



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمدة لخضر الوادي
كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de biologie cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FEIN D'ETUDE

En Vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences

Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

Utilisation du marc du café comme un support de culture microbienne

Présentée par:

Bouskaya Djihane

Djaafar Fardouse

Nini Nesrine

Ammari Hana

Devant le jury composé de :

Président : AOUIMEUR Meriem

Maitre-conférence « A »

Université d'El Oued

Promoteur : LAICHE Ammar Touhami

Maitre-conférence « A »

Université d'El Oued

Examineur : DJAHRA Ali Boutlilis

Professeur

Université d'El Oued

Année universitaire : 2023/2024



Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH le clément de nous avoir donné la force ,la chance et la patience pour terminer ce modeste travail.

Nous exprimons toute notre gratitude à **Mr LAICHE Ammar Touhami** pour son encadrement, Sa confiance, ses efforts et sa patience lors de la correction de manuscrit, sa disponibilité, ses conseils et ses critiques constructives. Sa gentilles, son amabilité lui ont valu le respect et la sympathie de tous les étudiants.

Nos remerciements sont adressés aux membres de jury **AOUIMEUR Meriem, DJAHRA Ali Boutillis** qui ont bien voulu accepter de juger ce modeste travail.

Nos plus vifs remerciements s'adressent au personnel du laboratoire de la facultées Sciences de la Nature et de la Vie pour leur patience et leur précieuse aides, pendant la réalisation de ce travail.

Nous remercions aussi tous les enseignants, sans oublier l'équipe administrative du département de biologie Cellulaire et Moléculaire de l'université d'EL OUED qui ont participé de près ou de loin à notre formation durant notre cursus d'étude.

Enfin, nous remercions nos ami(e)s pour nous avoir soutenus et encouragés pendant toutes ces années.



الإهداء:

الحمد لله حبا وشكرا وامتنانا على البدء والختام

{ وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ (10) }

بعد مسيرة دامت سنوات ها انا اليوم أقف على عتبة تخرجي اقطف ثمار جهدي وأرفع قبعتي بكل فخر، فالحمد لله الذي يسر البدايات وبلغنا النهايات بفضلته وكرمه فاللهم لك الحمد قبل ان ترضي ولك الحمد إذا رضيت ولك الحمد بعد الرضا، لأنك وفقتني على اتمام هذا لنجاح وتحقيق حلمي.

اهدي هذا النجاح لنفسي اولا ثم الى من سعى معي لإتمام هذه المسيرة دمت لي سندا لا عمر

من لا ينفصل اسمه عن اسمي الى ملاكي الحارس الى من كلله الله بالهيبة والوقار الى من علمني العطاء بدون انتظار ذلك الرجل العظيم الذي علمني الحياة بأجمل شكل هو ملهمي صانع قوتي صفوة ايامي وسلوة اوقاتي يامن كنت سندا ولا زلت، الحمد لله الذي مد في عمرك لأول خريجة لك، ارجو من الله ان يحفظك ويدمك فخرا وسندا وامانا لي والذي العزيز حفظه الله وحماءه واطال لي في عمره ابي الغالي (بوسكاية حسين)

الى من جعل الجنة تحت اقدامها وحتضني قلبها قبل يدها وسهلت لي الشدائد بدعائها الى القلب لحنون والشمعة التي كانت لي في الليالي المظلمات سر قوتي ونجاحي وجنتي التي سهرت معي في كل حلالي وظروفي وضغوطاتي لطالما عاهدتك بالنجاح ها انا ذا اليوم اتممت وعدي وعهدي اهديه لكي امي الغالية (بوسكاية سهام) حفظك الله ورعاك الى من قيل فيهم "سنشد عضدك بأخيك"

الى مديده دون كلل ولا ملل وقت ضعفي اخي وديع ادامك الله ضلعا ثابتا لي

الى من امسكت بيدي حيث توقفت الحياة عن مدها لي من امننت بقدراتي وأمان ايامي اختي الوسطى رحاب

الى من تذكرني بقوتي وتقف خلفي كظلي اختي الصغرى سلسبيل

الى كتاكيتي الصغار حفظهم الله ورعاهم همام، كيان

الى من ساندني بكل حب عند ضعفي وازاحت عني طريق المتاعب صديقتي واختي التي انجبتها لي الحياة حنافي رفيدة

الى من رافقتي طول سنوات الدراسة وكأنا سندا لي ايمان، مروة، لبنة

الى صاحب الفضل بعد الله تعالى لنجاح هذا العمل الدكتور العايش عمار التهامي الذي أشرف على هذه المذكرة

وأحب ان اختتم الاهداء الى من شاركني هذا العمل اصحاب الفضل العظيم صديقات الرحلة والنجاح فردوس، نسرين

واخيرا قال ان لها نالها وانا لها ان ابت رغما عنها اتيت بها، ما كنت لأفعل لولا توفيق من الله، ها هو اليوم العظيم هنا، اليوم الذي اجريت سنوات الدراسة الشاقة حافلة فيها حتى توالى يمنه وكرمه لفرحة التمام، الحمد لله الذي به خيرا واملا واغرقنا سرورا وفرحا وينسيني مشقتي



جيهان

الإهداء

بسم الله الرحمن الرحيم

وَقُلْ اَعْمَلُوا فَسَيَرَى اللَّهُ عَمَلَكُمْ وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ

الى حجة الله على خلقه وسراجة في ارضه الى سليل الاخيار ونور الانوار وزين الابرار ، محمد صلى الله عليه و سلم .

اهدي هذا العمل المتواضع وثمرة جهدي وتعب السنين

الى من كان دعاؤها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي ، الى من بها اعلو وعليها ارتكز، الى القلب المعطاء ، الى ذات الصدر، الحنون تاج رأسي ، الى من ينبض القلب مع انفاسها، من تجعل حياتي اسمي واجمل أُمي الحبيبة شفاها الله ورعاها وأطال في عمرها .

الى ابي ملجأ بعد الله ، الى مصدر النور والالهام ، الى استقامة ظهري وضياء دربي ، الى عزي وفخري ، رمز الطيبة و المودة قدوتي في الحياة ، أمدّه الله بالصحة و العافية طاب بك العمر وطبت لي عمرا .

الى من اعطى وازجل العطاء، مربّي الاجيال الذي اضاء قناديل العلم و المعرفة في قلوبنا الدكتور عمار العايش التهامي ، لا اضاع الله لك اجرا وكساك من العافية دهرا فبمثل دعمك يزهر غرسنا وتعلو بلادنا

الى من قال فيهم رب الكون «سنشد عضدك بأخيك» الى اخواني جعفر علي وجعفر مصطفى سندي وعضدي وظهري في الحياة جبلي الذي أسند عليه نفسي عند الشدائد.
الى اخواني اللذان لم تلدهما أُمي وأعطتهما لي الحياة حمزة شوشاني رحمة الله عليه وعلي أطال الله في عمره.

الى الحب الذي لا يقاس بمقاييس الى الوردات اللاتي تزهرن في بستان العائلة الى اخواتي سارة ، بشرة، نورة، وفاء ، انشراح وفقهم الله ويسر خطاهم.
الى أحمد عبد المعز «عزو» اصغر فرد في العائلة الذي ساهم في عزمي وتفاني في اكمال هذا العمل المتواضع.

وأخيرا لكم جميعا أهدي ثمرة جهدي هذه...إلى زميلاتي في المذكرة: جيهان، نسرين



الإهداء:

الحمد لله حمدا كثيرا على كل شيء، بعد كل الجهد والصعوبات، وسهر الليالي وتعب الأيام، نطوي
دفتر هذا العمل المتواضع وأهديه:

إلى من جرع الكأس فارغا ليسقيني قطرة حب إلى من كلت أنامله ليقدم لنا لحظة سعادة إلى من حصد
الأشواك عن دربي ليمهد لي طريق العلم إلى القلب الكبير أبي العزيز، أطل الله في عمره.
إلى النبيوع الذي لا يمل من العطاء، إلى من حاكت سعادتي بخيوط منسوجة من قلبها ولا تكفيها كل
كلمات الثناء و الشكر إلى من علمتني المسامحة والعفو إلى حبي الكبير أُمي الغالية. أسأل الله أن
يحفظها لي

إلى من حبهم يسري في عروقي ويلهج بذكرهم فوادي إخوتي: عماد، عبد الحكيم، حنان سارة. وإلى
زوجة أخي العزيزة: أمينة، التي لم تبخل عليا بأي معلومة طول المذكرة وكل كتاكيت العائلة: نريمان
،فادي، تاج الدين، جوري، مارية. حفظهم الله

إلى كل أفراد عائلة نيني وسرياني. كل باسمه أهدي لكم عملي المتواضع. وإلى روح جدي إبراهيم
وعمي محمد العيد، رحمهم الله. وأسكنهما جنة النعيم.
إلى كل صديقاتي اللذين عرفتهم طوال مشواري الدراسي: أميرة، حواء، وصال، سارة، دنيا، نسرين،
كوثر...

إلى الأستاذ الفاضل ذو الأخلاق الرفيعة الدكتور العايش عمار التوهامي الذي أشرف على إتمام ونجاح
هذه المذكرة

إلى كل من علمني حروفا من ذهب وأسمى عبارات العلم... أساتذتي الأفاضل من الطور الابتدائي إلى
التعليم العالي

إلى كل من أعانني ولو بكلمة طيبة لهم الشكر الجزيل
وأخيرا لكم جميعا أهدي ثمرة جهدي هذه... إلى زميلاتي في المذكرة: جيهان فردوس
واعذروني إذا نسيت فإذا نساكم قلبي لم ينساكم



نسرين

الإهداء

أهدي تخرجي هذا إلى جدتي الغالية " تواتي أحمد خديجة (تجانيه) " رحمها الله
و إلى أبي نور عيوني " عماري محمد " و إلى مصدر الأمان الذي استمد منه قوتي إلى نور
عيني وحظي الجيد و فوزي و فخري إلى من كانت الداعم الأول لتحقيق طموحي إلى من
كانت ملجأ يدي اليمنى في دراستي إلى من ابصرت بها طريق حياتي و اعتزازي بذاتي
إلى القلب الحنون إلى من كانت دعواتها تحيطني

" أمي الغالية هبته لطيفة "

إلى قرة عيني إخوتي " أنور , عليلو , أصيلة , آية , لينة حبيبتي " حفظكم الله إلى
صديقتي التي تعجز الكلمات عن وصفها إلى الوفية في زمن قلى فيه الوفاء " إسراء
قاسمي " وإلى صديقتي في الجامعة شكراً على وجودكم في حياتي " موساوي أحلام ,
حضري وفاء "

هنا

Résumé

Le but de ce travail est la comparaison entre le marc de café obtenu par deux méthodes de préparation : décoction et expresso, d'explorer les caractéristiques physico-chimiques, biochimiques, photochimiques de marc de café et leur valorisation dans la culture des microorganismes. Notre échantillon est du café robusta 100 % de région Oued souf.

Les résultats montrent que le marc de café a une bonne teneur en matière sèche (43%-32%), un pH acide (6.40%-5.91), des protéines entre (10.15%-11.85%) et lipides varient entre (8.12 % et 9.75 % MS), des sucres totaux entre (6.25%-21,25%MS) pour le marc de café expresso et décoction respectivement.

L'extraction hydroalcoolique a donné un rendement de (6.15 et 7.8) et que les tests phytochimiques illustrent une richesse en composés secondaires tels que, les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins.

L'évaluation de l'effet de marc de café sur la croissance microbienne a montré un bon effet pour les bactéries lactiques et une fluctuante croissance pour les champignons. Nous avons constaté une augmentation considérable de la croissance des bactéries du lait de camelin et de caprin, et une augmentation de la croissance fongique (champignons du sol) jusqu'au deuxième jour, puis une diminution dans les derniers jours.

Mots clés : Extrait hydroalcoolique, Marc de café, Microorganismes, Valorisation.

الملخص

الهدف من هذا العمل هو المقارنة بين القهوة المطحونة التي تم الحصول عليها عن طريق طريقتين للتخصير: الغليان والإسبريسو، لاستكشاف الخصائص الفيزيائية والكيميائية والحيوية والكيميائية الضوئية لتفل القهوة وقيمتها في ثقافة الزراعة. عينتنا هي قهوة روبوستا 100% من منطقة واد سوف أظهرت النتائج أن تفل القهوة يحتوي على محتوى جيد من المادة الجافة (43%-32%)، ودرجة الحموضة الحمضية (6.40%-5.91)، والبروتينات بين (10.15%-11.85%) والدهون تتراوح بين (8.12%) و(9.75% MS)، إجمالي السكريات يتراوح بين (6.25% MS) 21.25% لقهوة الإسبريسو والمغلي على التوالي. أعطى الاستخلاص المائي الكحولي محصول (6.15 و 7.8) وأظهرت الاختبارات الكيميائية النباتية وجود ثراء في المركبات الثانوية مثل البوليفينول والفلافونويد والعفص.

أظهر تقييم تأثير تفل القهوة على النمو الميكروبي وجود تأثير جيد لبكتيريا حمض اللاكتيك ونمو متقلب للفطريات. راينا زيادة كبيرة في نمو بكتيريا حليب الإبل والماعز، وزيادة في نمو الفطريات (فطريات التربة) حتى اليوم الثاني، ثم انخفاض في الأيام الأخيرة

الكلمات المفتاحية: المستخلص المائي الكحولي، تفل القهوة، الكائنات الحية الدقيقة، التثمين.

Abstract

The aim of this work is the comparison between coffee grounds obtained by two preparation methods: decoction and espresso, to explore the physico-chemical, biochemical, photochemical characteristics of coffee grounds and their valorization in the culture of microorganisms. Our sample is 100% robusta coffee from the Oued Souf region

The results show that coffee grounds have a good dry matter content (43%-32%), an acidic pH (6.40%-5.91), proteins between (10.15%-11.85%) and lipids vary between (8.12%). and 9.75% MS), total sugars between (6.25% 21.25% MS) for espresso coffee grounds and decoction respectively.

The hydroalcoholic extraction gave a yield of (6.15 and 7.8) and the phytochemical tests illustrate a richness in secondary compounds such as polyphenols, flavonoids and tannins. Evaluation of the effect of coffee grounds on microbial growth showed a good effect for lactic acid bacteria and a fluctuating growth for fungi. We saw a Considerable increase in the growth of camel and goat milk bacteria, and an increase in fungal growth (soil fungi) until the second day, then a decrease in the last days.

Keywords: Hydroalcoholic extract, Coffee grounds, Microorganisms, Valorization.

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Grain de marc de café commercial par microscopie électronique à balayage	3
2	Caféier Robusta	6
3	Caféier Arabica	6
4	Grains de café arabica et robusta	7
5	Le marc de café utilisé comme un compost	9
6	Utilisation du marc de café pour la culture des champignons	10
7	Étapes de production de biocarburant à partir du marc de café	11
8	Rendement d'extraction du marc de café (d et E) par macération	26
9	Evolution de la densité optique de <i>Bacillus pumilu</i> 1 en fonction de la concentration des extraits de marc du café décoction	29
10	Evolution de la densité optique de <i>Bacillus pumilu</i> 1 en fonction de la concentration des extraits de marc du café expresso	29
11	Evolution de la densité optique de <i>Bacillus pumilu</i> 2 en fonction de la concentration des extraits de marc du café décoction	30
12	Evolution de la densité optique de <i>Bacillus pumilu</i> 2 en fonction de la concentration des extraits de marc du café expresso	30
13	Evolution de la densité optique de <i>Bacillus safensis</i> 1 en fonction de la concentration des extraits de marc du café decoction	30
14	Evolution de la densité optique de <i>Bacillus safensis</i> 1 en fonction de la concentration des extraits de marc du café d'expresso.	30
15	Evolution de la densité optique de <i>Bacillus safensis</i> 2 en fonction de la concentration des extraits de marc du café decoction	31
16	Evolution de la densité optique de <i>Bacillus safensis</i> 2 en fonction de la concentration des extraits de marc du café d'expresso.	31
17	Evolution de la densité optique de la Souche 1 en fonction de la concentration des Extraits de marc de café de décoction	33
18	Evolution de la densité optique de la Souche 1 en fonction de la concentration des Extraits de marc de café d'expresso	33

19	Evolution de la densité optique de la Souche 2 <i>en</i> fonction de la concentration des Extraits de marc de café de décoction	33
20	Evolution de la densité optique de la souche 2 <i>en</i> fonction de la concentration des extraits de marc du café expresso.	33
21	Evolution de la densité optique de la Souche 3 <i>en</i> fonction de la concentration des Extraits de marc de café de décoction.	34
22	Evolution de la densité optique de la souche 3 en fonction de la concentration des extraits de marc du café expresso	34

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Caractéristiques physiques du marc de café en fonction de l'humidité	4
2	Composition élémentaire du marc de café	4
3	Principaux composés du marc de café	5
4	Composition chimique des graines du café vert Robusta et Arabica	7
5	Le taux de la matière sèche (MS), de la matière minérale (MM) et de la matière grasse (MG) et Ph	23
6	Analyse biochimique des échantillons	24
7	Résultat d'Analyse phytochimique des extraits des marc de café	27
8	Dosage des métabolites secondaires du marc de café	28
9	Aspects microscopiques des souches isolées	31

Liste des abréviations

%	Pourcentage
D	dose
B	bactérie
MC	Marc de café
MG	Matière grasse
MS	matière sèche
MM	Matière minérale
E	Echantillon
S	souche
CH	champignon
PH	potentiel d'hydrogène
D	décoction
EX	expresso

Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Liste des Figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale.....	1

Première partie Synthèse bibliographique

Chapitre I : la Mace de café

1	Définition	2
2	Propriétés du marc de café.....	3
2.1	Propriétés physiques	3
2.2	Propriétés chimiques.....	4
2.3	Propriétés bioactives.....	5
3	Type de café.....	5
3.1	L'arabica (<i>Coffea Arabica</i>).....	5
3.2	Le robusta (<i>Coffea Canéphora</i>)	6
4	Composition du café.....	7
5	Valorisation et utilisation du marc de café.....	8
5.1	Production de compost	8
5.2	Substrat pour la culture des micro-organismes et des champignons comestibles	9
5.3	Industrie alimentaire.....	10
5.4	Production de biocarburants.....	10
5.5	Production de charbon actif	11
5.6	Utilisations diverses.....	12

Deuxième Partie Partie Expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

1	Échantillonnage.....	13
1.1	. Préparation du marc de café	13
2	Analyse physico chimique des échantillons.....	13
2.1	Détermination de la matière sèche (MS).....	13
2.2	Détermination de la matière minérale (MM).....	14
2.3	Détermination de la teneur en matière grasse (MG).....	14
2.4	Détermination de la teneur en protéines	15
2.5	Détermination de la teneur en sucres totaux.....	16
2.6	Détermination du Ph.....	16
3	Analyse phytochimique des échantillons.....	16
3.1	Préparation des extraits.....	16
3.2	Tests phytochimiques.....	18
3.2.1	Saponosides.....	18
3.2.2	Flavonoïdes.....	18
3.2.3	Tanins.....	18
3.2.4	Alcaloïdes.....	18
3.2.5	Trapénoïdes.....	18
3.2.6	Polyphénols.....	19
3.3	Dosage des métabolites secondaires.....	19
3.3.1	Détermination de la teneur en phénols totaux (PT).....	19
3.3.2	Détermination de la teneur en tanins condensés (TC)	19
3.3.3	Détermination de la teneur en Flavonoïdes.....	19
4	Etude de l'effet de l'extrait de marc de café sur la croissance microbienne.....	20
4.1	Souches bactérienne.....	20
4.2	Souches fongiques.....	20
4.2.1	L'ensemencement.....	21
4.2.2	Purification des micro-organisms.....	22
4.2.3	Observation microscopique.....	22
4.2.4	Effet de l'extrait de marc de café.....	22

Chapitre II : Résultats et discussion

1	Analyses physico-chimiques des échantillons.....	23
2	Analyse biochimique des échantillons.....	24
3	Analyse phytochimique du marc du café.....	26
3.1	Rendement d'extraction et screening phytochimique	26
3.2	Dosage des métabolites secondaires.....	27
4	Etude de l'effet de l'extrait de marc du café sur la croissance microbienne.....	29
4.1	Cas des bactéries.....	29
4.2	Cas des champignons.....	32
	Conclusion et Perspectives.....	36
	Références Bibliographiques.....	38
	Annexes	

Introduction

Introduction

Le café est un fruit du caféier, un arbuste tropical, attaché botaniquement à la famille des Rubiacées. Aujourd'hui, il est devenu le deuxième produit le plus échangé après le pétrole et la deuxième boisson la plus populaire après l'eau (**Atabani et al., 2019**). En 2019-2020, la production mondiale de café a atteint 169,34 millions de sacs de 60 kg et la consommation a été estimée à 168,39 millions de sacs. En conséquence, des alternatives écologiquement durables pour soutenir sa conversion systématique en l'un ou l'autre des produits sont recommandées dans le monde entier (**Atabani et al., 2022**).

Près de 50% du café produit dans le monde est destiné à la préparation du café moulu (**Rama Lakshmi et al., 2008**). Et environ 90 % en poids de café sont rejetées au cours de la fabrication sous forme de déchets et de sous-produits agricoles, ces déchets sont appelés le marc de café (**Iriondo-DeHond et al., 2019**).

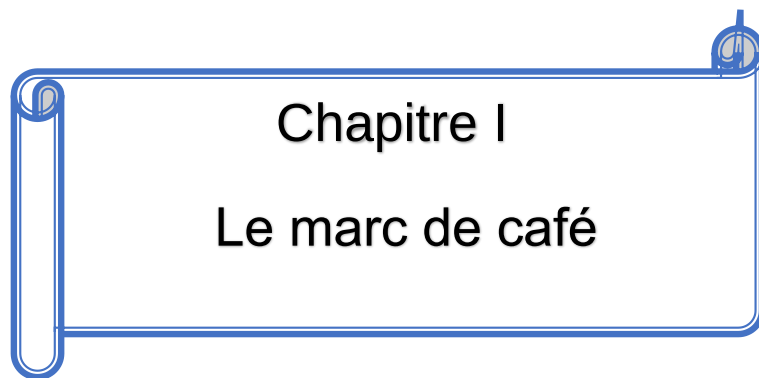
Le marc de café est un déchet organique riche en molécules bioactive et en matière organique. De nombreuses études ont été réalisées sur le marc de café et sa potentielle mise en valeur, notamment dans le cadre des énergies verte (biodiesel) (**Kondamudi et al., 2008**). Le marc du café est une source pour l'extraction des composés phénoliques, ce qui suggère la possibilité de son utilisation comme une source naturelle d'antioxydants pour l'industrie cosmétique et pharmaceutique (**Hadoudi et al., 2014**).

En raison de la forte demande pour ce produit, des quantités de déchets toxiques sont générées et représentent de graves problèmes environnementaux. Le développement de solutions durables pour la gestion des déchets alimentaires représente l'un des principaux défis auxquels la société est confrontée, et les solutions au problème du gaspillage alimentaire sont la prévention pendant la production et sa valorisation.

L'objectif de ce travail de recherche est donc de comparer deux types de marc de café décoction et d'espresso et de les évaluer pour transformer les déchets alimentaires en produits à valeur ajoutée afin de protéger l'environnement. De Ce fait, la grande importance du marc de café dans plusieurs domaines nous pose le problème de choisir le plus efficace en termes de richesse en composants naturels et biologiques. À cet égard, il existe deux types de café les plus cultivés : l'Arabica. et le Robusta. Nous avons étudié le deuxième type et il est obtenu en préparant une boisson au café en la faisant décoction et également en pressant de l'espresso. Le choix de ces deux méthodes repose sur le fait qu'elles sont les méthodes les plus utilisées. De même, on vise à travers cette étude de trouver un volet de valorisation de ce sous-produit en tant que support de culture des microorganismes d'intérêt. La rédaction de ce manuscrit est articulée sur 3 parties:

- ✓ La première partie représente la bibliographie, où nous mettons en évidence la composition et les types de café, ainsi que les propriétés du marc de café et leurs utilisations.
- ✓ La deuxième partie représente les matériaux et les méthodes utilisés pour étudier les propriétés physico-chimique du marc de café décoction et de l'espresso, et la culture d'organismes en milieu liquide en présence d'extraits de marc de café
- ✓ Dans la troisième partie, les différents résultats obtenus sont présentés et discutés séparément.

Première partie
Synthèse bibliographique



Chapitre I

Le marc de café

1 Définition

Le marc de café est un matériau alginate-cellulosique organique récupérable. Ils peuvent être utilisés comme absorbants sous leur forme brute ou après activation (**Bouchnafa et Bouguera, 2019**).

C'est le résidu de café soluble obtenu après torréfaction des grains de café commerciaux après les avoir moulus et extraits avec de l'eau bouillante ou de la vapeur (**Bin Ahmed et Belkhiri, 2020**).

2 Propriétés du marc de café

Le marc de café possède plusieurs propriétés, soit physiques, chimiques et également bioactives. Celles-ci sont exposées comme suit :

2.1 Propriétés physiques

Le marc de café possède un haut taux d'humidité variant entre 55 et 80 %. Plus l'humidité est grande plus la croissance microbienne est favorisée, donc des stratégies de conservations optimales sont nécessaire afin de récupérer une matière de qualité. Ces stratégies peuvent représenter des coûts économiques supplémentaires pour le transport. En ce qui concerne la morphologie des grains de marc de café, la figure 1 illustre un grain de marc de café issu des commerces et prise par microscopie électronique à balayage (**Carassou, 2015**).

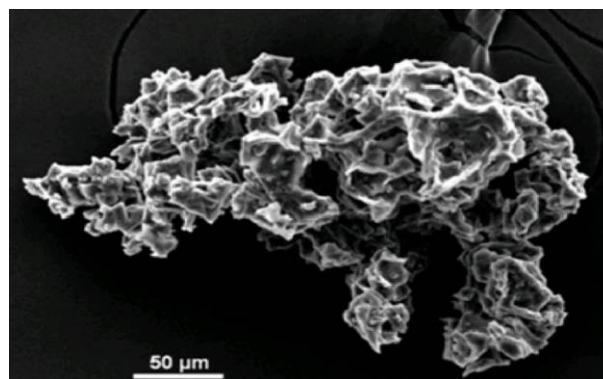


Figure 01 : Grain de marc de café commercial par microscopie électronique à balayage (Chen et autres, 2013)

Le diamètre des grains de marc de café séchés varie entre 50 et 100 µm pour le marc de café commercial. Cependant, ce diamètre augmente avec le taux d'humidité. En effet, lorsque le marc de café devient de plus en plus humide, l'adhésion entre les grains augmente et ces derniers forment des agglomérats de plus grande taille.

La densité apparente du marc de café est environ de $0,42 \text{ g/cm}^3$ et la densité réelle est d'environ $1,16 \text{ g/cm}^3$. En ce qui concerne leur porosité, les grains de marc de café ne possèdent pas de micropores. En général, la porosité, peu importe le taux d'humidité et la taille des pores, est d'environ $10 \text{ }\mu\text{m}$. Toutefois, cette porosité peut être augmentée si nécessaire en diminuant la cristallinité du marc de café en dégradant sa matrice cellulose-lignine. Enfin, la surface des grains est de charge négative .

Tableau 01 : Caractéristiques physiques du marc de café en fonction de l'humidité
(Silva *et al.* 2012)

Humidité (%)	Angle de talus (°)	Densité apparente (g/cm ³)	Densité réelle (g/cm ³)	Diamètre (μm)	Porosité
0,00	s.d.	s.d.	1,20	50-100	s.d.
15,2	38,7	0,43	1,16	583	0,63
17,7	37,8	0,43	1,16	617	0,63
43,1	37,7	0,41	1,11	880	0,63

n.d: non-défini

2.2 Propriétés chimiques

Le carbone est l'élément majoritaire du marc de café. Le tableau 2 présente la composition élémentaire du marc de café (Abdelmalek et Bounteous, 2020).

Tableau 02: Composition élémentaire du marc de café (Limousy *et al.*, 2013)

Eléments	Quantités
Carbone (C)	49,7%
Hydrogène (H)	n.d.
Azote (N) 2,3%	2,3%
Oxygène (O)	n.d.
RatioH/C	n.d.
C/N	22

n.d: non-défini

La composition du marc de café est essentiellement faite de polysaccharides, de lipides, de protéines, de polyphénols et de minéraux (**Zamora et al., 2015**). Le tableau 3 présente la proportion des principaux composés retrouvés dans le marc de café.

Tableau 03 : Principaux composés du marc de café (Limousy et al., 2013)

Éléments	Quantités
Glucides	45.3%
Lipides	9.3-16.2%
Protéines	14%
Minéraux	6800 mg/kg de matière sèche
Polyphénols	13-18 g acide gallique éq.

2.3 Propriétés bioactives

Le marc de café arabica possède une activité anti-radicalaire légèrement supérieure à celle du marc de café robusta. Cependant, le marc de café robusta montre une meilleure capacité d'absorption de l'oxygène radicalaire que le marc de café arabica. Aussi, le marc de café des deux espèces possède une activité anti-tumorale assez similaire. Cette activité est sans doute liée à la présence de pigments bruns (mélanoïdes et polyphénols) formés lors de la torréfaction des grains de café. De plus, il a été montré que le marc de café possède également des propriétés antiallergènes et dans une moindre mesure des propriétés anti-inflammatoires. (**Benahmed et Belkhairi, 2020**).

3 Type de café

3.1 L'arabica (*Coffea Arabica*)

C. arabica est le premier caféier à avoir été découvert et cultivé, il est originaire d'Éthiopie. L'arbuste peut atteindre 10m de hauteur à l'état sauvage. Les principales zones de culture de l'Arabica sont les régions montagneuses de l'Amérique central et du sud mais aussi d'Afrique orientale. Sa culture est délicate, nécessite un climat d'environ 20°C : elle requiert une altitude de 800 à 2000m et un sol riche. *C. arabica* donne des feuilles vert foncé et brillantes ainsi qu'un tronc droit et des fruits de très bonne qualité avec une forme allongée, plus pointue que celle de *C. canephora* var. *robusta*. La pulpe est naturellement peu caféinée, mais riche en magnésium, en fer et en vitamines, à sa finesse et à sa douceur (**Hamdouche, 2015**).

3.2 Le robusta (*Coffea Canéphora*)

L'arbuste *Coffea canephora* est un arbre de grande taille (pouvant atteindre jusqu'à 10 mètres de haut) poussant à des altitudes moins élevées que *C.arabica* et préfère la chaleur et l'humidité. Il est principalement cultivé dans les zones tropicales plus humides de basses altitudes dans les régions d'Afrique centrale et occidentale ,dans l'ensemble du Sud - Est asiatique et dans certaines zones du Brésil. Ses feuilles sont d'un vert plus clair et ses cerises sont rondes , petites et plus épaisses que celles du *C.arabica* .Le café robusta possède une teneur en caféine deux fois plus élevée que celle de l'arabica. Il se vend moins cher sur le marché (Hamdouche, 2015).



Figure 02 :Caféier Robusta.
(Aissani et Derouiche, 2019)



Figure 03 : Caféier Arabica.
(Benbabouche, 2013)



Figure 04 : Grains de café arabica et robusta (Dimbiniaina, 2011)

4 Composition du 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 boisson par le consommateur influe directement la composition de cette dernière (Silabdi, 2010).

Tableau 04 : Composition chimique des graines du café vert Robusta et Arabica (Kessoum et Lougliti, 2021).

Composant	Arabica	Robusta
Glucides solubles	9 – 12.5	6 – 11.5
Monosaccharides	0.2 – 0.5	
Oligosaccharides	6 – 9	
	3 – 7	
Polysaccharides	3 – 4	
Polysaccharides insolubles	46 – 53	34 – 44
Hémicellulose	46 – 53	3 – 4
Cellulose, β (1-4) mannanes et phénols	41 – 43	32 – 40
Acides volatils	0.1	
Acides aliphatiques non volatils	2–2.9	1.3–2.2
Acide chlorogénique	6.7–9.2	7.1–12.1
Lignine	1 – 3	
Lipides	15 – 18	8 – 12

Cire	0.2 – 0.3	
Huiles	7.7 – 17.7	
composés azotés	11 – 15	
Acides aminés libres	0.2–0.8	
Protéines	8.5–12	
Caféine	0.8–1.4	1.7–4.0
Trigonelline	0.6–1.2	0.3–0.9
Minéraux	3–5.4	

5 Valorisation et utilisation du marc de café

Chaque 1kg de café torréfié produit environ 0.8 kg de marc de café qui est non comestible, c'est à dire que des centaines de tonnes de marc de café sont produites chaque jour. Dont la plus grande partie est éliminée par la décharge ou elle émet du méthane, un gaz à effet de serre 28 fois plus puissant que le dioxyde de carbone. En plus de nuire à l'environnement, et en vue de protéger l'environnement, la prise de conscience croissante a stimulé la recherche de méthodes de valorisation du marc de café.

Il existe plusieurs méthodes de valorisation et d'utilisations sont possibles avec le marc de café. Parmi celles-ci se retrouvent:

5.1 Production de compost

La caractérisation physico-chimique du compost permet d'estimer sa valeur agronomique et sa teneur en macroéléments fertilisants tels que l'azote, le phosphore, le potassium pour assurer la bonne nutrition des plantes, mais aussi son degré de toxicité par estimation de la part d'élément de traces métallique (**Outéndé, 2016**). Le marc de café est un excellent compost naturel grâce à sa teneur importante en éléments nutritifs (potassium et magnésium, le phosphore et le cuivre). Il existe trois méthodes de compostage avec le marc de café:

- Le compostage en cuve : présente des résultats plus rapides, mais montre une plus grande perte en azote.
- Le compostage en andain : montre une plus grande augmentation en azote .

- Le vermicompostage : doit être mélangé le marc de café avec matières organiques. Car l'utilisation du seul marc de café augmente la mortalité des vers de terre (**Liu et Price, 2011**).



Figure 05 : le marc de café utilisé comme un compost (Liu et price, 2011).

5.2 Substrat pour la culture des micro-organismes et des champignons comestibles

Le marc de café peut être utilisé comme substrat pour la production de caroténoïde grâce à la culture de levure. Les caroténoïdes sont utilisés dans les industries agroalimentaires (colorant), cosmétiques et pharmaceutiques et sont donc des composés d'intérêts (**Petrick *et al.*, 2014**). Le marc de café peut aussi servir de substrat pour la culture de champignons comestibles sans ajout de supplément nutritionnel (**Leifa *et al.*, 2001**). La haute teneur en protéines et en humidité du marc de café explique certainement ce phénomène, car ce sont deux paramètres essentiels à la croissance de microorganismes et de champignons (**Mussatto *et al.*, 2011**).

Aussi, dans l'hypothèse d'utiliser le marc de café dans la culture de champignons, il est essentiel de connaître les meilleures conditions de culture qui peuvent varier d'une espèce à une autre. En somme, le marc de café est un substrat à considérer pour la culture de microorganismes et de champignons, de nombreuses portes pouvant être ouvertes par cette avenue, notamment l'industrie de l'alimentation.



Figure 06: Utilisation du marc de café pour la culture des champignons. (Murthy et Naidu, 2012).

5.3 Industrie alimentaire

De nombreux constituants du marc de café peuvent être utilisés dans l'industrie d'alimentation. En effet, Le marc de café peut être utilisé pour la fabrication de spiritueux à saveur de café (**Sampaio *et al.*, 2013**). Les polyphénols et les tanins présents dans le marc de café sont aussi des composés d'intérêts pour l'industrie alimentaire. Ensuite, la composition en protéine du marc de café donne la possibilité de l'utiliser dans l'alimentation humaine (**Vega *et al.*, 2015**). Le marc de café peut être utilise aussi dans la lutte antimicrobienne, des mélanoides contre la croissance de pathogènes dans les aliments. En ce qui concerne la nourriture animale, le marc de café peut être incorporé à la nourriture des ruminants, des cochons, des poules et des lapins. Cependant, la haute teneur en lignine dans le marc de café pose des limites à cette option (**Mussatto *et al.*, 2011**).

5.4 Production de biocarburants

La production de biocarburant à partir du marc de café nécessite au préalable le séchage du marc de café. En effet, éliminer l'humidité est nécessaire afin d'obtenir des solvants de qualité dans la production de biocarburant (biodiesel, bioéthanol, bio huile) (Carassou, 2015). En effet, la production d'éthanol correspond à l'exploitation des sucres et la production de biodiesel correspond à l'exploitation des lipides (**Kwon *et al.*, 2015**).

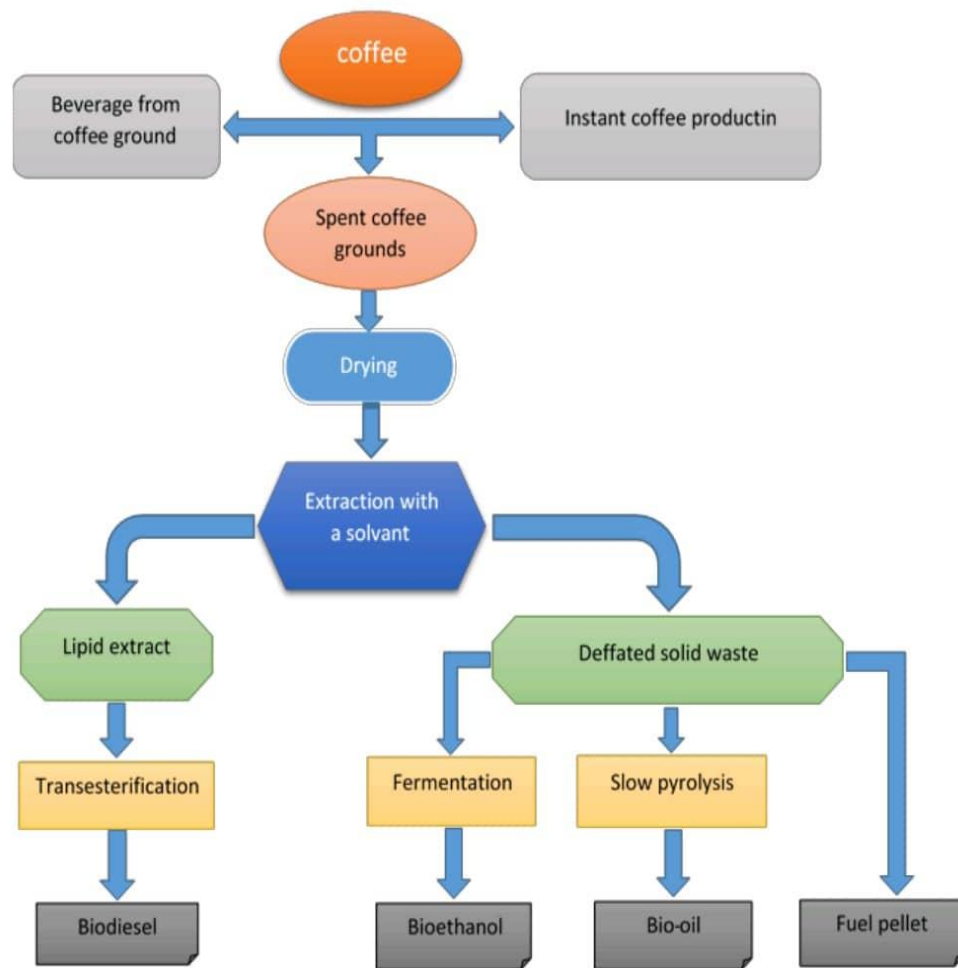


Figure 07: étapes de production de biocarburant à partir du marc de café (Gomez-de la Cruz *et al.*, 2015)

5.5 Production de charbon actif

Le carbone actif (CA) est un adsorbant connu depuis longtemps se caractérisant par, entre autres, sa grande surface spécifique, sa structure poreuse et sa thermo-stabilité (**Chen *et al.*, 2013**). Le marc de café peut être transformé en charbon actif. En effet, le CA issu de marc de café possède une structure microporeuse uniforme et une surface spécifique et une performance comparable ou meilleure que les charbons actifs commercialisés sur le marché actuel. Dans l'optique de produire du CA à partir de marc de café, ce dernier ne doit pas être exploité au préalable pour sa caféine. En effet, la caféine joue un rôle important dans la préparation du charbon actif en tant que catalyseur (**Vega *et al.*, 2015**).

Le marc de café peut être utilisé après traitement comme charbon actif pour dépolluer les eaux usées contaminées par des polluants organiques et des colorants dans les industries

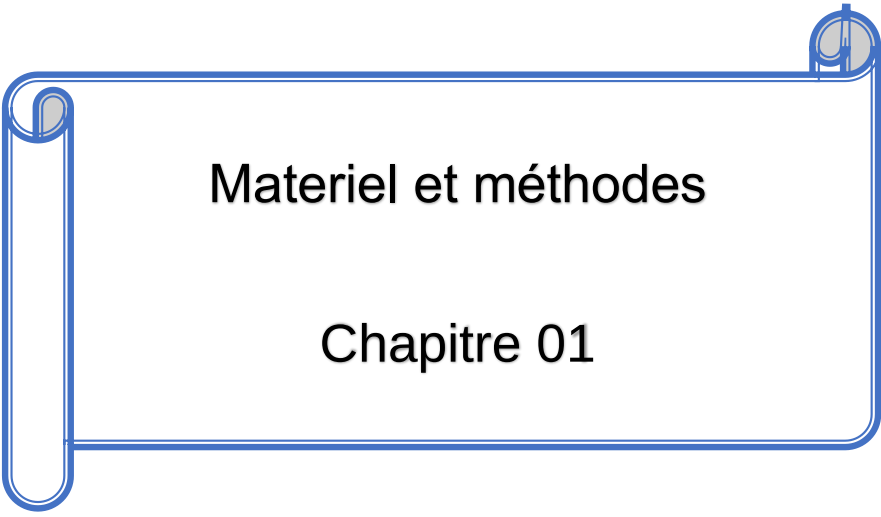
textiles (**Carassou, 2015**). Par exemple, le marc de café se révèle efficace pour adsorber la rhodamine, notamment grâce à la charge négative à sa surface avec un pH spécifique de la solution (**Shen et Gondal, 2013**).

5.6 Utilisations diverses

- ✓ Le marc de café est plein de propriétés cosmétiques, c'est un très bon exfoliant. Il permet d'éliminer les cellules mortes de la peau.
- ✓ Le marc de café peut être utilisé comme remblai pour les abords des routes.
- ✓ La composition chimique du marc de café ouvre la porte de beaucoup d'industries. Par exemple, la cellulose est un produit utilisé dans la fabrication du papier. Aussi, la capacité actuelle de transformer la cellulose en glucose permet la synthèse de nombreux autres composés chimiques d'intérêts (éthanol, butanol, hydrogène, acide organique, glycérol,... etc.).



Partie Expérimentale



Materiel et méthodes

Chapitre 01

L'objectif

L'objectif de notre travail est de mener une étude comparative de ces deux types de marc du café (décoction et Espresso) et la valorisation de marc du café en tant qu support de culture de micro-organismes.

1. Échantillonnage

250 g de café ont été obtenus. Nous avons choisi le café Robusta car c'est un type de café qui est principalement produit et consommé dans le monde entier, en raison de sa forte acidité, moins cher et plus facile à cultiver, et son habitat naturel est les tropiques. Afrique centrale et occidentale (**Benahmed et Belkhairi, 2020**).

1.2. Préparation du marc de café

Deux méthodes sont utilisées pour la récupération du marc de café

- **L'expresso**, dont le marc est récupéré à partir d'une machine à pression dans une cafétéria public.
- **La décoction consistant** : faire bouillir le café dans l'eau pendant 15 minutes. Enfin, le marc précipité est directement récupéré après épuisement de la boisson du café. Après récupération, ils sont directement transportés dans des boites hermétiquement fermés et étiquetés vers le centre de recherche en biotechnologie

2. Analyse physico chimique des échantillons

2.1. Détermination de la matière sèche (MS)

✓ Principe

La détermination de la matière sèche ou la teneur d'un Echantillon en eau est faite en portant une quantité bien définie d'un échantillon à la dessiccation dans une étuve à 45°C pendant 24 heures jusqu'à poids stable. La différence de poids avant et après dessiccation correspond à la perte d'eau, le reste correspond à la matière sèche de notre échantillon (**Aissani et Derouiche ,2019**)

✓ Mode opératoire

3g de chaque type du marc de café sont pesés séparément dans des creusets en porcelaine tarés ; ils sont mis dans une étuve à 45°C pendant 24 heures jusqu'à poids constant. Ils sont par

la suite placés dans un dessiccateur pendant 2 heures pour éviter toute sorte d'absorption d'humidité à l'air libre. Trois répétitions sont faites pour chaque échantillon. La matière sèche (MS) est calculée selon cette expression :

$$\%MS = \frac{P2 - Tc}{P2 - Tc} * 100$$

- P2 : poids d'échantillon après dessiccation (g)
- Tc : poids de creuset vide (g)
- P1 : poids d'échantillon avant dessiccation (g)

Le taux d'humidité est calculé à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ Humidité} = 100 - \%MS$$

2.2. Détermination de la matière minérale (MM)

✓ Principe

Le marc de café (décoction et expresso) broyée est calcinée à 550 °C dans un four à moufle jusqu'à l'obtention d'une cendre blanchâtre de poids constant (**Abbad et Lemmouchi, 2019**).

✓ Mode opératoire

Dans des creusés en porcelaines, peser 10 g d'échantillon broyé.

- Placer les creusés dans un four à moufle réglé à 550 ± 15 °C durant 6 heures jusqu'à l'obtention d'une couleur grise, claire ou blanchâtre.
- Retirer les creusés du four et les mettre à, puis les peser.

- Expression des résultats

$$MO \% = (M1 - M2) / p \times 100$$

Soit : MO % : Matière Organique, M1 : Masse de la creusé + prise d'essai.

M2 : Masse de la creusé + cendres, P : Masse de la prise d'essai.

2.3. Détermination de la teneur en matière grasse (MG)

✓ Principe

L'extraction de la matière grasse est faite d'une manière continue dans un appareil « SOXHLET » composé de : creusets en aluminium portant le solvant choisie, un extracteur, des cartouches poreuses pour le dépôt des échantillons et un réfrigérateur à reflux (l'eau), ainsi qu'un

appareil pour le réglage de la température. L'extraction se fait selon trois étapes : Ébullition (contacte d'échantillon avec le solvant pendant 15 min), Rinçage (lavage pendant 30 min) et Récupération (pendant 10 min).

✓ Mode opératoire

Environ 1 g de chaque échantillon sont pesés dans des cartouches poreuses, après introduction de 25 ml d'hexane dans chaque creusé en aluminium, la cartouche est déposée dans l'extracteur et les parties de l'appareil sont assemblées. L'hexane est alors porté à ébullition pendant 55 min sur des plaques chauffantes jusqu'à obtention d'un maximum d'hexane dans l'extracteur. Une fois l'hexane éliminé, les cartouches sont séchées à l'étuve à 105°C pendant 1 à 2 h et les creusés sont pesés. L'expression des résultats se fait comme suit

$$\%MG = \frac{PE_PV}{Prise\ d'essai * MG\%} * 100$$

- PE : poids du creuset avec l'extrait Hexane.
- PV : poids du creuset vide.

2.4. Détermination de la teneur en protéines

✓ Principe

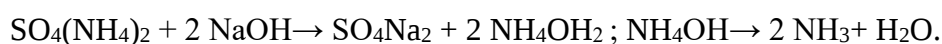
La teneur en azote total est déterminée par la méthode de Kjeldahl. Cette méthode de dosage comporte trois étapes : la minéralisation ; la distillation et la titration. Elle consiste à détruire toute trace de matière organique par l'acide sulfurique concentré à l'ébullition en présence d'un catalyseur avec formation de sulfate d'ammonium puis de l'ammoniaque. Ce dernier déplacé par une base fixe, est entraîné par la vapeur d'eau dans une solution d'acide fort(.Aisani et Derouiche ,2019).

✓ Mode opératoire

L'azote total (N) est dosé par la méthode de Kjeldahl comportant trois étapes : la minéralisation, la distillation et la titration.

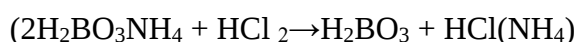
➤ **La minéralisation:** Dans un batch de minéralisation (Kjeldtec 2400 Foss), L'azote organique de l'échantillon sec et broyé (prise d'essai 1g) est transformé en azote minéral NH_3 (sulfate d'ammonium), en présence d'acide sulfurique concentré à chaud (30 ml H_2SO_4 à 400°C pendant 5 heures) et d'un catalyseur au titane/cuivre (5,6 g de KSO_4 couplé avec 0,7 g de CuSO_4) suivant la réaction suivant : $2 \text{N (organique)} + 2 \text{SO}_4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{SO}_4(\text{NH}_4)_2 + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$.

➤ **La distillation:** Après transformation du sulfate d'ammonium en ammoniac par une base forte (30 ml NaOH , 10N) suivant cette réaction :



L'ammoniac ainsi formé est entraîné par condensation de la vapeur d'eau ($\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4\text{OH}$) et repris dans 25 ml d'une solution d'acide borique (4%) qui se complexe avec l'hydroxyde d'ammonium contenant quelques gouttes d'un indicateur coloré (rouge de méthyle) ($\text{NH}_4\text{OH} + \text{H}_3\text{BO}_3 \rightarrow \text{H}_2\text{BO}_3\text{NH}_4 + \text{H}_2\text{O}$)

➤ **La titration:** L'ammoniac sous la forme de borate d'ammonium est titré à l'aide d'une solution d' HCl (0,01N) jusqu'au virage de la couleur du vieux rose au gris



2. La teneur en azote de la matière sèche est obtenue par l'équation suivante :

$$\frac{\text{Vol (Hcl) (ml)} \times 14.007 \times \text{Nr}}{\text{Prise d'essai} \times \text{MS} (\%)}$$

Où : Nr : La normalité de l'acide utilisé pour la titration (dans notre cas, 0.1).

La teneur en matières azotées totales (MAT) est obtenue en multipliant la teneur en azote (N) par 6,25.

2.5. Détermination de la teneur en sucres totaux

✓ Principe

Les sucres totaux sont déterminés selon la méthode de **Dubois et al. (1956)** dont le principe repose sur fait que l'acide sulfurique concentré provoque à chaud, le départ de plusieurs molécules d'eau à partir des oses. Cette déshydratation s'accompagne par la formation d'un hydroxy-méthyl furfural (HMF) dans le cas d'hexose et d'un furfural dans le cas d'un pentose. Ces composés se condensent avec le phénol pour donner des complexes colorés (jaune

orange). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des oses. La densité optique est mesurée à 490 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (**Sahki et Terras, 2020**)

✓ **Mode opératoire**

Dans des tubes Eppendorf, on ajoute 200 µl de chaque échantillon (1 mg dans un 1 ml eau distillée) et 200 µl de phénol 5%. 1ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) à 96% est par la suite ajouté ; après une phase d'agitation dans le vortex, les tubes sont maintenus dans l'étuve à 100°C pendant 5 min, puis laissés dans l'obscurité pendant 30 min. La lecture de l'absorbance est faite à 490 nm via un spectrophotomètre. La teneur en sucres totaux est exprimée en se référant à la courbe d'étalonnage établie à différentes concentrations du glucose (**Annexe 1**).

2.6. Détermination du pH

L'acidité des échantillons est déterminée selon la technique de (**Damhan et al., 2016**). 5 g du marc de café sec sont portés à ébullition dans 50 ml d'eau distillée pendant 5 min sous agitation continue. Le mélange est par la suite centrifugé à 7000 tr / min pendant 10 min (Thermo Electron LED GmbH, Allemagne). Le surnageant est ensuite complétée à 100 ml avec l'eau distillée. Le pH est mesuré en utilisant un pH mètre multi-paramètres (Mettler-Toledo AG, Schwerzenbach, Switzer land).

3. Analyse phytochimique des échantillons

L'analyse phytochimique des extraits des deux échantillons est effectuée via le dosage de leur contenu en composés secondaires à l'instar des phénols totaux, les flavonoïdes et les tanins.

3.1. Préparation des extraits

✓ **Principe**

La macération est une opération qui consiste à laisser l'échantillon en contact avec un solvant à température ambiante pendant un temps bien définit pour en extraire les substances chimiques solubles.

✓ **Mode opératoire**

Deux extraits hydro-éthanoïques sont préparés par macération de 20 g de chaque type du marc de café (Expresso ; Décoction) dans un système solvant éthanol-eau (70 :30 v/v) pendant 72 h sous agitation et à l'obscurité, avec renouvellement du solvant chaque 24h. Les trois filtrats sont réunis et concentrés sous pression réduite dans un rota vapeur à 40° C.

Le rendement en pourcentage (%), est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait et celle de la plante sèche en poudre. Il est calculé par la formule suivante:

Rdt (%) = (Ps/PA) × 100 *Pa* poids d'extrait brut. *PA* : poids de la plante sèche en poudre.
(Aissani et Derouiche, 2019)

3.2. Tests phytochimiques

La solution utilisée pour les tests de détection des groupes chimiques a été conduite sur les extraits du marc de café (Expresso, Décoction) obtenues par décoction, selon **Kaneria et al, (2012)** ; 2,5g de extraie (décoction et expresso). ont été bouillis avec 50 ml méthanol pendant 30 min au bain-marie, Puis les extraits sont filtrés sur papier Whitman N 01.

3.2.1. Saponosides

La mise en évidence de saponosides a été effectuée par agitation manuelle du tube a essais contenant 2,5 ml de l'extrait aqueux dans le sens de la longueur du tube pendant 1 minute puis laisser au repos. L'apparition d'une colonne de mousse persistante, d'au moins 1 cm de hauteur pendant 15 minutes indique la présence de saponosides (**Bruneton, 2009**).

3.2.2. Flavonoïdes

Macérer 2g de la plante en poudre dans 40ml de HCl dilué 1% pendant 24h. Prendre 10 ml du filtrat, le rendre basique par l'ajout d'une solution Na OH. L'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube indique la présence des flavonoïdes (**Cheid et al., 2016**).

3.2.3. Tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 1 ml de l'extrait aqueux, 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl_3 (à 5%). L'apparition d'une coloration vert foncée ou bleu-vert indique la présence des tanins (**Cheid et al., 2016**).

3.2.4. Alcaloïdes

A 1 ml de chaque extrait, 5ml d'HCl 1% sont ajoutés. Chaque mélange est chauffé au bain marie, puis divisé en deux volumes égaux. Les 2 volumes sont traités séparément par les réactifs de:

- BOUCHARDAT (réactif iodo-ioduré) qui donne une précipitation brun rougeâtre.
- MAYER ajouter quelques gouttes de réactif d (couleur jaunâtre) (**Majob et al., 2003**)

3.2.5. Trapénoïdes

A 5 ml d'extrait sont ajoutés 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4). Le test positif est indiqué par l'apparition de deux phases et d'une coloration brune à l'interface. (**Cheid et al., 2016**).

3.2.6. Polyphénols

La réaction avec le trichlorure de fer (FeCl_3) a permis de caractériser les polyphénols. A 2 ml de l'extrait aqueux, on ajoute une goutte de trichlorure de fer alcoolique à 2% Solution. L'apparition d'une couleur bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée était le signe d'une la présence de polyphénols (N'guessan *et al.*, 2009).

3.3. Dosage des métabolites secondaires

3.3.1. Détermination de la teneur en phénols totaux (PT)

La teneur des extraits des phénols totaux est déterminée par la méthode de **Singleton et Rossi (1965)** en utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu (FC). 20 μl de chaque extrait sont introduits dans un spectrophotomètre (200 μl pour chaque puits) auxquels 100 μl de FolinCiocalteu (10 %) sont ajoutés. Après 3 min, 75 μl de carbonate de sodium (7,5 %) sont additionnés. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 90 min à température ambiante. L'absorbance est mesurée par la suite à 760 nm via un lecteur Spectrophotomètre UV visible. La teneur en phénols totaux est exprimée (μg Eq de l'acide gallique/mg MS) en se référant à la courbe d'étalonnage établie à différentes concentrations de l'acide gallique (**Annexe 1**).

3.3.2. Détermination de la teneur en tanins condensés (TC)

Les tanins condensés se dépolymérisent en présence d'acide concentré et par réaction avec la vanilline se transforment en anthocyanidols de couleur rouge mesurable par spectrophotométrie à 550 nm (**Annexe 1**) .

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode de la vanilline en milieu acide décrite par **Julkunen-Titto (1985)**. 5 ml du réactif de vanilline déjà préparé en mélangeant à volume égal 2.5 ml de la solution méthanoïque de l' HCl à 8 % (v/v) avec 2.5 ml de la solution méthanoïque de vanilline à 4% (m/v) sont ajoutés à 1 ml de chaque échantillon. Le mélange est par la suite agité vigoureusement et maintenu dans un bain marie à 30 °C pendant 20 mn. L'absorbance est mesurée à 500 nm par un lecteur spectrophotomètre UV visible. La teneur en tanins condensés est exprimée (μg Eq de la vanilline/mg MS) en se référant à la courbe d'étalonnage établie à différentes concentrations de la catéchine

3.3.3. Détermination de la teneur en Flavonoïdes

En présence du chlorure d'aluminium, le groupement OH libre en position 5 présent dans les flavonoïdes donne un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{3+} , la coloration

jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'échantillon (**Ribereau-Gayon, 1968**).

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode colorimétrique d'aluminium nitrate décrite par **Turkoglu et al., (2007)**. Dans un spectrophotomètre UV visible, une quantité de 550 µl de chaque extrait (1µg/1ml de méthanol) est mélangée avec 110 µl de l'acétate sodium (CH₃COOK) (9,8 g dans 100 ml d'eau distillé) et un volume de 110 µl d'aluminium nitrate (Al (NO₃)₂·9H₂O. Après l'incubation pendant 40 min à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 415 nm via un lecteur spectrophotomètre. La teneur en flavonoïdes totaux est exprimée (µg Eq de la quercétine/mg MS) en se référant à la courbe d'étalonnage établie à différentes concentrations de la quercétine (**Annexe 1**).

4. Etude de l'effet de l'extrait de marc du café sur la croissance microbienne

Les différents extraits obtenus feront l'objet de l'évaluation de son effet sur la croissance des souches microbiennes d'intérêt.

4.1. Souches bactériennes

Quatre souches de bactéries probiotiques déjà isolées à partir du lait camelin et caprin ont été examinées. La solution mère a été préparée en ajoutant 1g de poudre avec 9 ml d'eau physiologique, en agitant puis en filtrant pour récupérer le filtrat qui représente la solution mère. Ces souches sont répertoriées comme suit:

-  ***Bacillus pumilus* 1: lait camelin**
-  ***Bacillus pumilus* 2 : Lait caprin**
-  ***Bacillus safensis* 1 : lait camelin**
-  ***Bacillus safensis* 2 : Lait caprin**

Pour milieu de culture bactérienne, nous avons pris une masse de 30,4 g de Mueller-Hinton en le dissolvant dans 800 ml d'eau distillée. Nous avons également fait bouillir le mélange dans une plaque chauffante pendant une heure et demie, après quoi nous avons versé le mélange dans des flacons et les avons stérilisés dans un autoclave pendant une heure. Cela a permis de préparer le milieu de culture pour les bactéries (**Annexe 3**).

4.2. Souches fongiques

Nous avons pesé 4 g de sol cultivé; provenant d'une zone agricole, qui servent en solution mère. Ensuite nous avons préparé une dilution, où nous avons pris 4 tubes et mis dans chaque tube 1 g de sol et 9 ml d'eau physiologique et mélangé. Ensuite, nous avons pris 1 ml de solution

mère du premier tube et l'avons ajouté au deuxième tube, et la même quantité du deuxième tube au troisième, et ainsi de suite au quatrième, et nous avons ainsi obtenu différentes concentrations : 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} . (**Achab et al ;2023**)

Pour le milieu de culture des champignons, nous avons pris 12,28g de milieu Sabouraud et l'avons mis dans 200 ml d'eau distillée. Nous avons ensuite porté le mélange à ébullition dans une plaques chauffante pendant 15 /20mn, puis nous l'avons stérilisé dans un autoclave. Ensuite, nous avons stérilisé le bec Bunsen et versé la solution dans les boîtes de Petri, les avons laissé sécher 20 minutes, puis les avons fermées et placées au réfrigérateur pendant 24 heures.

Il est important de stériliser les milieux de culture pour éviter la contamination par des bactéries ou des champignons indésirables, qui pourraient fausser les résultats des expériences menées. La mise au réfrigérateur des échantillons peut également aider à prévenir la croissance de micro-organismes indésirables avant leur utilisation ultérieure (**Mahni et al; 2022**) (**Annexe 3**).

4.2.1. L'ensemencement

L'ensemencement se fait en déposant une goutte de chaque dilution sur des milieux de culture gélose, qui sont des milieux couramment utilisés pour cultiver différents types de micro-organismes. Ensuite, les milieux de culture sont placés dans une étuve à une température de 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et une température de 30°pendant 3 jours pour les champignons, ce qui permet aux micro-organismes de se développer. Après 24 heures et 3 jours, nous pouvons observer la croissance des micro-organismes sur les milieux de culture et les identifier en fonction de leur morphologie. Cette méthode peut être utile pour évaluer la diversité et la quantité de micro-organismes dans un sol ou un échantillon d'eau, ainsi que pour détecter la présence de micro-organismes pathogènes ou nuisibles pour les cultures (**Achab et al; 2023**).

4.2.3. Purification des micro-organisms:

En Bec Bunsen, nous avons préparé 3 tubes et 4 tubes contenant 0,5 ml d'eau physiologique et nous avons prélevé sur les colonies préalablement isolées des micro-organismes. Nous avons bien mélangé, puis nous avons versé chaque tube dans une boîte de Pétri sur un milieu gélose, puis les échantillons ont été incubés dans un étuve à 37°C pendant 48 h pour les bactéries et 30° C pendant 3 jours pour les Champignons, dans le but d'obtenir des souches pures. **(Gitishree Das et Presad,2010).**

4.2.4. Observation microscopique

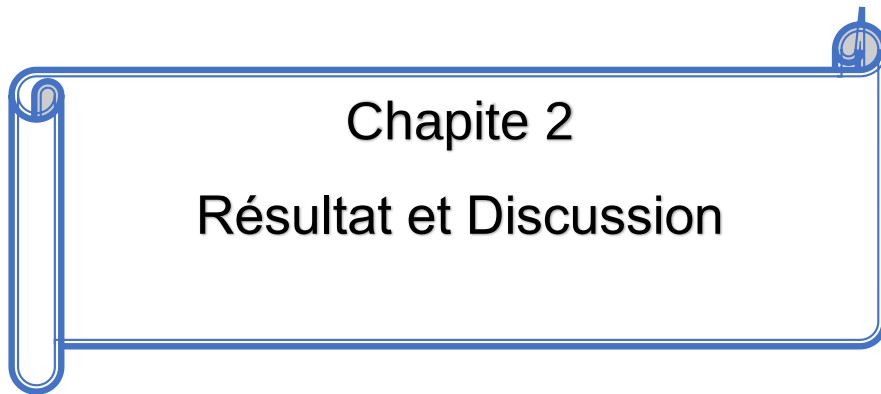
L'identification des champignons nécessite une observation au microscope optique basée sur des critères d'identification microscopiques et sur le moment où ils peuvent être identifiés. Pour cela, à l'aide d'un anneau de platine stérile, on prélève superficiellement une partie de la culture déposée sur une lame. L'écouvillon ainsi préparé est ensuite enduit de Le bleu de méthylène. La lame est ensuite recouverte d'un capuchon qui est ensuite observé au microscope optique au grossissement G X40 **(BOUTON, 1990)**

4.3. Effet de l'extrait de marc de café

Nous avons prélevé deux extraits de marc de café Décoction et d'espresso, aux doses suivantes: 15 mg, 20 mg, 25 mg, 30 mg, et nous avons ajouté 1 ml de DMSO, et nous avons mené une étude pour tester l'effet de différentes doses d'extrait de marc de café (D et E) sur les différentes souches bactériennes et fongiques en milieu liquide **(Bouillon nutritive).**

Voici les étapes adoptées :

- ❖ Préparation d'une suspension bactérienne et champignons en milieu liquide
- ❖ Nous avons divisé ces bactéries et champignons en tubes
- ❖ Ajoutez ensuite les différentes doses des deux extraits dans tubes.
- ❖ Nous avons préparé 4 et 3 tubes témoins, chacun continent des bactéries et champignons et Bouillon nutritif.
- ❖ Ensuite, nous lisons l'absorbance avec un spectromètre d'une longueur d'onde de 600 nanomètres après 24 heures, à trois instants différents pour les bactéries mais les champignons à 4 jours.



Chapite 2

Résultat et Discussion

1. Analyses physico-chimiques des échantillons

Les résultats rapportés dans le tableau (05) montrent une variabilité entre le marc de café obtenu par Espresso et celui par décoction dans la majorité des paramètres physicochimiques .

Le marc de café préparé par pression (Espresso) se distingue par sa teneur élevée en matière sèche comparativement au marc préparé par Décoction ; soient 43% Versus 32% respectivement. Autrement dit le marc du café Décoction contient une teneur en eau relativement élevée comparativement au marc Espresso, soit 68 et 57%, respectivement.

Cruz et al., (2015) ont notifié un taux d'humidité du marc de café variant entre 18 à 45%. Les différentes techniques de préparation de la boisson (Décoction ; infusion ; pression) ont été rapportés avoir un effet significatif sur le taux final d'humidité du marc (**Al Hamamre et al., 2012**).

Tableau 05 : le taux de la matière sèche(MS), de la matière minérale (MM) et de la matière grasse (MG) et Ph

Echantillons	MS (matière sèche)	MM (matière minérale)	pH
MC Espresso	43%	1%	6.40
MC Décoction	32%	1,95%	5.91

Pour cette raison, la différence de la teneur en eau pourrait être attribuée au faite que la méthode de préparation du marc par décoction consiste à faire bouillir le café dans l'eau pour faire sortir tous les composants soluble, donc un long contact du marc avec l'eau. Cependant, l'utilisation de la pression dans la deuxième méthode limite le contact avec l'eau et ne laisse que les molécules d'eau emprisonnées dans la matrice interne du café .

En fait, la teneur élevé en humidité du marc de café est rapportée un point négatif pour sa valorisation en tant que matière première pour les biocarburants et récupération des lipides (**Corréla et al., 2016 ; Cruz et al., 2015**).

Le taux des minéraux dans le marc du café espresso est estimé à 1% MS versus 1,95 % MS pour celui récupéré par décoction **Cruz et al., (2015)** rapportant une quantité des minéraux dans le marc du café variant entre 0.8-3.5% MS. Dans ce dernier, plusieurs éléments ont été identifiés et quantifiés, à savoir le phosphore, le potassium, le magnésium, le calcium, le manganèse, le cuivre, le sodium, le fer et le zinc. Le potassium est considéré comme le minéral le plus abondant dans le marc (**Capos-Véga et al., 2015 ; Cruz et al., 2015 ; Mussatto et al., 2011**).

Les taux faibles des minéraux enregistrés reflètent leur solubilisation quasi-exhaustive dans l'eau durant la préparation de la boisson

Les valeurs du pH enregistrées pour le marc du café décoction et le marc du café espresso sont 5.91 et 6,40 respectivement. Cette légère acidité pourrait être due à la présence d'un pourcentage bien défini du café Robusta renommé par son acidité moins comparativement au café Arabica. **(Flambeau et Yoon, 2018)** ont rapporté une fourchette de pH du marc de café allant de 4.5 jusqu'à 6,8, ce qui est en accord avec notre résultats. Dans le même contexte, **(Gigliobianco et al., 2020)** ont notifié qu'un pH acide pourrait réduire l'activité enzymatique ainsi que les processus de saccharification et de fermentation ayant lieu dans les procédés de valorisation du marc de café.

2. Analyse biochimique des échantillons

En ce qui concerne les lipides, les données varient principalement entre 8.12% et 9.75% MS pour le marc et le café décoction et espresso, respectivement. Cet ordre ne varie pas grandement entre les deux échantillons, cela pourrait être traduit par le fait que les lipides sont mal extraits par l'eau chaude. Il a été rapporté que le café torréfié contient de 10 à 15% de lipides et parfois plus élevés en moyenne 20% **(JFortune et Chuck, 2014)**. Au cours de la préparation des infusions du café, les lipides restent accolés aux résidus, ce qui fait le marc une bonne source de lipides **(Oestreich-Janzen, 2010)**.

Tableau 06 : Analyse biochimique des échantillons

Echantillons	MG (matière grasse)	Protéines	Sucre totaux
MC Espresso	9,75%	10,15%	6,25%
MC Décoction	8,12%	11,85%	21,25%

Nos résultats corroborent avec ceux stipulant que les teneurs en lipides se situent entre 8.12% et 9,75% MS pour café décoction et café espresso de respectivement. Ils sont composés de 84,4 % de triglycérides. Ceux-ci sont représentés par l'acide linoléique (C18 :2), l'acide palmitique (C18 :2) et (C16 :0), l'acide oléique (C18 :1) et l'acide stéarique. Ainsi, 12,3% d'esters d'alcool di terpéniques, 1,9% de stérols, 1,3% de matière polaire et 0,1% des esters de stérol sont également quantifiés **(Capos-Vega et al., 2015)**.

La café décoction renferme une teneur en protéines bruts légèrement supérieure comparativement à café expresso, soient 11,85 et 10,15 % MS, respectivement. Le taux des protéines dans le café torréfié (café décoction) rapporté être entre 8.7 et 12.2% MS selon **Maccrae (1985)**. Le taux des protéines dans le marc du café est ainsi rapporté être similaire à celui du café torréfié, soit une moyenne de 13.6% (**Messay, 2016**). .

De plus, **Compos-Véga et al. (2015)** indique que le marc de café contient entre 6,7 et 14 % de protéines selon les études. Cependant, il se peut que ces estimations soient surévaluées à cause de la présence d'autres composés contenant de l'azote tel que la caféine ainsi que plusieurs acides aminés. Le même rapport signale que Les acides aminés essentiels représentent près de la moitié (~ 49%) des acides aminés totaux du marc, principalement la leucine, ce qui représente 13 ou 21% du contenu total. Le rapport lysine/arginine, déterminant des effets cholestérolémies et athérogènes d'une protéine, est élevé dans le marc, ce qui suggère qu'il peut contribuer à effets physiologiques hypercholestérolémies et athérogènes .

Les protéines du marc sont également une excellente source d'arginine, de glutamine et d'histidine, les trois acides aminés connus pour effets forts sur les fonctions immunitaires du corps. La teneur élevée en cystéine et en méthionine de ces protéines peut augmenter les niveaux d'antioxydants dans l'organisme, stabilisant potentiellement l'ADN lors de la division cellulaire et réduisant le risque de certaines formes de cancer du côlon (**Mussant et al., 2011**).

A propos du taux de sucre, nos valeurs pour les deux échantillons (expresso 6,25 et décoction 21,125 %) pour le composant sucre se caractérisent par une diminution par rapport à **Mussatto et al., (2011)** et **Simoès et al., (2013)**, ils ont enregistré du marc de café à 43,3%MS. Il a été rapporté que les grains du café sont une source riche en polysaccharides (environ 50% du poids sec du grain vert) composés principalement de manades ou de galactomannanes, d'arabinogalactanes et de cellulose. Cependant, lors de la préparation de la boisson en utilisant l'eau chaude, la plupart de ces polysaccharides restent sous forme de composés insoluble lié au marc du café. Cela pourrait indiquer que la majorité des sucres présents dans notre café sont insolubles dans l'eau chaude, ce qui conduit à une concentration de ces derniers dans le marc.

D'une manière générale, les variations enregistrées entre les données enregistrées dans notre étude et celles rapportées dans la littérature en matière de la composition chimique du café torréfié et du marc de café pourraient être attribuées aux origines et aux espèces des échantillons utilisés, aux méthodes de torréfaction et de préparation de la boisson et aux différentes méthodes d'analyse et d'extraction (**Go et al., 2016**).

3. Analyse phytochimique du marc du café

3.1. Rendement d'extraction et screening phytochimique

Le rendement d'extraction par la technique de macération de marc de café de décoction (6,15%) mais pour le marc de café expresso (7,8%).

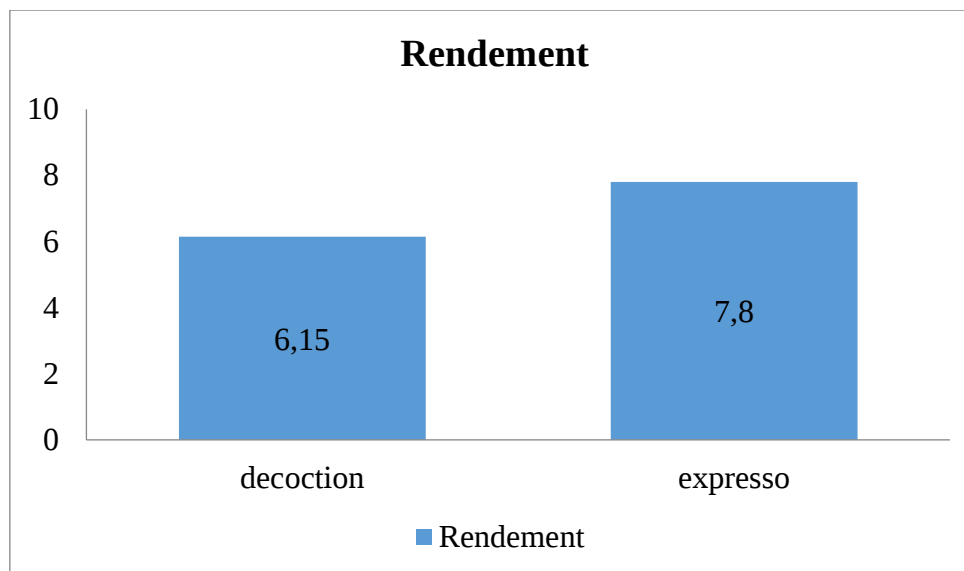


Figure 08: Rendement d'extraction du marc de café (d et E) par macération

D'après ces résultats, nous constatons que l'extrait hydroalcolique a donné un rendement important 6.15% pour le marc de café décoction et 7.8% pour le marc de café expresso, d'autre part, **Desai et al., (2019)** ont réalisé une étude sur la microencapsulation des composés phénoliques antioxydants du café vert décaféiné, avec un rendement de 23% de l'extraction aqueuse, il est légèrement plus inférieur à notre résultat. **Naidu et al., (2008)** ont obtenu des rendements de conserves à partir de différents mélanges de solvants (isopropanol : eau) pour le café robusta qui varient entre 20 % et 29 %. On peut observer que le rendement de l'extraction hydroalcolique dans notre étude est légèrement inférieur au rendement le plus élevé obtenu avec le mélange de solvants 60:40 pour le café robusta. Cela suggère que l'utilisation de solvants organiques tels que l'isopropanol peut améliorer le rendement de l'extraction par rapport à une extraction purement hydroethanoïque. L'étude menée par **Díaz-Hernández et al., (2022)** a mis en évidence un rendement d'extraction aqueuse des grains de café verts de l'ordre de 22,17 %, ce qui est légèrement inférieur à celui obtenu dans cette étude. La différence de rendement peut être due aux variations dans les protocoles expérimentaux, les échantillons de marc de café robusta utilisés, les méthodes d'analyses, etc.

Les résultats relatifs aux tests phytochimiques sont illustrés dans le tableau suivant:

Tableau 07 : Résultat d'Analyse phytochimique des extraits des marc de café

Extrait	Saponosides	Flavonoides	Tannins	Alcaloides	Trapénoïdes	Polyphenols
décoction	—	+	+	—	+	+
expresso	—	+	+	—	+	+

+ : Présence - : Absence

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés ont montré la présence des flavonoïdes, des tannin, et Trapézoïdes, et Polyphenols dans l'extrait des marc de café (Expresso, Décoction), à l'exception des Saponosides et des Alcaloïdes qui sont absents dans cet extrait.

Les différentes classes de métabolites secondaires présentes dans la poudre de café vert robusta (*C. canephora*) (**Dohou *et al.*., 2003 ;Kumar *et al.*., 2010**)

La présence de polyphénols et de flavonoïdes dans les sous-produits du café, en particulier dans la pulpe de café, est bien documentée. Il a été démontré que ces composés présentent divers avantages pour la santé, notamment des propriétés antioxydantes, (**Ahmed, 2016 ; Cádiz-Gurrea, 2018**). Les types spécifiques de polyphénols et de flavonoïdes présents dans la pulpe de café comprennent l'isovitexine, la vitexine et les 7-O-glucosides d'apigénine, de lutéoline et de chrysoériol (**Jalal, 1977**). L'absence d'alcaloïdes et de saponines dans le marc de café concorde avec les découvertes de Nieto (**1976**), qui a identifié ces composés dans les feuilles et l'écorce de la plante *Xylopiya pancheri*. Cela suggère que le traitement des grains de café pourrait éliminer ces composés.

3.2. Dosage des métabolites secondaires

Les extraits de café Expresso et de café Décoction ont été analysés quantitativement par spectrophotométrie UV-visible pour déterminer leur contenu en métabolites secondaires. Les résultats exprimés en terme d'équivalent d'acide gallique/ mg d'extrait sont représentés dans le tableau 09.

Les résultats montrent que les teneurs en polyphénols totaux varient considérablement entre les deux extraits. L'extrait du marc de café décoction renferment une quantité des phénols totaux approximativement 3 fois plus élevée que celle enregistrée pour le café expresso, soient

118,593 et 45,764 $\mu\text{g EAG /mg}$, respectivement. A titre de comparaison, ces valeurs sont en accord avec celles de l'étude de **panusa et al (2013)** variant de 19.3a 25,5 $\mu\text{g AUG/mg}$ et l'étude de **(Benahamed et Belkhair, 2020)** qui obtenez -vous 24,78 $\mu\text{gEAG/mg}$ pour le marc de café expresso et 23.02 $\mu\text{gEAG/mg}$ pour le marc de café décoction. Cependant les deux résultats il sont inférieurs à notre résultats. Cela est probablement justifié soit, par la différence des techniques utilisées pour la préparation des extraits (macération et sonication) ainsi que les conditions d'extraction incluant le type du solvant utilisé ainsi que le temps d'extraction **(Mussatto et al., 2011 ; Bravo et al., 2013)**, soit par le fait que la majorité des composés phénoliques présents dans le café Décoction sont des composants hydrophobes (hormis l'acide chlorogénique et la caféine), ils ont été concentrés au cours de la préparation de la boisson du café. Les phénols principalement présents dans le marc de café sont les acides caffeoylquiniques, féruloylquiniques et dicaffeoylquiniques.

Tableau 08 : Dosage des métabolites secondaires du marc de café

Composants Echantillon	Phénols totaux ($\mu\text{g EAG /mg}$)	Flavonoïdes totaux ($\mu\text{g EQ/mg}$)	Tanins totaux ($\mu\text{g EVL/mg}$)
Décoction	118,593	187,97	4,2
Expresso	45,764	75,212	1,61

Les résultats obtenus pour le dosage des flavonoïdes totaux de marc café décoction et marc café expresso exprimées en ($\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait) en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions sont représentées dans la l'annexe 01. Les teneurs en flavonoïdes des extraits étudiés révèlent peu de variabilités entre les échantillons (tableau 09). Il s'est avéré nettement que la concentration des flavonoïdes dans le Mace café décoction est pratiquement similaire à celle enregistrée dans le marc de café après le processus de préparation du café soluble, soit 187,97 $\mu\text{g EQ/mg}$ et 75,212 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, respectivement. Une valeur inférieure au notre est enregistrée par **Phung et al., (2017)** pour l'extrait hydrométhanolique (1 : 20, v/v) du marc de café, estimée à 31.15 $\mu\text{g/mg}$ d'extrait.

L'étude quantitative pour le dosage des tanins condensés des deux extraits est également exposée dans le tableau. L'analyse du tableau révèle que le taux des tanins condensés dans le marc de café décoction est presque 2,5 fois supérieur à celui du marc de café expresso, soit 4,2 $\mu\text{g EVL /mg}$ et 1,61 $\mu\text{g EVL/mg}$, respectivement

Dans le même contexte, **Hecimovic *et al.*, (2011)** a démontré que la teneur en tanin dans le café torréfié varie en fonction de la variété et du degré de torréfaction. Plusieurs tanins sont présents dans le marc de café. Parmi eux, on note la catéchine, la gallocatéchine, la gallocatéchine galate et l'acide chébulique. La catéchine est un antioxydant puissant qui possède une action complémentaire à la vitamine C. (**Low *et al.*, 2015**).

4. Etude de l'effet de l'extrait de marc du café sur la croissance microbienne

4.1. Cas des bactérie

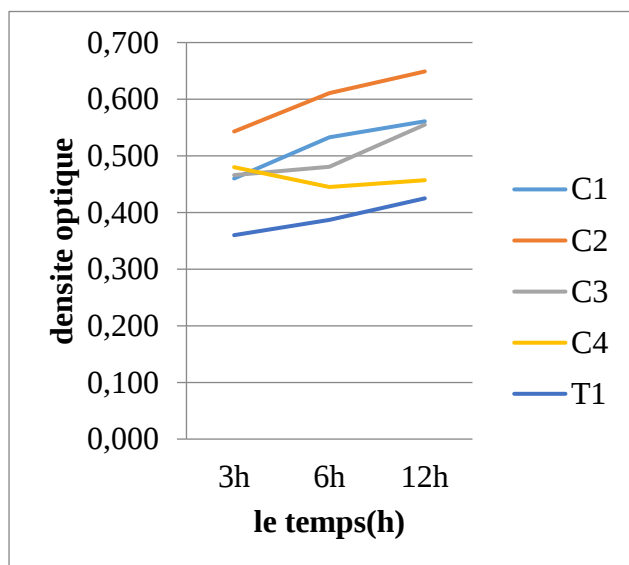


Figure 09 : Evolution de la densité optique de *Bacillus pumilu* 1 en fonction de la concentration des extraits de marc du café décoction

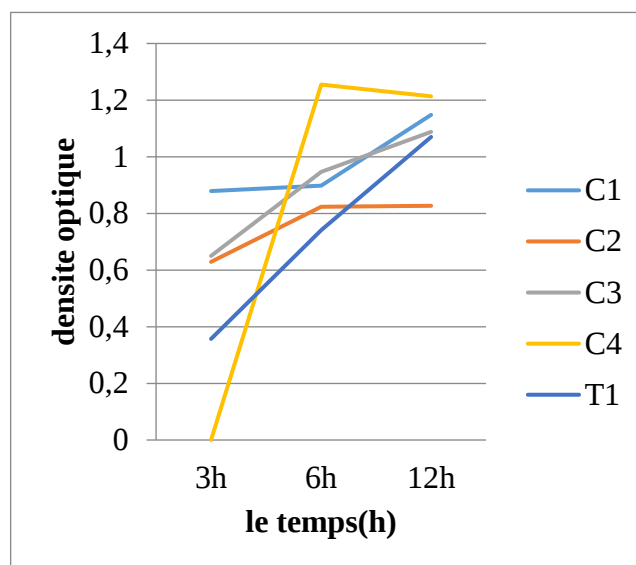


Figure 10 : Evolution de la densité optique de *Bacillus pumilu* 1 en fonction de la concentration des extraits de marc du café expresso

Après les résultats obtenus, nous avons enregistré une augmentation de la croissance de la souche *Bacillus pumilus* en présence et l'absence d'extrait de marc de café expresso et décoction à la plupart des concentrations sauf C4 sa croissance diminue.

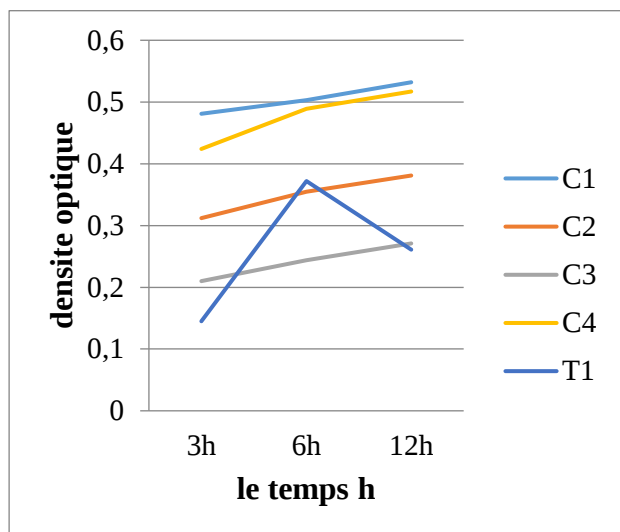


Figure 11 : Evolution de la densité optique de *Bacillus pumilus* 2 en fonction de la concentration des extraits de marc du café décoction

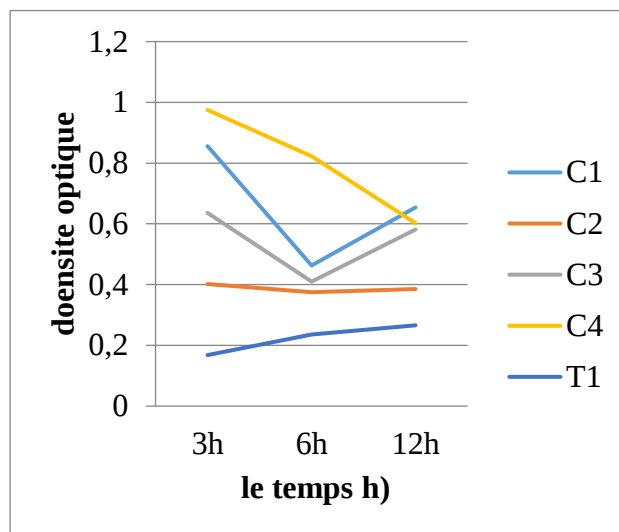


Figure 12 : Evolution de la densité optique de *Bacillus pumilus* 2 en fonction de la concentration des extraits de marc du café expresso

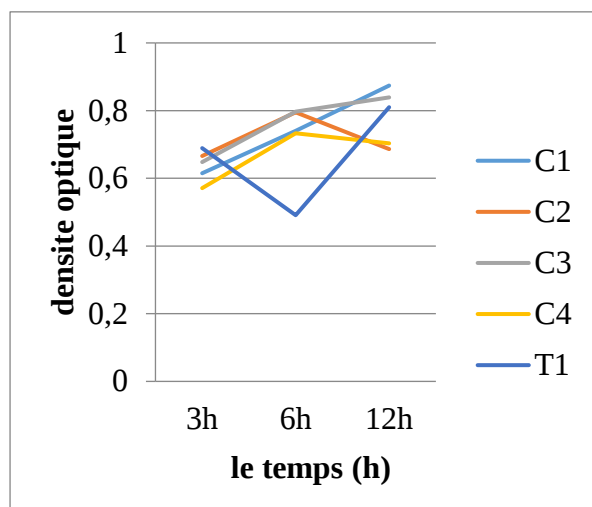


Figure 13 : Evolution de la densité optique de *Bacillus safensis* 1 en fonction de la concentration des extraits de marc du café décoction

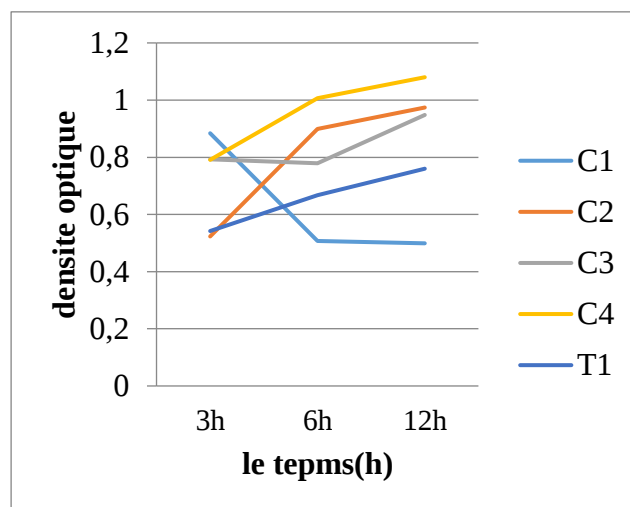


Figure 14 : Evolution de la densité optique de *Bacillus safensis* 1 en fonction de la concentration des extraits de marc du café d'expresso.

en présence de l'extrait expresso aux concentrations C1 et C3 puis elle reprend sa croissance mais en l'absence de l'extrait la souche se développe progressivement tandis qu'en la présence de l'extrait de marc de café décoction la souche (elle) augmente en croissance et en son absence elle grandit puis diminue progressivement.

Les résultats ont montré qu'il y a croissance de la souche en l'absence d'extrait de marc de café expresso et qu'elle croît à la plupart des concentrations sauf en C1 où sa développement diminue tandis qu'en présence d'extrait de marc de café décoction sa la croissance augmente aux concentrations C1, C3 et diminue aux concentrations C2, C4 et son développement diminue puis recommence à augmenter en son absence.

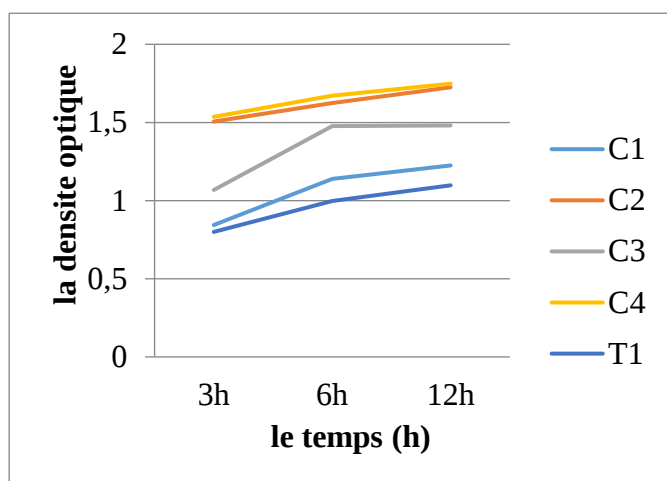


Figure 15 : Evolution de la densité optique de *Bacillus safensis* 2 en fonction de la concentration des extraits de marc du café décoction

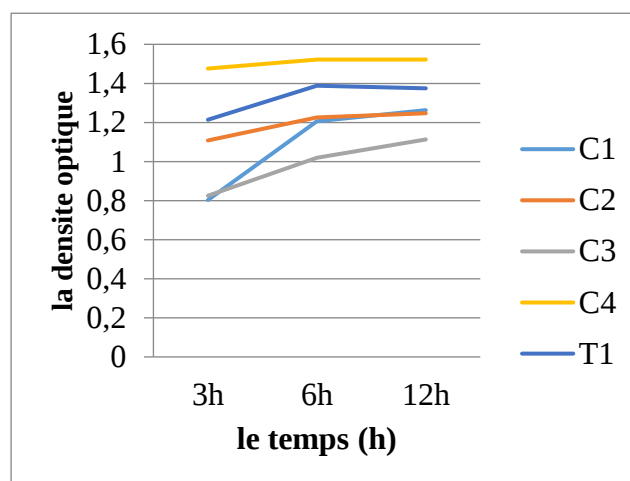


Figure 16 : Evolution de la densité optique de *Bacillus safensis* 2 en fonction de la concentration des extraits de marc du café d'expresso.

Il ressort clairement des résultats obtenus que la croissance de la souche *Bacillus pumilus* a augmenté de manière significative en présence et l'absence de l'extrait expresso et décoction. La valeur la plus élevée dans l'extrait décoction (1,748) est supérieure à celle de l'extrait expresso (1,522).

4.2. Cas des champignons

Le tableau suivant montre les résultats relatifs à l'aspect microscopiques des souches isolées.

Tableau 09 : Aspect microscopiques des souches isolées

Souches	Couleur des colonies	Not microscopique 40X .100X	Remarque
Souche 1	Blanche		Aspect filamenteux non septé et disparition des spores
Souche 2	Verte		Aspect filamenteux non septé et apparition des spores
Souche 3	Noire		Aspect filamenteux non septé et disparition des spores

Les figures suivantes montrent l'effet des différentes concentration d' extrait de marc de café sur la croissance fongiques.

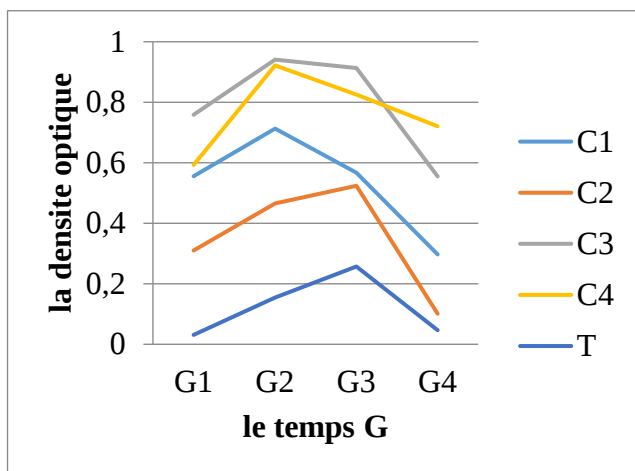


Figure17 : Evolution de la densité optique de la Souche 1 en fonction de la concentration des Extraits de marc de café de décoction

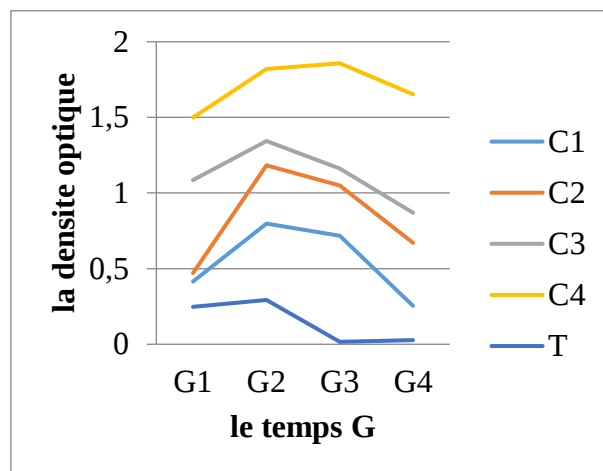


Figure18 : Evolution de la densité optique de la Souche 1 en fonction de la concentration des Extraits de marc de café d'expresso

El ressort des résultats obtenus que la souche b croit puis décroît en l'absence de l'extrait de marc de café décoction et en l'absence d'extrait de marc de café expresso elle croit jusqu' au deuxième jour puis décroît alors qu' en la présence d'expresso et décoction il croit jusqu' au deuxième jour puis sa croissance diminue et dans ce dernier a la concentration C4 il croit jusqu'à troisième jour puis recule.

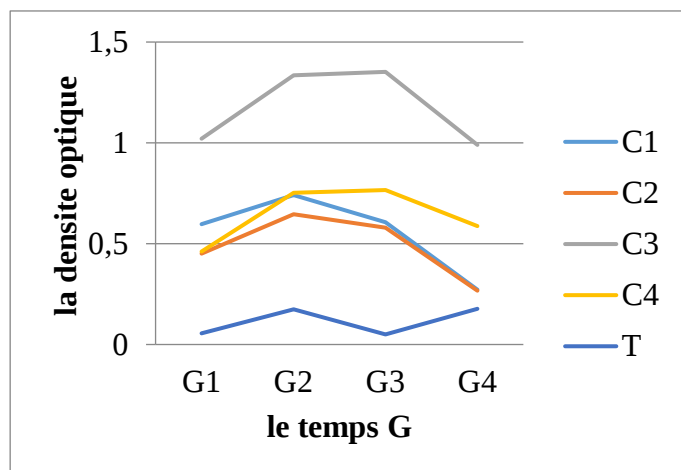


Figure19 : Evolution de la densité optique de la Souche 2 en fonction de la concentration des Extraits de marc de café de décoction.

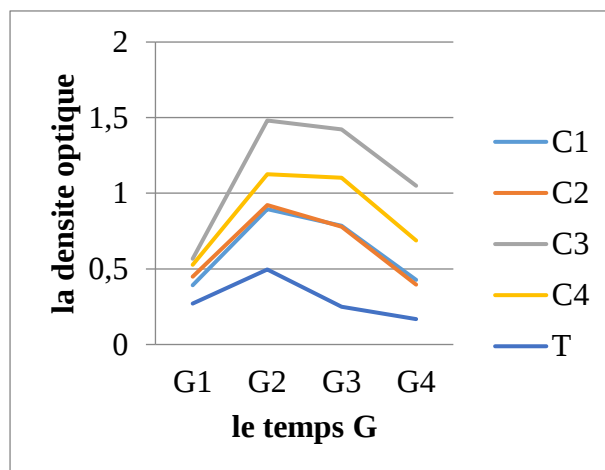


Figure 20 : Evolution de la densité optique de la souche 2 en fonction de la concentration des extraits de marc du café expresso.

A travers les résultats nous avons remarqué que la souche v se développe dans la marc de café décoction aux concentration C1 et C2 jusqu' au deuxième jour ,puis sa croissance diminué et aux concentration C4 et C3 elle se développe jusqu' au troisième jour en l'absence d'extrait, nous constatons un retard de croissance car il croit jusqu' au deuxième jour puis diminue la troisième jour puis croit à nouveau le quatrième jour par rapport à l'extrait de marc de café expresso qui pousse jusqu' au deuxième jour puis diminue dans toutes les concentrations dans la présence et l'absence d'extrait.

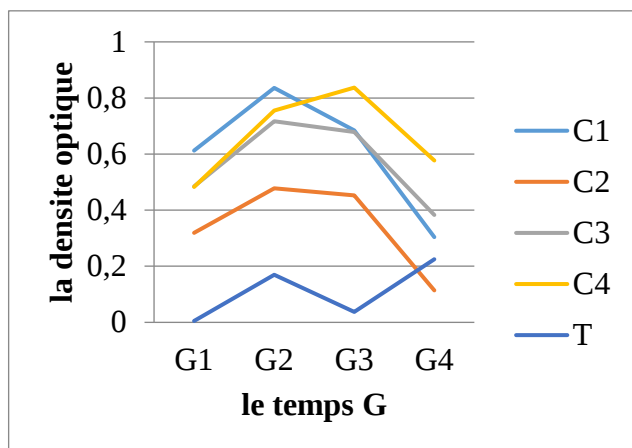


Figure21 : Evolution de la densité optique de la Souche 3 en fonction de la concentration des Extraits de marc de café de décoction.

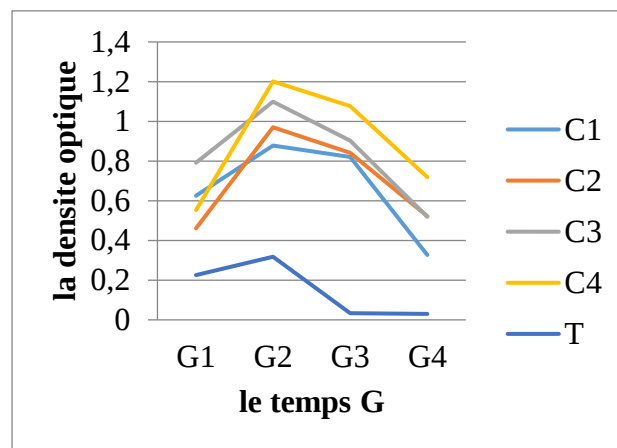


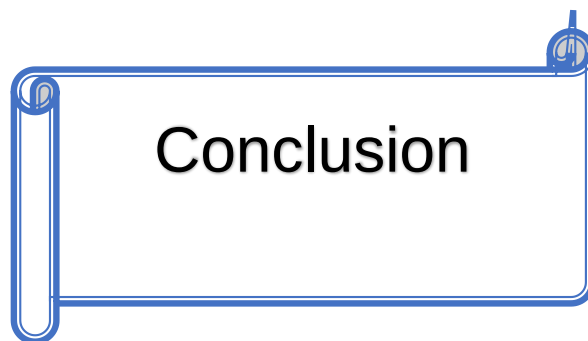
Figure 22 : Evolution de la densité optique de la souche 3 en fonction de la concentration des extraits de marc du café expresso.

En présence d'extrait de marc de café décoction: la souche 3 croît jusqu' troisième jour dans une concentration puis sa croissance diminué dans d'autres concentration elle croît jusqu' au deuxième jour puis sa croissance diminué également cependant en l'absence d'extraits il est développe jusqu' au deuxième jour puis sa croissance diminue puis il reprend sa croissance tandis qu' il grandit jusqu' au deuxième jour puis sa croissance diminué les autres jours en présence d'extrait expresso et son absence dans toutes les concentrations .

En terme de nos résultats relatifs à l'étude de l'effet de marc sur la croissance microbienne, une série d'études ont exploré l'utilisation des sous-produits du café dans la culture microbienne, tandis qu' **Orué et al., (1985)** a comparé les rendements en protéines de différents champignons cultivés sur des déchets solides de café. **Signorini et al, (2008)** a discuté de l'utilisation de micro-organismes indicateurs pour évaluer l'hygiène dans la production laitière, qui pourraient potentiellement être appliqués aux sous-produits du café. **Berthouly et al, (1995)** a introduit un milieu liquide pour la micropropagation du café, qui pourrait potentiellement être adapté à la culture microbienne. Ces études suggèrent collectivement le potentiel d'utilisation des sous-produits du café dans la culture microbienne,

Silva et al, (2000) a découvert que le mucilage du café, un sous-produit de la transformation du café, constitue un substrat approprié pour la croissance de micro-organismes. Cela a également été soutenu par **Patiño et al, (2014)**, qui a standardisé un système de tests biologiques pour déterminer la dégradation des fruits du café, indiquant la présence et l'activité de micro-organismes dans les déchets de café.

Les métabolites secondaires sont des molécules très répandues dans les plantes végétales, jouent un rôle important dans le système de défense comme antioxydants (**hakati et al 2011; Isory et al 2007**) et défense contre les agressions extérieures, et jouent un rôle crucial dans leur survie et leurs interactions avec d'autres organismes (**chaabouni et al ,2012**) ces métabolites, notamment les antibiotiques et les pigments, peuvent avoir des effets bénéfiques sur les bactéries, notamment en améliorant la croissance et la santé des plantes (**latour et al 1997**).



Conclusion

Conclusion

Le présent travail s'oriente vers une voie d'investigation et de caractérisation de deux types de substrats, le marc du café (décoction et d'espresso) de type Roubsta pour la culture de microorganismes.

L'objectif de notre travail est de mener une étude comparative de ces deux substrats de marc du café (d et E) d'un côté, d'autre coté, la valorisation de marc du café en tant que support de culture de micro-organismes.

Pour ce faire, nous avons entrepris un travail multidisciplinaire en commençant par une caractérisation physico-chimique et phytochimique des deux substrats à travers la détermination de leur taux en constituants primaires et secondaires. En deuxième lieu, nous avons fait une étude de l'effet de l'extrait de marc du café sur la croissance microbienne.

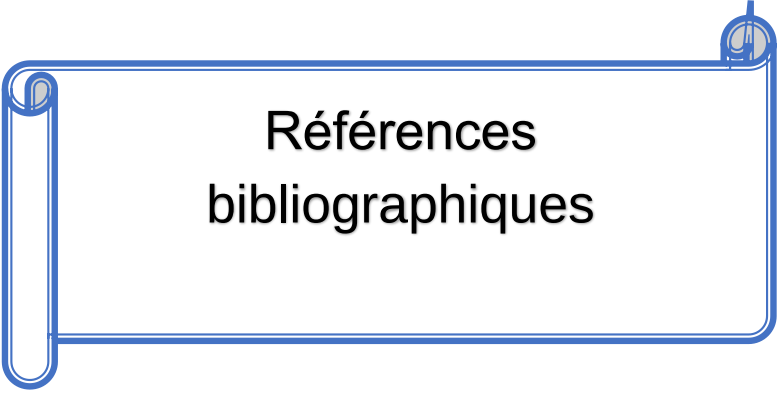
Les résultats obtenue pour la comparaison physico-chimique entre les deux types de marc révèle une variation du taux d'humidité, des minéraux et des lipides et le sucre et la matière grasse. L'extrait par décoction est caractérisé par sa teneur élevé en humidité et en matière minérale et sucre par rapport à l'Expresso. Ce constat est tout à fait logique du fait que la méthode de décoction présente un contact avec l'eau plus long que l'expresso. Le marc obtenu per la méthode expresso est caractérisé par sa teneur élevée en matière grasse comparativement au marc décoction ce qui fait ce dernier une bonne source de lipides.

L'analyse phytochimique est ainsi une étape importante pour la comparaison des deux extraits. L'utilisation des mêmes conditions d'extraction ; macération, un système solvant (éthanol /eau : 70% : 30%) .les extraits obtenus sont analysés quantitativement par spectrophotométrie UV-Visible; respectivement les taux des polyphénols est largement supérieur dans le marc du café décoction (118,593 vs 45,764 µg EAG /mg)) et aussi ,les teneurs des flavonoïdes et les tannins condenses sont légèrement basses dans le marc du café expresso comparativement de marc du café (décoction).la technique et les conditions d'extraction justifies les différences de résultats obtenus.

D'après les résultats obtenus dans l'étude de l'effet de l'extrait de marc du café sur la croissance microbienne, dans le cas bactéries, la croissance de la souche *Bacillus pumilus* a augmenté de manière significative en présence de l'extrait expresso et décoction. La valeur la plus élevée dans l'extrait décoction (1,748) est supérieure à celle de l'extrait expresso (1,522) . Mais aux champignons, leurs résultats variaient selon les concentrations et la présence ou non des deux types de marc de café (d et E).

Le présent travail est loin de venir à bout des buts assignés et à la lumière des informations obtenues, il est préférable de prolonger dans la durée de culture de micro-organismes et de compléter cette étude par des approches plus approfondies portant sur les sujets suivants:

- ✚ Etude statistique de la consommation du café à travers les différentes Wilayas;
- ✚ Création de banque de données scientifiques concernant la valorisation des sous-produits et déchets agronomiques et agroalimentaires;
- ✚ Optimisation des techniques d'extraction et de purification.
- ✚ Etude technico-économique de la faisabilité de valorisation du marc de café.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abbad,S,Lemmouchi,A.(2020). Evaluation d'effet des conditions de stockage sur la qualité de date,thèse de master,université El-Oued.pp63.

Abdelmalek,K,Boufarou,H.(2020).Préparation et caractérisation d'un carbon du marc de café.thèse de master,université de Tébessa.pp63.

Achab,S,Boucheron,C,Gheribi,S, Zeghidi,S. (2023).Biodégradation des pesticides par les micro-organismes, thèse de master,université El-Oued. Pp52

Aissani.O.,Derouiche.O, (2019). Investigation chimique,phytochimique et biologique du café et du marc de café,thèse de master,université Constantine.pp80 .

Alhamamre,Z, Foerster,S,Hartnan,F,Kiöger,M,Kaltchmitt,M,(2012).oil extracted from spent coffee grounds as a renewable source for fatty acid methyl ester manufacturing,*Fuel* .96,pp70-76.

Atabani,A,Ala'a,H,Gopalakrishnan.K.,Ganesh,D,S,Hassnain,M,A, (2019). Valorization of spent coffee grounds into biofuels and value-added products : Pathway towards integrated bio-refinery.*Fuel*.254.pp115640.

Atabani.A.E.,Imtiaz.A.,Navi.S.R.Badroddin.I.A.,Aslan.M.,Mahmoud.E.,AlgomaI.F.,Juchelkov.A.D.,Atelge.M.R.,Khan.TM.Y, (2022).A state of the art review on spent coffee ground (SCG) pyrolysis for future biorefinery.*chemosphere*.286.pp131-730

Benahmed,C, Belkhairi,C. (2020). Etude comparative de l'aspect chimique et biologiques du marc de café récupéré par la méthode de filtration et de décoction.thèse de master,université de Constantine.63.

Benbabouche,B.(2013).contribution à l'étude qualitative des café de consommation commercialisés dans la région de Tlemcen,thèse de master,université Tlemcen.pp78.

Bouchenafa,I,Bouguerra,A.(2019).Valorisation du marc de café pour l'adsorption d'un polluant organique.thèse de master,université de Medea.pp63.

Bravo,J,Monente,C,Juaniz,I,Depena,M,cid,C,(2013). Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee.*Food Research International*.50.610-616.

BRUNETON, J,(2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème Edition Lavoisier. Paris. pp1234.

- Chaaboni,I,Guesmi,A,Cherif,A,(2012).** Secondary Metabolites of Bacillus: potentials in Biotechnology.Bacillus thuringiens Biotechnology.83.pp347-366..
- Chen,K,L,Lo,Y,C,Liu,C,W,Chou,C,C,Cheng,K,C, (2013).**Enrichment of two isoflavone aglycones in black soymilk by using spent coffee grounds as an immobiliser for b-glucosidase.food chemistry. 139. pp79-85.
- Correa,J,Mendonça,K,Rodrigues,L,Resende,M,Alves,G,(2016).**spray drying of coffee leaf extract.coffee science.11.pp359-367.
- Cruz,R,Mendes,E,Torrinha,A,Morais,S,Pereira,J,Baptista,P,Casal,S,(2015).**Revalorization of spent coffee residues by a direct agronomic approach.*Food Research International*.73.pp190-196.
- Damhan,S.S,Amit,K.J,Abu-Ghannam,N, (2016).** An Investigation into spent coffee waste as a renewable source of bioactive compounds and industrially important sugars.*Bioengineering*.3.pp10-33
- Desai,N,Haware,D,Basavaraj,K,Murthy ,P,(2019).** Microencapsulation of antioxidant phenolic compounds from green coffee.*preparative Biochemistry and Biotechnology*.49.pp.400-406.
- Diaz,G,Aloarez,P, Maldonado,Y, Jimenez,J,Parra,I,Flores,E, Ramirez,(2020).** antibacterial,antiradical and antiproliferative potential of green,Roasted ,and spent coffee extracts . *Applied sciences* .12.pp1938.
- Dimbiniaina,R.N.(2011).** Variabilité de la composition chimique des caféier spontanés de la région malgache (Mascarocoffea chev): cas de coffea homollei C.Kianjavatensis,C.lancifolia de la série Verae,thèse de master,université TAHALA.pp86.
- Dubois.M.,Gilles.K.A. Hamilton.J.K.,Robers.P.T.,Smith. F, (1956).**Colorimetric method for determination of sugars and related substances.Analytical chemistry. 28.pp350-356.
- Flambeau K, J, Yoon J, (2018).** Characterization of raw and roasted fully washed specialty bourbon cultivar of coffea arabica from major coffee growing areas in rwand. Food Engineering Progress. 22. pp89-99.
- Francky,C.(2015).**une récupération spécifique du marc de café aurait-elle une plus -value pour la communauté cas de l'île de Montréal,thèse de doctorat, université de Sherbrooke.pp 94
- Gigliobianco ,M. R, Camisi B, Peregrina, D. V, Censi ,R, Khamitova ,G, Angelona S, Caprioli G, Zannoti M, Ferrero S, Giovannetti R, Angeloni C, Lupidi, G, Pruccoli, L, Tarozzi ,A, Voinovich ,D. et Martino ,P. D. (2020).** Optimization of extraction from spent coffee grounds using the desirability approach. Antioxidants (Basel). 9.pp 37.

Gitishree,D,Paredes,M,P, (2010).

Gomez-de laCruz,F,J.,Cruz-Peragon,F.,Pelaez,P,J,C.,Carnicero, J,M,P.(2015).production of biofuels from spent coffee grounds:the drying Kinetics.Fuel processing Technology. 130.pp 188-196

Haddoudi,M,McCloud,H,Bejjany,B,Dani,A,Digua, K, (2014).Valorisation du marc du café:extraction de l'huile et évaluation de son activité antioxydants, les technologies de laboratoires.8.pp29-37.

Hakati,j,ilivs,k, (2011).Bioactive compounds of fourth generation gamma irradiated:thphonumflagellifrome lodd.mutants based on gas chromatography mass spectrometry. *Earth and Environmental science*. 22.pp98-104.

Hamdouche,Y. (2015).Discrimination des procédés de transformation post-récolte du cacao et du café par analyse global de l'écologie microbienne,thèse de doctorat, université de France.pp234.

Harkati,B, (2011). valorisation et identification structurale des Principes active de la plante de famille astéraceae , université Mentouri -constantine.pp128.

Hecinovic,I,Belxak,A,Horzic,D,Komes,D,(2011). comparative study of polyphénols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting.*Food chemistry*.129.pp991-1000.

IriondoDeHond,A,Garcia,N,A,FernandezGomez,B,GuisantesBatan,E,Escobar,F,V,Blanch,G,P,Del Castillo,M,D, (2019).Validation of coffee by products as novel food ingredients. *Innovative food science &Emerging Technologies*. 51.pp194-204.

Isolation, Purification,and mass production of protease enzyme form *Bacillus subtilis*.*Journals Internationnaux de recherche en Microbiologie* .1.pp27-31.

Isoray,s,marc ,j, (2007). brachtherapy dosimetry parameters calculated for a cs source.*american association of physicists in medicine* . 34 .pp754-762.

Isorez,G,(2007). contribution a la chimie des flavonoids A ccesa des analogues de pigments du vins rouges,these de doctorat,université Louis pasteur de Strasbourg.pp207.

Jenkins,R,Stageman,N, Fortune,C; chuck,C,(2014).Effet du type de grain de la transformation et de la localisation géographique sur le biodiesel produit á partir de marc de café.*Energie et carburants* .28.pp1166-1174.

Julkunen-Titto,R, (1985).Phenolic constituents in the levels of northern willows-methode for precursors of clarified apple juice sediment .*J food,Sci*.33.pp254-257.

KANERIA, M, KANANI, B, & CHANDA, S, (2012). Assessment of effect of hydroalcoholic and decoction methods on extraction of antioxidants from selected Indian medicinal plants. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 2.pp195- 202.

Kessoum,A,Loughiti.R.A.(2021).Valorisation des déchets de café dans différents domaines.thèse de master,université de Djelfa.pp95.

Kondamudi ,N,Mohapatra,S, Misra,M, (2008).Spent coffee grounds as a versatile source of greenenergy .*Journal of agricultural and food chemistry*. 2015.pp11757-11760.

Kraemer,N,Lakeline,M,Said,R,(2013).Gaseous products and particulate matter emissions of biomass residential boiler fired with spent coffee grounds pellets.*Fuel*.107.pp323-329.

Kwon,E,et Jeon,Y,(2015), Sequential co-production of biodiesel and bioethanol With spent coffee grounds.*Food Research International*.136.pp475-480.

Latour,x,Lemanceau ,p,(1997). Metabolism carboné et energetique des pseudomonas spp fluorescents sporophytes a oxydase positive . *Agronomie*.17.pp9-10.

Leifa,F,Randey,A,Soccol,C,(2001). production of flammulimavelutipes on coffee husk and coffee spent ground . *Brazilian Archives of Biology and Technology*.44.pp205-212.

Limousy,L,Jeguirim,M,Dutournié,

Liu.K, Price,G,(2011), Evaluation of three composting systems for the management of spent coffee grounds.*Bioresource Technology*, 102.pp7966-7074.

Low,J,Rahmane,W,Jamaluddin,J,(2015), Structure elucidation of tannins of spent coffee grounds by CP-MAS13CR and MALDI -TOFMS.*Industrial crops and products*. 69.pp456-461.

Mahbubul,A,F,jalal,Hamich,A ,colim.polyphenols of nature plant,seedling and tissue cultures of theobroma cacao,(1977). phytochemistry.74.pp1377-1380.

Mahni,C, Mahmoud,O,Tliba,Ch,Dou,A.(2022). contribution to the study of the effect of fungicides on the growth of fungi with agricultural interest in El- Oued region,thèse de master,université El- Oued.pp74.

MAJOB, F, KAMALINEJAB, M, GHADERI, N et VAHIDIPOUR ,H,R, (2003).Murthy, P. S.,Naidu, M. (2012). Sustainable Management of Coffee Industry Byproducts and Value Addition. *Conservation and Recycling*. 66. pp 45-58.

Mussatto,S,Carneiro,L,Silva,J, Roberto,I,Teixeire,J,(2011).Astydý on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds . *carbohydrate polyners*.83.pp368-374.

Mussatto,S,Machade,E, Martin's,S, Teixeira,J,(2011), production, composition,and Application of coffee and it's industrial Residues .*LWT-Food Bioprocess Technol* . 4.pp371-661-672.

N'GUESSAN, K, KADJA, B, ZIRIHI, G, TRAORE, D, & AKE-ASSI, L, (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*, 6.pp1- 15

Nieto,E.G, Kirsten, A.A,Martin Z,Qingli ,W, James, E.S,(1985).Ethnobotany, chemistry,and pharmacology of African Nepta species.*ACS publications*.10.pp219-236.

Orué,C,Bahar,S,(1985). Utilization of solid coffee waste as a substrate for microbial protein production.*waste management* .82.pp93 - 99.

Ouenténdé,T,(2016), Evaluation des caractéristiques chimiques et agronomiques des cinq composts de déchets et étude de leur effet sur propriétés chimiques du sol .Thèse de doctorat.université de LOME (Togo).pp184.

Petrol,S,Obruća,S,Benesova,P,Marica,I,(2014), Biocoverion of spent coffee grounds into carotenoids and other valuable metabolites by selected red yeast strains . *Biochemical engineering journal*. 90.pp307-315.

Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian Journal of pharmaceutical Research*. 2. pp77-82.

Pinto,D,Delaby, E, Daniel, M,barbosa,M,Merikangas ,A,(2014). convergence ofgenes and cellular pathways dysregalated in Autism spectrum disorders.*the American journal of Human genetics*.94 .pp677-694.

Poisson,L, Blank,I,Dunkel,A, Hofmann,T,(2017).The chemistry of reasting decoding flavor formation in the craft and science of Caffee.*academic press* .293.pp273-309.

Ramalakshmi.K.,Rao.L.J.M.,Takano-Ishikavia.Y.,Goto.M, (2009).Bioactivitie of low-grade green coffee and spent coffee in different in vitro model systems. *food chemistry*. 115.pp79-85

Ribéreau-Gayon,G, (1968). Etude des mécanismes de synthese et de transformation de l'acide malique,de l'acide tartrique et de l'acide citrique chez vitis vinifera L.*Phytochemistry*.7.pp1471-1482.

Sahki,T,Terras,K.(2020).Essai de l'optimisation par la methodology de surface de réponse,de la production fermentation de protéase à partir de marc de café,thèse de master,université de Béjaâ.pp57.

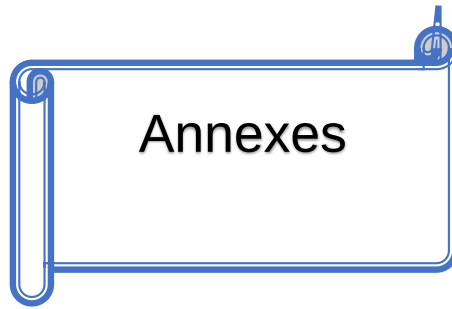
Sajeela,A,commisso,M,Negri,S,Gebrie ,M , Giuseppe,F, Ahmed,N,Rungatischer,A,(2016). Determination of total phenolic compounds in recitored wine and commercially available cocoa pills by HPLC-DAD/ESI_MS.journal of heart failure. 12.pp129-138.

Silabdi,S.(2010).Extraction, Purification et caractérisation d'antioxydants naturels en vue d'une valorisation nutritionnelle,thèse de Magister,université de Blida.pp199.

Silva,M,A,Nebra,S.A,Machado,M.J,M,Sanchez, C.G, (2012).The use of biomass residues in the Brazilian soluble coffee industry. Biomass and bioenergy.14.pp 457-467.

Singleton,V.L,Roni ,J.A, (1965).colàrimetrg of total phenolies withphosphomolydedie – phosphotungstic acid resgents . Ameriesn journol of Enology and viticulture .16.pp144-158.

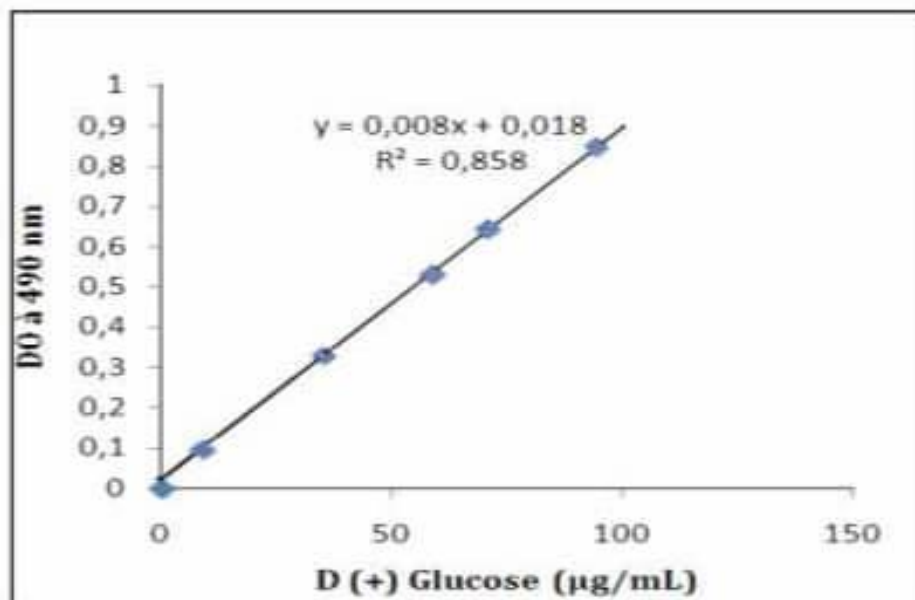
Turkoglu,A,Duru,M.E,Mercantile,N,Kieran,I,General,K, (2007).Antioxidant and antimicrobial activities of laetiporus sulphuric (Bull) Murrill.Food chemistry.101.pp.267-273.



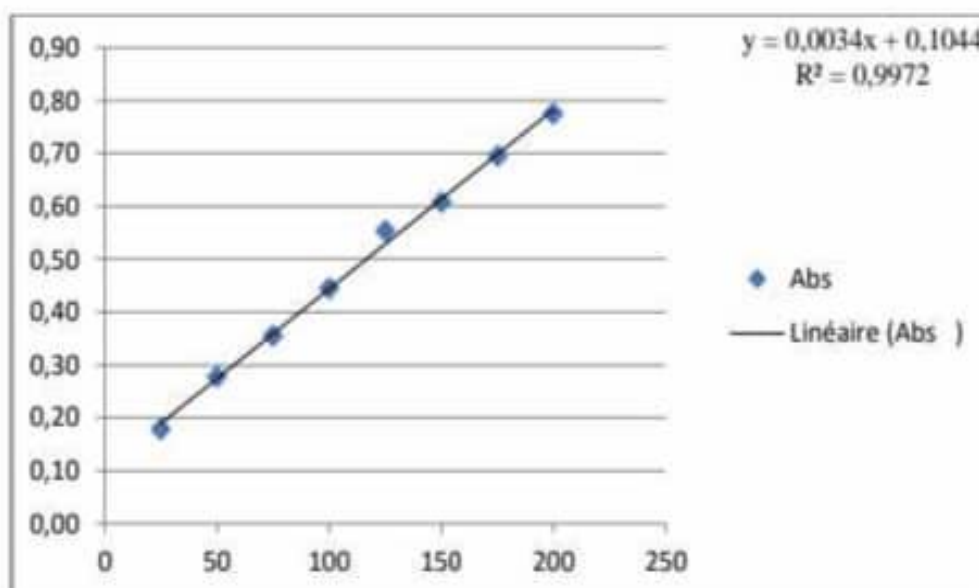
Annexes

Annexes

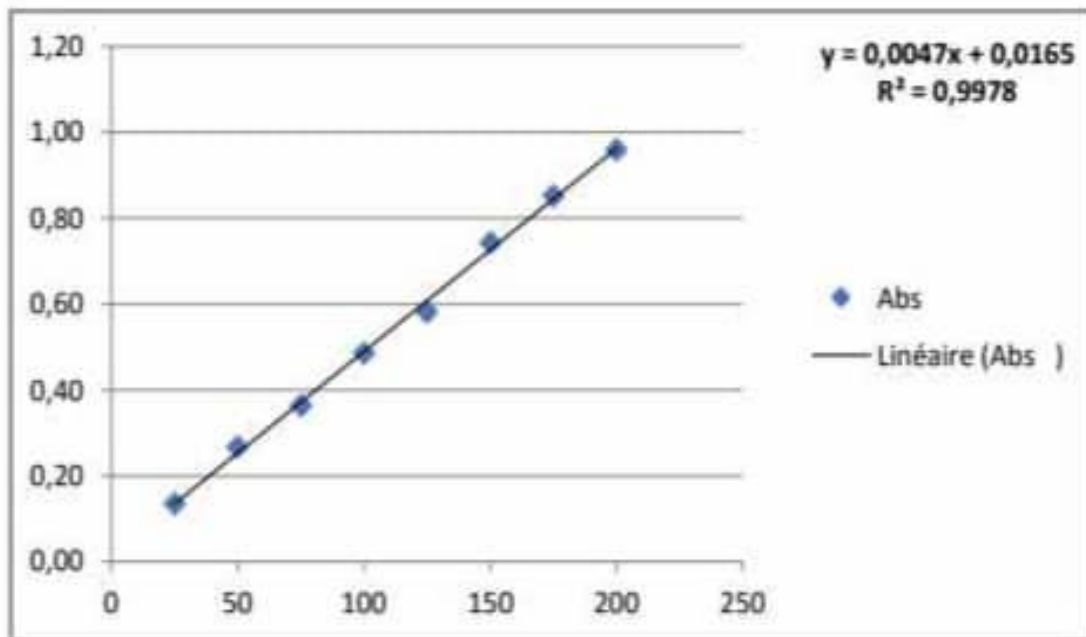
Annexes 01 : Courbes d'étalonnages



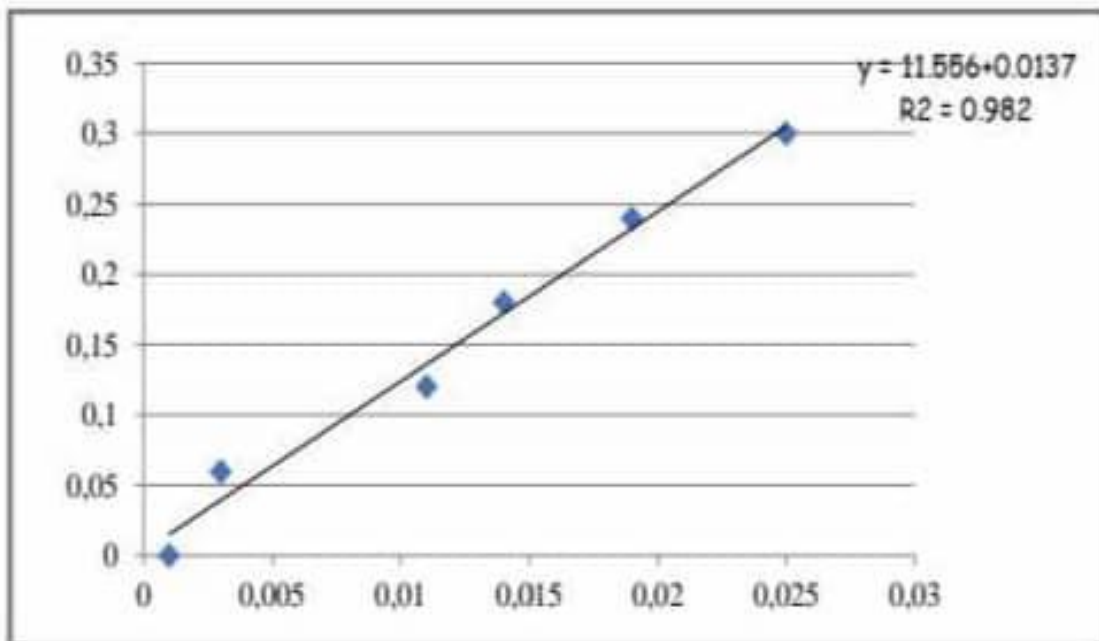
Courbe étalon du dosage des sucres totaux



Courbe étalon du dosage des polyphénols



Courbe étalon du dosage des flavnoides



Courbe étalon du dosage des tanins condensés

Annexes

Annexes 02 : materai



Bain marie



Spectrophotomètre



Autoclave



Four à moufle



Microscope



Etuve ventilée



Agitateur



Centrifugeuse

Figure appareils utilises

Annexes

Annexes 03 : la méthode de la préparation

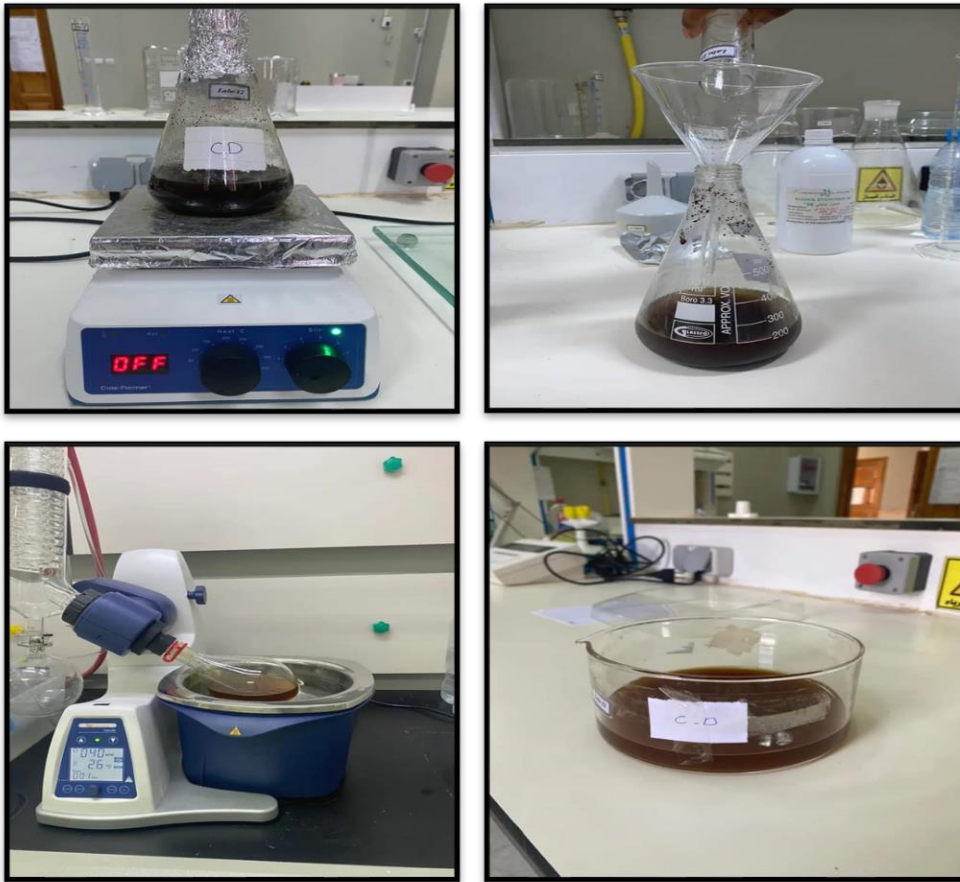


Figure Préparation de extraire



Figure Préparation de milieux de culture