

M1540.85A

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département de Génie des Procédés



Mémoire du Projet de Fin d'Etudes

2^{ème} Année Master

**Dosage par HPLC-DAD de la boisson du café du marché algérien
en ses deux principaux constituants : « la caféine et l'acide
chlorogénique »**

Filière: Génie des procédés

Spécialité: Matériaux et Traitement de surfaces

Présenté par :

BOUNEB Fatima Zahra

Sous la direction de :

Mme BELGUIDOUM Karima

Juin 2016

Résumé

Le dosage de l'acide chlorogénique (5-ACQ) et la caféine dans le café boisson, préparé par deux types de cafetière (turque et électrique) a été faite par chromatographie liquide à haute performance couplée à un détecteur à barrettes de diode (HPLC-DAD). La teneur de l'acide chlorogénique dans le café boisson varie de $18,56 \pm 0,24$ mg/l à $26,55 \pm 0,09$ mg/l dans les échantillons préparés par la cafetière turque et de $12,55 \pm 0,07$ mg/l à $20,68 \pm 1,33$ mg/l dans ceux préparés par la cafetière électrique. La caféine possède des concentrations moyennes allant de $51,00 \pm 0,20$ à $71,00 \pm 0,41$ mg/l, dans les échantillons obtenus par la cafetière turque et de $46,44 \pm 0,54$ à $89,30 \pm 0,25$ mg/l, dans les échantillons obtenus par la cafetière électrique. Ces différences en teneurs sont certainement dues à la différence de la surface ainsi que du temps de contact dans les deux types de cafetières.

Mots-clés: *Caféine, café, cafetière, acides phénoliques, la torréfaction, HPLC.*



REMERCIEMENTS

Le présent travail dans ce mémoire a été mené à l'université de Guelma au laboratoire de Chimie Appliquée (LCA), et au laboratoire pédagogique de chimie.

*Mes premiers remerciements vont à mon encadreur **Dr Karima BELGUIDOUM** de qui j'ai beaucoup appris. Je la remercie du fond du cœur pour toute l'aide et le soutien qu'elle m'a apportés du début jusqu'à la fin de ce mémoire, pour la confiance et la liberté qu'elle m'a accordée en acceptant d'encadrer ce travail de master, pour ses multiples conseils et pour toutes les heures qu'elle a consacrées afin de diriger cette étude de manière perfectionnée et minutieuse.*

J'exprime ma gratitude aux membres de jury pour le temps consacré à lire et à juger mon travail.

*Je tiens à remercier l'ingénieur de laboratoire pédagogique **Mr Ammar NEMOUCHI**, pour toute l'aide qu'il m'a apportée à chaque fois que j'en avais besoin.*

*Des remerciements particuliers vont à l'enseignante : **Mme Yamina BOULMOKH** pour l'aide qu'elle m'a offerte en ce qui concerne le travail expérimental.*

Mes remerciements vont aussi à toutes les personnes qui m'ont apporté de l'aide et que j'aurais malencontreusement oubliées.

DEDICACE

Je dédie ce mémoire,

À la mémoire de mon défunt frère MOUFDI.

À mon père, ALLAOUA mon premier encadrant, depuis ma naissance.

À la plus belle créature que Dieu a créée sur terre,,,

À cet source de tendresse, de patience et de générosité,,,

À ma mère RAZIKA !

À mon mari KARIM qui a toujours était à mes cotés

À mon frère AMINE et ma sœur CHANEZ,

À mes beaux parents et à toute ma famille.

À toutes mes amies.

À tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer

Table des matières

Table des matières

<i>Titre</i>	<i>page</i>
<i>Introduction générale</i>	<i>1 et 2</i>
<i>Chapitre I : Généralités sur le café</i>	
I.1.Historique	3
I.2.Consommation mondiale du café	3
I.3.Le commerce du café	4
I.4.Les variétés de café	4
I.4.1.L'arabica (<i>Coffea arabica</i>)	5
I.4.2.Le robusta (<i>Coffea canephora</i>)	6
I.5.La production des grains de café	6
I.5.1.La récolte des cerises	6
I.5.2.L'obtention des grains de café vert	6
I.5.2.1.Méthode sèche	7
I.5.2.2.Méthode humide	8
I.5.3.La torréfaction des grains de café vert	10
I.6.La production du café moulu et de sa boisson	11
I.6.1.La mouture des grains	11
I.6.2.La préparation du café boisson	12
I.7. le café soluble	14
I.7.1.Le café atomisé	14
I.7.2.Le café lyophilisé	14
<i>Chapitre II : Composition chimique de café</i>	
II.1.Composition du café	16

II.1.1.Composition des grains de café vert	18
II.1.1.1.Les alcaloïdes	18
II.1.1.2.Les acides	19
II.1.1.3.Les protéines et les acides aminés libres	21
II.1.1.4.Les glucides	21
II.1.1.5.Les lipides	22
II.1.1.6.Les minéraux	23
II.1.1.7.Les vitamines	24
II.1.1.8.Les amines	24
II.1.2.Composition des grains de café torréfiés	24
II.1.2.1.Les alcaloïdes (caféine et trigonelline)	25
II.1.2.2.Les acides	25
II.1.2.3.Les protéines et les acides aminés	26
II.1.2.4.Les glucides	27
II.1.2.5.Les lipides	28
II.1.2.6.Les minéraux	28
II.1.2.7.Les vitamines	29
II.1.2.8.Les amines	29
II.1.2.9.Les substances volatiles	29
II.1.3.Composition du café boisson	29
II.1.3.1.Les alcaloïdes (principalement la caféine)	29
II.1.3.2.Les acides	30

II.1.3.3.Les glucides	30
II.1.3.4.Les diterpènes, cafestol et kahweol	31
II.1.3.5.Les substances volatiles	32
<i>Chapitre III : Matériels et méthodes</i>	
III.1.Introduction	33
III.2.Matériels	33
III.2.1.Appareillages	33
III.2.1.1.Lyophilisateur	33
III.2.1.2.La chromatographie liquide à haute performance couplée à un détecteur HPLC-DAD « HPLC-UV-DAD ».	36
III.3.Solvants et réactifs	38
III.4.Echantillons de café	38
III.5.Méthodes	39
III.5.1.Méthode de préparation et injection des standards	39
III.5.2.Méthodes de préparation et injection des échantillons de café	40
III.5.3.Analyse quantitative par HPLC-UV-DAD de la caféine et de L'acide chlorogénique dans les échantillons de café	41
III.5.3.1.Conditions de l'analyse	42
III.5.3.2. Solvants et réactifs	42
III.5.3.3.Gradient	42
III.6.Validation de la méthode analytique	43
III.6.1.Courbes d'étalonnage	43
III.6.2.Détermination des limites de détection pour la caféine et l'acide chlorogénique	43

III.6.3.Détermination des taux de récupération	44
III.7.Injection	44
III.8. Intégration	44
<i>Chapitre IV : Résultats et discussions</i>	
III.1.Introduction	46
IV.2.Résultats	46
IV.2.1.Données chromatographiques des standards	46
IV.2.2.Quantification des deux principaux composés du café (5-ACQ et caféine) par HPLCDAD	48
IV.2.3.Concentrations en caféine et en acide chlorogénique (5-ACQ) dans les échantillons de café étudiés	55
<i>Conclusion générale</i>	
	58

Liste des figures

<i>Numéro de figure</i>	<i>Titre de figure</i>	<i>Page</i>
<i>Figure I. 1</i>	<i>(a) Un exemple de caféier (Coffea arabica) (b) les fruits de caféier (Coffea arabica)</i>	<i>5</i>
<i>Figure I. 2</i>	<i>structure de la graine du caféier</i>	<i>7</i>
<i>Figure I. 3</i>	<i>(a) Séchage traditionnel à la main des cerises de caféier (b) café en coque</i>	<i>8</i>
<i>Figure I. 4</i>	<i>Café en parche</i>	<i>9</i>
<i>Figure I. 5</i>	<i>Illustration de différents types de cafetière :(a) cafetière à filtre, (b) cafetière à piston, (c) cafetière napolitaine, (d) percolateur (e) cafetière arabe</i>	<i>14</i>
<i>Figure II. 1</i>	<i>Structure chimique de la caféine</i>	<i>18</i>
<i>Figure II. 2</i>	<i>Structure chimique de la trigonelline</i>	<i>19</i>
<i>Figure II. 3</i>	<i>Structure de l'acide chlorogénique</i>	<i>20</i>
<i>Figure II. 4</i>	<i>Structures chimiques des deux diterpènes caractéristiques du café</i>	<i>23</i>
<i>Figure II. 5</i>	<i>Voies de décomposition de l'acide chlorogénique lors de la torréfaction du grain de café</i>	<i>26</i>
<i>Figure III.1</i>	<i>Lyophilisateur Alpha 1-2 LD plus (Laboratoire de Chimie Appliquée, Université de Guelma)</i>	<i>34</i>
<i>Figure III.2</i>	<i>HPLC (Agilent 1260) utilisé pour le dosage des principes actifs de (Laboratoire de Chimie Appliquée, Université de Guelma)</i>	<i>36</i>
<i>Figure III.3</i>	<i>Organigramme de principe de fonctionnement d'une HPLC</i>	<i>38</i>
<i>Figure III.4</i>	<i>protocole expérimentale de préparation du café boisson</i>	<i>40</i>
<i>Figure III.5</i>	<i>Structures des molécules étudiées: (a) Caféine, (b) Acide chlorogénique</i>	<i>41</i>
<i>Figure III.6</i>	<i>Gradient HPLC utilisé</i>	<i>43</i>
<i>Figure IV.1</i>	<i>Courbe d'étalonnage de la caféine</i>	<i>47</i>
<i>Figure IV.2</i>	<i>Chromatogramme de la caféine ; $T_R=7,9$ min, $\lambda =273$ nm</i>	<i>47</i>

<i>Figure IV. 3</i>	<i>Courbe d'étalonnage de l'acide chlorogénique (5-ACQ)</i>	<i>48</i>
<i>Figure IV. 4</i>	<i>Chromatogramme de l'acide chlorogénique; $T_R=6,5\text{min}$, $\lambda =310\text{ nm}$</i>	<i>48</i>
<i>Figure IV. 5</i>	<i>Chromatogramme HPLC du café moulu Robusta (cafetière turque)</i>	<i>50</i>
<i>Figure IV. 6</i>	<i>Chromatogramme du café non emballé (cafetière turque)</i>	<i>50</i>
<i>Figure IV. 7</i>	<i>Chromatogramme du café emballé 1, (cafetière turque)</i>	<i>51</i>
<i>Figure IV. 8</i>	<i>Chromatogramme du café emballé 3, (cafetière turque)</i>	<i>51</i>
<i>Figure IV. 9</i>	<i>Chromatogramme du café emballé 5, (cafetière turque)</i>	<i>52</i>
<i>Figure IV.10</i>	<i>Chromatogramme HPLC du café moulu Robusta (cafetière électrique)</i>	<i>52</i>
<i>Figure IV.11</i>	<i>Chromatogramme du café non emballé (cafetière électrique)</i>	<i>53</i>
<i>Figure IV.12</i>	<i>Chromatogramme du café emballé 1, (cafetière électrique)</i>	<i>53</i>
<i>Figure IV.13</i>	<i>Chromatogramme du café emballé 3, (cafetière électrique)</i>	<i>54</i>
<i>Figure IV.14</i>	<i>Chromatogramme du café emballé 5, (cafetière électrique)</i>	<i>54</i>
<i>Figure IV.15</i>	<i>Teneurs en caféine en (mg/l) dans le café préparé par la cafetière turque et électrique</i>	<i>56</i>
<i>Figure IV.16</i>	<i>Teneurs en acide chlorogénique en (mg/l) dans le café préparé par la cafetière turque et électrique</i>	<i>57</i>

Liste des tableaux

<i>Numéro de tableau</i>	<i>Titre des tableaux</i>	<i>Page</i>
<i>Tableau II.1</i>	<i>Composition des grains de café verts et torréfiés selon la variété (en pourcentage massique par rapport à la matière sèche)</i>	<i>17</i>
<i>Tableau II.2</i>	<i>Teneurs moyennes en acides chlorogéniques selon la variété de café vert (pourcentage en masse par rapport à la matière sèche)</i>	<i>20</i>
<i>Tableau II.3</i>	<i>Composition moyenne en glucides des grains de café vert</i>	<i>22</i>
<i>Tableau II.4</i>	<i>Composition en minéraux des grains de café vert selon la variété et le mode de production (en pourcentage de la matière sèche)</i>	<i>23</i>
<i>Tableau II.5</i>	<i>Glucides du café vert et du café torréfié</i>	<i>27</i>
<i>Tableau II.6</i>	<i>Teneurs en cafestol et kahweol de différentes cafés boissons</i>	<i>31</i>
<i>Tableau III.1</i>	<i>Quelques caractéristiques de la caféine et Acide Chlorogénique de étudiés</i>	<i>41</i>
<i>Tableau III.2</i>	<i>Gradient HPLC pour l'analyse des deux principes actifs du café (La caféine et l'acide chlorogénique)</i>	<i>42</i>
<i>Tableau IV.1</i>	<i>Données chromatographiques de la caféine</i>	<i>46</i>
<i>Tableau IV.2</i>	<i>Données chromatographiques de l'acide chlorogénique (5-ACQ)</i>	<i>47</i>
<i>Tableau IV.3</i>	<i>Teneur en mg/l en caféine et en acide chlorogénique (5-ACQ) pour les différents échantillons de café boisson</i>	<i>55</i>

Liste des abréviations

AC	Acide caféique
ACN	Acétonitrile
5-ACQ	Acide 5-caféyl-quinique
CGA	Acide chlorogénique
DAD	Détecteur à barrette de diodes (Diode Array Detector)
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance
LD	Limite de détection
LQ	Limite de quantification
M	Masse molaire
Min	Minute
ml	Millilitre
MeOH	Méthanol
nd	Non détecté
NE	non emballé
R ₂	Coefficient de corrélation
TFA	Acide Trifluoroacétique
T _R	Temps de rétention
UV	Ultra-violet

Intoduction générale

Intoduction générale

Introduction générale

De nos jours, le café est l'un des principaux produits du commerce mondial, c'est la deuxième marchandise échangée entre les pays, après le pétrole. Il constitue l'une des denrées alimentaires les plus consommées au monde.

Le café contient des composés biologiquement actifs; la caféine, qui est un alcaloïde, agit comme stimulant du système nerveux central et du système cardio-vasculaire, en diminuant la somnolence et en augmentant temporairement l'attention. Les acides chlorogéniques (ACG) qui sont des esters des acides trans-cinnamiques (acide caféique, férulique et para-coumarique), jouent un rôle important dans la qualité gustative des cafés. De plus, ces acides confèrent au café une activité antioxydante avérée.

Dans le marché Algérien, différentes marques de café empaqueté sont disponibles, ayant chacune un goût distinct. Ces cafés sont composés principalement de deux variétés de cafés ; Robusta et Arabica purs ou un mélange des deux variétés dans des proportions allant de 20 à 80 % de chacune.

Il nous a paru évident de doser par une méthode d'analyse physicochimique qualitative et quantitative, les constituants les plus importants de café: empaqueté et non empaqueté (en vrac) dans quelques variétés de café du marché algérien.

Parmi les méthodes de dosage des composés organiques présents dans les denrées alimentaires, l'HPLC est la plus appropriée, vu qu'elle est d'une grande précision, fiable et facile à mettre en œuvre. Ainsi, les teneurs en constituants du café ont été mesurées par la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).

L'objectif de ce travail est donc, d'effectuer une analyse qualitative et quantitative des principaux composants de quelques échantillons disponibles sur le marché de la ville de Guelma. Les constituants du café concernés par cette recherche sont : la caféine et l'acide chlorogénique.

Ce mémoire s'articule autour de quatre chapitres précédés d'une introduction générale:

- Le premier chapitre consistera à présenter des généralités sur le café.
- Le deuxième chapitre s'intéressera à la composition du café et ses effets physiologiques.

- Dans le troisième chapitre, sera présentée la méthode d'analyse utilisée dans ce travail ainsi que les modes opératoires mis en œuvre.
- L'interprétation des différents résultats obtenus sera détaillée dans le quatrième chapitre.
- Enfin, une conclusion générale terminera ce travail et portera sur une lecture attentive et succincte des résultats obtenus.

Chapitre I

Généralités sur le café

I.1. Historique

Depuis le début du XIX^{ème} siècle, la production du café a été en constante augmentation. Il est donc un produit de première importance sur le marché mondial des produits agro- alimentaires.

Il existe de nombreuses légendes à propos de la découverte du café. La plus connue se déroule en Ethiopie aux environs de 850. Un jeune berger avait remarqué que ses chèvres étaient devenues particulièrement vivaces après avoir absorbé certaines baies.

Les moines goûtèrent ces fruits, mais déçus par leur goût amer ils les jetèrent au feu, ce qui répandit un parfum délicieux. Ces religieux firent alors, à partir des fruits ainsi torréfiés, une infusion qui les aidait à rester éveillés pendant leurs prières. Cette boisson efficace prit alors le nom de Kawa signifiant force ou élan.

En 1615, des commerçants vénitiens apportèrent les premiers sacs de café en Europe occidentale. Vers 1690, les marins hollandais introduisirent les premiers plants de caféier, originaires de Moka, d'abord à Ceylan et en Inde, puis dans toutes les colonies hollandaises d'Asie. La propagation du café a été suivie d'une immense diffusion de la culture du caféier.

Dès la fin du 17^{ème} siècle, on a réussi à cultiver des caféiers dans des serres. La boisson savoureuse et excitante a été rapidement appréciée et toutes les grandes villes européennes ont ouvert leurs premiers cafés.

Des plants de café sont arrivés à Paris en 1714 comme cadeau destiné à Louis XIV. De là, le caféier a été introduit dans les colonies antillaises où la France s'approvisionna

librement. La culture du café se diffusa ensuite dans toute l'Amérique Latine, le Brésil devenant dès la fin du 19^{ème} siècle le premier producteur mondial, avec 7 % de la production. C'est également à cette époque que la consommation de café se développa vraiment dans toutes les couches de la population.

I.2. Consommation mondiale du café

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

En France, le café est un produit de masse depuis une cinquantaine d'années ; il s'est d'abord développé de façon extensive (touchant une population toujours plus importante), puis de manière intensive (augmentation de la consommation par habitant).

Le café est particulièrement bu dans les pays scandinaves où la température extérieure incite à consommer des boissons chaudes ; ainsi la Finlande et la Suède sont les plus grands consommateurs de café avec respectivement 13,8 et 13,7 kg / personne annuellement. Paradoxalement, l'Amérique Latine, le plus grand producteur, consomme peu de café, le Brésil faisant l'exception. L'Afrique a aussi une faible consommation intérieure, sauf en Afrique du Nord où la tradition du café est installée [9].

I.3. Le commerce du café

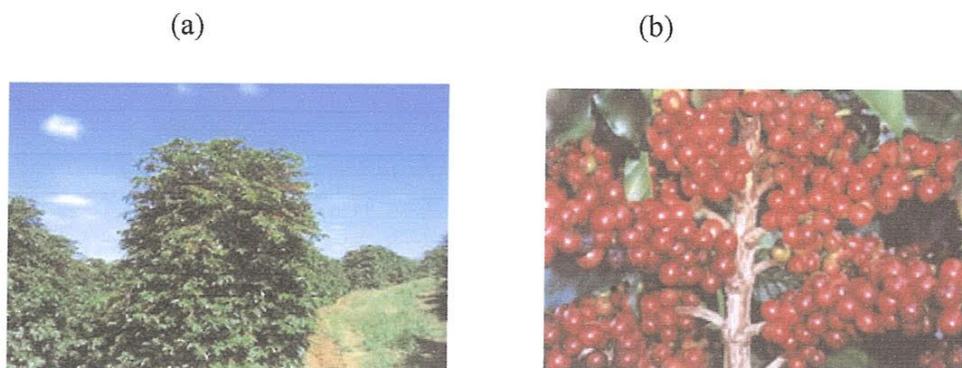
De nos jours, le café est l'un des principaux produits du commerce mondial, puisque c'est la seconde marchandise échangée dans le monde, derrière le pétrole. On estime à 125 millions le nombre de personnes vivant de la caféiculture, dont 25 millions de petits producteurs. Les enjeux économiques et sociaux sont donc extrêmement importants.

Depuis plusieurs années, la production mondiale annuelle dépasse les 6 à 7 millions de tonnes de café, alors qu'en 1825 on en produisait seulement 100 000 tonnes. Cette production ne cesse d'augmenter, avec une progression de 20 % entre 1997 et 2005, soit deux fois plus vite que la demande. Ceci résulte généralement de volontés politiques de certains pays. Actuellement le plus gros producteur est de loin le Brésil (35 % environ du commerce du café), particulièrement l'Etat de Sao Paulo où se situe le port de Santos, premier port caféier du monde. Les autres gros producteurs sont la Colombie (10 %) et le Viêtnam (12 %), ce dernier étant le plus important producteur de robusta (variété de café) [9].

I.4. Les variétés de café

Le caféier est un arbuste appartenant au genre *Coffea* de la famille des Rubiacées, pouvant atteindre 12 mètres de hauteur et poussant dans la zone intertropicale Figure (I.1).

Un caféier n'est rentable qu'au bout de 5 ans et sa durée de vie est de 25 à 50 ans. Il produit des fruits charnus, le plus souvent rouges ou violets, semblables à des cerises (d'où leur appellation « cerises de café ») Figure (I.1). Ces fruits renferment deux noyaux, contenant chacun un grain de café.



**Figure I.1 : (a) Un exemple de caféier
(*Coffea arabica*).**

**(b) les fruits de caféier
(*Coffea arabica*) [9].**

Il existe un grand nombre d'espèces de caféiers (plus de 80) mais seules deux d'entre elles sont réellement exploitées dans le monde : *Coffea arabica* L et *Coffea canephora*.

Le café robusta constitue la variété la plus répandue de *Coffea canephora*. Ses grains sont généralement ronds, irréguliers et assez petits, avec un goût corsé, alors que les grains de l'arabica sont plutôt ovales et longs. Ces derniers présentent un goût plus fin et un arôme plus fruité que les grains de robusta, ce qui explique la plus forte consommation d'arabica de par le monde.

I.4.1. L'arabica (*Coffea arabica*)

Originaire d'Ethiopie, *Coffea arabica* L comporte de nombreuses variétés. La culture de l'arabica est plus délicate et moins productive que celle du robusta. Il est essentiellement cultivé dans des plantations situées entre 1000 et 2000 m d'altitude en climat tropical, telles que l'Amérique Latine et l'Indonésie.

L'arabica occupe la première place dans le monde pour la production de café (environ 60 %) car ses qualités aromatiques sont supérieures à celles du robusta. Son prix est d'ailleurs en moyenne 20 à 25 % plus élevé que celui du robusta. Cependant, sa teneur en caféine reste très inférieure à celle du robusta.

I.4.2. Le robusta (*Coffea canephora*)

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

I.5. La production des grains de café

La production des grains de café nécessite différentes étapes successives : la récolte des fruits (ou cerises) – la séparation des grains de café vert des fruits (dépulpage / départage) – la torréfaction des grains.

I.5.1. La récolte des cerises

Les fruits parviennent à maturité 6 à 8 mois après la floraison pour l'arabica, et 9 à 11 mois après pour le robusta. La couleur des cerises constitue un bon indicateur de la maturation, car au cours de cette étape la chlorophylle du péricarpe est remplacée par des pigments flavonoïdes rouges.

La meilleure technique de récolte des cerises est celle de la cueillette manuelle des fruits mûrs (également appelée picking), car elle produit les meilleures qualités de café. Cependant cette technique reste longue et onéreuse, car elle impose de procéder à plusieurs passages tout au long de la période de mûrissement. La cueillette mécanique est rapide et moins chère, mais elle a l'inconvénient d'imposer un tri secondaire car la quasi-totalité des fruits de la branche sont récoltés, quel que soit leur degré de maturité. La maturation des fruits étant très hétérogène, on peut avoir à la fois des cerises vertes, mûres ou très mûres sur une même branche. Or les cerises immatures augmentent l'amertume du café, tandis que celles trop mûres confèrent à celui-ci un goût acre et désagréable. Il est donc nécessaire de trier les cerises mûres des autres une fois la cueillette mécanique réalisée.

I.5.2. L'obtention des grains de café vert

Le fruit du caféier est une sorte de drupe, c'est-à-dire un fruit charnu à noyau. La cerise de café est entourée d'une peau très résistante, lisse et rouge, qui correspond à l'exocarpe. Celle-ci recouvre le mésocarpe riche en glucides et en pectine, mais surtout en eau (70 à 85 %). Le mésocarpe représente, selon les espèces, entre 40 et 65 % du poids du

fruit et correspond à la pulpe.

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

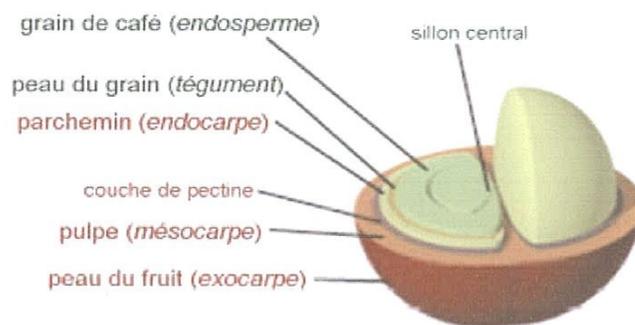


Figure I.2 : structure de la graine du caféier.

L'obtention des grains de café vert nécessite donc de dépulper chaque fruit récolté, puis de déparcher chaque grain. Pour cela, deux méthodes peuvent être mises en œuvre, une méthode dite humide et une méthode dite sèche.

I.5.2.1. Méthode sèche

La méthode sèche est plus ancienne et plus simple que la méthode humide, mais ses résultats sont moins performants. Les cerises sont étalées en plein air sur des aires de séchage, et régulièrement brassées pour leur permettre de sécher à l'air libre Figure (I.3).

En quelques jours, la partie charnue se déshydrate et se désagrège en partie. On reconnaît que les cerises sont séchées lorsqu'en secouant une poignée de café on entend les grains balloter à l'intérieur, les enveloppes deviennent brunes foncées et se durcissent. A ce moment-là, les cerises séchées ne contiennent plus que 12 % d'humidité environ.

A l'issue du séchage, le grain de café se trouve encore enfermé dans le noyau du fruit (l'endocarpe) : c'est ce que l'on appelle le café en coque Figure (I.3). Le café, protégé par sa coque, peut être conservé ainsi pendant un certain temps. Certaines récoltes sont même vieillies de la sorte afin d'améliorer la saveur du café, car le séchage du grain continue à l'intérieur de la coque.



Figure I.3 : (a) *Séchage traditionnel à la main des cerises de caféier.*

(b) *café en coque*

Afin de récupérer les grains de café vert, l'endocarpe doit être enlevé. Pour ce faire, les grains sont décortiqués par une machine. Le rendement cerise sèche - fève verte est généralement de 50 % : 2 kg de cerises sèches donnent 1 kg de fève verte. Au cours de cette étape, la peau fine argentée (ou tégument) est également enlevée. Les coques sont souvent récupérées et valorisées ensuite comme combustible.

I.5.2.2. Méthode humide

La méthode humide étant plus coûteuse que la méthode sèche, elle est généralement réservée aux cafés de qualité cueillis manuellement. Plus compliquée, elle nécessite un certain nombre d'équipements adaptés à chaque étape, mais elle donne un café de meilleure qualité que la méthode sèche.

Dans un premier temps, un nettoyage préliminaire des fruits est effectué, puis ceux-ci sont séparés des autres éléments végétaux par immersion dans l'eau (les cerises mûres sont lourdes, et ainsi séparées des éléments surnageants). Ensuite, l'élimination d'une grande partie de la pulpe est réalisée à l'aide d'un dépulpeur (à cylindres ou à disques), où la pulpe arrachée est évacuée par un courant d'eau.

Les grains, une fois dépulvés de la sorte, doivent être dé mucilaginisés afin d'éliminer la pulpe restante. La dé mucilagination se fait principalement selon deux procédés : par fermentation ou par un procédé mécanique.

- *La fermentation*

Les grains sont placés dans des bacs à l'abri du soleil pendant quelques jours durant lesquels ils subiront une fermentation, afin de permettre d'enlever plus facilement les restes de mucilage demeurés sur les parches et gênants pour le séchage ultérieur. L'ajout d'enzymes pectiques peut être utilisé pour accélérer artificiellement la fermentation.

- *Le procédé mécanique*

Comme la fermentation présente des risques de dépréciation du café si elle n'est pas correctement conduite, des appareillages mécaniques (dépulpeur-démucilagineur) ont été construits. Ils sont plus utilisés pour le robusta que pour l'arabica qui, par tradition, est traité par la fermentation.

Quelle que soit la technique de démulcination utilisée, les grains sont ensuite lavés à l'eau (afin d'éliminer toute trace de mucilage ou pulpe adhérent à la fève), égouttés, puis séchés. Plusieurs méthodes de séchage peuvent être mises en œuvre : la centrifugation, le séchage artificiel, ou encore l'exposition au soleil. Le produit obtenu est le café dit en parche car les grains sont toujours recouverts de leur membrane cellulosique Figure (I.4). Le café en parche séché ne contient plus qu'environ 10 à 15 % d'humidité.



Figure I.4 : Café en parche.

Pour débarrasser le grain de café de sa parche, on fait ensuite subir au grain un déparchage. Enfin, les grains de café sont polis pour enlever leur pellicule. Le rendement du café en parche en café vert est de 20 %.

I.5.3. La torréfaction des grains de café vert

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

Le chauffage indirect est le procédé le plus utilisé dans l'industrie du café. Au cours de cette transformation du café, des réactions chimiques se développent et s'accompagnent d'importantes modifications morphologiques (forme, volume, couleur, perte de poids). Les réactions génèrent du dioxyde de carbone (CO_2), dont une partie s'échappe tandis qu'une autre est retenue dans les cellules du grain.

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

Dans certains cas, du sucre peut être rajouté au café avant de le torréfier, afin d'obtenir un café torréfié plus amer et plus foncé.

La torréfaction modifie non seulement la composition des grains comme nous allons le voir par la suite, mais également leur texture. En effet, juste après la torréfaction, les grains de café sont très friables. Plusieurs raisons à cela : le volume du grain augmente sous l'effet de la pression des gaz produits à l'intérieur du grain par des réactions chimiques (principalement de la vapeur d'eau et du dioxyde de carbone, mais également des produits de pyrolyse), alors que sa masse diminue (perte de gaz et de substances volatiles), ce qui a pour conséquence une baisse de la densité du grain (elle passe d'environ 1200-1300 à environ 600-650 kg.m⁻³). En outre le grain devient poreux, et la perte d'eau est très importante (environ 5-12 % en masse pour le café vert, et seulement 0-5 % pour le café torréfié). Pour cette raison, les grains doivent donc être refroidis avant d'être moulus, afin de devenir durs et cassants. Plus la torréfaction a été intense, plus le grain sera facile à mouler. La torréfaction des grains de café est une étape cruciale, qui nécessite donc un contrôle rigoureux afin de maîtriser les réactions chimiques se produisant, et par là même la qualité des grains de café torréfiés. Ces réactions de pyrolyse et de brunissement non-enzymatique (réaction dite de Maillard) modifient la couleur du grain, qui passe du vert au brun plus ou moins foncé selon le degré de torréfaction.

Il est important de souligner que, si les grains de café vert arabica et robusta peuvent être différenciés à l'œil nu par une personne experte en café (de par des formes et couleurs différentes), ceci n'est plus possible une fois que les grains sont torréfiés, et a fortiori moulus [3].

I.6. La production du café moulu et de sa boisson

I.6.1. La mouture des grains

La mouture consiste à mouler les grains de cafés torréfiés avec des appareils électriques. Au cours de la mouture, le dioxyde de carbone inclus dans le grain de café s'échappe. Bien que réalisée parfois chez le consommateur, elle est plus fréquemment réalisée de manière industrielle. Dans ce cas, le café moulu doit être emballé très rapidement afin d'éviter toute oxydation et perte d'arômes.

Il est important que les grains de cafés torréfiés soient moulus à une granulométrie précise et très homogène, ni trop fine, ni trop grosse, pour que l'eau chaude puisse entraîner le maximum dans les composés aromatiques. En effet, si la mouture est trop grossière, l'eau filtre trop rapidement, et la saveur de la boisson obtenue est fade. A l'inverse, si la mouture

est trop fine, l'opération est lente ; elle s'effectue avec de l'eau refroidie, et de plus celle-ci entraîne des particules qui se déposent au fond de la tasse, ce qui donne un café boisson boueux et âcre. C'est donc entre ces deux extrêmes de mouture que se situe la gamme de degrés de finesse qui convient le mieux à chaque type d'appareil. Le degré de finesse de la mouture est spécifique à chaque préparation. En général, on emploie une mouture moyenne pour les cafetières à filtre, une mouture fine pour les appareils à dépression, une mouture plus fine et tassée pour les percolateurs (café expresso), et une mouture ultrafine pour le café à la turque.

I.6.2. La préparation du café boisson

On dénombre 5 modes de préparation du café, chacun conférant à la boisson obtenue des propriétés organoleptiques et compositions bien distinctes (le café instantané constituant un cas particulier bien spécifique) :

- ***La filtration***

Le modèle de cafetière à filtre utilisé est celui inventé par le français Du Belloy au XVIIIème siècle. Cette cafetière présente la particularité d'être constituée de deux parties: la moitié supérieure contenant le filtre recouvert d'un tamis ou d'un disque percé de petits trous sur lequel le café moulu grossièrement est déposé, et la partie inférieure dans laquelle le café boisson est recueilli. On verse un peu d'eau tiède pour gonfler le café puis on ajoute par petites fractions de l'eau à la limite de l'ébullition. Il faut 10 à 12 g de café moulu par tasse et la préparation dure environ dix minutes. Les filtres utilisés sont en acier inoxydable, en papier spécial, en nylon, ou encore en plastique.

- ***L'infusion***

Cette méthode requiert l'usage d'une cafetière à piston, inventée par l'italien Caliman en 1933. Sa particularité est de faire infuser le café au lieu de le faire bouillir. Dans un récipient en verre, un filtre sous la forme d'un piston permet la séparation du marc de la boisson en l'isolant au fond du récipient. Après avoir déposé la mouture au fond de la cafetière (on recommande 10 g de mouture par tasse), on verse l'eau frémissante et on laisse reposer 2 min environ. En exerçant une pression le filtre s'enfonce jusqu'au bas, séparant le café du marc.

- **La percolation**

La percolation est le procédé utilisé par les cafetières dites napolitaines. Il fut inventé par le Français Louis-Bernard Rabaud en 1822. La cafetière est constituée de deux compartiments séparés par un porte-filtre métallique dans lequel se trouve la dose de café (mouture fine). L'eau, placée dans le récipient inférieur, bout puis s'évapore lors du chauffage. La vapeur sous pression ainsi formée fait remonter l'eau, qui traverse la mouture avant de monter dans la cheminée, pour retomber finalement dans la verseuse. Le café obtenu est dit à l'italienne (ou café moka ou café napolitain). Ce procédé ne donne pas les meilleurs résultats car la température trop élevée de l'eau détruit en partie les arômes du café.

- **La percolation sous haute pression ou un expresso**

Un expresso (de l'italien *espresso*, extrait par pression ou très vite), ou café express, est un café très corsé avec un fort arôme, obtenu en faisant passer rapidement de l'eau chaude sous une pression de 9 bars à travers du café finement moulu et torréfié. Cette opération se fait à l'aide d'une cafetière à expresso. En général on utilise, pour une tasse de 35-67 ml, 14-17 g de café avec une eau de 88-95 °C sous une pression minimum de 9 bars et un temps de passage de 22-28 s. Le procédé utilisé permet à l'eau et à la mouture d'avoir un contact minimum, ce qui évite de diluer les saveurs et les arômes.

- **La décoction**

Le café, moulu très finement, est jeté dans l'eau bouillante (dans une cafetière arabe ou tout autre récipient allant directement sur le feu). Après trois ébullitions très courtes, le café est versé sans filtration préalable. Cette préparation donne le café turc (ou café grec), qu'il est nécessaire de boire lentement afin d'éviter le marc restant au fond de la tasse. Il s'agit de la plus ancienne méthode de préparation du café.

- **La dissolution**

Dans le cas particulier du café instantané, la boisson est préparée en mélangeant simplement du café soluble avec de l'eau bouillante.

La Figure (I.5) illustre les principaux types de cafetière utilisés pour ces multiples modes de préparation du café boisson.



Figure I.5 : Illustration de différents types de cafetière :

(a) cafetière à filtre ; (b) cafetière à piston ; (c) cafetière napolitaine ;

(d) percolateur ; (e) cafetière arabe.

I.7. le café soluble

Quand on fait du café soluble, la qualité du mélange est de première importance. La fabrication du café soluble repose sur le principe de dessiccation du café obtenue par infusion. La poudre obtenue (ou café soluble) permet de reconstituer la boisson par simple dissolution dans l'eau.

I.7.1. Le café atomisé

Il est obtenu à partir de café filtré dans de grands percolateurs, et concentré. Ce concentré de café pulvérisé dans un courant d'air chaud et sec (atomisation). Les particules de café desséchées ainsi obtenues sont réceptionnées à la base de l'atomiseur (cylindre pouvant atteindre jusqu'à 15 mètres de haut dans lequel le café liquide est vaporisé). La qualité du produit ainsi obtenu est grossière et irrégulière.

I.7.2. Le café lyophilisé

Un autre procédé, la lyophilisation permet de transformer le café en granulé de meilleure qualité, par le principe de sublimation. Cette sublimation n'est possible que parce qu'elle se fait sous vide et que le chauffage se règle automatiquement, avec la plus grande précision. C'est ainsi que se forment ces granulés bruns typiques du café lyophilisé.

On part également de café concentré que l'on congèle à -40° . On place ce café congelé en barres dans une chambre de lyophilisation où l'on fait le vide absolu, l'eau bout à 0° . De cette façon, lorsque le vide est obtenu, l'eau avec laquelle le café a été fait se sublime, c'est à dire qu'elle passe directement de l'état de solide à l'état gazeux. Il reste alors les petits granulés de café lyophilisé.

Chapitre II

La composition du café

II.1. 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 du café boisson par le consommateur influence directement la composition de la boisson obtenue.

Le tableau (II.1) récapitule les valeurs moyennes approximatives de la composition des deux principales espèces, café arabica et café robusta des grains de café verts et torréfiés.

La teneur en eau est un paramètre important à contrôler dans le café vert car elle gouverne les réactions de fermentation et de développement de moisissures durant le stockage et le transport des grains, qui peuvent entraîner le développement d'arômes indésirables ou la formation de mycotoxines, et donc altérer la qualité du café. Il est recommandé de sécher le grain jusqu'à obtenir une teneur en eau inférieure ou égale à 12 % pour minimiser ce genre de problème.

Tableau II.1: Composition des grains de café verts et torréfiés selon la variété

(en pourcentage massique par rapport à la matière sèche) [9].

Composants	Café Arabica		Café robusta	
	Vert	Torréfié	Vert	Torréfié
Caféine	0,8-1,4	0,9-1,6	1,7-4,0	1,2-2,6
Trigonelline	0,6-1,2	0,1-1,2	0,3-1,0	0,1-1,2
Acides aliphatiques	1,0-3,0	1,0-1,6	1,0-2,0	1,0-4,6
Acide quinique	0,4	0,8	0,4	1,0
Acides chlorogéniques totaux	5,5-9,0	0,2-3,5	7,0-12,0	0,2-4,6
Oligosaccharides	6,0-8,0	0,0-3,5	5,0-7,0	0,0-3,5
Saccharose	8,0	0,0	4,0	0,0
Polysaccharides totaux	50,0-55,0	24,0-39,0	37,0-47,0	-
Protéines	11,0-14,0	13,0-15,0	11,0-14,0	13,0-15,0
Acides aminés libres	2,0	0,0	2,0	0,0
Lipides totaux	10,0-18,0	14,5-20,0	8,0-13,0	8,3-16,0
Minéraux	3,0-4,2	3,5-4,5	3,5-4,5	4,6-5,0
Eau	5,0-12,0	0,0-5,0	5,0-12,0	0,0-5,0

II.1.1. Composition des grains de café vert

II.1.1.1. Les alcaloïdes

- *Les xanthines*

Les xanthines sont une famille d'alcaloïdes, aux effets thérapeutiques souvent utilisés (ex : stimulants, bronchodilatateurs). Leur présence dans les grains de café, et ensuite dans le café boisson, est d'une grande importance en raison de leur activité physiologique importante et multiple.

La caféine ou 1, 3,7-triméthylxanthine est l'alcaloïde majoritaire du café Figure (II.1). On trouve également, mais en quantités bien plus faibles, la théobromine (ou 3,7-diméthylxanthine) et la théophylline (1,3 diméthylxanthine). D'autres xanthines sont présentes à l'état de traces dans le café vert, telles l'hypoxanthine, l'adénine et la guanine, mais celles-ci sont détruites lors de la torréfaction des grains.

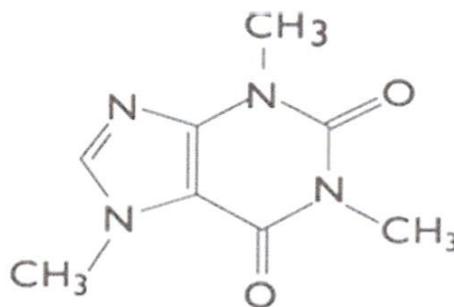


Figure II.1: Structure chimique de la caféine.

La caféine serait synthétisée à partir des purines dans les grains de café vert. Elle joue un rôle protecteur en raison de ses propriétés antifongiques, voire peut-être insecticides. La teneur en caféine des grains de café vert dépend en premier lieu de la variété de café ; elle est sensiblement plus élevée pour le robusta (1,2 à 3,3 % en masse par rapport à la matière sèche) que pour l'arabica (0,9 à 2,1 %).

- *La trigonelline*

La trigonelline, ou méthylbétaine de l'acide nicotinique, est une base azotée très soluble dans l'eau Figure (II.2). Sa teneur est sensiblement plus élevée dans le café arabica (0,6 à 1,9 % du poids en matière sèche) que dans le café robusta (0,3 à 1,9 %). De même, sa

concentration est sensiblement plus faible dans les grains de café vert défectueux que dans ceux de bonne qualité. Cette molécule est très importante car, au cours de la torréfaction du grain, elle va subir partiellement différentes dégradations pour donner lieu à la formation d'un certain nombre d'arômes.

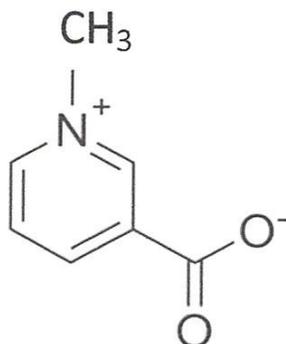


Figure II.2 : Structure chimique de la trigonelline.

II.1.1.2. Les acides

L'acidité constitue l'une des caractéristiques les plus importantes du café, au même titre que l'amertume ou l'arôme. Le pH moyen des grains de café vert est de l'ordre de 5,5. Plusieurs types d'acides contribuent à cette acidité : aliphatiques, chlorogéniques, alicycliques et phénoliques.

- *Les acides aliphatiques*

Plusieurs acides aliphatiques ont été mis en évidence dans le café vert, des acides non volatils (citrique, malique, oxalique et quinique), et à l'état de traces des acides volatils (principalement acétique). Leur teneur totale est sensiblement la même pour l'arabica que pour le robusta, avec en moyenne 1,6-1,7 % du poids de matière sèche. Par contre l'acide quinique libre est plus concentré dans l'arabica. Il se trouve également présent sous des formes dérivées.

- *Les acides chlorogéniques*

Les acides chlorogéniques constituent une famille d'esters formés entre certains acides transcinnamiques (caféique ou férulique) et l'acide quinique. Ils représentent environ 7-10 et 5-7,5 % en masse de la matière sèche pour le robusta et l'arabica respectivement. Le composé

majoritaire reste l'acide n-chlorogénique (ou acide 5-caffeoylquinique) pour tous les cafés, puisqu'il représente 60 et 75 % de l'ensemble des acides chlorogéniques dans le café robusta et arabica respectivement. Selon la variété et l'origine géographique du café vert, sa concentration peut varier entre environ 2,7 et 5,6 % (en masse par rapport à la matière sèche). D'autres acides chlorogéniques sont présents, comme indiqué dans le Tableau (II.2).

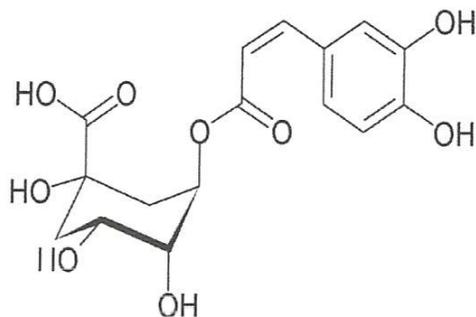


Figure II.3 : Structure de l'acide chlorogénique.

Tableau II.2 : Teneurs moyennes en acides chlorogéniques selon la variété de café vert (pourcentage en masse par rapport à la matière sèche) [6].

Acides chlorogéniques	Café arabica	Café robusta
Acide 3-caffeoylquinique	0,20	0,81
Acides 4- et 5-caffeoylquinique	3,06	6,85
Acide 5-feruloylquinique	0,15	1,17
Acides 3-, 4-feruloylquinique	0,04	0,26
Acide 3,4-dicaffeoylquinique	0,12	0,77
Acide 3,5-dicaffeoylquinique	0,23	0,71
Acide 4,5-dicaffeoylquinique	0,25	0,83
Total	4,1	11,3

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

II.1.1.3. Les protéines et les acides aminés libres

Les acides aminés présents dans le café vert sont principalement liés aux protéines, la fraction libre ne représentant qu'environ 5 % du total, avec une teneur sensiblement plus élevée pour le robusta que pour l'arabica. Parmi les principaux acides aminés qui composent cette fraction libre on trouve les acides glutamique, aspartique et γ -aminobutyrique.

Les teneurs en protéines de café arabica et de café robusta sont comparables, et varient entre 8,7 et 13,6 % de la matière sèche du grain vert. Ces protéines se composent de deux fractions en quantités comparables, l'une soluble dans l'eau, l'autre insoluble.

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

II.1.1.4. Les glucides

Les glucides représentent environ 48-60 % de la matière sèche du café vert. Le Café arabica est généralement un peu plus riche que le café robusta. Ils sont constitués de glucides solubles cytoplasmiques (monosaccharides, oligosaccharides et polysaccharides) et de glucides insolubles constitutifs des parois végétales (hémicellulose et holocellulose).

Tableau II.3 : Composition moyenne en glucides des grains de café vert [10].

Glucides	Café arabica	Café robusta	Composants
Soluble :	9,2-13,5	6,2-11,9	
Monosaccharides	0,2-0,5	0,2-0,5	Mannose, glucose, galactose, arabinose, fructose, mannitol, xylose, ribose
Oligosaccharides	6,0-9,0	3,0-7,0	Saccharose, raffinose, stachyose
Polysaccharides	3,0-4,0	3,0-4,4	Polymères de galactose (55-65 %), mannose (10-20 %), arabinose (20-5 %), glucose (0-2 %)
Insolubles :	46,0-53,0	34,0-44,0	
Hémicelluloses	5,0-10,0	3,0-4,0	Polymères de galactose (65-75 %), arabinose (25-30 %), mannose (0-10%)
Holocelluloses	41,0-43,0	32,0-40,0	Polymères de galactose (10-20 %), Mannose (60-70 %)
Total	55,2-66,5	41,2-55,9	

II.1.1.5. Les lipides

Les grains de café vert arabica contiennent en moyenne 12 à 20 % de lipides totaux et ceux de café robusta 9 à 17 %. Les teneurs en lipides, tout comme celles des différentes fractions lipidiques, varient en fonction des méthodes d'extraction et d'analyse utilisées. Les lipides du grain sont répartis entre la couche externe entourant le grain (0,2 à 0,3 % des lipides totaux : il s'agit de la cire) et l'endosperme (on parle alors d'huile de café).

Plusieurs constituants lipidiques sont présents, les triglycérides (très largement majoritaires), les acides gras libres, les esters de diterpènes, les diterpènes libres, les triterpènes, les stérols, les esters de méthylstérols, les 5- hydroxytriptamides, les tocophérols et les phospholipides.

Les deux diterpènes caractéristiques du café sont le cafestol et le kahweol Figure (II.4), ce dernier étant présent uniquement à l'état de traces dans le robusta. Pour l'arabica, le

rapport cafestol / kahweol peut varier entre 40 / 60 et 70 / 30.

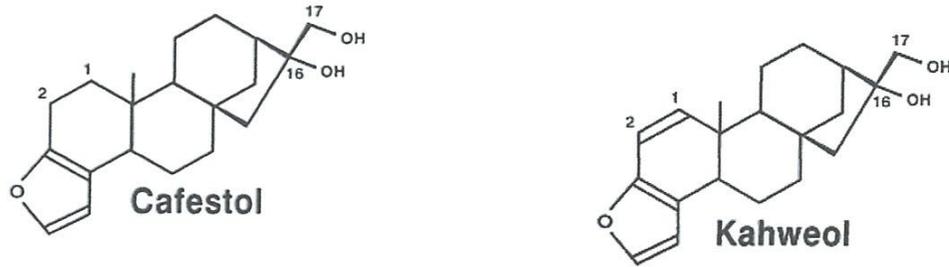


Figure II.4: Structures chimiques des deux diterpènes caractéristiques du café.

II.1.1.6. Les minéraux

Les cendres du café représentent environ 3 à 5,4 % de la matière sèche. La composition moyenne en minéraux des grains verts, exprimée en pourcentage de la matière sèche, est la suivante : potassium 1,63-2 %, magnésium 0,16-0,31 %, sulfates 0,13 %, calcium 0,07-0,035 %, phosphates 0,13-0,22 %. La grande majorité (90 %) des minéraux sont hydrosolubles, et donc présents dans la boisson.

La variété de café a une influence sur les concentrations en minéraux des grains. Ainsi, comme indiqué dans le Tableau (II.4), le café robusta contient plus d'éléments minéraux que l'arabica. En outre, le mode de production des grains de café vert a également une influence. Ainsi on observe que, lorsque le dépulpage – déparchage est réalisé par voie humide, la teneur en minéraux des grains de café vert obtenus est sensiblement plus faible que par voie sèche.

Tableau II.4: Composition en minéraux des grains de café vert selon la variété et le mode de production (en pourcentage de la matière sèche) [2].

Composants	Café arabica		Café robusta
	Méthode sèche	Méthode humide	Méthode sèche
Minéraux totaux	4,11-4,27	3,58-3,95	4,14-4,39
Potassium	1,77-1,88	1,63-1,70	1,84-2,00

II.1.1.7. Les vitamines

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

II.1.1.8. Les amines

On distingue deux types d'amines dans les végétaux : (1) les polyamines (agmatine, putrescine, spermidine et spermine) (2) les amines biogènes (cadavérine, histamine, 2-phénylethylamine, sérotonine, tyramine et tryptamine) formées par des réactions de décarboxylation à partir d'acides. Peu d'études se sont intéressées à l'analyse des amines dans le café. Il apparaît toutefois que dans le café vert la putrescine est majoritaire (50-75 % de la teneur totale en amines), suivie par la spermidine (12-29 %), la spermine (12-21 %) ainsi que la sérotonine (ou 5-hydroxytryptamine) dans certains cafés (0-4 %). Il n'est pas étonnant de retrouver ces amines dans le café puisqu'elles sont présentes dans beaucoup de plantes. Des traces d'histamine, de tryptamine et de cadavérine ont également été observées dans des cafés de mauvaise qualité ou des grains défectueux. Selon les études, la teneur en amines totales dans le café vert varie entre 30 et 137 mg.kg⁻¹.

II.1.2. Composition des grains de café torréfiés

La torréfaction constitue une étape clef dans la production de café. En effet, selon les conditions (principalement de température et de durée), les réactions chimiques se produisant à l'intérieur des grains seront variables. Or ces réactions sont très importantes pour le développement des caractéristiques organoleptiques du café, notamment grâce aux réactions de brunissement non-enzymatique (également appelées « réaction de Maillard ») impliquant des sucres réducteurs et des acides aminés. Parallèlement, d'autres réactions chimiques se produisent, entraînant une composition du café torréfié sensiblement différente de celle du café vert initial.

II.1.2.1. Les alcaloïdes (caféine et trigonelline)

La torréfaction n'a pas d'effet significatif sur la teneur en caféine des grains de café. À l'inverse, au cours de la torréfaction la trigonelline qui contribue à l'amertume du café, se décompose en acide nicotinique (vitamine PP ou niacine), en pyridine et en substances aromatiques (tels que les furanes, pyrazines, alkylpyridines ou les pyrroles) ; en outre vers 250 °C il se forme certains composés ayant une activité mutagène. Ainsi, on constate que la dégradation de la trigonelline augmente avec la température de torréfaction: à 200 °C la perte est de 80 %, et à 240 °C il ne reste que 5-15 % de trigonelline. Au final, le café torréfié contient entre 0,2 et 1,7 % de trigonelline. Le rapport trigonelline / acide nicotinique peut constituer une méthode d'évaluation du degré de torréfaction du café.

II.1.2.2. Les acides

L'acidité du grain diminue au cours de la torréfaction, avec un pHI moyen proche de 6, voire 6,5 pour un café de moyenne qualité. Les différents acides (aliphatiques, chlorogéniques, alicycliques et phénoliques) constituent environ 6 % en masse du grain.

- *Les acides aliphatiques*

Plusieurs acides organiques ont été déterminés: acides oxalique, formique, fumarique, mésoaconique, succinique, maléique, malique, isocitrique, citrique, acétique, citraconique, glycolique, propionique, lactique, furanoïque, pyroglutamique et quinique.

- *Les acides chlorogéniques*

Au cours de la torréfaction, l'acide n-chlorogénique se dégrade pour donner lieu à différents dérivés du phénol, comme indiqué sur la Figure (II.5), en particulier l'acide caféique, l'acide quinique, le catéchol, le pyrogallol et l'hydroquinone. Ces composés contribuent à l'amertume du café [1].

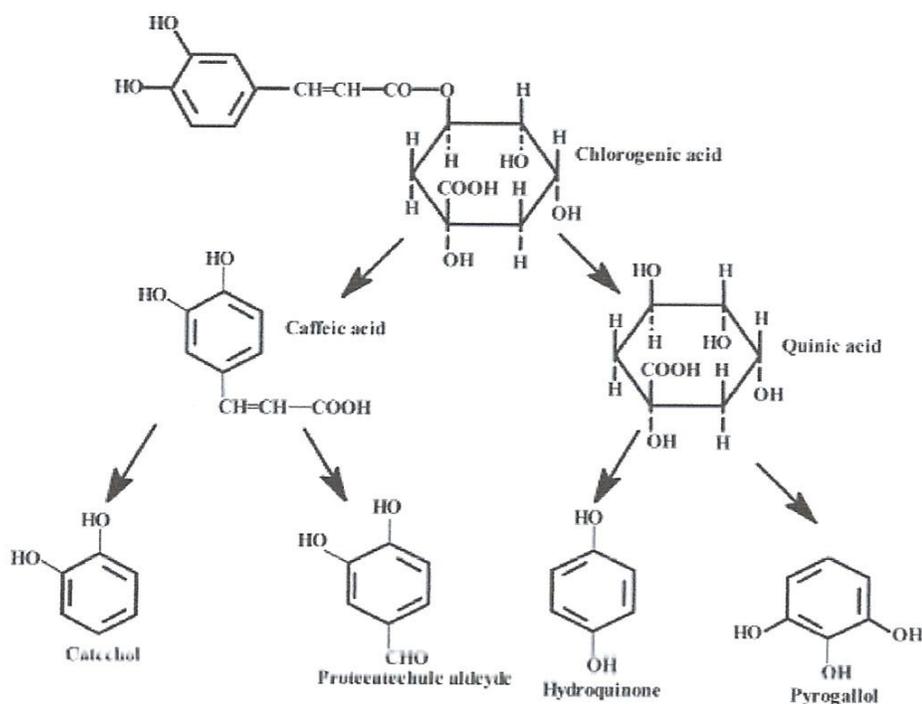


Figure II.5: Voies de décomposition de l'acide chlorogénique lors de la torréfaction du grain de café [3].

A 200 °C il a été observé environ 95 % de perte en acide n-chlorogénique contenu dans des cafés arabica bésiliens. Les teneurs des produits de pyrolyse de l'acide chlorogénique, notamment celles des acides quinique et caféique, dépendent de la variété de café et du degré de torréfaction. La formation de la quinide (lactone de l'acide quinique) a également été observée, proportionnellement à la quantité d'acide quinique initiale.

II.1.2.3. Les protéines et les acides aminés

Sous l'effet de la torréfaction, et en fonction de son intensité, la perte en acides aminés varie de 20 à 40 % du fait de la destruction d'une partie des protéines. Les acides aminés sont présents en raison de la plus grande thermorésistance de certains d'entre eux tels que l'alanine, la tyrosine, la leucine, la phénylalanine et la valine. D'autres sont thermosensibles comme l'arginine, la cystéine, la serine, la thréonine, la lysine, la méthionine et l'histidine. Les fractions libres sont également dégradées, plus ou moins rapidement selon les composés.

II.1.2.7. Les vitamines

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

II.1.2.8. Les amines

Les rares études menées sur les amines dans le café ont montré que celles-ci sont en grande majorité dégradées au cours de la torréfaction, vraisemblablement au cours de la première phase (celle du séchage du grain). La putrescine et la spermine sont rapidement et quasi-totalement dégradées, tandis que la spermidine et la sérotonine possèdent une vitesse de dégradation plus lente. Toutefois pour des torréfactions prolongées on peut observer la formation de certaines amines, par décarboxylation des acides aminés correspondant ; ainsi l'agmatine peut se former à partir d'arginine .De plus, des traces de cadavérine et tryptamine ont été détectées dans des cafés torréfiés de mauvaise qualité.

II.1.2.9. Les substances volatiles

Les substances volatiles, absentes du café vert, représentent environ 0.1 % de la matière sèche du café torréfié. Leur formation au cours de la torréfaction est en grande partie liée à la réaction de Maillard.

II.1.3. Composition du café boisson

Le café boisson peut être préparé de différentes façons comme déjà mentionné, et à partir soit d'une variété donnée (arabica ou robusta), soit d'un mélange des deux variétés (et dans ce cas les proportions d'arabica et de robusta peuvent varier selon les mélanges). De ce fait, la composition du café boisson peut varier en fonction de ces conditions de préparation.

II.1.3.1. Les alcaloïdes (principalement la caféine)

La caféine reste très majoritaire dans le café boisson, avec un facteur caféine/théobromine pouvant atteindre 1000/1 pour certains cafés .Plusieurs paramètres influent sur la concentration en caféine du café boisson : la variété de café, son origine géographique, la quantité de café employée, le mode de préparation choisi, le volume de café boisson préparé ou encore la durée de préparation. De ce fait, la teneur en caféine du café boisson peut varier entre 70 et 150 mg par tasse. Plus la mouture est fine, plus la quantité

quantité de caféine extraite est élevée grâce à une surface de contact café-eau plus importante. La teneur en caféine du café boisson augmente également avec la durée de préparation (ce qui est classique en terme d'extraction) ou le volume de café préparé. Enfin, un rapport café moulu / volume d'eau élevé entraîne une boisson très caféinée, avec en moyenne 17-18 mg de caféine extraite par gramme de café moulu pour le café filtre. La teneur en caféine du café bouilli est sensiblement similaire à celle du café filtre, ce qui montre que ce n'est pas la caféine qui est responsable de l'augmentation du taux de cholestérol sanguin associée à une consommation de café bouilli.

La caféine est d'une grande importance dans le café, en raison de ses propriétés physiologiques et de son caractère amer. Elle est absorbée très rapidement et complètement après son ingestion. Son excrétion est très variable d'un individu à l'autre, mais elle est diminuée chez les femmes enceintes, et elle reste faible chez le nouveau-né et le fœtus. De plus certains médicaments ou une insuffisance hépatique grave peuvent conduire à une mauvaise élimination de la caféine dans l'organisme.

II.1.3.2. Les acides

L'acidité est un facteur important des qualités organoleptiques du café infusé. Ainsi, la qualité du café est en partie fonction des proportions respectives des acides mono- et dichlorogéniques. La valeur du rapport entre ces deux acides est un peu plus basse dans le robusta que dans l'arabica. L'excès d'acides dichlorogéniques peut être responsable de la saveur métallique rémanente éventuelle de la boisson.

La saveur aigre du café maintenu longtemps à la chaleur est due, d'une part à l'augmentation de ses teneurs en acides libres (notamment de l'acide quinique) ainsi qu'à celles des lactones, et d'autre part à la diminution de sa concentration en pyridine.

II.1.3.3. Les glucides

Selon le mode de préparation de la boisson, une part plus ou moins importante des polysaccharides contenus dans le café peut être extraite et se retrouver dans le café boisson. Ces composés jouent un rôle important, à la fois sur la rétention des substances volatiles, et sur la viscosité de la boisson obtenue (sensation plus ou moins crémeuse perçue en bouche, également appelée corps). En particulier dans le cas du café expresso, la stabilité de la mousse obtenue est liée à la présence de certains polysaccharides (ceux qui précipitent

dans des solutions éthanoliques à 50 %). Les galactomannanes constituent environ 70 % des polysaccharides du café boisson ; les autres principaux polysaccharides sont les arabinogalactanes .

II.1.3.4. Les diterpènes, cafestol et kahweol

Tableau II.6: Teneurs en cafestol et kahweol de différentes cafés boissons [4] et [10].

Type de boisson	Concentration du Café (mg.mL ⁻¹)	Concentration libres en diterpènes (mg.L ⁻¹)		Proportion cafestol / kahweol
		Cafestol	Kahweol	
Café turque	83	88,7 ± 4,0	89,9 ± 4,1	49,7 / 53,3
Café bouilli	60	48,3 ± 3,8	48 ± 2,5	50,2 / 49,8
Café napolitain	67	37,5 ± 1,3	38,5 ± 0,9	49,3 / 50,7
Café expresso	154	17,3 ± 1,5	16,3 ± 1,4	51,5 / 48,5
café filtre	65	0,12 ± 0,02	0,14 ± 0,03	46,2 / 53,8
Café instantané	12	1,9 ± 0,05	1,9 ± 0,01	50,0 / 50,0

En ce qui concerne les deux diterpènes, cafestol et kahweol, le mode de préparation du café boisson a une grande influence sur leurs concentrations finales. Les teneurs en diterpènes sont les plus élevées pour le café bouilli et le café turc, tandis qu'elles sont plus faibles pour le café expresso, et négligeables pour le café instantané et le café filtre. Ainsi des concentrations allant jusqu'à 90 et 17 mg.L⁻¹ ont été trouvées dans le café turc et le café expresso respectivement comme indiqué dans le Tableau (II.6), avec un rapport cafestol/kahweol proche de 50/50. Plus le système de préparation de la boisson permet de retenir les fines particules, plus les teneurs en cafestol et kahweol sont faibles, car ces particules s'avèrent être des sources importantes de diterpènes. De plus, le papier filtre présente l'avantage de retenir fortement la fraction lipidique, tandis que pour le café instantané une grande part des diterpènes est perdue lors du procédé industriel de fabrication du café.

II.1.3.5. Les substances volatiles

De nombreux composés volatils ont été identifiés dans le café boisson. Il semble que certains de ces composés soient retenus dans le café boisson grâce à des interactions (probablement hydrophobes) avec les mélanoidines (non-volatiles).

Parmi les matières volatiles, des aldéhydes, des phénols, des cétones et des composés soufrés.

Chapitre III

Matériels et méthodes

III.1. Introduction

Dans ce chapitre, nous présenterons le matériel, les réactifs, les modes opératoires et la méthode analytique mise en œuvre pour l'analyse des cafés.

La méthode analytique utilisée est la chromatographie liquide à haute performance couplée à un détecteur à barattes de diode (HPLC-UV-DAD) pour le dosage des deux principaux composés de café:

- L'acide chlorogénique le plus abondant de café: Acide 5-caffeoylquinique 5-ACQ».
- la caféine.

III.2. Matériels

La conduite de ce travail a nécessité l'utilisation de différents matériels d'importance variée tels que :

- Verrerie usuelle de laboratoire.
- Balance analytique (sortonius cp 2245).
- Lyophilisateur (Alpha 1-2 LD plus).
- HPLC-DAD du type Agilent, série 1260.

III.2.1. Appareillages

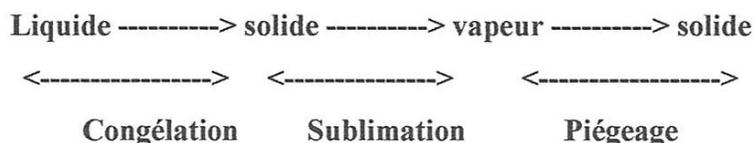
III.2.1.1. Lyophilisateur

La lyophilisation est une méthode de dessiccation sous vide, à basse température, de produits liquides préalablement congelés.

a) Principe

La lyophilisation consiste en l'élimination progressive de l'eau du produit préalablement congelé (phase solide) par passage à la phase vapeur, sans passer par la phase liquide. Ce changement d'état s'appelle la sublimation.

Pendant la lyophilisation, l'eau passe donc par les changements d'états suivants :



b) Les étapes du processus de lyophilisation**❖ Congélation :**

Conditionnée par la nature du produit. La température de congélation peut varier ce qui conditionne le choix au départ d'une puissance frigorifique conséquente à ne pas négliger, ceci de façon à obtenir une solidification uniforme de la matière à lyophilisée.

Plus la température de congélation est basse et d'autant la durée totale du procédé est augmentée.

❖ Lyophilisation primaire :

Doit se dérouler sans décongeler le produit avec une pression partielle inférieure à la tension de vapeur de la glace (conditionnée par la température). Plus cette température sera basse et plus le vide devra être bas.

❖ Lyophilisation secondaire :

Destiné à éliminer les dernières traces d'eau retenues par absorption ou pour assurer une quantité d'eau résiduelle la plus faible possible.

La chauffe ne doit pas conduire à la destruction partielle ou totale par dénaturation du produit.

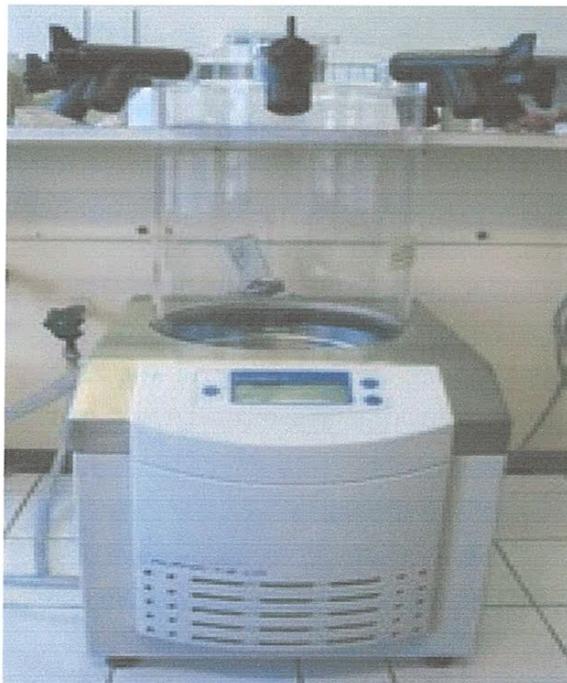


Figure III.1 : Lyophilisateur Alpha 1-2 LD plus

(Laboratoire de Chimie Appliquée, Université de Guelma).

c) Caractéristiques

- Performance 2 kg de glace par 24 h
- Piège -55 °C en acier inox 316, volume 2,5 kg de glace
- Affichage numérique température condenseur et pression
- Contrôleur de vide et microvanne pour casser le vide
- Chambre transparente avec 8 embouts pour robinets
- Kit de tubulure pour raccordement DN16 pour pompe à vide livrée avec 8 flacons pour lyophilisation sur manifold ayant :
 - Un volume 75 ml
 - Un col large 49 mm
 - Filtre retenant le lyophilisat
 - Stérilisable à 121 °C
 - Diamètre 60 mm
 - Hauteur 87 mm
 - Poids 130 g

III.2.1.2. La chromatographie liquide à haute performance couplée à un détecteur HPLC-DAD « HPLC-UV-DAD »



Figure III.2 : HPLC (Agilent 1260) utilisé pour le dosage des principes actifs de (Laboratoire de Chimie Appliquée, Université de Guelma).

- **Constituants de l'appareil HPLC-UV-DAD**

Un appareil HPLC-DAD de type Agilent, série 1260 Figure (III.2) est muni d'un réservoir contenant la phase mobile, d'une pompe quaternaire, d'un dégazeur (G1354A), d'un auto-échantillonneur (G1313A), d'un compartiment de colonne thermo statée (G1316A) et d'un détecteur à barrette de photodiodes (G1315B). La colonne de type C18 à silice greffée.

Les données ont été analysées en utilisant le logiciel de chromatographie Chem Station.

Les appareils à barrette de diodes donnent la lecture simultanée des intensités lumineuses sur tout le spectre et permettent l'obtention de chromatogrammes en trois dimensions.

- **Principe**

La chromatographie est une technique d'analyse pour séparer les constituants d'un mélange; les molécules à séparer sont entraînées par un solvant qu'on appelle la phase mobile qui se trouve dans le réservoir.

Les pompes sont utilisées pour la circulation de la phase mobile, c'est-à-dire le liquide circulant dans le système chromatographique. Des tubes en acier inoxydable permettent de relier la ou les pompes à l'injecteur chromatographique. Après l'injecteur, est placée une colonne chromatographique (cylindre rempli par la phase stationnaire) qui permet la séparation. La colonne est reliée au détecteur chromatographique (spectroscopie UV-visible, barrette de diode, fluorimètre, réfractomètre, etc). Un ordinateur complète ce dispositif, pour la commande du système chromatographique, ainsi que l'acquisition et le traitement des données.

La figure ci-dessous illustre le principe de fonctionnement d'une HPLC.

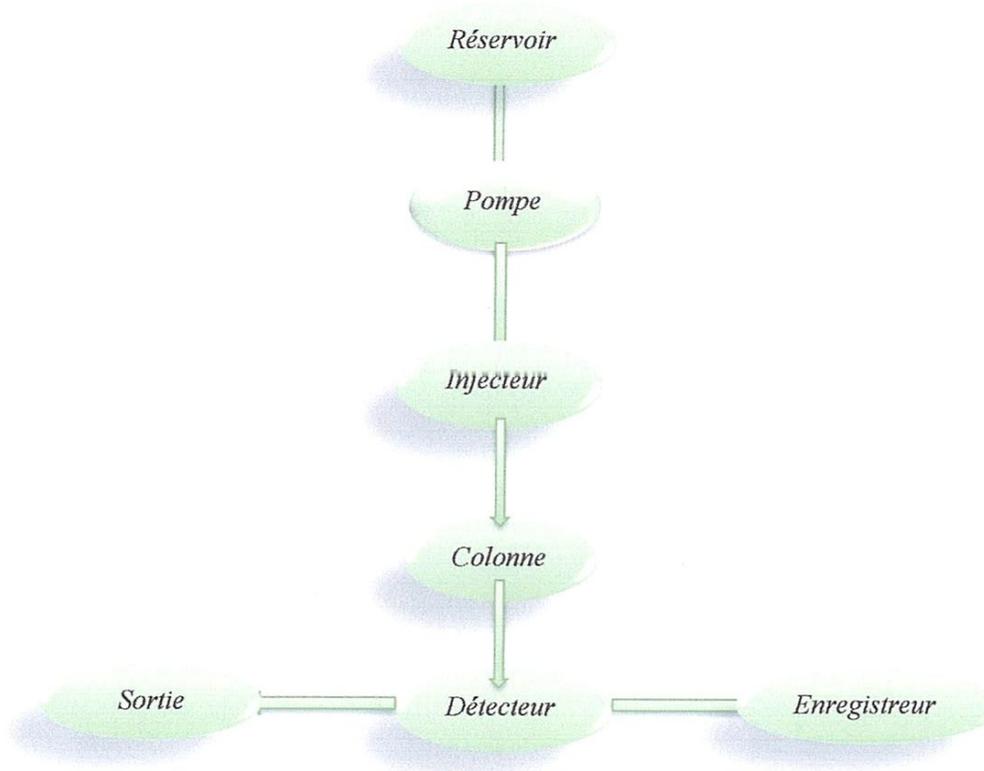


Figure III. 3: Organigramme de principe de fonctionnement d'une HPLC.

III.3. Solvants et réactifs

Tous les solvants que nous avons utilisés en chromatographie sont de grade HPLC. Le méthanol, acide trifluoroacétique L'acide chlorogénique et la caféine ont été achetés auprès de Sigma Aldrich (Sigma, Allemagne). Les molécules standards sont d'une pureté supérieure à 98 %. L'eau a été bidistillée et filtrée deux fois.

III.4. Echantillons de café

Des marques différentes de cafés (emballés, non emballés) ont été achetées au marché local dans la ville de Guelma et utilisées dans cette étude. Sept marques de cafés emballés, trois échantillons de cafés torréfiés non emballés ont été analysés.

III.5. Méthodes

III.5.1. Méthode de préparation et injection des standards

Le but de cette étape est de construire les courbes d'étalonnage des composés purs (standards) qu'on veut doser, ultérieurement, dans les différents échantillons de café.

La solution mère est préparée à partir de 1 mg de chacun des standards purs dans 15ml de méthanol. Par la suite, des dilutions successives ont été effectuées, selon la nécessité. Les courbes étalons ont, ensuite, été tracées pour chacun des standards.

Des volumes de: 5 μ l ; 10 μ l ; 15 μ l ; 20 μ l de chaque solution standard préparée ont été injectés en triplicata dans l'appareil HPLC.

Les courbes étalons sont des droites (tracée en utilisant Microsoft Excel 2010) qui donnent la variation des aires des pics en fonction des volumes injectés.

La teneur de chaque constituant dosé dans différents échantillons a été calculée en utilisant l'équation de régression de la meilleure ligne d'ajustement.

III.5.2. Méthodes de préparation et injection des échantillons de café

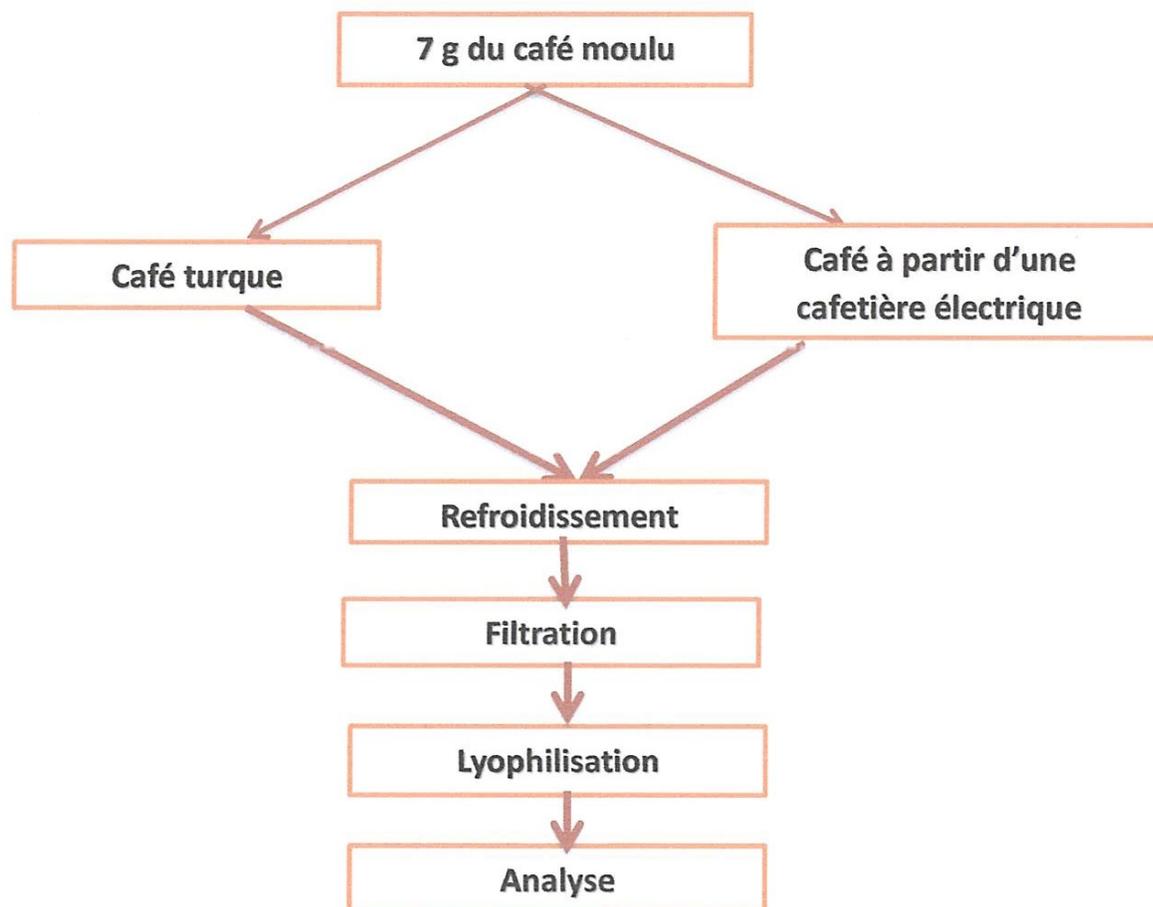


Figure III.4: protocole expérimentale de préparation du café boisson.

Les cafés boissons ont été préparés par deux types de cafetière (turque et électrique). Et pour cela, une quantité de 7 g de chaque échantillon de café torréfié et moulu, empaqueté et non empaqueté a été pesée et incorporée dans 100 ml d'eau ultra-pure à une température de 100 °C sous agitation modérée pendant 5 minutes pour préparer les extraits de café par la méthode traditionnelle, dite « turque ».

Les extraits de café préparés par la cafetière électrique ont été obtenus, en mettant la même quantité de café utilisée par la première procédure dans un papier filtre qui est placé au-dessus d'un récipient (réservoir à pression atmosphérique) contenant 100 ml d'eau ultra-pure, l'eau monte ensuite pour s'écouler sur le filtre.

Avant de les faire passer au lyophilisateur, les extraits ont été filtrés avec un papier filtre. Une quantité de 1 mg de la masse obtenue par lyophilisation a été dissoute dans 10 ml d'eau bi distillée et filtrée, une quantité de 20 µl de chaque échantillon a été prélevée pour l'analyse HPLC en triplicata.

III.5.3. Analyse quantitative par HPLC-UV-DAD de la caféine et de L'acide chlorogénique dans les échantillons de café

Le but de cette analyse est de déterminer la dose de chacun des composés organiques présents dans les différents échantillons de cafés concernés par cette étude en l'occurrence; la caféine, et l'acide chlorogénique, dont les structures moléculaires ainsi que quelques caractéristiques sont, respectivement, représentées dans la figure(III.5) et le tableau(III.1)

Tableau III.1 : Quelques caractéristiques de la caféine et Acide Chlorogénique de étudiés [11].

Composés	Formule brute	Masse moléculaire (g/mol)	Solubilité
Caféine	$C_8H_{10}N_4O_2$	194,1906	Eau, alcool, acétone, éther, chloroforme, dichlorométhane, benzène.
Acide chlorogénique	$C_{16}H_{18}O_9$	354,3087	Soluble dans l'eau.

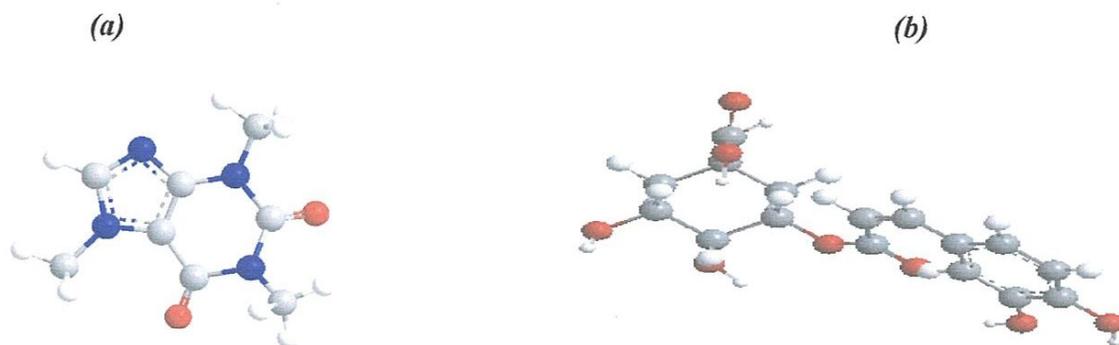


Figure III.5: Structures des molécules étudiées: (a) Caféine, (b) Acide chlorogénique .

III.5.3.1. Conditions de l'analyse

Pour ce dosage, le débit de la phase mobile a été fixé à 1ml / min. La détection des composés a été réalisée à 273 et 310 nm ; les longueurs d'onde maximales d'absorption respectivement de la caféine et de l'acide chlorogénique.

La séparation a été réalisée en mode gradient et en phase inverse avec un temps d'acquisition de 13 minutes.

III.5.3.2. Solvants et réactifs

Les solvants de la phase mobile utilisés dans le dosage de l'acide chlorogénique et de la caféine sont :

Solvant A: Eau/ (acide trifluoroacétique (0,025%)).

Solvant B: Acétonitrile / (acide trifluoroacétique (0,025%)).

III.5.3.3. Gradient

Après plusieurs essais de séparation pour les différents échantillons de café, nous avons constaté qu'une bonne séparation est obtenue pour un gradient établi sur 13min avec un pourcentage initial de 85 % du solvant A Tableau (III.2).

**Tableau III.2: Gradient HPLC pour l'analyse des deux principes actifs du café
(La caféine et l'acide chlorogénique).**

Temps (min)	Composition volumique du solvant B (%)	Composition volumique du solvant A (%)
0	85	15
5	63	37
10	20	80
11	0	100
12	0	100
13	85	15

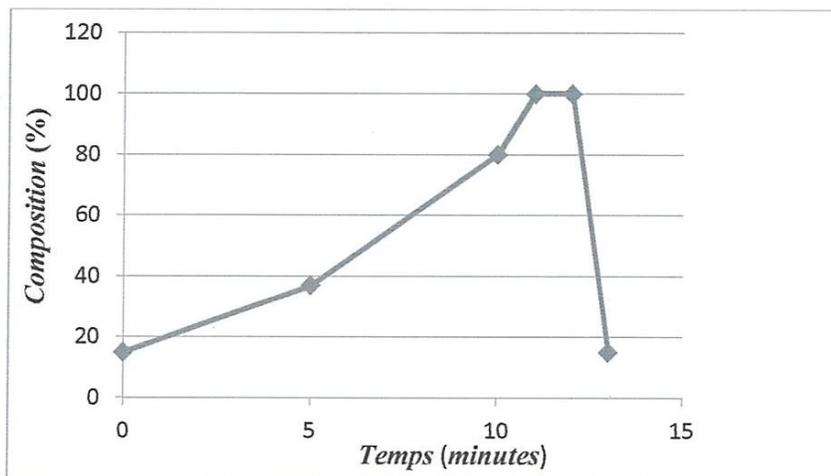


Figure III.6: Gradient HPLC utilisé.

III.6. Validation de la méthode analytique

III.6.1. Courbes d'étalonnage

Les deux molécules ont été dosées par la méthode du standard externe. La gamme de volumes injectés était de 5 à 20 μl . Les courbes d'étalonnage ont été tracées en représentant les aires des pics (Y) par rapport aux volumes injectés (X, μl) pour quatre volumes différents, chaque point étant la valeur moyenne de trois mesures de surface indépendantes.

III.6.2. Détermination des limites de détection pour la caféine et l'acide chlorogénique

La limite de détection (LD) est la plus petite concentration ou teneur de l'analyte pouvant être détectée. Alors que, la limite de quantification (LQ) est la plus petite concentration ou teneur de l'analyte pouvant être quantifiée, bien entendu, dans les conditions expérimentales de la colonne.

La limite de détection (LD) a été calculée en considérant une valeur égale à trois fois l'écart type des trois essais effectués pour tracer la courbe d'étalonnage, divisée par la pente de la courbe.

La limite de quantification (LQ) a été déterminée en tenant compte d'une valeur égale à 10 fois l'écart type obtenue, divisée par la pente de la courbe.

Les LD et LQ sont déterminés comme suit :

LD = 3. Ecart type/Pente

LQ= 10. Ecart type/Pente

III.6.3. Détermination des taux de récupération

Le pourcentage de récupération permet d'identifier, pour un échantillon donné ou un type de matrice donnée et à un niveau de concentration donné, la présence d'interférence potentielle lors du processus d'analyse.

Le taux de récupération correspond à la différence (en pourcentage) entre la concentration mesurée d'un échantillon enrichi et la concentration mesurée du même échantillon non enrichi, divisée par la concentration de la substance ajoutée [5] et [7].

$$\text{Récupération (\%)} = \frac{C_e - C}{C_a} \times 100 \quad (\text{III.1})$$

Où:

C_e: Concentration mesurée d'un échantillon enrichi.

C : Concentration mesurée d'un échantillon non enrichi.

C_a: Concentration de la substance ajoutée.

III.7. Injection

L'appareil HPLC-UV-DAD analytique est équipé d'un injecteur automatique, les échantillons ont été préparés dans des cupules spéciales et injectés dans la colonne. Le volume d'injection était de 20 µl. L'appareil HPLC a été programmé pour exécuter une série de trois analyses consécutives.

III.8. Intégration

Une intégration consiste à mesurer la surface sous un pic. La détection d'un pic chromatographique par l'intégrateur, dépend de deux paramètres:

- La largeur attendue des pics.
- Le seuil d'intégration (sensibilité).

La largeur du pic est à peu près prévisible en fonction de la technique d'analyse et des conditions opératoires. Elle détermine la fréquence d'échantillonnage du signal. Le pic est alors découpé en tranches.

Le seuil d'intégration est la valeur du signal à partir de laquelle le calculateur repère un début de pic. Les surfaces des pics correspondant aux composés auxquels nous nous intéressons sont données par le logiciel dans un fichier contenant les données chromatographiques sous forme de tableaux contenant le numéro du pic, son temps de rétention et sa surface et ça à la fin de chaque analyse.

Chapitre IV

Résultats et discussions

IV.1.Introduction

Dans ce chapitre, nous présentons, les courbes des standards, les chromatogrammes et les résultats de dosages des différents types de café étudiés.

Les constituants de café qui ont été dosés sont :

- La caféine,
- Un acide phénolique (Acide chlorogénique).

La méthode analytique utilisée est : La chromatographie liquide à haute performance couplée à un détecteur à barrette de diode (HPLC-UV-DAD).

IV.2.Résultats

IV.2.1. Données chromatographiques des standards

- Caféine

Tableau IV.1: Données chromatographiques de la caféine.

Volume injecté (µl)	Aires			Moyenne	Écart type
	1	2	3		
5	809,65	811,40	810,15	810,40	0,9
10	1704,75	1703,99	1705,04	1704,59	0,5
15	3181,92	3180,87	3181,37	3181,38	0,5
20	2397,65	2396,79	2395,13	2396,52	1,3

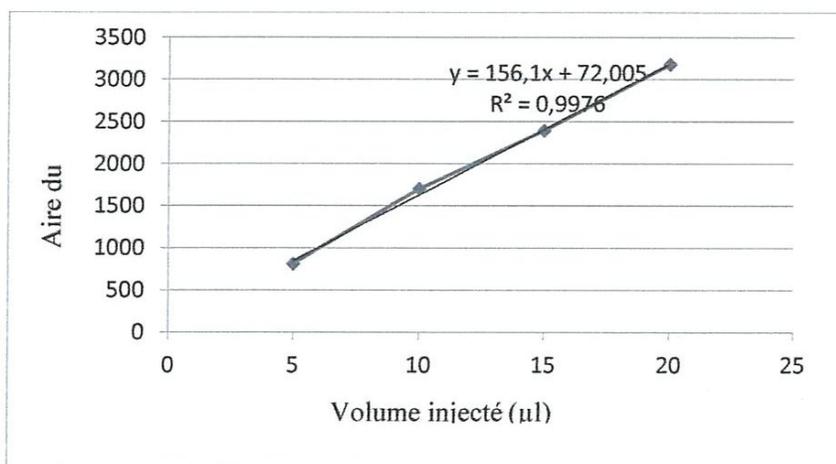


Figure IV.1: Courbe d'étalonnage de la caféine.

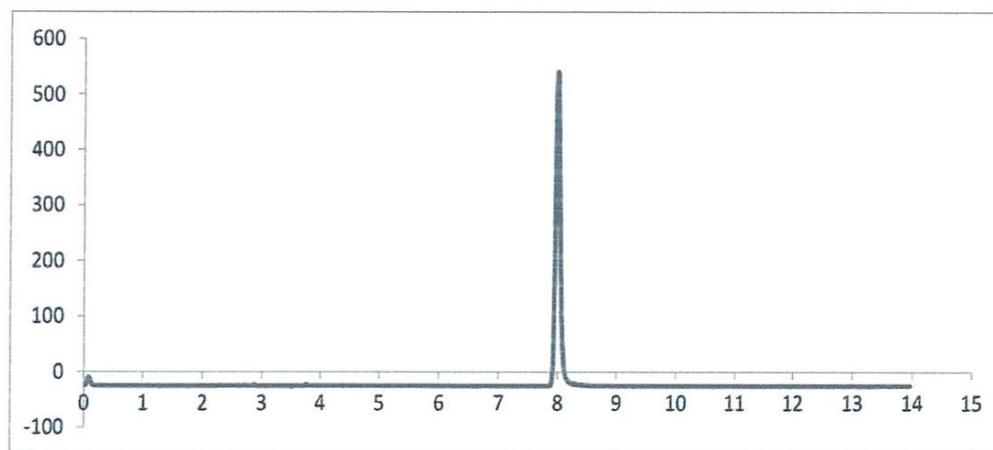


Figure IV.2: Chromatogramme de la caféine ; $T_R=7,9$ min, $\lambda =273$ nm.

- Acide chlorogénique

Tableau IV.2: Données chromatographiques de l'acide chlorogénique (5-ACQ).

Volume injecté (µl)	Aires			Moyenne	Écart type
	1	2	3		
5	366,84	367,40	365,15	366,46	1,17
10	950,84	949,99	951,15	950,66	0,60
15	2119,27	2121,04	2118,97	2119,76	1,11
20	1535,11	1536,19	1535,95	1535,75	0,57

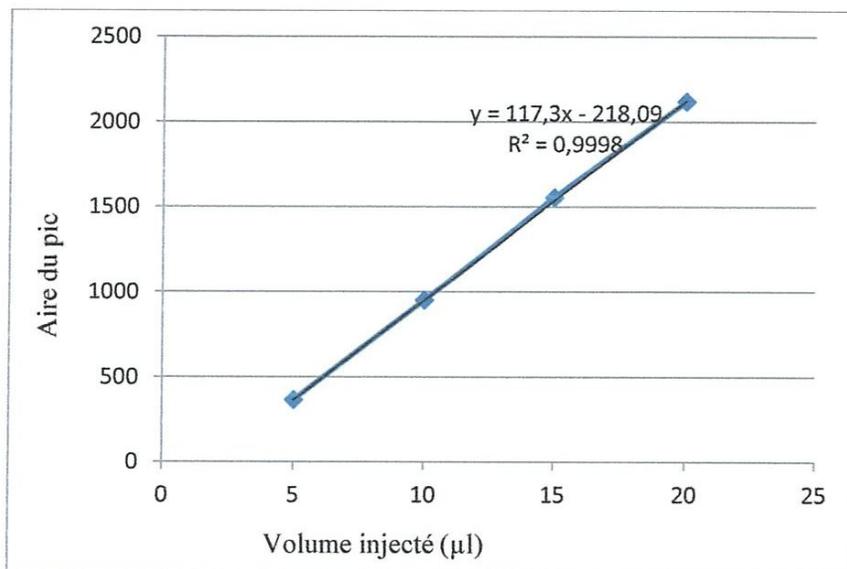


Figure IV.3: Courbe d'étalonnage de l'acide chlorogénique (5-ACQ).

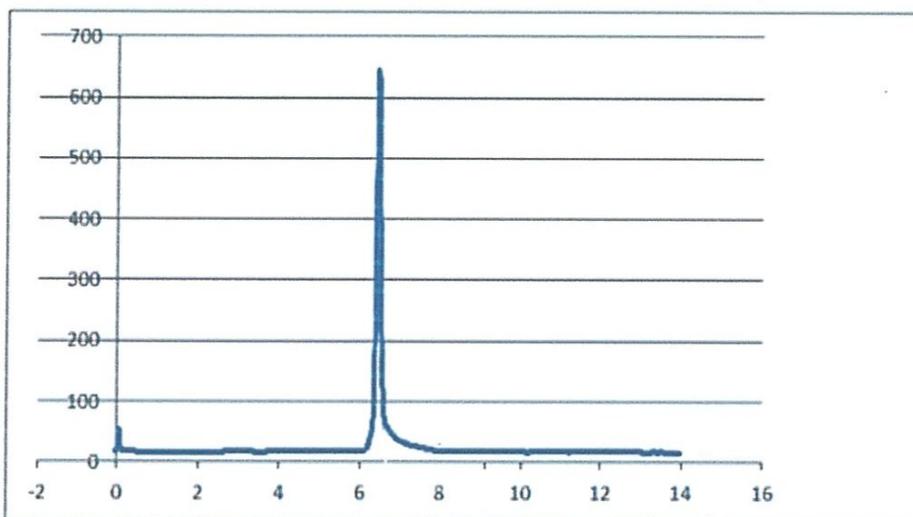


Figure IV.4: Chromatogramme de l'acide chlorogénique ; $T_R=6,5\text{min}$, $\lambda=310\text{ nm}$.

IV.2.2. Quantification des deux principaux composés du café (5-ACQ et caféine) par HPLC-DAD

Les teneurs en caféine et en acide chlorogénique ont été déterminées dans sept échantillons de café emballé et deux cafés non emballés.

Le dosage a été réalisé par chromatographie liquide à haute performance couplée à un détecteur à barrette de photodiodes (HPLC-DAD). La présence de ces composés a été confirmée par comparaison de leurs caractéristiques chromatographiques à celles des molécules standards pures.

Pour l'analyse quantitative des deux principes actifs étudiés, deux courbes étalons ont été obtenues par l'injection de différents volumes de 5-ACQ et de caféine. Les courbes d'étalonnage ont été construites en représentant les aires des pics (Y) en fonction des volumes (X, µl injectés) et cela pour quatre volumes différents. La gamme des volumes injectés était de 5µl à 20µl pour les deux composés. Dans cet intervalle, les deux courbes d'étalonnage sont linéaires avec un coefficient de corrélation $R^2 > 0,99$.

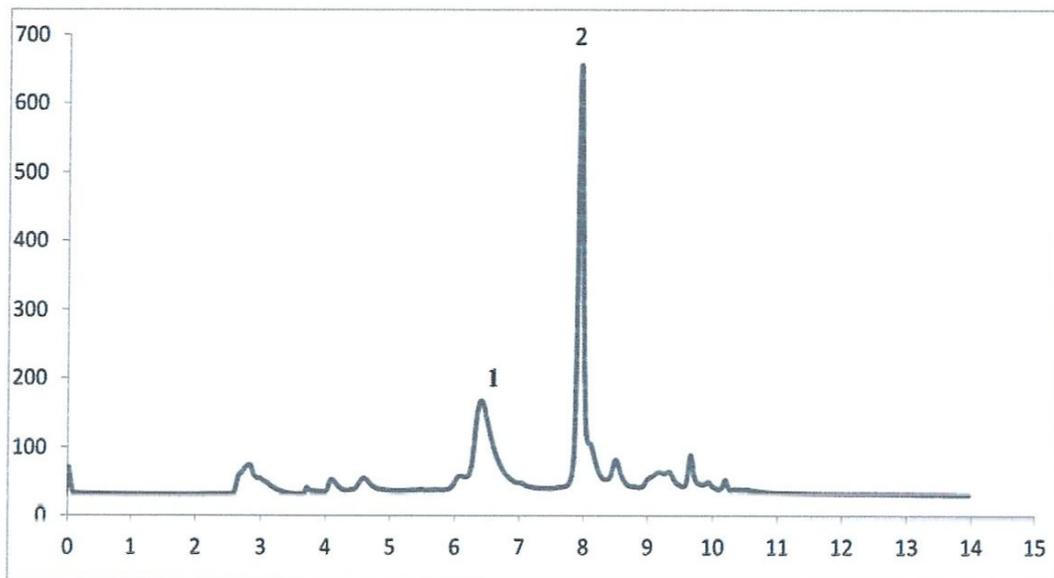
La quantification des taux de récupération de la méthode a été effectuée sur des échantillons préparés à partir du café moulu Robusta (non emballé) par la méthode traditionnelle (cafetière turque) et dopés quatre fois avec 1mg/l des deux standards. La moyenne des taux de récupérations (%) était de $94,50 \pm 0,24\%$ pour l'acide chlorogénique et $77,00 \pm 0,30\%$ pour la caféine.

Les limites de détection (LD) et de quantification (LQ) ont été déterminées pour les deux molécules. Leurs valeurs des LD sont, pour la caféine et l'acide chlorogénique de 6,35 µg/l et de 11,40 µg/l, et les LQ sont de 7,50 µg/l et de 10,22 µg/l, respectivement.

Comme il a déjà été mentionné, la détermination des teneurs en ces deux composés dans les extraits de café préparé par la cafetière turque ou la cafetière électrique de chaque échantillon a été effectuée en triplicata [11].

- **Chromatogrammes des échantillons de café étudiés**

Les figures(IV.5) à (IV.9) montrent le profil des chromatogrammes obtenus par HPLC-DAD des extraits préparés par une cafetière turque et les figures(IV. 10) à (IV.14) montrent ceux préparés par une cafetière électrique de quelques variétés des cafés étudiés.



*Figure IV.5: Chromatogramme HPLC du café moulu Robusta (cafetière turque);
1: 5-ACQ, 2: caféine.*

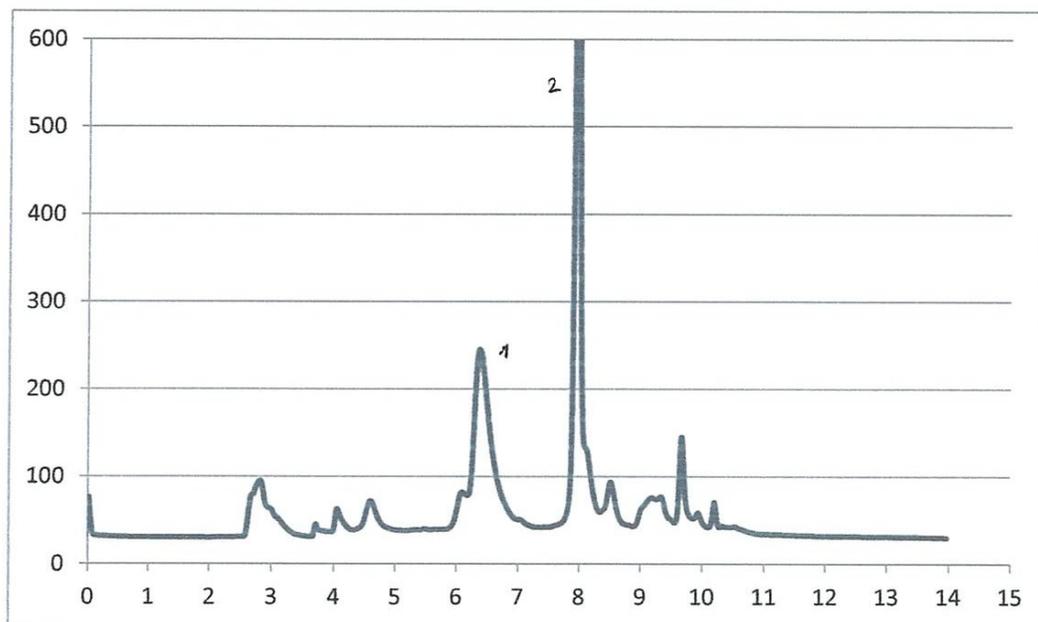


Figure IV.6: Chromatogramme du café non emballé (cafetière turque).

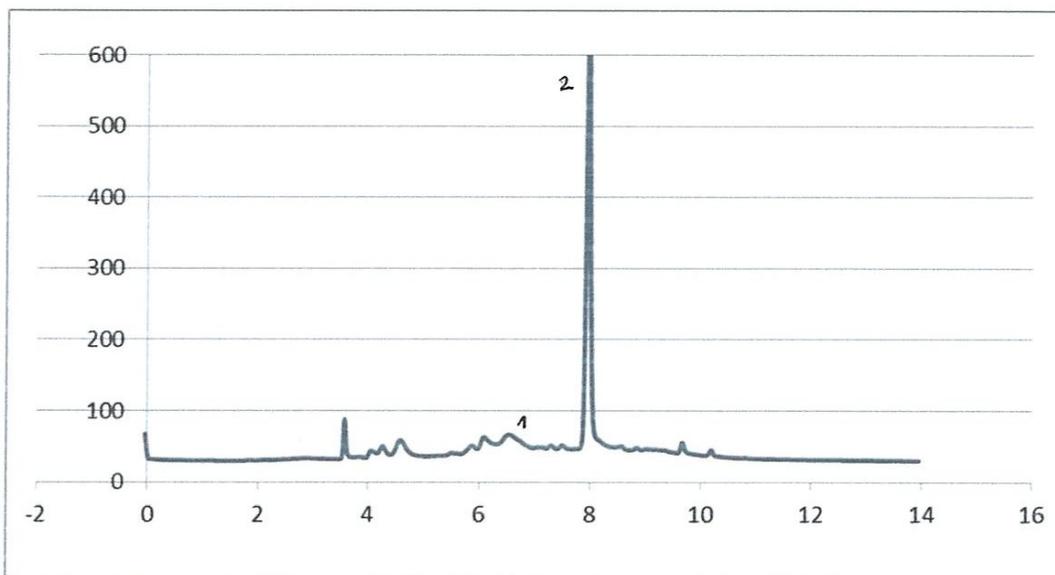


Figure IV.7: Chromatogramme du café empaqueté1, (cafetière turque).

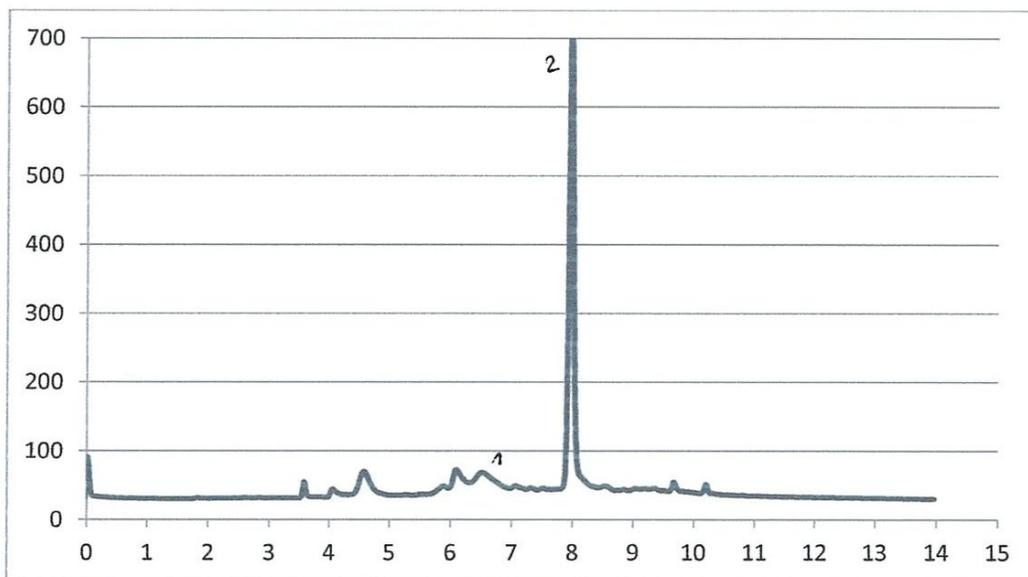


Figure IV.8: Chromatogramme du café empaqueté 3, (cafetière turque).

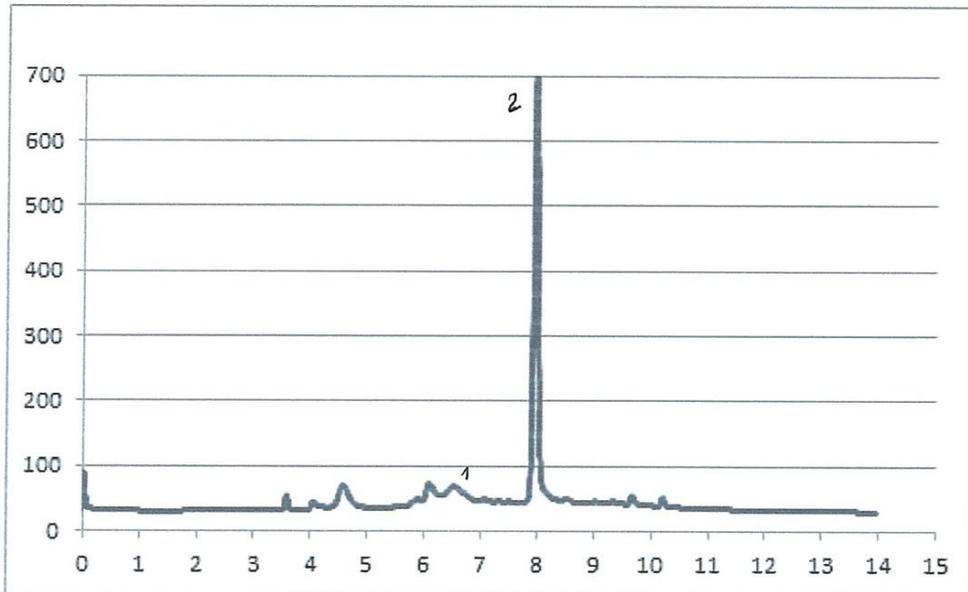


Figure IV.9: Chromatogramme du café empaqueté 5, (cafetière turque).

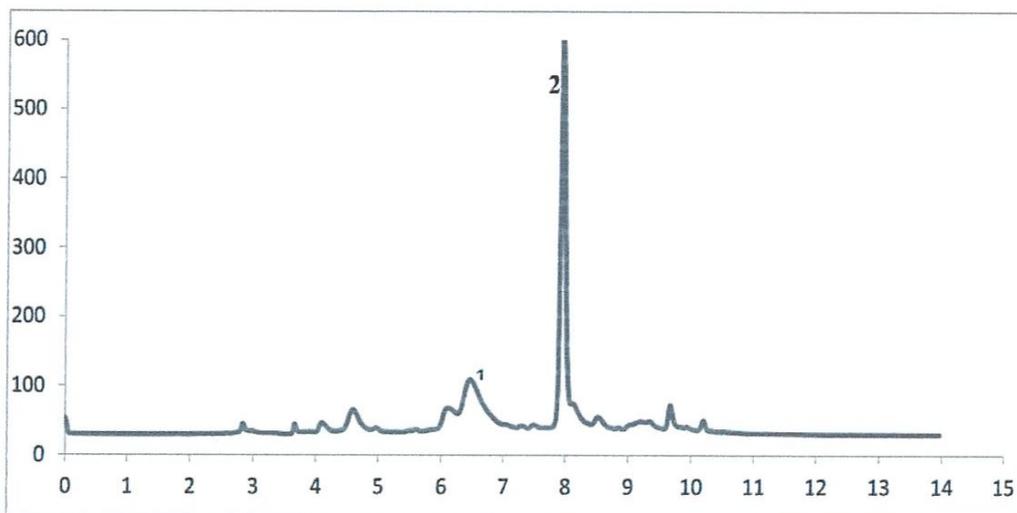


Figure IV.10: Chromatogramme HPLC du café moulu Robusta (cafetière électrique); 1: 5-ACQ, 2: caféine.

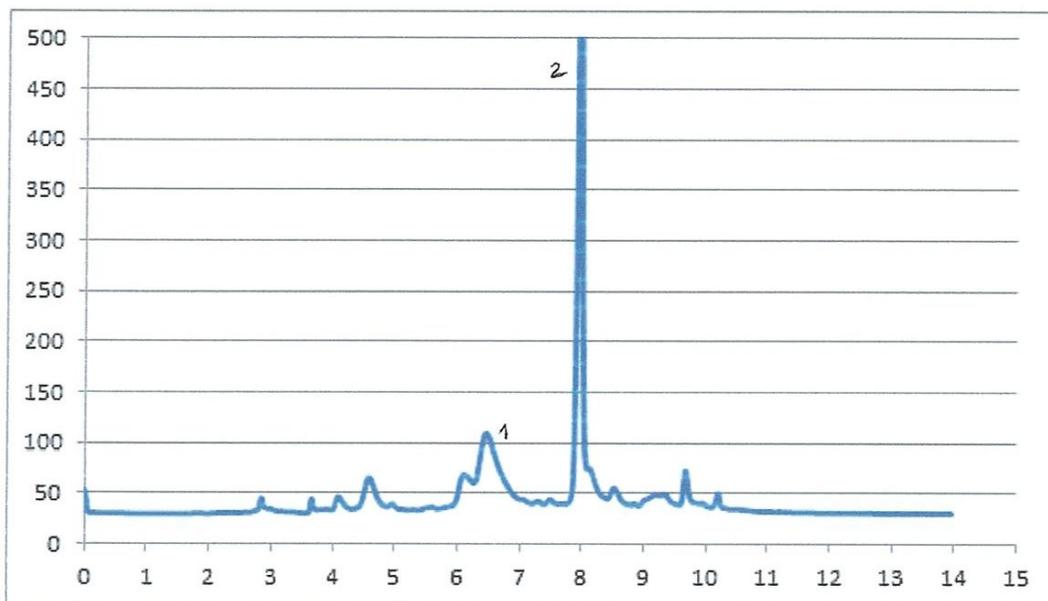


Figure IV.11: Chromatogramme du café non emballé (cafetière électrique).

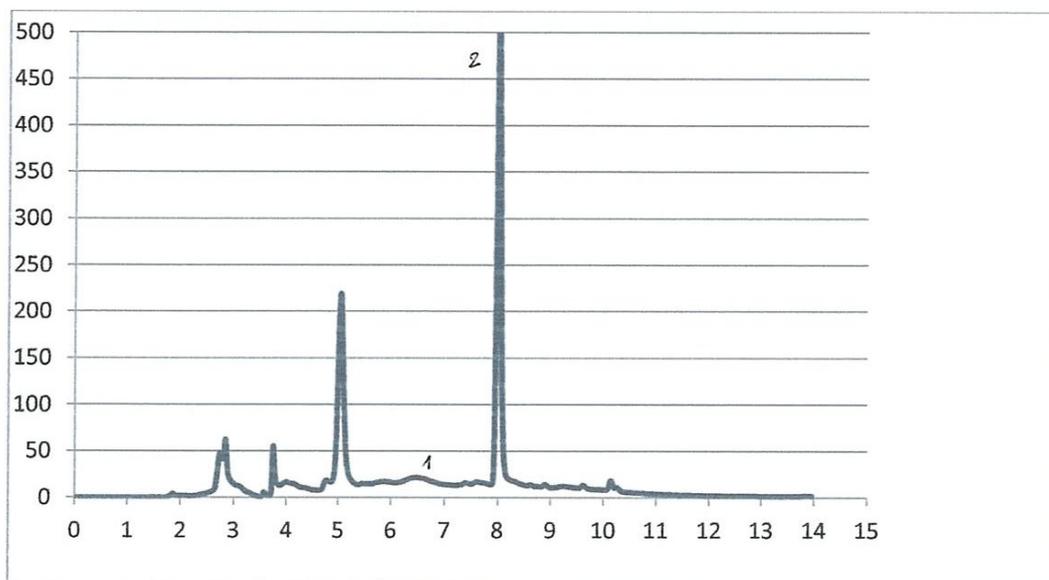


Figure IV.12: Chromatogramme du café emballé 1, (cafetière électrique).

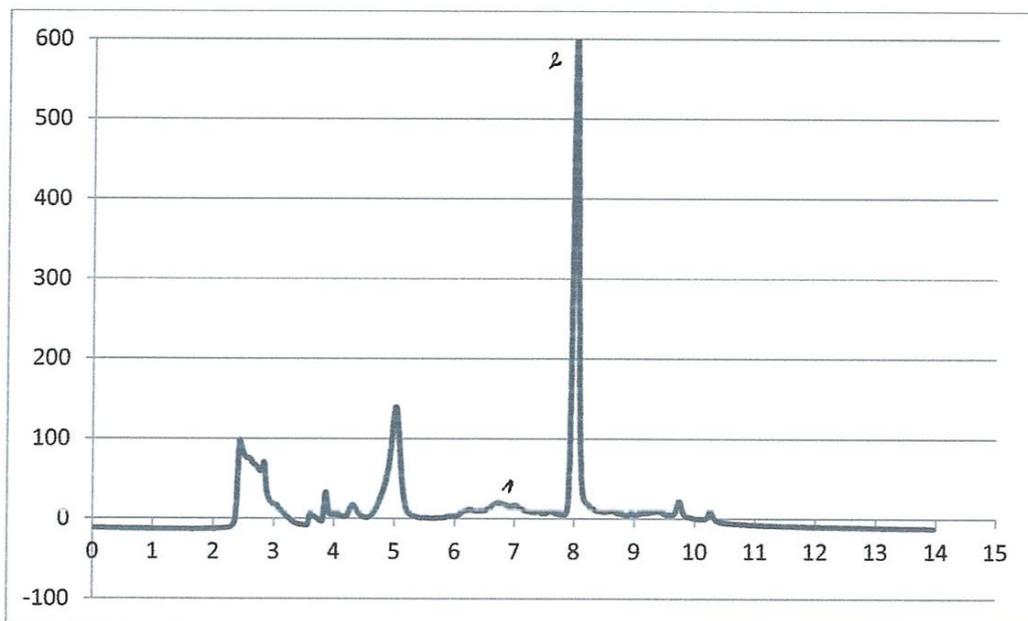


Figure IV.13: Chromatogramme du café emballé 3, (cafetière électrique).

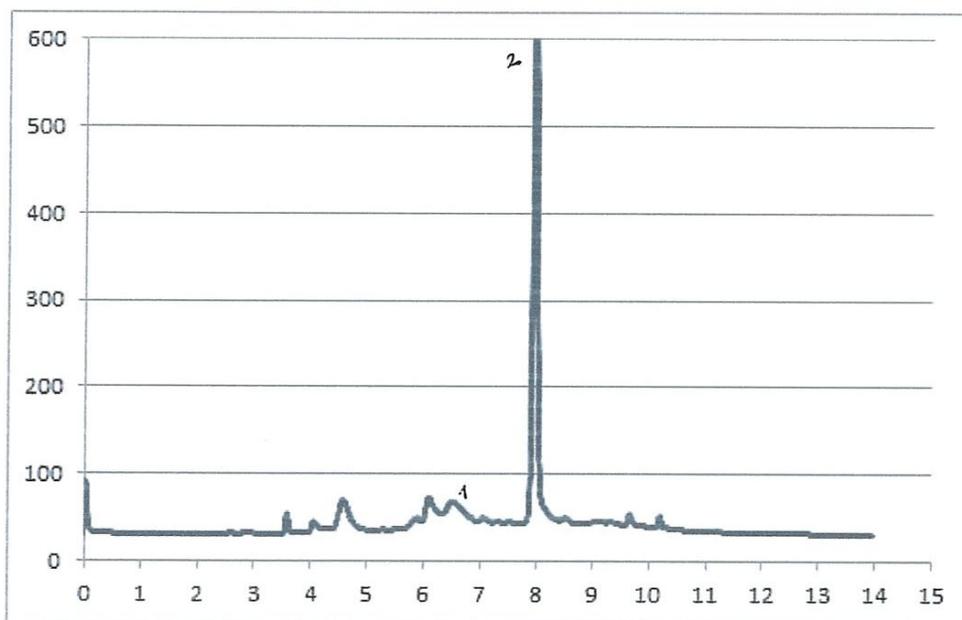


Figure IV.14: Chromatogramme du café emballé 5, (cafetière électrique).

IV.2.3. Concentrations en caféine et en acide chlorogénique (5-ACQ) dans les échantillons de café étudiés

La teneur en ces deux principes actifs dans les échantillons de café étudiés est déterminée en mg/l. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau IV.3: Teneur en mg / 100mg en caféine et en acide chlorogénique (5-ACQ) pour les différents échantillons de café boisson, les valeurs sont présentées sous forme de moyenne \pm RSD.

Echantillon	variété	Teneur mg/l			
		Cafetière turque		Cafetière électrique	
		Caféine	5-ACQ	Caféine	5-ACQ
Moulu (NE)	Arabica	71,00 \pm 0,41	26,55 \pm 0,09	54,60 \pm 0,10	20,68 \pm 1,33
Moulu(NE)	Robusta	94,65 \pm 1,50	24,50 \pm 0,20	89,30 \pm 0,25	16,05 \pm 1,59
Empaqueté1	Robusta	54,90 \pm 0,07	21,97 \pm 0,70	46,44 \pm 0,54	13,98 \pm 1,44
Empaqueté2	Mélange	51,00 \pm 0,20	18,56 \pm 0,24	49,50 \pm 1,33	13,65 \pm 0,40
Empaqueté3	Robusta	66,33 \pm 0,04	22,78 \pm 1,04	52,33 \pm 1,55	12,55 \pm 0,07
Empaqueté4	Robusta	61,50 \pm 1,22	21,60 \pm 0,10	51,97 \pm 0,50	15,66 \pm 1,05
Empaqueté5	Mélange	63,33 \pm 2,03	23,00 \pm 2,36	58,45 \pm 0,10	18,40 \pm 2,37
Empaqueté6	Robusta	57,23 \pm 1,24	22,50 \pm 1,43	49,97 \pm 0,09	14,45 \pm 0,10
Empaqueté7	Robusta	65,57 \pm 3,10	25,66 \pm 0,66	54,45 \pm 0,66	16,56 \pm 0,50

Des différences significatives dans la teneur en caféine ont été trouvées entre les extraits qui ont été préparés par la cafetière turque et ceux qui ont été préparés par la cafetière électrique de la même variété. La figure (IV.15) montre les teneurs en caféine des différents échantillons de café.

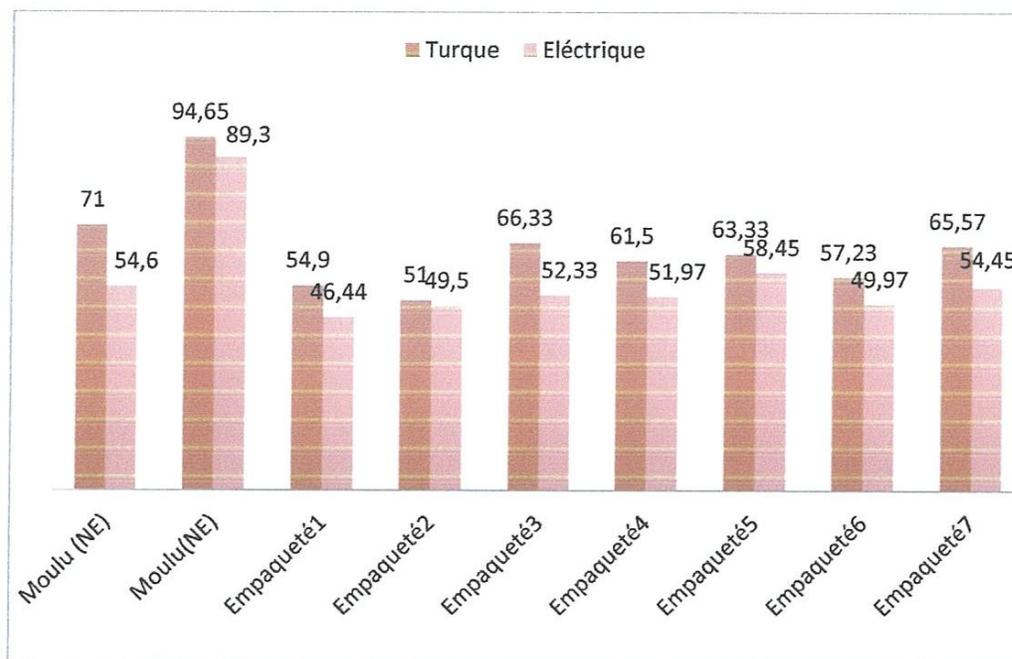


Figure IV.15: Teneurs en caféine en (mg/l) dans le café préparé par la cafetière turque et électrique.

Dans les échantillons de café moulu non empaqueté (NE) préparés par la cafetière turque, la teneur en caféine est de $71,00 \pm 0,41$ mg/l dans l'Arabica, et de $94,65 \pm 1,50$ mg/l dans le Robusta. En revanche, dans les échantillons préparés par la cafetière électrique la teneur en cet alcaloïde est de $54,60 \pm 0,10$ mg/l dans l'Arabica et $89,30 \pm 0,25$ mg/l dans le Robusta. La concentration de la caféine dans le café empaqueté allant de $51,00 \pm 0,20$ à $66,33 \pm 0,04$ mg/l pour les échantillons préparés par la cafetière turque et de $46,44 \pm 0,54$ à $58,45 \pm 0,10$ mg/l dans les échantillons préparés par la cafetière électrique.

Il est intéressant de noter que les concentrations en caféine de toutes les marques de café empaqueté sont proches les unes aux autres, ces valeurs sont inférieures à celles trouvées dans le café non empaqueté. Il apparaît que cette différence est due à la taille des particules. Plus les particules sont fines plus la surface spécifique est grande, par conséquent, l'extraction du café empaqueté ayant une grosse mouture est moins efficace que celle du café non empaqueté possédant une mouture fine. La figure (IV.16) montre les teneurs en acide chlorogénique (5-ACQ) des différents échantillons de café.

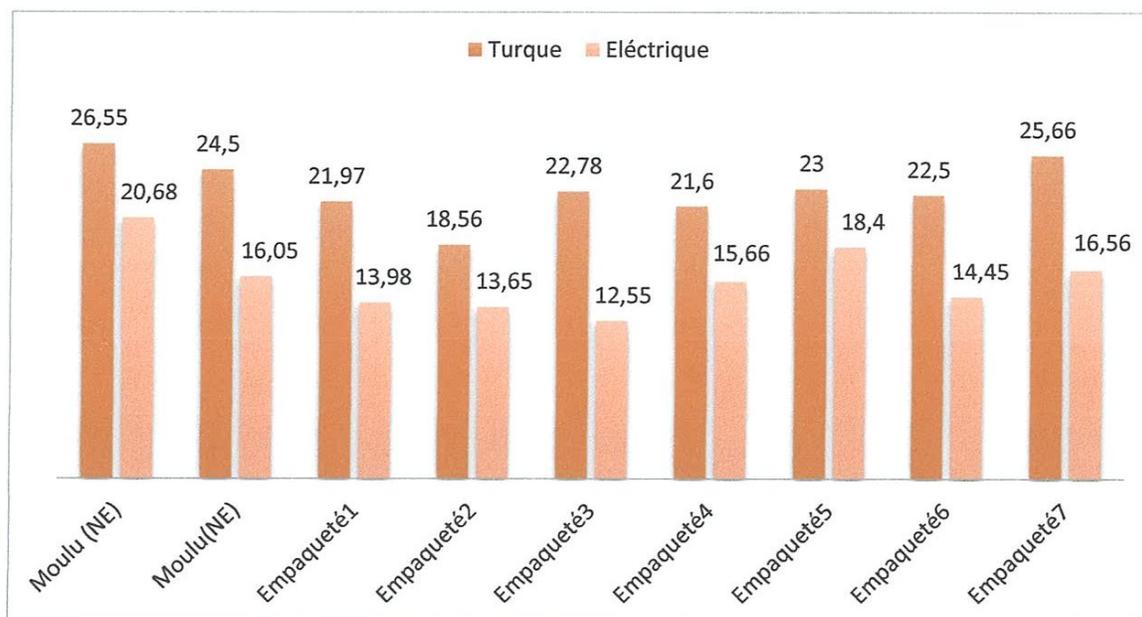


Figure IV.16: Teneurs en acide chlorogénique en (mg/l) dans le café préparé par la cafetière turque et électrique.

En ce qui concerne les échantillons préparés par la cafetière turque ; La teneur en acide chlorogénique dans le café moulu non empaqueté est de $26,55 \pm 0,09$ mg/l dans l'Arabica et de $24,50 \pm 0,20$ mg/l dans le Robusta, alors que dans les échantillons obtenus par la cafetière électrique, la concentration de l'acide chlorogénique dans le café non empaqueté est de $20,68 \pm 1,33$ mg/l dans l'Arabica et de $16,05 \pm 1,59$ mg/l dans le Robusta. En revanche pour le café empaqueté, la teneur en acide chlorogénique varie de $18,56 \pm 0,24$ à $25,66 \pm 2,66$ mg/l dans les échantillons préparés par la cafetière traditionnelle et de $12,55 \pm 0,07$ à $18,40 \pm 2,37$ mg/l dans les extraits de la cafetière électrique. Les teneurs de ces deux principes actifs dans les échantillons de la cafetière turque, ont toujours été supérieures à ceux obtenues par la cafetière électrique. Il apparaît que le mode de préparation a une influence sur l'extraction ; en effet, dans la cafetière électrique, l'eau monte en passant par la poudre qui se trouve dans le filtre, tandis que dans la cafetière turque, en plus à l'agitation modérée, le temps et la surface de contact entre la poudre et l'eau sont supérieurs à ceux de la cafetière électrique.

On outre les teneurs de ces deux composés dans le Robusta sont plus élevées que dans l'Arabica, ce qui réaffirme les résultats de la littérature.

Conclusion générale

CONCLUSION GÉNÉRALE

L'objectif de ce travail était le dosage du café du marché local. Les constituants de café qui ont été dosés sont : La caféine et l'acide chlorogénique.

Le café boisson a été préparé de deux manières différentes; (i) en utilisant la cafetière turque et (ii) électrique. Ainsi, les deux principaux constituants du café ; l'acide chlorogénique et la caféine, ont été identifiées et quantifiées par HPLC-DAD.

La caféine et l'acide chlorogénique sont majoritaires dans le café. La caféine étant un alcaloïde, elle agit comme stimulant du système nerveux central et du système cardiovasculaire. Quant à l'acide chlorogénique, il possède des effets antioxydants.

Les teneurs de ces deux principes actifs dans les échantillons préparés par la cafetière turque, ont été toujours supérieures à celles obtenues par la cafetière électrique. Il apparaît donc clair que le mode de préparation du café boisson a une influence sur l'extraction des métabolites.

La taille de particules du café moulu emballé peut être plus grosse que celle du café non emballé, par conséquent, l'extraction du café emballé est moins efficace que celle du café non emballé.

Enfin, on peut conclure que la consommation de café préparé par la méthode traditionnelle peut être prise comme le meilleur choix par rapport à celle obtenue par la cafetière électrique, toutefois, la consommation doit être d'une façon modérée parce que, les concentrations élevées des éléments organiques dans une boisson peuvent amener à des résultats néfastes.

Références

- [1] K.Fujioka, T.Shibamoto. Chlorogenic acid and caffeine contents in various commercial brewed coffees. *Journal of Food Chem* 2008; 106:217–21.
- [2] k.Belguidoum, Analyse par HPLC-UV et HPLC-DAD-MS, du café de marché algérien pour sa composition nutraceutique et mise en évidence de la présence de l'acrylamide un concérigène et génotoxiquepotentionl dans le café torréfié, Thèse de doctorat l'Université 8 mai 1945 Guelma, 2015.
- [3] C.Cunha , G. Galaya, M. Ranc, Torréfaction artisanale Le goût, l'arôme des Antilles en métropole , 2001.
- [4] J. Costentin, p.Delaveau , Café, thé, chocolat : les bienfaits pour le pour le corps, 2010.
- [5] K. Belguidoum, H A, Guebailia, Y.Boulmokh, Houache O. HPLC coupled to UV–vis detection for quantitative determination of phenolic compounds and caffeine in different brands of coffee in the Algerian market. *J of the Taiw Instit of Chem Eng* 2014; 45: 1314–20.
- [6] De Maria C A B, Trugo L C, Moreira R F A, Petracco M. Simultaneous determination of total chlorogenic acid, trigonelline and caffeine in green coffee samples by high performance gel filtration chromatography. *Food Chem* 1995; 52: 447–9.
- [7] C, Ducauze, G A, Baillet, T X, Buit. Choix et validation d'une méthode d'analyse. Agrosparitech Ed, Paris, Agrosparitech, 30 p.
- [8] P N.G, Haler. Le café: les effets bénéfiques et néfastes sur la santé. Université De Lorraine, 1988. Thèse.
- [9] J K, Houessou. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans le café : mise au point de méthodes analytiques et étude de l'étape de torréfaction. Ecole Doctorale ABIES. Paris, 2007. Thèse.
- [10] C. Mouarsia. Dosage de quelques composés organiques et éléments métalliques dans quatre types de café, université 8 mai 1945, mémoire de master option Génie chimique.
- [11] ChemIDplus, Base de données, consulté le 7 Mai 2016, <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/chemidheavy.jsp>.