112-114.
- [218] Reh, C. T., Gerber, A., et al. Water content determination in green coffee - Method comparison to study specificity and accuracy. Food Chemistry, V. 96, (2006), 423-430.
- [219] Lambiote, B., Some aspect of the role of dates in humain nutrition. The first symposium on date palm, king Faysal university, Al Hassa Kingdom of Saudi Arabia, (1983), 577-579.
- [220] Marcos, A., Fisher, A., Rea, G. et Hill, S. J., Preliminary study using trace element concentrations and a chemometrics approach to determine the geographical origin of tea, J. Anal. At. Spectrom., V. 13, n°6, (1998), 521-525.
- [221] Xie, M., Von Bohlen, A., Klockenkaemper, R., Jian, X. et Guenther, K.. Multielement analysis of Chinese tea (*Camellia sinensis*) by total-reflection X-ray fluorescence, Z. Lebensm.-Unters. -Forsch., A Eur. food res. technol., V. 207, n° 1, (1998), 31-38.
- [222] Vernier, P., Principles of dehydration of food and its contribution in the amelioration of the conception of dryers, Food Sci. and Technol., V. 9, n°5, (1987).
- [223] Jassim, A ., Hosahalli, S. et Ramawamy, Journal of Food Enginneering, (2005).
- [224] Bourgeois, C., Les vitamines dans les industries agroalimentaires. Ed. Tech et Doc Lavoisier, Paris, (2003), 483 p.

- [225] Van Der Stegen, G.H.D., Van Duijn , J., Analysis of normal acids in coffee, In: 12^{eme} Colloque Scientifique International sur le café, Montreux, 1987. Association Scientifique Internationale du café, Paris, (1988), 238-246.
- [226] Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh,H., et Marzouk, B., Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots, *Comptes rendus Biologies*, V. 331, (2008), 48-55.
- [227] Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Dominguez, J. M., Sineiro, J. et Dominguez, H., Natural antioxidants from residual sources – a review. *Food Chemistry*, V.72, (2001), 145–171.
- [228] Lee, K. W., Young Jun Kim, Hyong Joo Lee et Chang Yong Lee, Cocoa has more phenolics phytochemicals and higher antioxidant capacity than teas and red wine, *J. Agric, Food Chem.*, V. 51, (2001), 7292-7295.
- [229] Maisuthisakul, P., Pasuk, S., Ritthiruangdej, P., Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *J. Food Composition and Analysis*, V. 21, 229-240.
- [230] Huang, D., Ou, B. et Prior, R.L., The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 53, (2005), 1841-1856.
- [231] Ghazi, F., Saharaoui, S., Evolution des composés phénoliques et des caroténoïdes totaux au cours de la maturation de deux variétés de dattes communes : Tantboucht et Hamraia. Mémoire d'ingénieur, Institut national d'agronomie, Alger, (2005), 81p.
- [232] Tanizawa, H., Toda, S., Sazuka, T., Taniyama, T., Hayashi, T., Arichi, S., et al. Natural Antioxidants. I. Antioxidative components of tea leaf (*Thea sinensis* L.). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, V. 32, (1984), 2011–2014.

- [233] Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romeo, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A. et Fernandez-Gutierrez, A., Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees, *J. Pharmaceutical and biomedical analysis*, V. 41, (2006), 1220-1234.
- [234] Bahorun, T., Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle, Food and agriculture reseach council, Réduit, Mauritius, (1997), 83-94
- [235] Bessas A., Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien. Mémoire d'ingénieur, Université Djillali Liabes Sidi Bel Abbes, (2008), 77 p.
- [236] Rodriguez, Z.J.P., Quantitative Determination of Caffeine in Puerto Rico Coffees Varieties by SPME and GC/MS Alternative Method, Master thesis, University of Puerto Rico, (2006), 123 p.
- [237] Dupas, C., Influence des protéines lactières sur le pouvoir antioxydant et la biodisponibilité des polyphénols du café, Thèse de Doctorat, ENSIA Paris, (2005), 261 p.