

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA de Bejaia



Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés
Laboratoire de Méthodes Physiques d'Analyse

Mémoire EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE Master

Domaine : Science et Technologie Filière : Génie des Procédés

Spécialité : Génie Alimentaire

Présenté par

DJERADA Mustapha

Thème

**Évaluation de la teneur en acrylamide dans le café et les urines
humaines par LC-MS/MS**

Soutenue le 29/06/2025

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade		
KACHEBI A/Malek	MCA	Université de Bejaia	Président
BELKHIRI Wassila	MCB	Université de Bejaia	Examineur
BOUARICHE Zakia	MAA	Université de Bejaia	Encadrant

Année Universitaire : 2024/2025



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à ma grande famille, à mon père et ma mère, ainsi qu'à mes frères et sœurs, dont le soutien et l'amour inconditionnels ont toujours été une source de force et d'inspiration. Une pensée particulière va à la mémoire de mon grand frère Achour, dont la présence demeure vivante dans mon cœur et dont les valeurs continuent à guider mon chemin.

Je dédie également ce travail à ma petite famille, à mon épouse, qui a été mon pilier et mon moteur dans cette aventure, et à mes enfants Achour, Lydia, Samy et Rima, qui sont ma plus belle réussite et ma plus grande fierté. Votre patience, votre amour et votre encouragement ont rendu ce parcours possible, et c'est à vous que revient cette réalisation autant qu'à moi.



REMERCIEMENTS

C'est avec un réel plaisir et un grand enthousiasme que je me livre à la rédaction de cette page. Bien plus que le point final du manuscrit scientifique, cet exercice de style constitue, en effet, l'opportunité de m'accorder une réflexion sur une période relatant trois années de vie très riches en événements.

*Tout d'abord, je tiens à remercier très chaleureusement Madame **Zakia BOUARICHE** pour son implication exceptionnelle dans ce travail. Sa disponibilité, son esprit volontaire, sa pugnacité à toute épreuve, agrémenté quotidiennement de discussions constructives ont été le moteur de ce travail.*

Je tiens à exprimer ma gratitude la plus profonde à mon épouse, qui a été bien plus qu'un soutien tout au long de ce parcours. Son encouragement inlassable, sa patience et sa confiance en moi ont été les piliers de cette aventure académique, me poussant à reprendre le chemin de l'université après 25 ans d'absence. Elle a cru en mes capacités même lorsque le doute s'installait, m'a motivé dans les moments difficiles et a été une source inépuisable de force et d'inspiration. Sans elle, ce projet n'aurait jamais vu le jour. À toi, mon amour, je te dédie cette réussite qui est autant la tienne que la mienne."

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à l'équipe du CRAPC Ouargla pour sa disponibilité et son soutien constant tout au long de cette étude. Grâce à votre engagement et à votre esprit collaboratif, j'ai pu réaliser mes analyses dans les meilleures conditions possibles. Je remercie particulièrement Monsieur Belkhalifa Hakím, Directeur du CRAPC, le Docteur Boussebaa Walide et docteur Soltani Atika, dont l'expertise et la générosité ont été déterminantes pour la réussite de ce travail. Leur mise à disposition de matériel de haute précision m'a permis d'obtenir des résultats fiables et de qualité, contribuant ainsi à l'avancement de cette recherche. Votre professionnalisme et votre dévouement sont une source d'inspiration, et je vous suis profondément reconnaissant pour cette précieuse opportunité. "

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toute l'équipe du laboratoire N°10 du département de Génie des Procédés pour son soutien et son engagement tout au long de cette recherche.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à mes collègues de travail à Sonatrach, dont le soutien et la collaboration ont été d'une aide précieuse tout au long de ce projet. Un immense merci également à mes collègues de promotion à l'université, avec qui j'ai partagé cette aventure académique.

*Enfin, Je ne saurais que trop remercier
Ma famille « ma femme mes enfants Achour,
Lydia, Samy et Rima qui sont toujours à mes
côtés, Et plus que jamais, en l'occurrence à
l'heure de la soutenance*

Liste des abréviations

ACR : Acrylamide
ADN : Acide Désoxyribonucléique
ALARA : As Low As Reasonably Achievable, « Aussi Bas Que Raisonnablement »
Ania : Association Nationale des Industries Alimentaires
BMDL10 : Benchmark Dose Lower Confidence Limit
C18 : Silice greffée avec des chaînes alkyles C18
CDS : Chromatography Data System
CI : Ionisation Chimique
CID : Collision Induced Dissociation
CIRAD : Centre Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement
CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer
CL-ESI-SM-SM : Chromatographie Liquide en ElectroSpray Ionisation en tandem
CRAPC : Centre de Recherche Scientifique et technique en Analyses Physico- Chimiques
DSENO : Dose Sans Effet Nocif Observé
EFSA : European Food Safety Authority
EI : Ionisation électronique
ESI : ElectroSpray Ionization
FAB : Ionisation à Bombardement par Atomes rapides
FAO : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture
GCB : Graphitized Carbon Black
HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
HPLC : High-Performance Liquid Chromatography
JECFA : Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
LOD : Limite de Détection
LOQ : Limite de Quantification
MALDI : Matrix Assisted Laser Desorption Ionization
ME : Marge d'exposition
MRM : Multiple Réaction Monitoring
OGM : Organisme Génétiquement Modifié
OMS : Organisation mondiale de la santé
PPB : une partie de soluté pour un milliard de parties de solvant
PSA : **Primary Secondary Amine**
Q1, Q2 et Q3 : Les trois quadripôles
QuEChERS Kit : QUick, Easy, CHear, Effective, Rugged, and Safe
RIM : Réactant Ion Monitoring
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
RSD% : Relative Standard Déviation - Coefficient de Variation
SID : Surface Induced Dissociation
SM ou MS : Spectrométrie de masse
TSCD : Tri Sodium Citrate Déshydratés
UV : Ultraviolet
Vis : Visible

Liste des figures

Figure I. 1 Cerise de café.....	3
Figure I. 2: Les grains de café Arabica	4
Figure I. 3: Les formes des grains de café Arabica et Robusta	Erreur ! Signet non défini.
Figure I. 4:La structure du fruit de la graine du caféier	6
Figure I. 5:Structure chimique de la caféine	8
Figure I. 6: Les différentes couleurs du café torréfié	11
Figure I. 7:Illustration de différents types de cafetière	16
Figure I. 8: Les biens faits du café	18
Figure I. 9: les problèmes de la consommation abusive du café	19
Figure I. 10: Formule chimique de l'ACR	21
Figure I. 11: Composition chimique de l'ACR	22
Figure I. 12: Poudre de l'acrylamide.....	23
Figure I. 13: Pictogramme utilisé pour le produit chimique l'ACR.....	24
Figure I. 14: Réactions chimiques de la formation de la molécule d'Acrylamide	28
Figure I. 15: Louis-Camille Maillard (Médecin et chimiste français)	28
Figure II. 1: Etuve de laboratoire de marque SLECTA DIGITRONIC-TFT.....	38
Figure II. 2: Balance analytique de marque OHAUS Pioneer	39
Figure II. 3: : pH mètre HANNA	39
Figure II. 4: Centrifugeuse SIGMA 6-16S.....	40
Figure II. 5: Composants d'un appareil de chromatographie liquide.....	41
Figure II. 6: Composants d'un appareil de spectromètre de masse.....	43
Figure II. 7: Chromatographie liquide couplé avec un spectromètre de masse	43
Figure II. 8: Principe l'ESI : ElectroSpray Ionization.....	46
Figure II. 9: Détecteur ion trappe	47
Figure II. 10: Schéma de la structure et du fonctionnement d'un spectromètre de masse.....	48
Figure II. 11: Protocole de préparation des échantillons.....	48
Figure II. 12: Echantillons de café vert torréfiés à 20 et 40 min.	49
Figure II. 13: Photo d'un broyeur POLYMIX PX-MFC90 D.....	49
Figure II. 14: Echantillons de café vert torréfiés et moulus à 20 et 40 min.	50
Figure II. 15: Echantillons de café compactés vendu dans le marché algérien.....	51
Figure II. 16: Centrifugation et filtration des échantillons.....	52

Figure II. 17: Protocole d'extraction de l'acrylamide	56
Figure II. 18: Q-sep QuEChERS purification Kit et l'agitateur vortex	57
Figure II. 19: Extrait de l'acrylamide purifié et la solution de café	57
Figure II. 20: Remplissage des Vial avec seringue à filtre de 0.22 µm	58
Figure III. 1: Perte de masse du café torréfié en fonction du temps et température -----	66
Figure III. 2: Chromatogramme HPLC-UV de l'étalon Acrylamide-----	69
Figure III. 3: Chromatogramme HPLC-UV du café-----	70
Figure III. 4: Chromatogramme HPLC-UV de l'urine-----	70
Figure III. 5: Spectromètre de masse de l'acrylamide à un potentiel de -50V -----	72
Figure III. 6: Courbe d'étalonnage de l'Acrylamide par LC-MS/MS-----	73
Figure III. 7: : Spectromètre de l'Acrylamide par LC-MS/MS -----	74
Figure III. 8: Teneurs en acrylamide des différents échantillons de café-----	77
Figure III. 9: Teneurs en acrylamide des différents échantillons de café (Mélange Arabica + Robusta sans sucre ajouté)-----	78
Figure III. 10: Evolution de la teneur de l'acrylamide en fonction de la température de torréfaction pendant 20 minutes-----	79
Figure III. 11: Evolution de la teneur de l'acrylamide en fonction de la température de torréfaction pendant 40 minutes-----	81
Figure III. 12: Spectromètre de masse e l'urine après fragmentation-----	83
Figure III. 13: Chromatogramme de l'urine après fragmentation -----	84
Figure III. 14: Evolution de la teneur de l'acrylamide dans les différents échantillons d'urine de différente source -----	86

Liste des Tableaux

Tableau I. 1: La composition chimique des grains de café vert et torréfié (en %)	8
Tableau I. 2: La mouture à choisir en fonction de la méthode de préparation	14
Tableau I. 3: Les aliments riches en acrylamide	29
Tableau I. 4: Les teneurs de référence en acrylamide pour les denrées concernées	32
Tableau I. 5: Produits qui contribuent le plus à l'exposition alimentaire moyenne totale en acrylamide	34
Tableau II. 1: Les caractéristiques de différentes sources d'échantillons d'urine	52
Tableau II. 2: Programme de gradient d'élution de l'HPLC	62
Tableau II.3: Les échantillons préparés au laboratoire	63
Tableau II.4: Echantillons du marché Algérien	63
Tableau II.5: Les échantillons d'urines	63
Tableau III. 1: Variation du poids des grains de café en fonction de la température pendant 20 minutes	66
Tableau III. 2: Variation du poids des grains de café en fonction de la température pendant 40 minutes	66
Tableau III. 3: pH des échantillons Robusta avec 3% de sucre ajouté	67
Tableau III. 4: pH des échantillons mélange Arabica et Robusta sans sucre ajouté	67
Tableau III. 5: Le pH du café torréfié à différentes température et temps	67
Tableau III. 6: Le pH des échantillons d'urine	67
Tableau III. 7: Les caractéristiques de différentes sources d'échantillons d'urine	68
Tableau III. 8: Résultat d'optimisation d'acrylamide en mode MRM	72
Tableau III. 9: Concentrations (ng/ml) de l'acrylamide dans les échantillons étalons	75
Tableau III. 10: Concentration en Acrylamide dans différents échantillons du café de marché algérien (%Robusta avec 3% sucre ajouté)	76
Tableau III. 11: Concentration en Acrylamide dans différents échantillons du café de marché algérien (Mélange Arabica + Robusta sans sucre ajouté)	77
Tableau III. 12: Teneur en Acrylamide dans le café torréfié à différentes températures pendant 20 minutes	79
Tableau III. 13: Teneur en Acrylamide dans le café torréfié à différentes températures pendant 40 minutes	81
Tableau III. 14: Concentration de l'acrylamide dans les différents échantillons d'urines	85

Résumé

L'acrylamide est un composé potentiellement cancérigène qui se forme durant la torréfaction du café, en particulier lorsque les grains contiennent des niveaux élevés d'asparagine et de sucres réducteurs.

Cette étude vise à quantifier l'acrylamide dans des cafés disponibles sur le marché algérien ainsi que dans du café vert Robusta torréfié au laboratoire sous des conditions contrôlées. Une seconde partie évalue l'élimination urinaire de l'acrylamide chez différents profils de population : consommateurs ou non de café, fumeurs, non-fumeurs, hommes, femmes et enfants.

L'analyse repose sur des techniques précises comme la HPLC et la spectrométrie de masse MS/MS, garantissant une détection fiable de l'Acrylamide. Les résultats expérimentaux obtenus révèlent une forte influence des conditions de torréfaction sur la formation de cette substance, avec une nette augmentation de 120 °C à 200 °C, au-delà de cette température la teneur en Acrylamide diminue jusqu'à sa dégradation. Les mesures urinaires mettent en évidence une corrélation entre l'exposition à l'acrylamide et certaines habitudes de vie, comme le tabagisme et la consommation de café.

Ces observations permettent d'envisager des stratégies d'optimisation des procédés de torréfaction et d'identifier les groupes les plus exposés.

Les mots clés : Café- Torréfaction- Robusta- Arabica- Acrylamide- Urine- HPLC- LC-MS/MS.

Abstract

Acrylamide is a potentially carcinogenic compound that forms during coffee roasting, particularly when the beans contain high levels of asparagine and reducing sugars.

This study aims to quantify acrylamide in coffees available on the Algerian market as well as in Robusta green coffee roasted in the laboratory under controlled conditions. A second part evaluates the urinary elimination of acrylamide in different population profiles: coffee consumers and non-consumers, smokers, non-smokers, men, women, and children.

The analysis relies on precise techniques such as HPLC and MS/MS mass spectrometry, ensuring reliable detection. The experimental results reveal a strong influence of roasting conditions on the formation of this substance, with a marked increase from 120 °C to 200 °C ; above this temperature, the Acrylamide content decreases until it is degraded. Urinary measurements demonstrate a correlation between acrylamide exposure and certain lifestyle habits, such as smoking and coffee consumption.

These observations make it possible to consider strategies for optimizing roasting processes and identify the most exposed groups.

Keywords : Coffee-Roasting-Robusta-Arabica-Acrylamide-Urine-HPLC-LC-MS/MS.

SOMMAIRE

I : Introduction.....	1
I.1 : Le Café :	3
I.2 : Histoire et culture du café :	3
I.3 : Les variétés de café.....	4
I.3.1. Arabica.....	4
I.3.2. Robusta	5
I.4 : La structure de la graine du café :	6
I.5. Composition chimique du café vert	6
I.5.1 : les alcaloïdes.....	7
I.5.2 : les acides	7
I.5.3 : les protéines et acides aminés libres.....	7
I.5.4 : Les glucides	7
I.5.5 : Les lipides	7
I.5.6 : Les minéraux.....	7
I.5.7 : Les vitamines.....	8
I.5.8 : Les amines	8
I.6. La torréfaction.....	9
I.6.1 : Le torrèfacto.....	11
I.6.2 : Dégradation thermique de la caféine.....	12
a). Température de décomposition.....	12
b). Influence de la torréfaction du café	12
I.6.3 : L'impact de la torréfaction sur le pH du café :	13
I.6.4 : Composés néoformés	13
I.7 : La mouture	14
I.8 : Les différentes méthodes de préparation du café :	15

I.8.1 : L'infusion	15
I.8.2 : La percolation	15
I.8.3 : La percolation sous haute pression ou un expresso.....	15
I.8.4 : La décoction	16
I.8.5 : L'ébullition.....	16
I.9 : Effets bénéfiques du café sur la santé.....	16
I.9.1 : L'activité antioxydante	17
I.9.2 : L'activité anti cancérigène ou antimutagène	17
I.9.3 : Autres effets bénéfiques possibles	17
I.9.4 : Les effets néfastes du café	18
I.9.5 : Quelques molécules potentiellement néfastes	19
a) -L'ochratoxine A (OTA)	19
b) - Les amines biogènes.....	19
I.10 : L'Acrylamide.....	20
I.10.1 : Propriétés physico-chimiques de l'acrylamide	21
a) - Formule chimique :	21
b- Propriétés chimiques :	22
c)- Propriétés physiques :	23
I.10.2 : Stabilité thermique	24
1. Produits de dégradation primaire	24
2. Composés organiques volatils	24
3. Sous-produits toxiques.....	25
I.10.3. L'effet du pH sur la formation d'acrylamide	25
I.10.4 : Production et utilisations industrielles	25
a) - Production	25
b) - Utilisations industrielles	26
I.10.5 : La réaction de Maillard dans les aliments	26

1.10.6 : Formation de l'acrylamide dans les aliments	27
1.10.7 : Facteurs influençant la production d'acrylamide	29
1.10.8 : Toxico-cinétique Métabolisme.....	30
1.10.9 : Métabolisation	30
I.11 : Normes Algérienne sur les teneurs en acrylamide dans les aliments	30
1.11.1 : La norme européenne	31
1.11.2 : Les teneurs de référence	31
1.11.3 : Doses tolérable d'acrylamide :	32
1.11.4 : Caractérisation des risques.....	33
I.12 : Conclusion	34
II : Matériels et méthodes	38
II.1 : Torréfaction des échantillons de café vert :	38
II.1.1 : Une étuve de laboratoire de marque SLECTA DIGITRONIC-TFT	38
II.1.2 : Une balance analytique de marque OHAUS Pioneer.....	38
II.1.3 : Une verrerie de laboratoire.....	39
II.1.4 : Un pH-mètre de marque HANNA.....	39
II.1.5 : Une centrifugeuse de marque SIGMA 6-16S	39
II.2. Analyse des échantillons	40
II.2.1 : La chromatographie	40
II.2.2 : L'HPLC (chromatographie en phase liquide à haute performance)	41
II.2.3 : HPLC- UV-Vis	41
II.2.4 : La spectrométrie de masse	42
II.2.4.1 : Structure d'un spectromètre de masse.....	42
II.2.4.2 : Principe d'un spectromètre de masse	44
II.2.4.3 : Le système d'introduction de l'échantillon.....	44
II.2.4.4 : La source d'ionisation	45
II.2.4.5 : L'ionisation	45

II.2.4.6 : L'analyseur	46
II.2.4.7 : Le détecteur et système de traitement	47
II.2.4.8 : Le détecteur ions-trappe.....	47
II.2.5 : Schéma d'un spectromètre de masse.....	48
II.3 : Méthodes de préparation des échantillons :.....	48
II.4 : Préparation des échantillons de café du marché Algérien.....	50
II.5 : Préparation des échantillons en solution	51
II.6 : Préparation des échantillons d'urines :	52
II.7 : Détermination du pH des extraits de café et l'urine.....	53
II.8 : Préparation des échantillons pour analyse.....	53
□ Interférences spectrales :	53
□ Effet sur la purification.....	53
□ Influence sur la quantification	54
II.8.1 : Protocole d'Extraction de l'acrylamide dans le café	54
II.8.2 : Les sels QuEChERS.....	55
II.8.3 : Mode opératoire	56
II.8.4 : Protocole de purification des échantillons	56
II.8.5 : Protocole d'Extraction de l'acrylamide dans l'urine.....	58
II.8.6 : Le choix du mode d'analyse	59
a). Éluion Isocratique	59
b). Éluion par Gradient	59
II.9 : LC-MS/MS en tandem	59
II.9.1 : Type de fragmentation	60
II.10: Courbe d'étalonnage	60
II.10.1 : Préparation des solutions étalons	60
II.10.2 : Préparation de la solution mère :	61
II.10.3 : Préparation des solutions filles (étalons)	61

Programme de gradient :	62
II.10.4 : Les conditions ESI d'ionisation par électro-pulvérisation étaient les suivantes	62
II.11 : Présentation des échantillons.....	62
II.12 : Conclusion	64
III. Introduction.....	65
III.1 : Détermination de perte de masse dans le café vert Robusta.....	65
□ Évaporation de l'eau.....	65
□ Dégradation des composés organiques	65
III.2 : Résultats de pH des extraits de café et l'urine	67
III.2.1 : Mesure de pH du café de marché Algérien.....	67
III.3 : Analyse qualitative de l'acrylamide par HPLC-UV	69
III.4 : Analyse quantitative des échantillons de café par LC-MS/MS	71
III.4.1 : Paramètres optimales de l'analyse par spectromètre de masse	71
III.4.2 : Courbe d'étalonnage :	73
III.5 : Analyse des échantillons de café du marché Algérien	76
III.6 : Analyse des échantillons de café à différentes températures et temps de torréfaction:.....	79
III.7 : Dosage de l'acrylamide dans les échantillons d'urine	83
III.8 : conclusion.....	87
IV.1: Conclusion Générale.....	88
IV.2: Perspectives	89
IV.3: Annexes.....	90



INTRODUCTION

I : Introduction

Le café, l'une des boissons les plus prisées au monde, apprécié pour ses qualités sensorielles, fait l'objet d'un intérêt croissant en matière de santé publique (**Aguilar et al., 2018**). En effet, son processus de torréfaction peut entraîner la formation d'acrylamide, un composé considéré potentiellement cancérigène par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC).

Ce composé suscite des inquiétudes, d'autant plus peu de recherches ont été menées sur sa présence et sa quantification dans le café commercialisé et son métabolisme dans les urines humaines (**Cladière and Camel, 2017**). Ce manque de données soulève des questions importantes quant à l'exposition des consommateurs et à ses conséquences sanitaires.

C'est dans ce contexte que cette étude a été menée. Elle vise à mettre en évidence la présence et la quantification de ce contaminant dans le café vert robusta torréfié, évaluer ces teneurs dans les différentes marques de café commercialisées dans le marché Algérien, ainsi que dans les urines humaines de différentes populations. Par ailleurs, Cette étude vise à analyser la formation de ce contaminant dans différents cafés torréfiés à des températures et temps différents, à en quantifier les concentrations sur le café du marché algérien et à quantifier sa concentration dans les urines humaines afin d'évaluer l'exposition de différentes populations à ce contaminant alimentaire. Le dosage de l'Acrylamide a été effectué par une méthode analytique LC-MS/MS robuste, fiable et normalisée selon la norme Européenne EN -16618/2015, au niveau du CRAPC de l'Université de Ouargla.

Le présent mémoire est structuré comme suit :

Le premier chapitre explore les fondements théoriques liés au café, à l'acrylamide et aux réactions de Maillard, tout en exposant les enjeux toxicologiques.

Le deuxième chapitre détaille les matériaux et méthodes utilisés, incluant l'analyse qualitative par HPLC-UV et la quantification par LC-MS/MS selon la norme EN 16618/2015, ainsi qu'une étude des paramètres de torréfaction.

INTRODUCTION

Le troisième chapitre présente les résultats obtenus, mettant en évidence la variabilité des teneurs en acrylamide selon le type de café, les conditions de torréfaction et le profil des consommateurs, avec une discussion approfondie en lien avec la littérature internationale.

Nous clôturons notre étude par une conclusion suivie de quelques perspectives

A large, solid brown L-shaped graphic element. The vertical bar is on the left, and the horizontal bar extends to the right, ending in a diagonal cut. The text 'Chapitre I' is positioned to the right of the vertical bar, partially overlapping the horizontal bar.

Chapitre I

Partie Théorique

I.1 : Le Café :

Les grains de café sont en réalité les graines d'un fruit appelé "cerise de café", et non des grains au sens traditionnel (semences). Ces graines, une fois récoltées, sont fermentées, séchées et torréfiées pour développer leur profil aromatique unique.

I.2 : Histoire et culture du café :

Le caféier est un arbuste aux feuilles persistantes qui serait originaire des hauts plateaux de l'Éthiopie et de l'Afrique tropicale. Une version fait remonter la découverte du café vers 850 et la situe en Abyssinie, l'actuelle Éthiopie. Un berger aurait noté que ses chèvres étaient excitées après avoir mangé les feuilles et les fruits d'un arbuste. Il aurait apporté une branche de l'arbuste à un moine qui prépara une boisson à partir des graines recueillies. Étonnés par l'effet exaltant du liquide, les moines attribuèrent la paternité de cette boisson à une divinité. Une autre légende raconte que le moine, après avoir observé l'agitation des chèvres qui consommaient des baies, aurait eu l'idée de faire bouillir les grains afin d'obtenir une potion qui l'aiderait à demeurer éveillé les nuits de prières. Le mot café provient probablement de l'arabe qahwah, tandis que certains linguistes affirment qu'il provient du mot Kaffa, du nom de la province d'Ethiopie où il fut découvert (**Houessou et al., 2007**)



Figure I. 1 Cerise de café (Da Silveira, 2019)

I.3 : 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.

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. **(Luong-Marquis, 2011)**

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. **(Luong-Marquis, 2011)**

I.3.1. Arabica

C. arabica, qui trouve son origine en Afrique de l'Est (principalement en Éthiopie), a été introduit en Amérique latine en 1720, sur la base d'un très petit nombre de plants, ce qui a entraîné un effet fondateur substantiel. Elle comporte les variétés à croissance verticale (maximum 10m), comme l'*arabica* bourbon, typica, mondo novo, etc. et à croissance horizontale (maximum 3m) dont *arabica* caturra, catusi, cotimol, etc. Le café *arabica* pousse à des altitudes situées entre 600 et 2000m parce qu'elle est délicate et difficile à cultiver. On dit que cette espèce est autogame, son grain est gros, allongé et plat. **(Aguilar et al., 2018)**



Figure I. 2: Les grains de café Arabica

I.3.2. Robusta

Est une variété de l'espèce *Coffea canephora* qui contient plusieurs autres variétés dont seulement cinq sont comestibles. Cette plante est caractérisée par la croissance rapide et par un bon rendement. Elle résiste à la chaleur et aux parasites plus que l'arabica. Cette variété se cultive à des altitudes d'environ 700m dans les régions tropicales d'Asie et d'Afrique. Le tableau I montre les principales différences entre le café arabica et le café robusta. (Aguilar et al., 2018)

On peut distinguer visuellement entre les deux variétés Arabica et robusta à partir de leurs formes.

Arabica :

- + Forme générale : plus ovale ou allongée.
- + Aspect : le grain est généralement plus plat avec une forme plus douce, légèrement courbée.
- + Marque centrale : la ligne centrale (lip) est en forme de "S" ou de courbe douce.
- + Taille : plus grand et plus plat en comparaison.
- + Surface : la surface est souvent lisse.

Robusta

- + Forme générale : plus ronde ou arrondie.
- + Aspect : le grain est plus compact, plus rond et plus dur.
- + Marque centrale : la ligne centrale est plus droite ou légèrement incurvée, mais moins douce que celle de l'Arabica, avec une forme moins souple.
- + Taille : plus petit et plus épais.
- + Surface : légèrement plus rugueuse ou irrégulière.



Figure I.3: Les formes des grains de café Arabica et Robusta(de Kaffa and le Chien, n.d.)

1.4 : La structure de la graine du café :



Figure I. 4: La structure du fruit de la graine du caféier (Ibtisam, 2017)

- 1: sillon central
- 2: grain de café (endosperme)
- 3: peau du grain (tégument)
- 4: parchemin (endocarpe)
- 5: couche de pectine
- 6: pulpe (mésocarpe)
- 7: peau du fruit (exocarpe)

Bien qu'il soit techniquement possible de produire des variétés de café génétiquement modifiés, contenant un gène de toxicité aux insectes, mais pour l'instant, la seule expérience de plantation en plein champ organisée par le CIRAD en Guyane française a été détruite par des militants anti OGM. (**"Le café," n.d.**)

I.5. Composition chimique du café vert

La composition du café est très complexe, avec plus d'une centaine de substances chimiques identifiées. Elle est également très variable et tributaire des espèces, des variétés (facteurs génétiques) et des origines géographiques des caféiers. La composition du café est également fonction, dans une moindre mesure, de la méthode de culture pour les caféiers cultivés et probablement des facteurs écologiques pour les espèces spontanées. La composition des grains de café varie aussi selon que ces derniers soient verts ou torréfiés. Les teneurs des constituants chimiques des cafés rapportés par les différents auteurs fluctuent,

également, suivant la précision des différentes méthodes d'extraction et d'analyse adoptées. Les analyses les plus poussées et les plus complètes se rapportent évidemment aux deux espèces de caféiers les plus cultivées, *C. arabica* et *C. canephora*. **(Wang and Lim, 2015)**

Les constituants chimiques présents dans les grains de café vert peuvent être classés dans huit groupes : **(N D Ranarivelo, 2011)**

I.5.1 : les alcaloïdes

Regroupant les xanthines (dont la caféine) et la trigonelline ont des effets thérapeutiques souvent utilisés comme stimulants bronchodilatateurs. Leur présence dans le café est d'une grande importance en raison de leur activité physiologique multiple.

I.5.2 : les acides

Constitués par les acides aliphatiques non volatils tels que l'acide (citrique, malique, oxalique et qu'inique) et volatils comme l'acide acétique ainsi que les acides chlorogéniques ;

I.5.3 : les protéines et acides aminés libres

Tels que les acides glutamique, aspartique et γ -aminobutyrique

I.5.4 : 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).

I.5.5 : Les lipides

Sont présents sous forme de triglycérides (largement majoritaires), les acides gras libres, les esters de diterpènes, les diterpènes libres (cafestol et kahweol), les stéroles, les tocophérols et les phospholipides.

I.5.6 : 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 présent dans la boisson. **(Houessou et al., 2007).**

I.5.7 : Les vitamines

A savoir les vitamines B1 (thiamine), B2 (riboflavine), B3 ou PP (acide nicotinique, amide nicotinique), B5 (acide pantothénique), B12 (cyanocobalamine) et vitamine C (acide ascorbique, acide folique).

I.5.8 : Les amines

Se trouvent sous deux types dans les végétaux :

- ✓ Les polyamines (agmatine, putrecine, spermidine et spermine).
- Les amines biogènes (cadavérine, histamine, 2-phényléthylamine, sérotonine, tyramine et tryptamine). (TRIBOI, 2024).

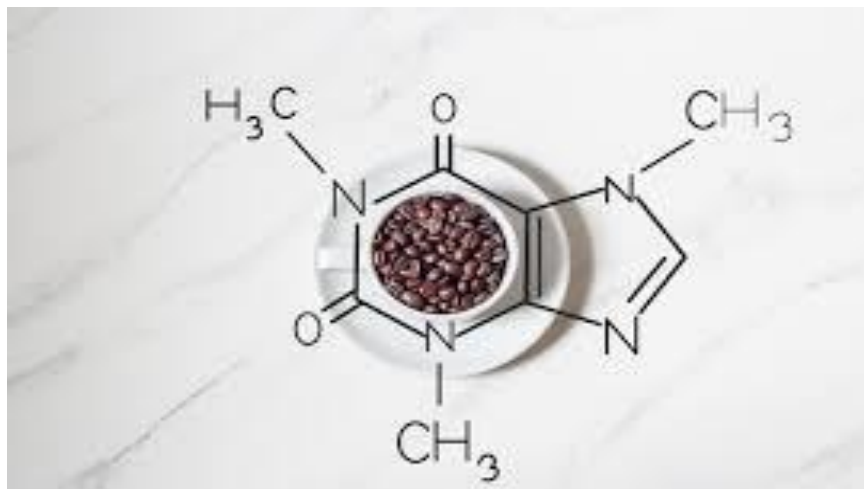


Figure I. 5: Structure chimique de la caféine(de Kaffa and le Chien, n.d.)

Tableau I. 1: La composition chimique des grains de café vert et torréfié (en %)(Houessou et al., 2007)

/	Arabica		Robusta	
	Vert	Torréfié	Vert	Torréfié
Polysaccharides	50 – 55	24 – 39	37 – 47	/
Oligosaccharides	6 – 8	0 – 3.5	5 – 7	0 – 3.5
Lipides	12 – 18	14.5 – 20	9 – 13	11 – 16
Acides aminés	2	0	2	0
Protéines	11 – 13	13 – 15	11 – 13	13 – 15
Acides chlorogéniques	5.5 – 8	1.2 – 2.3	7 – 10	3.9 – 4.6
Caféine	0.9 – 1.2	0.5 – 1	0.6 – 0.8	0.3 – 0.6
Trigonelline	1 – 1.2	0.5 – 1	0.6 – 0.8	0.3 – 0.6
Acides gras	1.5 – 2	1 – 1.5	1.5 – 1.2	1 – 1.5
Minéraux	3 – 4.2	3.5 – 4.5	4 – 4.5	4.6 – 5.6
Mélanoidine	/	16 – 17	/	16 – 17

I.6. La torréfaction

La torréfaction est une opération unitaire. Elle consiste à amener avec rigueur le grain de café vert au juste degré de grillage souhaité, soulignant ainsi les qualités principales du café : arôme, gout, la couleur et cops. Cette transformation du café est menée sous l'effet de la chaleur et des réactions chimiques qui se développent. Plus de 1000 composés d'arômes ont été déterminés dans le café torréfié. Ces réactions chimiques s'accompagnent d'importantes modifications morphologiques (forme, volume, couleur, perte de poids). Les réactions génèrent du CO₂ dont une partie s'échappe et une partie est retenue dans les cellules de grain. (Hernández Pérez et al., 2002)

L'action des températures progressivement élevées sur le café donne lieu aux constatations suivantes: vers 100 °C, la couleur verte des grains commence à virer au jaune; la dessiccation se traduit par un dégagement de vapeur d'eau et une odeur de pain grillé. L'arôme commence à se développer aux environs de 180 °C. A cette température, les gaz de combustion apparaissent sous forme de volutes blanches bleutées, avec dégagement de CO₂ et CO. L'arôme atteint alors son plein développement. Vers 300 °C, ils sont noirs,

charbonneux, friables à une légère pression; l'arôme a totalement disparu. A ce stade excessif de la torréfaction, le café est carbonisé. Les spécialistes situent la « zone de torréfaction » entre 185 et 240 °C, l'optimum étant entre 210 et 230 °C. Au-dessus commence la sur-torréfaction. La durée de la torréfaction est habituellement de 12 à 15 minutes. Notons alors que la température de torréfaction et la conduite de celle-ci ont une influence considérable sur les qualités du café. Pour pouvoir déterminer cette dernière, la chromatographie en phase liquide couplée à un détecteur de masse (MS) se révèle être une méthode adéquate. **(Bastian, 2006)**

On connaît bien les grains de café avec les différentes tonalités de marron que l'on trouve dans nos paquets. C'est grâce à la torréfaction, ce processus qui consiste à cuire les grains de café verts, que l'on obtient le café prêt à être consommé. Et pour cela Il existe bien des étapes de torréfaction pour transformer le grain en délicieux café.

- **Étape 1 :** le choc thermique : Les grains de café verts sont plongés dans le tambour du torréfacteur chauffé entre 150 et 230°C. Ils vont subir un choc thermique, jusqu'à ce qu'ils refroidissent le torréfacteur. La température dans celui-ci tombe alors à 80-90°C.
- **Étape 2 :** La dessiccation : l'inversion du transfert de chaleur et la cuisson du café. L'eau contenue dans les grains de café s'évapore progressivement. Ce sont les transferts d'eau, de chaleur, de masse et les différentes pressions réalisées par ce torréfacteur qui vont permettre de faire évaporer le taux d'humidité qui composent le grain de café.
- **Étape 3 :** La montée en température : l'évaporation et les transferts de flux à travers le grain de café, les huiles présentes dans celui-ci sont libérées. Le grain change totalement de couleur, passant du vert au brun. Il double de volume... tout en perdant du poids (de la masse) : en résulte un grain moins dense qu'au début de l'opération.
- **Étape 4 :** La caramélisation : C'est le moment où le grain de café commence à se brunir, tandis que les sucres se dégradent. On commence alors à obtenir des arômes de caramel, de grillé, de fruits secs, et d'autres arômes propres à la variété de café sélectionnée.
- **Étape 5 :** Le maximum aromatique : Lorsque la torréfaction atteint les 180-200°C, le grain atteint le sommet de son potentiel aromatique. La pellicule qui le recouvre commence à se déchirer laissant ainsi les arômes à se ressentir.

- **Étape 6 :** Le premier « crack » : Vers 205°C, les grains de café explosent. Ils doublent de volume et perdent définitivement leur pellicule. Le lip qui distingue les variétés de café s'élargit. (Ibtisam, 2017)
- **Étape 7 :** Le cœur de cuisson : Il s'agit de l'étape du développement. En quelques minutes, les grains de café se bombent et s'ouvrent. Les huiles remontent vers la surface. A ce moment-là, les vagues d'acidité, les arômes, le corps puis l'amertume se développent. Grâce à son savoir-faire, le torréfacteur sait à quel moment il doit sortir les grains de café du tambour pour arrêter leur cuisson, selon le goût et l'intensité du café que l'on souhaite avoir.
- **Étape 8 :** Le refroidissement : Les grains sont récupérés du tambour et refroidis rapidement pour stopper la cuisson.



Figure I. 6: Les différentes couleurs du café torréfié (de Kaffa and le Chien, n.d.)

I.6.1 : Le torréfacto

C'est le « café » obtenu lorsque du sucre est ajouté aux grains de café pendant le processus de torréfaction. Au cours de ce processus, des températures élevées sont atteintes, de sorte que le sucre caramélise, enveloppant les grains de café, créant une pellicule très sombre et brillante, obtenant ainsi la couleur noire caractéristique du café torréfacto.

Il en résulte une boisson sombre, au goût très amer, avec la fausse croyance qu'il s'agit d'un café plus intense et plus consistant, l'effet du sucre brûlé masquant les véritables arômes et saveurs du café. (López-Galilea et al., 2006)

Ce type de torréfaction était initialement utilisé pour masquer les propriétés sensorielles négatives des cafés Robusta. Aujourd'hui, le café torréfié Torrefacto est généralement mélangé à du café torréfié conventionnel (Arabica ou Robusta) pour être commercialisé. L'ajout de sucre à la fin de la torréfaction Torrefacto pourrait intensifier le développement des réactions de Maillard et, par conséquent, augmenter le pouvoir antioxydant du café. (Ludwig et al., 2013)

De nombreuses études établissent un lien entre la consommation de café torréfié et des problèmes liés à la santé, car la forte concentration de sucre et la « brûlure » ne sont pas bonnes pour notre santé, et ne sont pas seulement déconseillées aux diabétiques (en raison des quantités élevées de sucre dans le processus de torréfaction et du fait que l'on ajoute encore plus de sucre dans la tasse pour masquer la saveur amère et forte). Par conséquent, en raison de ses avantages douteux pour la santé, des recherches sont toujours en cours pour vérifier les éventuelles propriétés cancérigènes. (López-Galilea et al., 2006)

I.6.2 : Dégradation thermique de la caféine

Elle dépend de plusieurs facteurs, notamment la température et la durée d'exposition à la chaleur.

a). Température de décomposition

- La caféine commence à se dégrader à partir de **178-200°C**.
- À des températures supérieures à 250°C, elle subit une décomposition plus rapide, entraînant la formation de sous-produits.

b). Influence de la torréfaction du café

- Lors de la torréfaction, la caféine reste relativement stable jusqu'à 200°C, mais peut commencer à se dégrader si la température est trop élevée.
- Une torréfaction prolongée peut réduire la teneur en caféine, modifiant ainsi l'effet stimulant du café.
- La torréfaction modifie la teneur en **polyphénols** et en **acides chlorogéniques**, qui sont des antioxydants majeurs du café.

- À des températures élevées (**supérieures à 200°C**), ces composés subissent une **oxydation** et une **dégradation thermique**, réduisant leur activité antioxydante.
- Les **mélanoïdines**, formées lors de la réaction de Maillard, peuvent compenser partiellement cette perte en apportant de nouvelles propriétés antioxydantes.
- Les **acides chlorogéniques** sont sensibles à la chaleur et se transforment en **quinones**, qui ont une activité antioxydante réduite.
- La torréfaction prolongée entraîne une diminution de la concentration totale en polyphénols, affectant les bienfaits du café. **(TRIBOI, 2024)**

I.6.3 : L'impact de la torréfaction sur le pH du café :

La torréfaction du café noir influence significativement son pH. Plus la torréfaction est très poussée, plus son pH diminue, devenant plus acide. Ce processus est dû à la dégradation des sucres et à la formation d'acides lors de la torréfaction. Un café moins torréfié aura donc un pH plus élevé qu'un café torréfié plus longtemps. La torréfaction joue un rôle clé dans la saveur, l'arôme, et l'acidité perçue du café, et par conséquent affecte le pH mesurable.

I.6.4 : Composés néoformés

Les composés néoformés sont des molécules qui ne sont initialement présentes ni dans les aliments ni dans l'emballage, et sont générées au cours des processus de transformation ou de préparation industrielle des denrées alimentaires. Elles peuvent apparaître lors de traitements thermiques, lors des procédés de fermentation ou pendant les différentes étapes de conservation. Ces substances nouvellement formées représentent une source de contamination des denrées alimentaires. De multiples réactions chimiques peuvent avoir lieu lors du processus de transformation des aliments, généralement les traitements thermiques à hautes températures provoquent des réactions de Maillard ainsi que des réactions d'oxydation, aboutissant à la formation de nombreuses substances néoformées. Les composés néoformés peuvent s'avérer toxiques, même à faible dose en raison de la répétition des expositions à ces produits, et sont susceptibles de présenter des risques pour la santé humaine. Les principales substances concernées sont les furanes, les HAP, les nitrosamines, le formaldéhyde et l'acrylamide. L'acrylamide est formé dans les aliments riches en glucides et pauvres en protéines (pommes de terre, chips, biscuits, café) lors des processus de friture, de cuisson ou de torréfaction à des températures supérieures à 120°C. C'est un composé neurotoxique pour

l'animal et potentiellement cancérigène pour l'Homme (groupe 2A, CIRC). (N. D. Ranarivelo, 2011)



I.7 : La mouture

La règle de base pour une bonne préparation du café est que plus le temps d'extraction de la méthode choisie est long, plus le café devra être moulu gros. A l'inverse, pour une méthode de préparation rapide, il faut choisir un café à mouture fine. Exception faite pour la décoction.

Tableau I. 2: La mouture à choisir en fonction de la méthode de préparation

Méthode de préparation	Mouture
Café à la turque ou décoction	Extra fine
Espresso	Très fine
Italienne à pression de vapeur	Fine
A filtre	Moyenne
A dépression de type Cona	Moyenne
A piston	Grosse

Les arômes désirés ainsi que la caféine seront extraits en premier lors de la préparation du café, par conséquent si le café est fin mais le temps de contact trop long, il y aura extraction d'autres composants et le café sera amer. A l'inverse, si le café est moulu grossièrement et que le temps de contact avec l'eau est trop court, le café va manquer de goût vu que tous les arômes n'ont pas pu être extraits (Houessou et al., 2007).

I.8 : Les différentes méthodes de préparation du café :

Il existe 6 modes de préparation du café, chacun conférant à la boisson obtenue des propriétés organoleptiques et compositions bien différentes (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 on recueille la boisson de café. On verse un peu d'eau tiède pour gonfler le café puis on ajoute par petites quantités de l'eau à la limite de l'ébullition. Il faut 10 à 12 g de café moulu par une tasse et la préparation dure environ dix minutes. Les filtres utilisés sont en acier inoxydable, en papier spécial, en nylon, ou encore en plastique.

I.8.1 : 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. (Houessou et al., 2007).

I.8.2 : 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.

I.8.3 : La percolation sous haute pression ou un espresso

L'espresso, également appelé café express, est une boisson très concentrée et aromatique, obtenue par percolation rapide d'eau chaude sous haute pression à travers une mouture fine de

café torréfié. Ce procédé s'effectue à l'aide d'une machine dédiée, permettant d'extraire une quantité de 35 à 67 ml par tasse, à partir de 15 g de café et d'une eau chauffée à environ 95 °C, sur une durée de 25 secondes. La courte interaction entre l'eau et la poudre de café favorise la conservation des arômes intenses, tout en limitant leur dilution. (Ibtisam, 2017)

I.8.4 : 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 et ajout de sucre, 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.

I.8.5 : L'ébullition

Dans les pays scandinaves, un mode de préparation très prisé consiste à verser le café moulu directement dans de l'eau en ébullition, avant de maintenir le mélange à ébullition pendant 1 à 2 min. Avant consommation, le café bouilli est généralement filtré. • 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.11** illustre les principaux types de cafetière utilisés pour ces multiples modes de préparation de café boisson. (Houessou et al., 2007)

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



Figure I. 7 : Illustration de différents types de cafetière (Houessou et al., 2007)

I.9 : Effets bénéfiques du café sur la santé

Pour beaucoup, savourer une tasse de café chaud représente le meilleur moyen de commencer la journée ou simplement de prendre un instant de détente. Au-delà de son rôle social et stimulant, le café recèle de nombreux bienfaits pour la santé. Qu'il s'agisse de café

filtre ou de café instantané tel que le NESCAFÉ 100 % pur, une consommation modérée contribue à améliorer la concentration, réduire la fatigue chez les sportifs, et pourrait même offrir une protection contre divers troubles tels que les maux de tête, les AVC ou le diabète. De nombreuses études ont mis en évidence son activité antioxydante, anticancérigène et antimutagène. Aux côtés des fruits, légumes, du cacao et du thé, le café constitue l'une des principales sources d'antioxydants de notre alimentation, jouant un rôle essentiel dans la lutte contre le vieillissement cellulaire en neutralisant les radicaux libres. **(Rondanelli M. et al.) (2015)**

I.9.1 : L'activité antioxydante

Plusieurs constituants du café sont susceptibles de générer certains ions métalliques, comme par exemple le fer ferreux, et donc d'avoir une activité anti-oxydante en limitant la dégradation de l'ADN. C'est le cas des polyphénols (principalement l'acide chlorogénique) et les mélanoidines (polymères bruns formés par la réaction de Maillard au cours de la torréfaction). **(Houessou et al., 2007)**. En fait, bien que la teneur en acide chlorogénique diminue durant la torréfaction des grains de café vert, l'activité antioxydante de la boisson de café obtenue à partir de café torréfié est plus élevée que celle du café vert grâce à la formation de produits de Maillard, en particulier les mélanoidines. **(Luong-Marquis, 2011)**

I.9.2 : L'activité anti cancérigène ou antimutagène

Plusieurs constituants du café semblent être à l'origine d'une activité protectrice du café contre certains types de cancer, en particulier celui de colon. Parmi ceux-ci, citons la caféine, les polyphénols (dont les acides chlorogéniques), ainsi qu'une fraction lipidique essentiellement constituée de cafestol et kahweol. **(Houessou et al., 2007)**

I.9.3 : Autres effets bénéfiques possibles

La consommation de café semblerait limiter l'apparition de diabète de type 2. En outre, au vu de certaines études épidémiologiques, la consommation de café jouerait un rôle protecteur contre l'apparition d'autres maladies, telle la maladie de Parkinson ou des maladies hépatiques. **(Luong-Marquis, 2011)**

En plus de tous ces bénéfices le café consommé d'une manière modérée (50-250 mg, soit une petite à deux grandes tasses de café en une prise) génère des effets positifs : sensation

de bien-être, relaxation, bonne humeur, énergie, vigilance accrue, meilleure capacité de concentration (Leduc-Savard, 2022).



Figure I. 8: Les biens faits du café (recettemaro › posts)

I.9.4 : Les effets néfastes du café

Bien que le café soit largement apprécié pour ses effets stimulants et ses bienfaits potentiels, une consommation excessive peut avoir des répercussions négatives sur la santé.

Un apport trop élevé en caféine peut induire une hyperactivité du système nerveux central, provoquant des symptômes tels que l'anxiété, l'irritabilité ou encore des troubles du sommeil, notamment l'insomnie. Sur le plan digestif, la caféine peut entraîner des brûlures gastriques en raison d'une augmentation de la sécrétion acide dans l'estomac, ainsi qu'une accélération du transit intestinal susceptible de provoquer des inconforts abdominaux. Par ailleurs, chez certaines personnes sensibles, une surconsommation de café peut accentuer des problèmes cardiovasculaires en élevant la tension artérielle, en créant une sensation de nervosité intense ou même en réduisant la coordination motrice, avec dans certains cas l'apparition de crampes musculaires. Ces effets indésirables soulignent l'importance d'une consommation modérée et adaptée aux tolérances individuelles, car la sensibilité au café varie considérablement selon les profils physiologiques, les antécédents médicaux et le mode de vie.

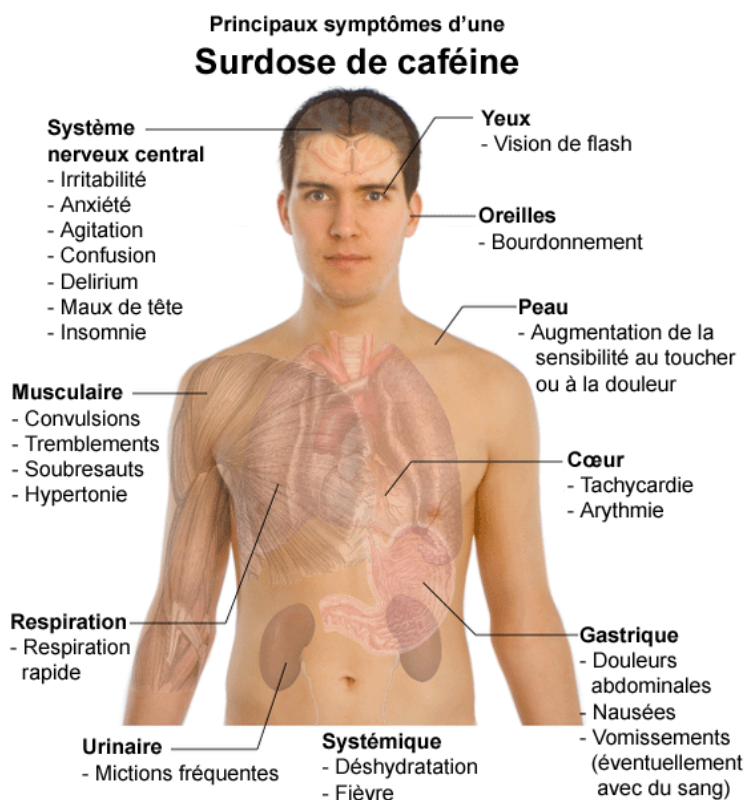


Figure I. 9: les problèmes de la consommation abusive du café

I.9.5 : Quelques molécules potentiellement néfastes

Certaines molécules peuvent se développer au cours du stockage et de la torréfaction, leur concentration varie en fonction de certains paramètres qui sont le lieu de stockage, le degré de torréfaction et la méthode de préparation du café.

a) -L'ochratoxine A (OTA)

L'OTA est une mycotoxine produite par des champignons du genre *Aspergillus* et *Penicillium* dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées. Très puissant toxique, avec des effets mutagènes, carcinogènes, tératogènes et immunosuppresseurs.

La concentration en OTA est directement liée au séchage des cerises. En effet, plus le café est séché lentement (50 à 60 kg de cerises par mètre carré) plus cette toxine est présente. (Haler, 2013)

b) - Les amines biogènes

Les amines biogènes sont produites à partir de certains acides aminés, par perte du groupement -COOH . La présence d'amines biogènes dans le café est un signe de mauvaise

qualité ; en effet elles sont produites par des bactéries à partir d'acides aminés. Dans le café, les amines biogènes les plus abondantes sont la putrescine, la spermidine et la spermine ; d'autres amines retrouvées dans le café sont la tyramine, la cadavérine, la tryptamine et l'histamine. Les effets des différentes amines varient et ne sont pas encore complètement élucidés. La tyramine est responsable d'hypertension ainsi que de céphalées chez des individus sensibles, surtout les migraineux.

Lors de la torréfaction, le taux des amines biogènes décroît. Après 4 minutes de torréfaction à 220°C, le taux initial global avait baissé de 44%, après 8 minutes la concentration n'est plus que de 5-20% de la valeur initiale. Le taux d'amines biogènes dans le café vert varie entre 3,0 et 12,5 mg/100g et n'est plus que de 0,46 voire indétectable après torréfaction.(Haler, 2013).

Le café naturel (torréfaction naturelle) n'étant pas frelaté par des additifs, il conserve toutes ses qualités sensorielles et organoleptiques intactes. C'est pourquoi c'est un café beaucoup plus sain, avec un plus grand nombre d'avantages et de propriétés nutritionnelles.

Il existe une grande variété de saveurs et de sensations dans une bonne tasse de café, mais il faut opter pour un café Arabica de qualité avec une torréfaction 100% naturelle, ce qui signifie que les grains ont été torréfiés uniquement par la chaleur.

I.10 : L'Acrylamide

Dès 1994, l'acrylamide est reconnu comme cancérigène avéré pour l'animal, et possible pour l'Homme (groupe 2A) par le CIRC (Centre international de recherche sur le cancer). Auparavant, l'acrylamide était considéré comme un danger de par sa manipulation dans l'environnement industriel ou via l'exposition à la fumée de cigarette. En 2002, des chercheurs de l'Agence nationale suédoise de l'alimentation (Swedish National Food Administration) ont découvert la présence d'acrylamide dans un certain nombre de denrées alimentaires riches en amidon et en asparagine telles que les céréales, le pain de mie, lorsque leur température de cuisson dépassait les 120°C. Ce constat a généré de multiples recherches, tant au niveau français qu'au niveau international, afin d'évaluer les risques sanitaires pour l'Homme.(Carrara, 2018)

L'ACR ou 2-propénamide (C_3H_5NO) est un composé vinylique transparent, inodore et soluble dans l'eau pouvant facilement s'assembler en polymères (polyacrylamide) et qui est

largement utilisé en génie chimique. L'ACR est une molécule produite lors de la cuisson à haute température des aliments. Il est également connu sous les noms d'amide acrylique, d'amide de vinyle et d'ACR monomère. Il est employé pour le traitement des eaux, la construction de barrages, de tunnels, de routes ou de réservoirs. Il est également utilisé dans l'industrie des papiers, la fabrication de cosmétiques et en chimie analytique (chromatographie, électrophorèse).

L'acrylamide (ACR) ou 2-propénamide est un composé vinylique transparent, soluble dans l'eau, utilisé en génie chimique et dans diverses industries comme le traitement des eaux, la fabrication de cosmétiques et l'analyse chimique. Découvert en 2002 dans des aliments riches en glucides cuits à haute température (frites, café, pâtisseries), il est formé via les réactions de Maillard à partir de l'asparagine. Il présente des risques toxicologiques, étant neurotoxique à haute dose et potentiellement cancérigène selon l'« International Agency for Research on Cancer ». Son niveau de sécurité alimentaire est jugé faible, incitant l'industrie à réduire sa présence dans les produits. Le café représente entre 20 et 36 % des apports alimentaires en acrylamide, avec une concentration influencée par le type de café (*C. canephora* plus riche que *C. arabica*) et le degré de torréfaction. Une torréfaction prolongée et à basse température réduit efficacement l'acrylamide, bien qu'elle puisse altérer le goût et la capacité antioxydante du café..(Haler, 2013)

I.10.1 : Propriétés physico-chimiques de l'acrylamide

a) - Formule chimique :

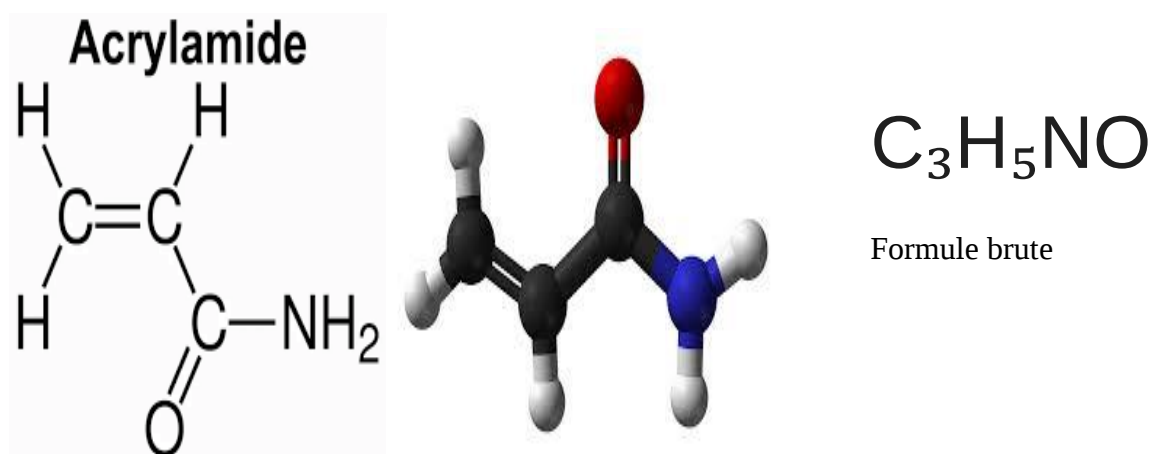


Figure I. 10: Formule chimique de l'ACR

b- Propriétés chimiques :

L'acrylamide possède les propriétés chimiques de la fonction vinyle et de la fonction amide

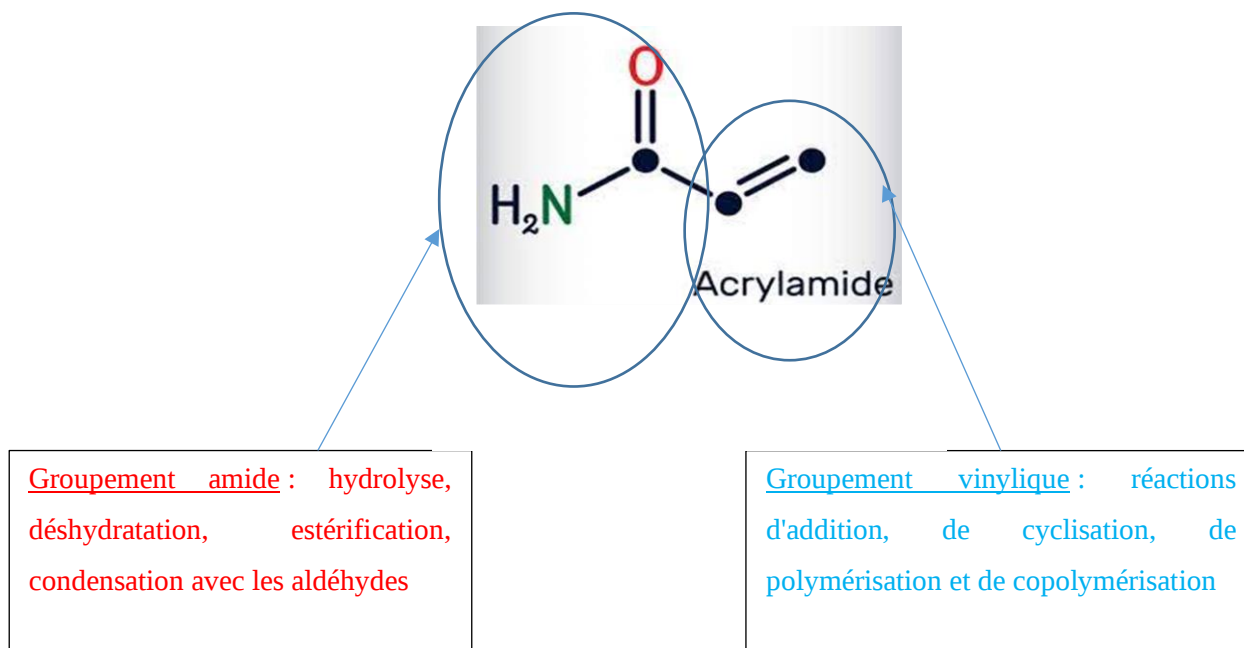


Figure I. 11: Composition chimique de l'ACR

- L'ACR contient une double liaison électrophile réactive et un groupe amide réactif. Il présente de faibles propriétés acides et à la fois basiques
- Elle peut également réagir avec les agents oxydants forts ainsi que les bases fortes. Sa décomposition thermique donne lieu à un dégagement de fumées acides et d'oxydes d'azote. (Tessier, 2019).

L'acrylamide demeure stable en l'absence de lumière et à des températures inférieures ou proches de 80 °C, ne se polymérisant que difficilement dans ces conditions. Toutefois, sa polymérisation peut devenir violente et exothermique lorsqu'il est soumis à certains facteurs déclenchants : températures élevées (supérieures à 80 °C), forte humidité, exposition lumineuse ou présence d'initiateurs tels que les peroxydes. Pour prévenir ce phénomène, les solutions aqueuses contenant de l'acrylamide doivent impérativement être stabilisées par l'ajout simultané d'un inhibiteur de polymérisation (comme le cuivre, la hydroquinone ou le tert-butylpyrocatechol) et d'oxygène.

L'acrylamide peut également réagir dangereusement avec les agents oxydants forts ainsi que les bases fortes. La décomposition thermique de l'acrylamide donne lieu à un dégagement de fumées acides ainsi que d'oxydes d'azote (Cladière and Camel, 2017)

c)- Propriétés physiques :

- L'acrylamide se présente sous la forme de poudre cristalline blanche, inodore, qui se sublime lentement à température ambiante. Il est très soluble dans l'eau (2155 g/l à 30°C) et soluble dans de nombreux solvants organiques (méthanol, acétone, acétate d'éthyle)

- L'acrylamide se caractérise par une masse moléculaire de 71,09g/mol, une densité de 1,125 à 30 de fusion de 84,5°C.(Tessier, 2019)



Figure I. 32: Poudre de l'acrylamide

L'acrylamide possède un point de fusion de 84,5 °C et une densité de 1,122 g/cm³ à 30 °C. En présence de chaleur, d'humidité ou de rayonnements UV, il peut subir une polymérisation exothermique conduisant à la formation de polyacrylamide. Afin de prévenir cette réaction, les solutions commerciales sont stabilisées à l'aide d'agents antioxydants tels que le cuivre (<100 ppm), la hydroquinone ou le tert-butylpyrocatechol. Il convient également de noter que le polyacrylamide peut se dépolymériser en acrylamide sous l'effet de la lumière ou de températures élevées. Le pH n'aurait pas d'influence significative sur cette stabilité. En raison de sa propension à se polymériser, l'acrylamide ne présente pas d'ébullition à pression atmosphérique standard, mais atteint son point d'ébullition à 125 °C sous une pression réduite de 3,33 kPa (25 mm Hg). À l'état solide, il reste stable lorsqu'il est conservé dans un environnement sec à température ambiante.

. Les contenants utilisés pour stocker l'acrylamide pur doivent être étiqueté avec le symbole « Toxique » (figure I.16)(Cladière and Camel, 2017)



Toxique

Figure I. 13: Pictogramme utilisé pour le produit chimique l'ACR

I.10.2 : Stabilité thermique

- L'acrylamide est relativement stable à **température ambiante**, mais il peut se polymériser violemment à des températures **supérieures à 80°C**.
- Lors de la **dégradation thermique de l'acrylamide**, plusieurs composés chimiques peuvent se former en fonction des conditions de température et de la présence d'autres réactifs.

1. Produits de dégradation primaire

- **Ammoniac (NH_3)** : Issu de la rupture du groupe amide.
- **Monoxyde de carbone (CO) et dioxyde de carbone (CO_2)** : Formés par oxydation des chaînes carbonées.
- **Acétamide ($\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}$)** : Produit intermédiaire de la dégradation.

2. Composés organiques volatils

- **Aldéhydes et cétones** : Comme l'acétaldéhyde et l'acétone, résultant de la fragmentation des chaînes carbonées.
- **Nitriles** : Formation de cyanure d'hydrogène (HCN) sous certaines conditions.

- **Imides et amines** : Produits secondaires issus de la décomposition des amides.

3. Sous-produits toxiques

- **Oxydes d'azote (NO_x)** : Formés à haute température et pouvant contribuer à la pollution atmosphérique.
- **Radicaux libres** : Susceptibles d'interagir avec d'autres molécules et de provoquer des réactions secondaires.(Cladière and Camel, 2017)

Ces composés sont particulièrement importants à surveiller dans les procédés industriels et alimentaires, notamment lors de la **torréfaction du café** ou de la cuisson à haute température(Tessier and Niquet, 2007)

I.10.3. L'effet du pH sur la formation d'acrylamide

L'effet du pH sur la formation d'acrylamide dans le café est significatif, influençant la réaction de Maillard, principale responsable de cette formation. Un pH plus élevé, comme dans certains types de café torréfié ou lors de la préparation, peut potentiellement favoriser la formation d'acrylamide. La maîtrise du pH, donc, est cruciale pour minimiser les risques liés à cette substance potentiellement cancérigène. Des études précises montrent qu'un contrôle rigoureux du pH pendant la torréfaction et l'extraction est essentiel pour une consommation de café plus sûre. Un pH contrôlé permet de réduire de manière significative la quantité d'acrylamide formée(Wang and Lim, 2015) .

I.10.4 : Production et utilisations industrielles

a) - Production

Au cours des années 1960, la synthèse de polymères d'acrylamide reposait sur l'hydratation chimique de l'acrylonitrile, utilisant de l'acide sulfurique en présence de catalyseurs à base de cuivre. Ce procédé industriel engendrait une pollution considérable. En 1980, une avancée majeure a été réalisée par la société japonaise Nitto Chemical Industry, avec la découverte de la nitrile hydratase, une enzyme capable de catalyser cette conversion de manière biologique. Cette innovation a immédiatement supplanté la méthode chimique traditionnelle. Depuis, plusieurs générations améliorées de cette enzyme ont permis d'accroître significativement les rendements tout en réduisant la consommation énergétique de près de 80 %. À partir des

années 1990, l'emploi du micro-organisme *Rhodococcus rhodochrous*, capable de produire naturellement la nitrile hydratase, a été mis en évidence comme une solution biotechnologique efficace pour la conversion de l'acrylonitrile en acrylamide. **(Wang and Lim, 2015)**

b) - Utilisations industrielles

L'utilisation de l'acrylamide est largement répandue dans la fabrication des polyacrylamides, polymères de haut poids moléculaire. Les applications industrielles sont nombreuses :

- Agent floculant dans le traitement de l'eau et dans celui des minéraux, pour faciliter la précipitation des solides dans les solutions aqueuses
- Adjuvant de fabrication dans l'industrie du papier
- Préparation des gels d'électrophorèse
- Agent d'étanchéité dans la construction de tunnels et barrages
- Agent de fixation dans l'industrie des peintures et vernis pour améliorer leur tenue
- Imperméabilisant dans l'industrie textile
- Liant dans l'industrie cosmétique
- Modificateur de viscosité dans l'industrie pétrolière
- Fertilisants dans l'agriculture. **(Wang and Lim, 2015)**

I.10.5 : La réaction de Maillard dans les aliments

La réaction de Maillard peut survenir dans tout aliment contenant des sucres réducteurs et des groupes amines libres, que ce soit pendant le stockage ou au cours de diverses étapes de transformation. Ce phénomène est particulièrement accentué lors des cuissons à haute température, car l'apport thermique stimule la cinétique réactionnelle. Bien que de nombreuses recherches aient exploré les mécanismes impliqués, que ce soit dans des systèmes modèles ou au sein de matrices alimentaires complexes, la prédiction des produits générés reste difficile. Cela s'explique par l'enchevêtrement de réactions concomitantes telles que la

caramélisation, l'oxydation des lipides ou même la pyrolyse, qui peuvent intervenir selon la composition initiale de l'aliment. Ces processus peuvent mener à la formation de molécules identiques via des voies distinctes, et interagir entre eux. Ainsi, la nature chimique et la concentration des composés issus de la réaction de Maillard dépendent d'une multitude de paramètres physico-chimiques.

- (i) La composition de l'aliment (nature et teneurs des précurseurs de réaction),
- (ii) Les conditions de temps et température auxquelles l'aliment est soumis,
- (iii) L'activité de l'eau de l'aliment (évoluant en cours de cuisson),
- (iv) Le pH du milieu (pouvant aussi évoluer). **(Monneret, 2016).**

1.10.6 : Formation de l'acrylamide dans les aliments

La formation de l'acrylamide dans les aliments résulte de la réaction de Maillard, découverte en 1912. Cette réaction implique principalement l'asparagine et un sucre réducteur (glucose, fructose, ribose, etc.) lors de la cuisson à haute température (120-180 °C). Le processus passe par la formation d'une base de Schiff, suivie de sa décarboxylation, qui constitue une étape clé. L'acrylamide peut alors être générée par hydrolyse ou par tautomérisme via un produit d'Amadori décarboxylé. L'humidité joue un rôle crucial dans la formation et la dégradation de l'acrylamide : au début de la cuisson, il y a un équilibre entre les deux, mais à mesure que l'humidité diminue, la formation prédomine. Cependant, dans le café, l'acrylamide diminue en fin de torréfaction et se dégrade progressivement après stockage. La quantité d'acrylamide dépend de plusieurs facteurs, notamment le pH, le taux d'humidité, la composition en asparagine et sucres réducteurs, ainsi que les conditions de cuisson.**(Brisson-Gauthier, 2012).**

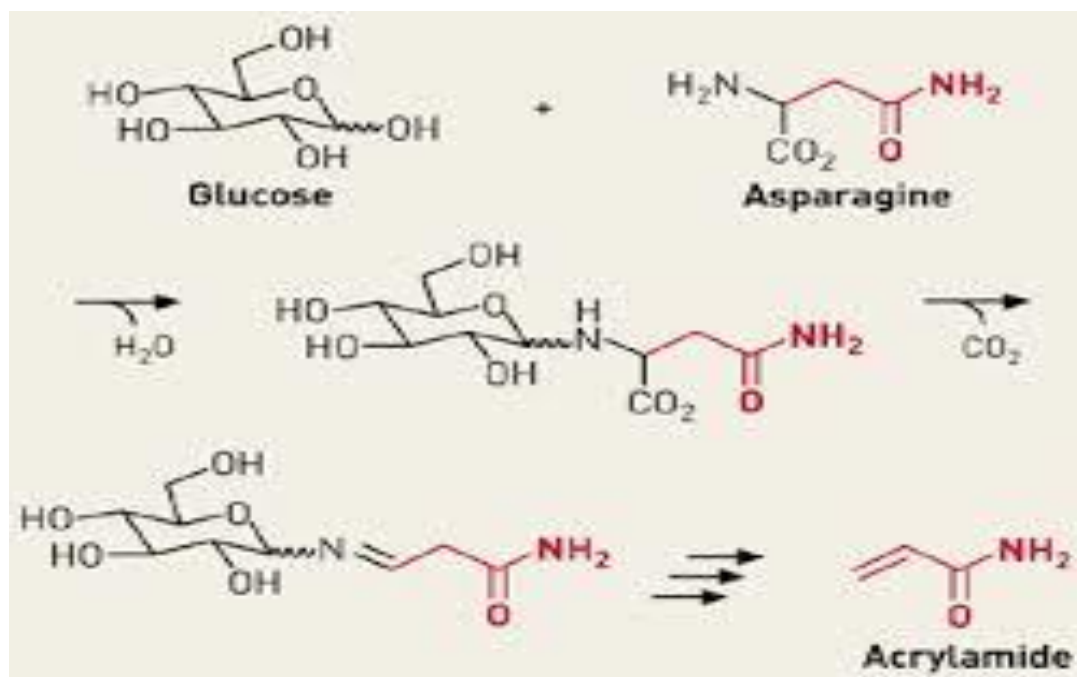
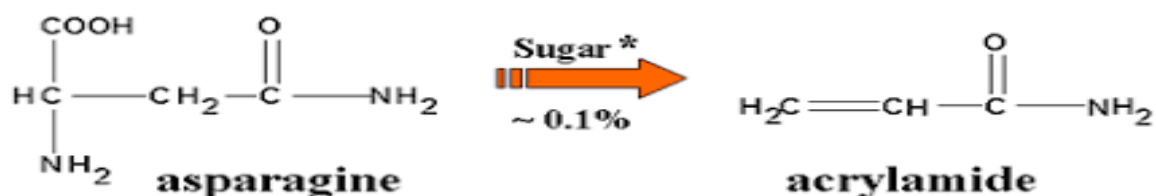


Figure I. 4: Réactions chimiques de la formation de la molécule d'Acrylamide



Figure I. 5: Louis-Camille Maillard (Médecin et chimiste français)

I.10.7 : Facteurs influençant la production d'acrylamide

La formation d'acrylamide lors de la cuisson des aliments est influencée par plusieurs facteurs. La présence d'asparagine et de sucres réducteurs est essentielle, car ces deux composés participent directement à la réaction de Maillard qui mène à la formation d'acrylamide. D'autres acides aminés ont été étudiés, mais avec peu de rendement pour ce processus. La durée et la température de cuisson jouent également un rôle crucial : une augmentation de ces paramètres tend à augmenter la quantité d'acrylamide produite, mais cette relation n'est pas linéaire. Au-delà d'un certain seuil de température ou de temps, la concentration d'acrylamide diminue, probablement en raison de dégradation ou de dégradation thermique excessive. L'ajout d'antioxydants, qu'ils soient naturellement présents ou ajoutés, peut réduire la formation d'acrylamide. Par exemple, des extraits riches en antioxydants utilisés lors de la friture de pommes de terre diminuent la concentration d'acrylamide jusqu'à 60%, en agissant sur la stabilité des composés formés.

En résumé, la production d'acrylamide dépend à la fois des conditions de cuisson (température, durée), de la composition initiale des aliments (présence d'asparagine, sucres), de l'activité de l'eau, et des traitements ou conservations préalables, avec un contrôle fin nécessaire pour limiter l'exposition à ce composé potentiellement nocif (Monneret, 2016).

Et parmi les aliments riches en acrylamide on trouve :

Tableau I. 3: Les aliments riches en acrylamide

QUELS SONT LES ALIMENTS RICHES EN ACRYLAMIDE ?	
Aliments	Concentration en acrylamide (µg/kg)
Aliments à base de pommes de terre	740,33
Aliments frits	328,65
Céréales pour petit-déjeuner	263,27
Café	234,54
Chocolat	233,68
Aliments pour bébés	156,30
Pain	133,12
Biscuits	116,42
Desserts	109,27
Gâteaux	75,65
Aliments à base de céréales	59,48
Fruits à coque	20,38
Source : doi.org/10.1080/87559129.2020.1791175	

I.10.8 : Toxico-cinétique Métabolisme

L'acrylamide, absorbé aussi bien par voie orale que par la peau, se distribue rapidement dans le sang (sous forme libre et surtout d'adduits avec les protéines) puis dans tout l'organisme. Rapidement l'acrylamide est métabolisé et éliminé principalement par la voie urinaire sous forme de métabolites soufrés. Il forme des adduits à l'hémoglobine et à l'ADN. Il passe la barrière placentaire et est excrété dans le lait maternel. Pour une part (6 %) l'acrylamide est oxydé en CO₂, éliminé par voie pulmonaire. Chez le Rat mâle, le temps de demi-vie de l'acrylamide est d'environ 2 heures dans le sang et de 5 heures dans les tissus. La demi-vie d'élimination totale est d'environ 8 jours. (Cladière and Camel, 2017).

I.10.9 : Métabolisation

Chez le Rat, l'acrylamide est principalement métabolisé en présence de glutathion et de glutathion-transférase, avec formation d'un acide prémercaptique : le S-Glutathionyl-propionamide. Ce métabolite primaire est éliminé dans les urines après biodégradation sous forme de N-acétyl-S-(2-carbamoyléthyl) cystéine soit 42 % de la dose des métabolites excrétés ce qui correspond à 20-25 % de la dose initiale d'acrylamide. L'acrylamide peut interférer avec son propre métabolisme mercapturique en inhibant la glutathion-transférase, entraînant une déplétion en glutathion. L'oxydation de l'acrylamide, vraisemblablement en présence de mono oxygénase à Cytochrome P-450 forme du glycidamide, époxyde réactif relativement stable puisqu'il se retrouve éliminé tel quel dans les urines.

Chez l'Homme on retrouve aussi les deux voies métaboliques principales: Conjugaison en présence de glutathion (voie majoritaire) et oxydation cytochrome P-450 dépendante. Néanmoins la vitesse d'élimination de l'acrylamide est cinq fois moins rapide chez l'Homme. Entre 20 et 25 % de la dose initiale d'acrylamide est éliminée chez l'Homme sous forme du métabolite principal N-acétyl-S-(2-carbamoyléthyl) cystéine. (Cladière and Camel, 2017).

I.11 : Normes Algérienne sur les teneurs en acrylamide dans les aliments

En Algérie, la réglementation sur la teneur en acrylamide dans les aliments est basée sur le règlement de l'Union Européenne (UE) 2017/2158, entré en application le 11 avril 2018. Ce règlement définit des mesures d'atténuation et des teneurs de référence pour réduire la présence d'acrylamide dans les denrées alimentaires. L'objectif est de minimiser l'exposition des consommateurs à cet agent cancérigène.

I.11.1 : La norme européenne

La norme européenne décrit une méthode de dosage, par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem en mode ionisation par électro nébulisation (CL-ESI-SM/SM), de l'acrylamide dans les produits de boulangerie tels que le pain, le pain grillé, le pain suédois, les biscuits au beurre et les biscuits épicés, ainsi que dans les produits à base de pomme de terre (frites, chips, galettes) et le café torréfié. Cette méthode a été validée lors d'un essai inter laboratoires portant sur l'analyse d'échantillons naturellement contaminés et d'échantillons dopés, sur une plage de 14,3 à 90,83 µg/kg. Elle a été développée au sein de l'Agence suédoise des aliments et validée lors d'un essai organisé par la Direction générale du Centre commun de recherche de l'Union européenne (DG JRC), l'Agence suédoise des aliments et le Comité nordique sur l'analyse des aliments (NMKL). La dose maximale admissible vis-à-vis des propriétés carcinogènes de l'acrylamide est de 2,6 µg/kg de poids corporel, soit 182 µg/kg pour un adulte de 70 kg. La dose maximale admissible pour éviter des problèmes de neurotoxicité est fixée à 400 µg/kg, soit 2,8 mg pour un adulte de 70 kg. (Schlienger, 2022).

I.11.2 : Les teneurs de référence

- ✚ Les teneurs de référence définies par le règlement ne sont pas des teneurs maximales réglementaires mais des indicateurs de performance utilisés pour vérifier l'efficacité des mesures d'atténuation.
- ✚ Elles sont basées sur les données d'occurrence recueillies lors des programmes de surveillance et correspondent en général au 85^{ème} 90^{ème} percentile des données disponibles. Elles portent sur les grandes catégories de denrées alimentaires.
- ✚ Elles seront réexaminées tous les 3 ans dans le but d'établir des teneurs plus faibles reflétant la réduction continue de la présence d'acrylamide dans les denrées alimentaires.

Elles devraient être fixées à un niveau aussi bas que raisonnablement possible (principe ALARA) avec l'application de toutes les mesures d'atténuation pertinentes. Selon ANIA (Association Nationale des Industries Alimentaires) les teneurs de références pour quelques aliments qui sont riches en acrylamide sont dans le tableau suivant :

Tableau I. 4: Les teneurs de référence en acrylamide pour les denrées concernées

(D'après le règlement UE 2017/2158 du 20 novembre 2017, Journal Officiel de l'Union Européenne)

Denrée alimentaire	Teneurs de référence [µg/kg]
Frites (prêtes à la consommation)	500
Chips obtenues à partir de pommes de terre fraîches et de pâte de pommes de terre	750
Crackers à base de pommes de terre	
Autres produits à base de pommes de terre obtenus à partir de pâte de pommes de terre	
Pain (panification humide)	
a) Pain à base de blé	50
b) Pain (panification humide) autre que le pain à base de blé	100
Céréales pour petit-déjeuner (à l'exception du porridge)	
— produits à base de son et céréales complètes, grains soufflés au pistolet	300
— produits à base de blé et de seigle (*)	300
— produits à base de maïs, d'avoine, d'épeautre, d'orge et de riz (*)	150
Biscuits et gaufrettes	350
Crackers, à l'exception des crackers à base de pommes de terre	400
Pain croustillant	350
Pain d'épice	800
Produits comparables aux autres produits appartenant à cette catégorie	300
Café torréfié	400
Café instantané (soluble)	850
Succédanés de café	
a) Succédanés de café obtenus uniquement à partir de céréales	500
b) Succédanés de café obtenus à partir d'un mélange de céréales et de chicorée	(?)
c) Succédanés de café obtenus uniquement à partir de chicorée	4 000
Denrées alimentaires pour bébés, préparations à base de céréales destinées aux nourrissons et aux enfants en bas âge, à l'exception des biscuits et des biscottes (*)	40
Biscuits et biscottes pour nourrissons et enfants en bas âge (*)	150

I.11.3 : Doses tolérable d'acrylamide :

L'acrylamide et son métabolite glycidamide sont génotoxiques et cancérigènes. Étant donné que tout niveau d'exposition à une substance génotoxique pourrait potentiellement endommager l'ADN et provoquer un cancer, les scientifiques de l'EFSA ont conclu qu'ils ne pouvaient pas définir de dose journalière tolérable (DJT) pour l'acrylamide dans les aliments. En revanche, les experts de l'EFSA ont réalisé une estimation de l'intervalle de dose dans lequel l'acrylamide est susceptible d'entraîner une incidence faible mais mesurable de tumeur (appelé effets néoplasiques) ou d'autres effets négatifs potentiels (sur le système nerveux, le développement pré et post-natal et la reproduction masculine). Le seuil inférieur de cette fourchette est appelé la limite de confiance inférieure de la dose repère.

✚ Pour les tumeurs, les experts ont statué sur une BMDL10 de 0,17 mg/kg pc/jour 1.

✚ Pour les autres effets, les changements neurologiques ont été considérés comme les plus pertinents avec une BMDL10 de 0,43 mg/kg pc/jour. En comparant la BMDL10 les scientifiques peuvent indiquer un « niveau de préoccupation sanitaire » connu sous le nom de « marge d'exposition ». (Benchmark Dose Lower Confidence Limit [BMDL10]).**(Parent-Massin, 2009)** .

La DSENO (dose sans effet observé) à 200 µg/kg est une valeur de référence utilisée dans le cadre de l'évaluation des risques liés à l'exposition à certaines substances, comme l'acrylamide. Cette dose représente la dose à partir de laquelle des effets nocifs peuvent être observés chez des organismes.

Le Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) a utilisé une DSENO de 200 µg/kg de poids corporel par jour pour calculer les marges d'exposition à l'Acrylamide en fonction de changements morphologiques des nerfs chez les rats.**(Hesse et al., n.d.2023)**

I.11.4 : Caractérisation des risques

En février 2010, le Comité mixte FAO/OMS (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture/Organisation mondiale de la santé) d'experts des additifs alimentaires (JECFA) a réexaminé l'exposition alimentaire à l'acrylamide et les données toxicologiques connexes (JECFA, 2010). Le JECFA a calculé les marges d'exposition (ME) en recourant à :

(1) une dose sans effet nocif observé (DSENO) de 200 µg/kg de poids corporel par jour en fonction des changements morphologiques des nerfs chez les rats.

(2) la limite inférieure de l'intervalle de confiance de la dose repère de 310 µg/kg p.c./jour entraînant une hausse de 10 % (BMDL₁₀) de l'incidence des tumeurs de la glande mammaire chez les rats et les souris.

(3) la limite inférieure de l'intervalle de confiance de la dose repère de 180 µg/kg p.c./jour pour un risque supplémentaire de 10 % d'apparition de tumeurs de la glande de Harder chez les souris mâles. **(Hesse et al.2023)**

Les valeurs de la (ME) ont été calculées en comparant les valeurs de la DSENO et de la BMDL10 à l'estimation de l'exposition alimentaire pour l'acrylamide selon l'équation suivante :

$$ME = \frac{DSENO (200 \mu g/kg \text{ p.c./jour}) \text{ ou } BMDL_{10} (310 \text{ et } 180 \mu g/kg \text{ p.c./jour})}{\text{Estimation de l'exposition } (\mu g/kg \text{ p.c./jour})}$$

Tableau I. 5: Produits qui contribuent le plus à l'exposition alimentaire moyenne totale en acrylamide

Produit alimentaire	Contribution à l'exposition alimentaire (%)	Parts cumulées
Pommes de terre frites servies au restaurant	30,0	30,0
Croustilles (de pommes de terre, de maïs)	14,9	44,9
Café prêt à boire	12,3	57,2
Pain grillé	6,4	63,6
Céréales	5,3	68,9
Pain non grillé	4,0	72,9
Biscuits	3,2	76,1
Maïs soufflé	2,6	78,7
Craquelins	2,5	81,2

I.12 : Conclusion

L'acrylamide est un composé chimique qui se forme principalement lors de la cuisson ou de la torréfaction des aliments riches en amidon, comme le café, les pommes de terre ou le pain, à des températures élevées. Concernant son métabolisme, une fois ingéré, l'acrylamide est rapidement absorbé par le système digestif. Dans l'organisme, il est principalement métabolisé par le foie, où il subit une transformation en un métabolite appelé l'acrylamide-3-glycidyl (ou glycidamide). Ce dernier est considéré comme plus toxique et potentiellement cancérigène. Le glycidamide peut se lier à l'ADN, ce qui pourrait entraîner des mutations et augmenter le risque de cancer. Cependant, la majorité de l'acrylamide ingéré est éliminée rapidement par l'organisme, principalement par l'urine, sous forme de ses métabolites. La compréhension de ce métabolisme est essentielle pour évaluer les risques liés à l'exposition à l'acrylamide et pour mettre en place des stratégies visant à réduire sa formation dans les aliments. **(Klein, 2007)**.

L'ajout de sucre lors de la torréfaction du café (café torrefacto) peut influencer la formation d'acrylamide, en interagissant avec les acides aminés présents dans le café, et

augmentant potentiellement la production d'acrylamide. Cependant, l'impact précis dépend de la quantité de sucre, de la température de torréfaction, la teneur en acides aminés et de la durée du processus de torréfaction

Les fabricants et les chercheurs continuent d'étudier ce phénomène afin de réduire la formation d'acrylamide tout en conservant la saveur et la qualité du café. En somme, le café reste une boisson appréciée pour ses bienfaits et ses saveurs, tout en étant consommée de manière responsable.

A large, solid brown L-shaped graphic element. The vertical bar is on the left, and the horizontal bar extends to the right, ending in a diagonal cut. The text 'Chapitre II' is positioned to the right of the vertical bar, partially overlapping the horizontal bar.

Chapitre II

Partie Pratique

II : Matériels et méthodes

Dans cette partie nous présenterons successivement le matériel et réactifs utilisés au cours d'étude physicochimique, les conditions de torréfaction, et les méthodes analytiques mises en œuvre.

II.1 : Torréfaction des échantillons de café vert :

II.1.1 : Une étuve de laboratoire de marque SLECTA DIGITRONIC-TFT

C'est un équipement essentiel utilisé pour la stérilisation, le séchage, et le chauffage de matériaux et d'échantillons. Elle maintient une température constante et contrôlée, cruciale pour diverses expériences scientifiques et analyses. Son utilisation est répandue dans de nombreux domaines, de la biologie à la chimie, en passant par l'industrie pharmaceutique. Les étuves modernes offrent souvent des fonctionnalités avancées, comme des programmations complexes et des systèmes de sécurité améliorés.



Figure II. 1: Etuve de laboratoire de marque SLECTA DIGITRONIC-TFT

II.1.2 : Une balance analytique de marque OHAUS Pioneer

Ces balances sont utilisées dans des laboratoires du monde entier pour des mesures précises de masse, essentielles à la recherche scientifique et au contrôle qualité.



Figure II. 2: Balance analytique de marque OHAUS Pioneer

II.1.3 : Une verrerie de laboratoire

Les béchers, les fioles, les boîtes pétrées les entonnoirs, les ampoules de centrifugation et le papier filtre.

II.1.4 : Un pH-mètre de marque HANNA

Utilisé dans divers domaines, notamment la recherche scientifique, l'agriculture, le traitement de l'eau et l'industrie alimentaire.

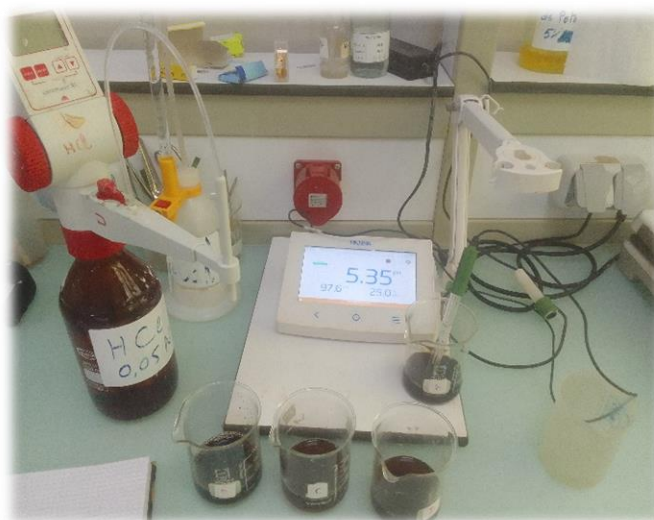


Figure II. 3: : pH mètre HANNA

II.1.5 : Une centrifugeuse de marque SIGMA 6-16S

Equipement de laboratoire utilisé pour la séparation des composants d'un mélange en fonction de leur densité. Elle est probablement utilisée dans divers domaines, comme la biologie, la chimie et la médecine. Les centrifugeuses SIGMA sont réputées pour leur qualité et leur fiabilité. Le modèle 6-16S offre une gamme de rotors et d'accessoires pour s'adapter à différentes applications, allant de la centrifugation standard à des applications plus

spécialisées. La capacité de la centrifugeuse et sa vitesse maximale sont des caractéristiques importantes à considérer lors de son utilisation



Figure II. 4: Centrifugeuse SIGMA 6-16S

II.2. Analyse des échantillons

II.2.1 : La chromatographie

Le principe de la chromatographie est le suivant : deux phases sont mises en contact, une phase dite stationnaire (fixe) et une phase mobile. Dans le cas de notre analyse, la phase stationnaire est fixée sur un support dans une colonne spéciale pour l'analyse de l'acrylamide qui est « LC Allure Acrylamide, 5 μ m, 60 A, 150 x 3,0 mm ». Les phases mobiles sont faites d'un mélange de 2 mmol formiate d'ammonium + 0.002% d'acide formique /eau, et la deuxième de 2 mmol formiate d'ammonium + 0.002% d'acide formique /Acétonitrile

La phase mobile contenant l'échantillon est alors injectée à travers la phase stationnaire qui est contenue dans une colonne de chromatographie. Selon leurs propriétés, les molécules sont plus ou moins retenues et mettent plus longtemps à traverser la colonne. Il s'agit donc d'une technique de séparation. Chaque molécule traverse la colonne avec un temps qui lui est propre, appelé temps de rétention. Dans des conditions standardisées, ce temps est caractéristique de la molécule d'intérêt et contribue à son identification. L'injection des composés étudiés dans le chromatographe nécessite leur extraction préalable de l'échantillon mère.

II.2.2 : L'HPLC (chromatographie en phase liquide à haute performance)

Est une chromatographie en phase liquide qui utilise une colonne de très faible porosité dans laquelle l'échantillon doit être injecté à haute pression. Cette caractéristique la rend plus discriminante et permet d'améliorer la résolution du système. L'HPLC (chromatographie en phase liquide à ultra haute performance) exploite le même principe et est encore plus résolutive. L'appareil de chromatographie se compose d'un système permettant l'injection de l'échantillon, d'une pompe permettant l'entrée de l'analyte en solution dans la colonne, de la colonne elle-même, le tout couplé à un détecteur **(Rouessac and Rouessac, 2004)**, (dans notre cas l'analyse qualitative : UV-vis et quantitative : spectromètre de masse) et un système informatique permettant de visualiser puis ensuite traiter les données.

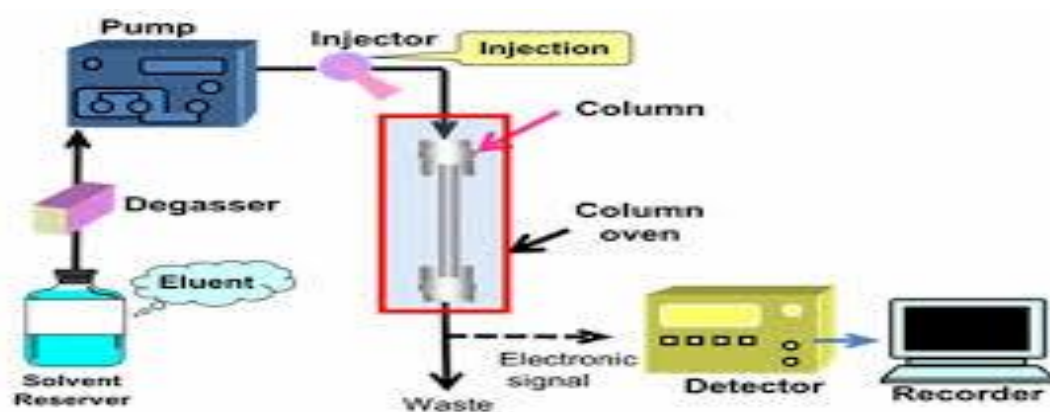


Figure II. 5: Composants d'un appareil de chromatographie liquide (Hanichi and Hamel, 2013)

II.2.3 : HPLC- UV-Vis

Le chromatographe utilisé pour l'analyse qualitative de l'acrylamide dans le café et l'urine est de marque ULTIMATE 3000 de colonne C18 couplé avec un détecteur spectrophotomètre d'absorption UV-visible (190-600 nm) relié à la sortie de colonne ainsi qu'un logiciel chromeleon 7 CDS « Chromatography Data System » pour le traitement de signaux.

II.2.4 : La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est une méthode analytique extrêmement sensible et polyvalente, permettant l'identification et la caractérisation de substances organiques sous forme solide, liquide ou gazeuse. Elle fournit des informations précises sur la masse moléculaire d'un composé, en lien direct avec sa structure chimique, et permet d'élucider les mécanismes de fragmentation ionique. Grâce à sa capacité à détecter des quantités infimes — parfois jusqu'au picogramme (10^{-12} g) — elle s'avère adaptée aussi bien aux analyses qualitatives qu'aux mesures quantitatives.

Cette technique est aujourd'hui essentielle dans divers domaines, notamment pour le suivi des polluants environnementaux ou le contrôle du dopage, en raison de sa haute sélectivité et de sa rapidité d'analyse. Des avancées notables ont été réalisées dans l'étude des biomolécules, telles que les protéines et les glucides, ainsi que dans le domaine des polymères, grâce au développement de l'**ionisation par electrospray**, qui permet l'analyse de molécules multichargées avec une précision accrue sur leur masse.

Par ailleurs, l'approche **tandem SM/SM** (spectrométrie de masse en tandem) offre une capacité approfondie de décryptage structural pour les molécules complexes. L'association de la spectrométrie de masse à des techniques séparatives comme la chromatographie en phase gazeuse, en phase liquide ou l'électrophorèse capillaire augmente considérablement ses performances analytiques. Enfin, les progrès en informatique ont permis une exploitation optimale des données spectrométriques, contribuant à l'essor de cette technologie dans la recherche moderne..(DeArmond and DiGoregorio, 2013).

II.2.4.1 : Structure d'un spectromètre de masse

Le spectromètre de masse, comporte une source d'ionisation suivie d'un ou plusieurs analyseurs qui séparent les ions produits selon leur rapport m/z , d'un détecteur qui compte les ions et amplifie le signal, et enfin d'un système informatique pour traiter le signal. Le résultat obtenu est un spectre de masse représentant les rapports m/z , où m représente la masse et z la valence (ou m/q , q représentant la charge) des ions détectés selon l'axe des abscisses et l'abondance relative de ces ions selon l'axe de ordonnées.

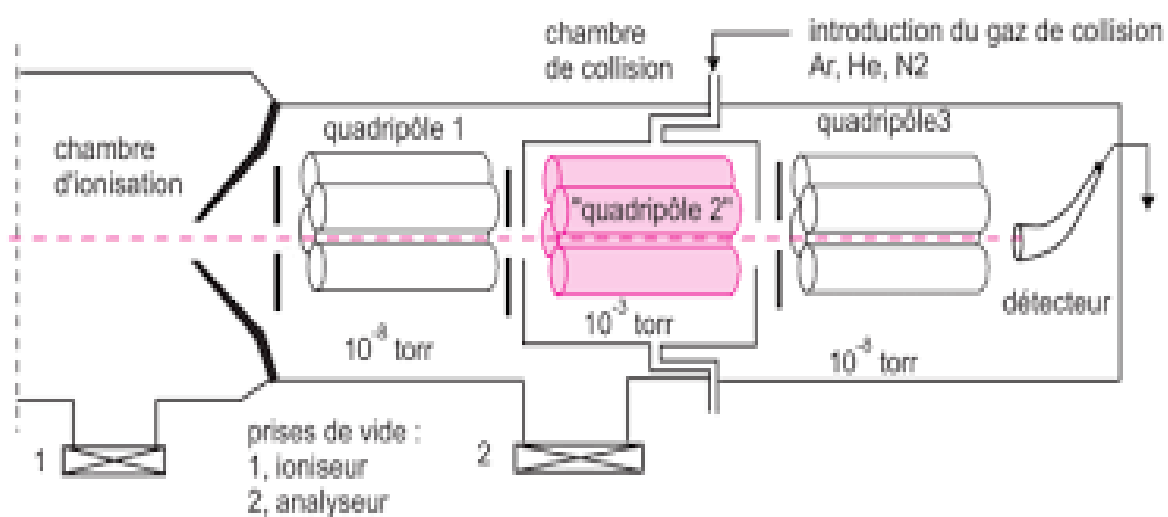


Figure II. 6: Composants d'un appareil de spectromètre de masse (analyticaltoxicology)



Figure II. 7: Photo d'un appareil de chromatographie liquide couplé avec un spectromètre de masse

Il existe deux catégories de spectromètres de masse en tandem, ceux réalisant la MS/MS dans le temps et ceux réalisant la MS/MS dans l'espace. Les instruments réalisant la MS/MS dans le temps sont généralement des analyseurs à piégeage d'ions de type piège ionique. Dans ce cas, les étapes de sélection et de fragmentation de l'ion antérieurement puis l'analyse des fragments d'ions se font dans le même analyseur, mais sont séparées dans le temps. Ce type d'instrument présente l'avantage de pouvoir effectuer plusieurs cycles de MS/MS, puisque des fragments d'ions peuvent être sélectionnés dans la trappe ionique pour une nouvelle fragmentation, on parle alors de MS.

Ils permettent également une MS/MS plus efficace puisque les fragments d'ions n'ont pas à être transmis d'un analyseur à l'autre et le temps de fragmentation peut être plus long pour une meilleure dissociation des ions parents. **(Leblanc, 2022).**

II.2.4.2 : Principe d'un spectromètre de masse

La spectrométrie de masse repose sur l'ionisation de composés chimiques ayant pour but de générer des molécules chargées ou des fragments de molécules et de mesurer ainsi leur rapport masse/charge. Les éléments peuvent être identifiés de manière unique par leur masse.

Fondamentalement, un spectromètre de masse contient 5 parties :

- Introduction de l'échantillon
- une source de production d'ions,
- un système analyseur des rapports masse sur charge (m/z),
- un détecteur,
- Un système de traitement, stockage de données (microinformatique) est associé au spectromètre pour gérer les signaux résultants de l'analyse et imposer un rétrocontrôle de l'appareil. **(Fillatre, 2011)**

II.2.4.3 : Le système d'introduction de l'échantillon

L'échantillon peut être introduit directement dans la source, sous forme gazeuse, liquide (infusion directe) ou solide ou encore par l'association à une méthode séparative (chromatographie en phase liquide, chromatographie en phase gazeuse, électrophorèse capillaire...).

II.2.4.4 : La source d'ionisation

Elle consiste à vaporiser les molécules et à les ioniser. Une source d'ionisation peut être utilisée soit en mode positif pour étudier les ions positifs, soit en mode négatif pour étudier les ions négatifs. Il existe plusieurs sources d'ionisation, dont les plus utilisées sont :

- + L'ionisation électronique (EI)
- + L'ionisation chimique (CI)
- + Le bombardement par atomes rapides (FAB)
- + Electrospray ionisation ESI ou L'électro-nébulisation

II.2.4.5 : L'ionisation

Les techniques d'ionisation ont longtemps limité l'usage de la spectrométrie de masse aux composés gazeux ou volatils sans décomposition thermique (ionisation par bombardement électronique ou par ionisation chimique) et aux composés solides susceptibles d'être ionisés par bombardement ionique, par étincelle ou par thermo-ionisation.

Il existe désormais un large éventail de méthodes qui permettent d'ioniser des échantillons minéraux, organiques ou bio-organiques, quel que soit leur état physique : gazeux, liquide ou solide. Bien souvent, l'ionisation de l'échantillon est précédée d'une étape de séparation réalisée au moyen d'une technique chromatographique ou électrophorétique. La thermo-ionisation et les méthodes d'ionisation par décharges électriques sont utilisées en analyse isotopique et élémentaire. L'impact électronique et l'ionisation chimique sont des méthodes qui permettent d'ioniser les molécules organiques volatiles, ce qui correspond globalement à des masses moléculaires inférieures à 500 unités de masse atomique.

Depuis une vingtaine d'années, le domaine d'utilisation de la spectrométrie de masse s'est élargi aux composés biologiques et aux polymères grâce, en particulier, à la découverte de nouvelles techniques permettant de produire des ions à partir de molécules non volatiles et (ou) thermolabiles. Ces méthodes d'ionisation associées à des techniques de désorption (par exemple le MALDI : Matrix Assisted Laser Desorption Ionization) ou de nébulisation (par exemple l'ESI : ElectroSpray Ionization) permettent de former des ions à partir de substances minérales, organiques ou bio-organiques dont la masse moléculaire peut atteindre plusieurs centaines de milliers d'unités de masse atomique.

Dans notre cas, le dosage de l'acrylamide dans les échantillons préparés et purifiés du café et de l'urine humaine, on a utilisé la source ESI (ElectroSpray Ionization).

L'electrospray consiste à ioniser les espèces présentes en solution dans un capillaire en appliquant un champ électrique sur celui-ci, et à faire migrer une partie des ions chargés

identiquement à l'extrémité du capillaire afin d'y provoquer la formation d'un cône qui donnera ensuite un fin filament puis de fines gouttelettes. L'échantillon est alors pulvérisé, et un flux de gaz neutre à contrecourant vient ensuite provoquer l'évaporation des gouttelettes ce qui a pour effet de libérer les ions qu'elles contiennent. (Menet, 2025)

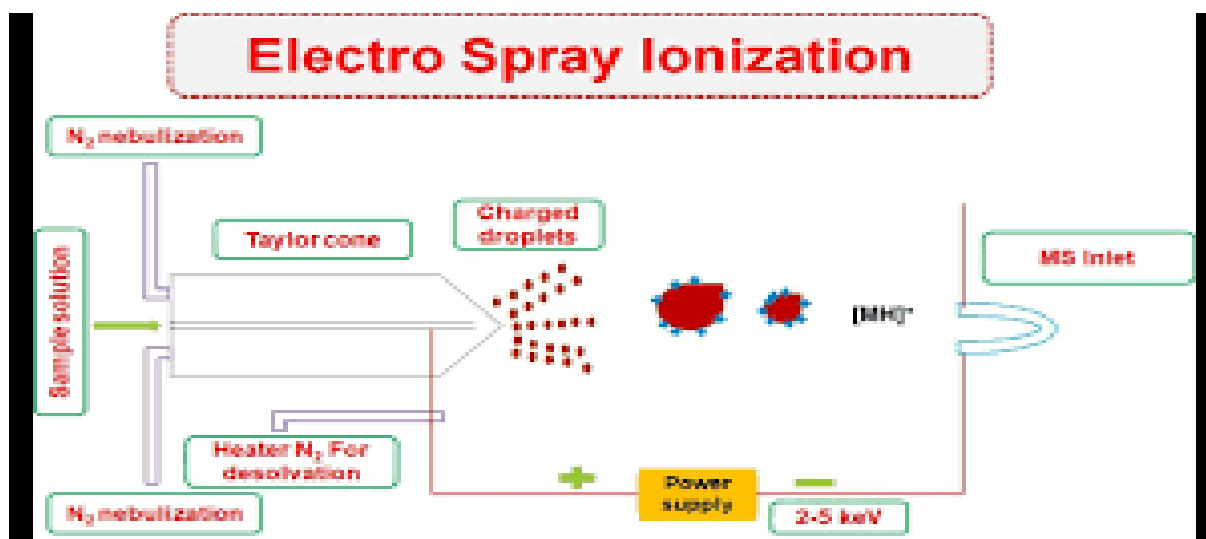


Figure II. 8: Principe l'ESI : ElectroSpray Ionization (analyticaltoxicology)

II.2.4.6 : L'analyseur

En spectrométrie de masse, la séparation des ions repose sur leur rapport masse/charge (m/z), selon le type d'analyseur utilisé. Parmi les dispositifs les plus courants figurent les analyseurs à quadripôle, à temps de vol (TOF), à secteur magnétique et les trappes ioniques. Cette dernière catégorie fonctionne grâce à des champs électriques et/ou magnétiques qui confinent les ions dans une zone spécifique du spectromètre.

Typiquement, la trappe ionique est constituée d'une électrode annulaire et de deux calottes auxquelles sont appliquées des tensions précises permettant le piégeage efficace des ions. Ces derniers peuvent ensuite être fragmentés (si nécessaire) et analysés en fonction de leur m/z . Les trappes ioniques sont fréquemment associées à des sources d'ionisation douces comme l'électrospray (ESI), améliorant ainsi la sensibilité et la précision de l'analyse.

Pour des performances analytiques accrues, elles peuvent être combinées à d'autres analyseurs haute résolution tels que l'Orbitrap. (Bouchoux and Sablier, 2005)

II.2.4.7 : Le détecteur et système de traitement

Le détecteur transforme les ions en signal électrique. Plus les ions sont nombreux, plus le courant est important. De plus, le détecteur amplifie le signal obtenu pour qu'il puisse être traité informatiquement.

II.2.4.8 : Le détecteur ions-trappe

Le détecteur à trappe d'ions est un type d'analyseur utilisé en spectrométrie de masse pour piéger et analyser les ions en fonction de leur rapport masse/charge (m/z).

a. Principe de fonctionnement

- Les ions sont capturés dans un champ électrostatique généré par des électrodes.
- Ils suivent une trajectoire oscillante jusqu'à leur éjection vers le détecteur.
- La fréquence d'oscillation des ions permet de déterminer leur masse avec précision.

b. Types de trappes d'ions

- Trappe ionique quadripolaire : Utilisée pour la fragmentation des ions en mode MS/MS.
- Trappe linéaire : Offre une meilleure sensibilité et permet des analyses plus rapides.
- Trappe orbitale (Orbitrap) : Utilise un champ électrostatique pour piéger les ions et offre une très haute résolution. (Lambert et al., 2000)



Figure II. 9: Détecteur ion trappe (analyticaltoxicology)

II.2.5 : Schéma d'un spectromètre de masse

Schéma simplifié de la structure et du fonctionnement d'un spectromètre de masse en tandem de type trappe ionique

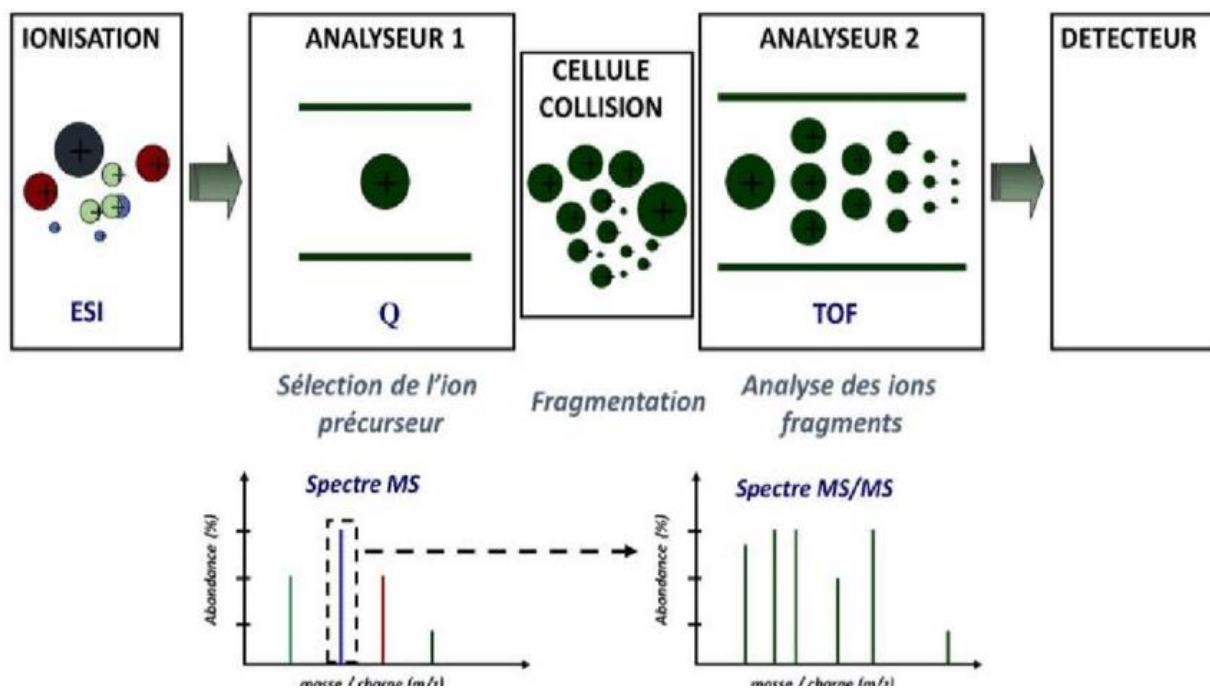


Figure II. 10: Schéma simplifié de la structure et du fonctionnement d'un spectromètre de masse
(Bouchoux and Sablier, 2005)

II.3 : Méthodes de préparation des échantillons :

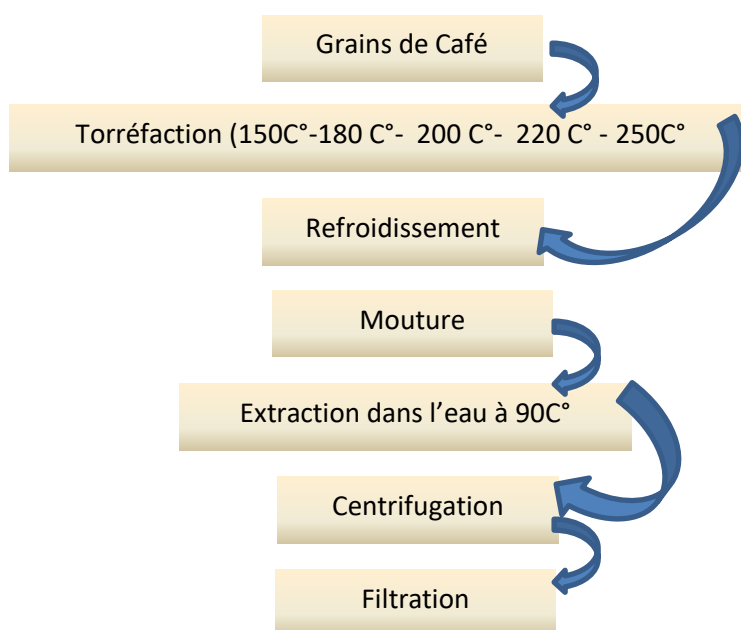


Figure II. 11: Protocole de préparation des échantillons

Comme il est illustré par la figure (II.11), 15 échantillons de 20 grammes de café vert (Robusta) ont subi une torréfaction manuelle au laboratoire, pendant 20 minutes et 40 minutes à 120C°, 150C°, 180C°, 200C°, 220C°, 250C°, respectivement. Les grains de café ont été, ensuite, refroidis à température ambiante pendant 10 minutes dans un dessiccateur, pesés à l'aide d'une balance électronique. Des photographies des échantillons du café torréfié sont présentées par la figure (II.8) dont on y voit clair que les couleurs virent du jaune au marron et finalement vers le noir à des torréfactions plus poussées.

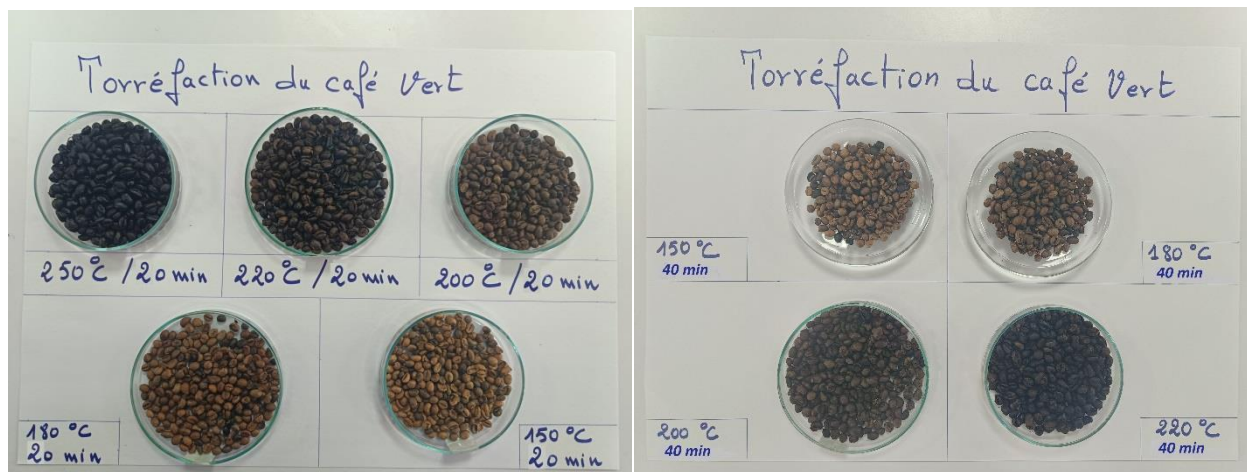


Figure II. 12: Echantillons de café vert torréfiés à 20 et 40 min.

Le café moulu a été obtenu à l'aide d'un broyeur POLYMIX PX-MFC90 D à une vitesse de rotation 4000 tours/min. les photographies des échantillons de café moulus sont présentées par la figure (II.14)



Figure II. 13: Photo d'un broyeur POLYMIX PX-MFC90 D

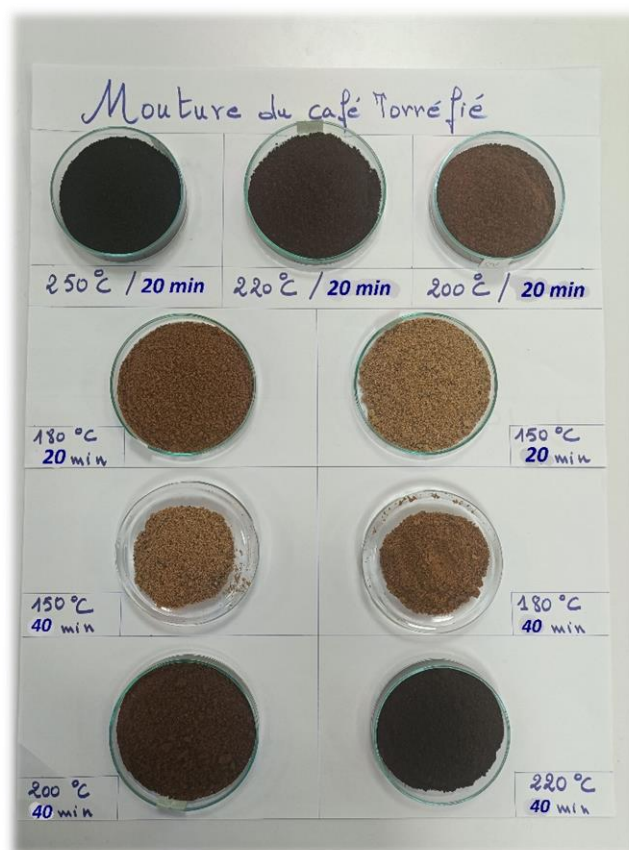


Figure II. 14: Echantillons de café vert torréfiés et moulus à 20 et 40 min.

II.4 : Préparation des échantillons de café du marché Algérien

Procédure de sélection des différentes marques de café moulu pour mesurer la concentration de l'Acrylamide dans des échantillons de différentes marques de café moulu. La première étape consiste à collecter les échantillons de café de différentes marques commercialisé localement dans la ville de Hassi-Messaoud, wilaya d'Ouargla. Cette étape a été réalisée de manière suivante :

- ✚ Sélection des échantillons de café moulu : Identifiez les différentes marques de café moulu commercialisé localement (fabriqué localement ou importé) et qui seront inclus dans cette étude.
- ✚ Acquisition des échantillons : Obtenir les différents échantillons de café moulu vendu dans les commerces.

- ✚ Numérotation des échantillons : Au lieu d'utiliser les noms commerciaux de marques réelles, il a été attribué un numéro unique à chaque échantillon. Par exemple des codes alphanumériques ont été affectés à chaque marque de café pour identifier les échantillons.



Figure II. 15: Echantillons de café compactés vendu dans le marché algérien

II.5 : Préparation des échantillons en solution

Etant donné que l'acrylamide est très soluble dans l'eau (215,5 g/100ml), la poudre de café a subi une extraction en mettant 2 grammes de poudre avec 100 ml d'eau bidistillée du pH neutre dans un bécher chauffé à 90 C°, sous une agitation de 40000 tours/minute, pendant 10 minutes. Après refroidissement, l'extrait a été centrifugé pendant 15 minutes à 3000 tours/minute et filtré sur papier filtre de porosité 0,7 micromètre et ce pour les échantillons torréfiés au laboratoire ainsi pour les 15 échantillons compactés de différente marque qui se trouvent dans le marché à Hassi-Messaoud Ouargla.

En plus des échantillons de café, des échantillons d'urine ont été prélevés sur les différentes personnes (les amateurs du café et fumeurs de la cigarette, les amateurs de café non-fumeurs les consommateurs de café modérément, les non consommateurs ainsi que chez les enfants).

Avant de mesurer et analyser, ces échantillons ont subi une centrifugation et une filtration sur le papier filtre de porosité de 0,7 micromètre.



Figure II. 16: Centrifugation et filtration des échantillons

II.6 : Préparation des échantillons d'urines :

Les échantillons d'urines analysés ont été collectés auprès de divers groupes de personnes, incluant les consommateurs de café fumeurs, les consommateurs de café non-fumeurs, les personnes consommant du café de manière modérée et fumeurs, ainsi que les consommateurs modérés non-fumeurs. L'étude inclut également des femmes de différents âges ainsi que des enfants d'âges variés. Avant l'extraction et la purification, les échantillons ont été soumis à une étape de centrifugation et de filtration. L'extraction liquide-liquide a ensuite été réalisée en utilisant un solvant polaire, l'Acétonitrile, afin d'isoler l'acrylamide.

Tableau II. 1: Les caractéristiques de différentes sources d'échantillons d'urine

N°	Echantillons	Caractéristiques
1	Homme Adulte	Consommateur de café et fumeur
2	Homme adulte	Consommateur de café modérément et fumeur
3	Homme adulte	Consommateur de café et non-fumeur
4	Homme adulte	Consommateur de café modérément et non-fumeur
5	Homme adulte	Non consommateur de café mais fumeur
6	Homme adulte	Non consommateur et non-fumeur
7	Femme adulte	Non consommatrices de café
8	Femme adulte	Consommatrice modérément
9	Enfant de 14 ans	Non-consommateur et non-fumeur
10	Enfant de 3 ans	Non-consommateur et non-fumeur

II.7 : Détermination du pH des extraits de café et l'urine

Avant de mesurer le potentiel à Hydrogène des différents échantillons (café du marché Algérien, café torréfié et l'urine), le pH mètre a été contrôlé et calibré par deux solutions tampon pH 4 et 7, et les résultats obtenus sont récapitulés dans les **tableaux III.3.4.5.6**

II.8 : Préparation des échantillons pour analyse

Dans le café, plusieurs composés peuvent absorber à une longueur d'onde de 210 nm, principalement dans la région ultraviolette. Ces composés incluent :

- ✚ Acides chlorogéniques : Ce sont des antioxydants présents en grande quantité dans le café. Ils jouent un rôle important dans le goût et les propriétés bénéfiques du café.
- ✚ Protéines et peptides : Les protéines et leurs fragments peuvent également absorber dans cette région, en raison des liaisons peptidiques.
- ✚ Composés phénoliques : Ces composés, qui incluent les acides phénoliques, contribuent aux propriétés anti oxydantes du café.
- ✚ Trigonelline : Un alcaloïde présent dans le café, qui se dégrade en partie lors de la torréfaction pour former des composés aromatiques.

Ces composés sont responsables de nombreuses propriétés organoleptiques et bioactives du café. Les composés du café, tels que les acides chlorogéniques, les protéines, les peptides et les composés phénoliques, peuvent avoir un impact sur le dosage de l'acrylamide en raison de leurs propriétés d'absorption dans la région UV. Voici quelques points à considérer :

➤ Interférences spectrales

Ces composés absorbent également dans des longueurs d'onde proches de celles utilisées pour détecter l'acrylamide (par exemple, autour de 200 nm). Cela peut entraîner des interférences spectrales, rendant la détection moins précise si les méthodes ne sont pas bien adaptées.

➤ Effet sur la purification

Lors de l'extraction et de la purification de l'acrylamide, ces composés peuvent coexister dans l'échantillon et compliquer la séparation. Une purification efficace, comme l'extraction en phase solide, est essentielle pour minimiser ces effets.

➤ **Influence sur la quantification**

Si les composés du café ne sont pas correctement séparés de l'acrylamide avant l'analyse, ils peuvent fausser les résultats en augmentant ou en diminuant les signaux détectés.(Roy-Lachapelle, 2016)

II.8.1 : Protocole d'Extraction de l'acrylamide dans le café

L'analyse précise de l'acrylamide dans les matrices alimentaires a présenté de nombreux challenges techniques. Au départ, la technique GC-MS/MS était la technique de base car l'acrylamide est une petite molécule, assez volatile. Cependant, cette technique reposait sur la dérivation de l'acrylamide en un composé bromé, étape que l'on préférerait éviter. Les méthodes ont donc été transférées en LC-MS/MS qui est alors devenue la technique de choix pour l'analyse en routine de l'acrylamide dans les matrices alimentaires. Les méthodes LC-MS/MS font tout de même encore face à des challenges analytiques, notamment sur la rétention de l'acrylamide et sa séparation des composés interférents provenant de matrices complexes dans lesquelles on cherche à l'analyser. Ces méthodes permettent une séparation et une détection spécifiques, réduisant ainsi l'impact des composés interférents.

Selon la norme **EN 16618:2015 avril 2015** « Analyse des Produits Alimentaires », le dosage de l'acrylamide dans les produits alimentaires par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CL-ESI-SM-SM).

La présente norme décrit une méthode de dosage, par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem en mode ionisation par électro nébulisation (CL-ESI-SM/SM), de l'acrylamide dans les produits de boulangerie tels que le pain, le pain grillé, le pain suédois, les biscuits au beurre et les biscuits épicés, ainsi que dans les produits à base de pomme de terre tels que les frites, les chips et les galettes de pomme de terre et le café torréfié. Cette méthode a été validée lors d'un essai inter laboratoires portant sur l'analyse d'échantillons naturellement contaminés et d'échantillons dopés, sur une plage de 14,3 µg/kg à 9 083 µg/kg.

Dans cette étude, la norme européenne **EN 16618:2015** a été appliquée afin de garantir une extraction et une analyse précises de la teneur en acrylamide dans le café. Cette norme repose sur une approche analytique rigoureuse, combinant une extraction solide-liquide avec **Q-sep QuEChERS Extraction Kit (EN)** dans de l'eau et d'Acétonitrile suivie d'une

purification avec **Q-sep QuEChERS Purification Kit** permettant d'éliminer les interférences et d'optimiser la concentration de l'analyte. L'utilisation des kits **Q-sep QuEChERS** pour l'extraction et la purification apporte une approche efficace pour la préparation des échantillons avant l'analyse LC-MS/MS. La séparation chromatographique a été réalisée par chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS), offrant une détection haute sensibilité et une sélectivité accrue des ions caractéristiques de l'acrylamide. L'application de cette méthode normalisée, combinant **QuEChERS et LC-MS/MS**, est particulièrement adaptée aux matrices complexes comme le café, en garantissant une purification optimale et une détection sensible de l'acrylamide.

II.8.2 : Les sels QuEChERS

QuEChERS est un acronyme pour QUick, Easy, CHEap, Effective, Rugged, and Safe. Il s'agit donc d'une méthode d'extraction qui se veut rapide, facile, bon marché, robuste et fiable. Elle a vraisemblablement été utilisée pour la première il y a une dizaine d'années pour l'analyse de résidus de pesticides dans les fruits et légumes (19). Brièvement, il s'agit d'une méthode de préparation des échantillons qui consiste à rajouter des sels dits « QuEChERS » à la matrice d'intérêt (polaire) qui aura été mélangée au préalable dans un solvant organique.

Le but des sels étant de séparer la phase aqueuse du solvant organique tout en séchant la phase aqueuse. (Ting et al., n.d.).

- La méthode ref 22 : 4 g MgSO₄ + 1 g NaCl

-La méthode « EN 16618:2015 » : 1g citrate trisodique dihydraté + 0.5 g hydrogenocitratedisodique **sesquihydraté** + 1 g NaCl + 4 g MgSO₄

- La méthode « AOAC 2007.01 » : 6 g MgSO₄ + 1.5 g acétate de sodium

Ces quantités de sels sont disponibles sous la forme de kits prêts à l'emploi, utilisés pour l'extraction de l'Acrylamide avec un volume de solvant de 10 à 12 ml et 10 grammes d'échantillon.

* Le terme **sesquihydraté** vient du latin *sesqui*, qui signifie « un et demi », et de *hydraté*, qui fait référence à la présence d'eau dans un composé.

II.8.3 : Mode opératoire

- 1- Peser 10 g d'échantillon (café moulu) dans un tube à centrifuger de 20 ml.
- 2- Ajouter 10 ml d'eau distillée bouillante.
- 3- Agiter à la main pendant 2 à 3 minutes et faire échapper les gaz formés.
- 4- Ajouter 10 ml d'Acétonitrile et agiter pendant 2 à 3 minutes.
- 5- Ajouter 5 ml d'hexane et agiter fortement pendant 5 minutes.
- 6- Ajouter le premier Kit RESTEK (Q-sep QuEChERS Extraction Kit (EN), 4g MgSO_4 , 1g NaCl, 1g TSCD, (une réaction exothermique se produit ; dégagement de la chaleur).
- 7- Séparer la solution à l'aide d'une centrifugeuse d'une vitesse de 4500 Tr/min.
- 8- Remplir les Vials en utilisant un filtre seringue de 0.22 micron pour l'analyse par LC/MS/MS.

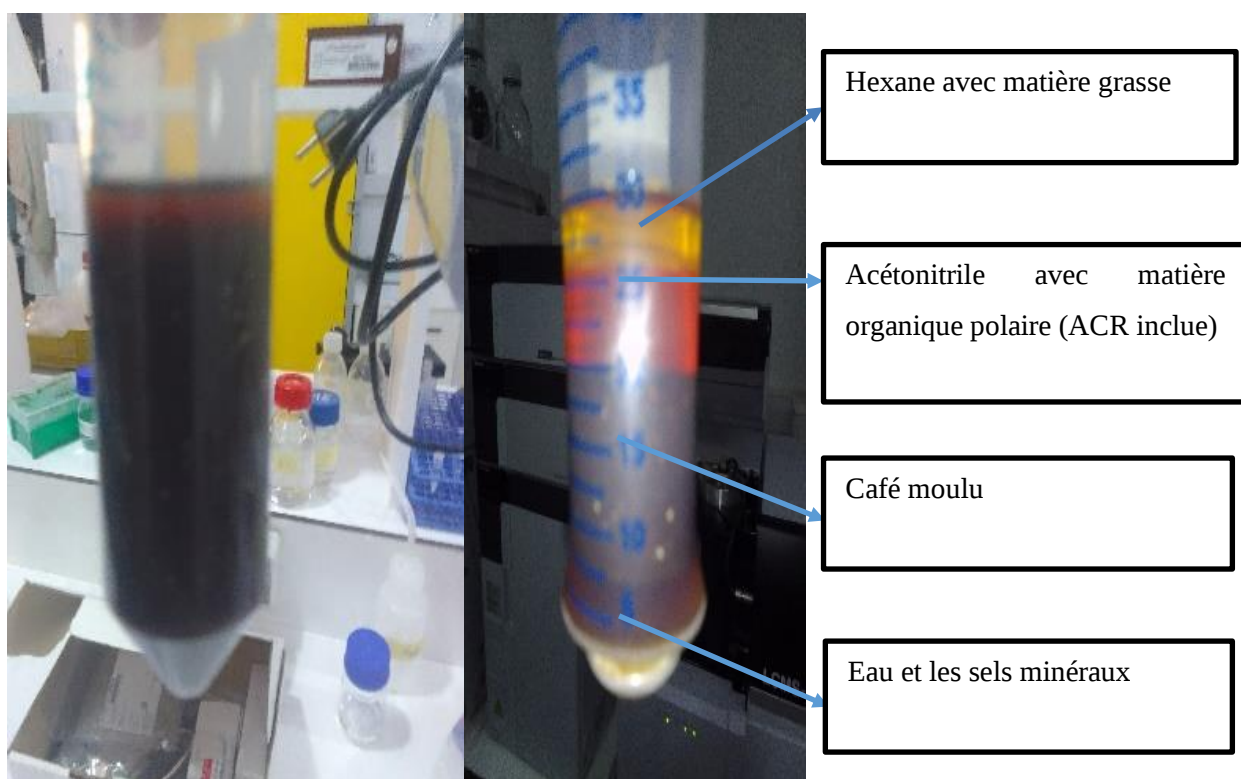


Figure II. 17: Protocole d'extraction de l'acrylamide

II.8.4 : Protocole de purification des échantillons

- 1- Eliminer la phase hexane.
- 2- Récupérer le solvant « l'Acétonitrile ».

- 3- Ajouter à l'Acétonitrile le deuxième Kit (Q-sep QuEChERS purification Kit ; GCB ; pour éliminer des pigments, C18 pour éliminer la matière grasse, PSA ; pour éliminer les sucres et les Acides organiques.
- 4- Séparation par centrifugation.



Figure II. 18: Q-sep QuEChERS purification Kit et l'agitateur vortex

Comparaison entre un échantillon du café préparé par extraction simple à une eau chaude et l'échantillon d'extrait de l'acrylamide préparé suivant la norme Européenne —EN 16618:2015— en utilisant des réactifs QuEChERS

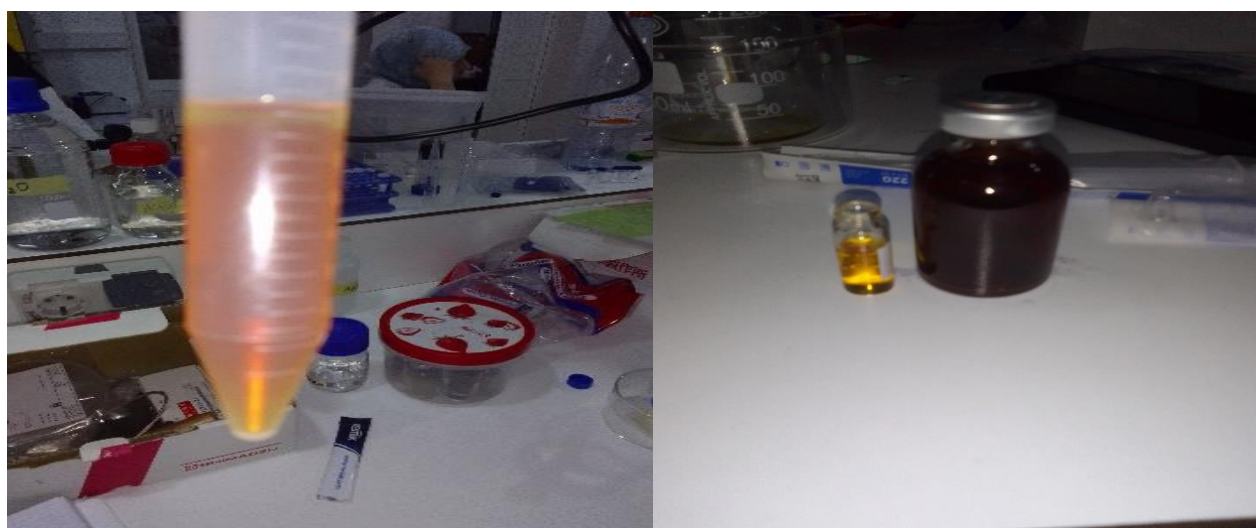


Figure II. 19: Extrait de l'acrylamide purifié et la solution de café

Préparation des Vials pour l'analyse par LC-MS/MS en utilisant des filtres à seringue de diamètre 0.22 μm



Figure II. 20: Remplissage des Vial avec seringue à filtre de 0.22 µm

II.8.5 : Protocole d'Extraction de l'acrylamide dans l'urine

Des échantillons d'urines ont été collectés dans des bouteilles stérilisées préalablement et centrifugées à une vitesse de 4500 T/min pour éliminer les matières solides en suspension, ensuite filtrés sur un papier filtre de porosité 0.7 µm. Le mode de l'extraction de l'analyte en récurrence les molécules de l'acrylamide est le suivant :

En absence d'une méthode d'extraction normalisée de l'acrylamide dans les urines, on a opté pour l'extraction liquide/liquide

- 1- Prélever 10 ml de chaque échantillon
- 2- Ajouter 10 ml d'Acétonitrile solvant polaire pour extraire l'acrylamide des matrices biologique
- 3- Ajouter 10 ml d'Acétone – Solvant organique efficace pour la précipitation des protéines
- 4- Centrifugation et élimination des protéines
- 5- Agiter fortement et centrifuger pour la séparation des phases
- 6- Remplir les Vials par la phase Acétonitrile à l'aide des seringues avec des filtres à seringue de 0.22 µm, prêt pour l'analyse par LC/MS/MS.

II.8.6 : Le choix du mode d'analyse

Le choix entre une élution isocratique et une élution par gradient en HPLC, dépend de la complexité de l'échantillon et des objectifs de l'analyse.

a). Élution Isocratique

- Utilise une composition constante de la phase mobile tout au long de l'analyse.
- Adaptée aux échantillons simples, où les analytes ont des propriétés chimiques similaires.
- Offre une reproductibilité élevée et une mise en œuvre plus simple.
- Moins efficace pour séparer des composés ayant des différences de polarité importantes.

b). Élution par Gradient

- La composition de la phase mobile change progressivement pendant l'analyse.
- Idéale pour les échantillons complexes, permettant une meilleure séparation des analytes.
- Réduit le temps d'analyse et améliore la résolution des pics chromatographiques.
- Peut nécessiter une optimisation plus poussée des conditions expérimentales.

L'acrylamide étant un composé relativement hydrophile, son analyse par HPLC peut être réalisée en mode isocratique si l'échantillon est simple. Cependant, les échantillons préparés contiennent plusieurs composés interférents, mêmes s'ils sont purifiés par une méthode normalisée. Alors une élution par mode gradient peut améliorer la séparation et la sensibilité de la détection.

II.9 : LC-MS/MS en tandem

La spectrométrie de masse en tandem consiste à sélectionner un ion par une première spectrométrie de masse, à le fragmenter, puis à effectuer une deuxième spectrométrie de masse sur les fragments ainsi générés. Elle peut être réalisée à l'aide de nombreux appareils combinant des secteurs magnétiques, électriques, quadripolaires ou des temps de vol, mais également au sein d'un même analyseur dans le cas d'une trappe d'ions.

II.9.1 : Type de fragmentation

Les fragmentations peuvent être classées en fonction de leurs types :

- Fragmentation spontanée des ions métastables ou fragmentation induite par collision sur une surface (SID Surface Induced Dissociation), avec un gaz inerte (CID Collision Induced Dissociation) ou un gaz réactif (RIM Reactant Ion Monitoring).
- Fragmentation de haute énergie (par exemple avec un TOF/TOF), produisant beaucoup de rupture de liaisons, ou fragmentation de basse énergie, minimisant les ruptures de liaisons non peptidiques.

En LC-MS/MS par électronébuliseur, les échantillons du café et de l'urine purifiés ont été séparés par la HPLC les molécules de l'acrylamide arrivent séquentiellement dans la source du spectromètre de masse (ESI electrospray ionisation) et vont être ionisés.

Après leurs passages du premier quadripôle vers le deuxième quadripôle (chambre de collision) les ions pères seront fragmentés en trois ions fils et ils passent vers le troisième quadripôle pour donner trois principaux pics: m/z 72 (ion moléculaire), m/z 55 (perte de NH_3), m/z 27 (perte de NH_3 et de C=O) et le pic m/z 44 (perte du groupement vinylique) CH_2NO^+ . Le pic le plus intense, l'ion m/z 55, est utilisé pour la quantification. (Szternfeld et al., n.d.).

II.10: Courbe d'étalonnage

II.10.1 : Préparation des solutions étalons

Dans le cadre de notre étude l'analyse par chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (HPLC-MS/MS) a été réalisée au CRAPC de Ouargla pour son non disponibilité au niveau de l'Université de Bejaia. La chromatographie sépare les composés en fonction de leurs interactions avec une phase stationnaire et une phase mobile, tandis que la spectrométrie de masse analyse les ions produits par ionisation des composés séparés. Cette approche permet une analyse détaillée des mélanges complexes, même à des niveaux de concentration extrêmement faibles.

La préparation des étalons pour le traçage de la courbe d'étalonnage de l'acrylamide suit plusieurs étapes essentielles pour garantir la précision et la fiabilité des résultats.

L'acrylamide est généralement dissous dans de l'eau ultra pure ou un mélange eau/Acétonitrile. Le choix du solvant Acétonitrile est basé sur le mode d'extraction de l'acrylamide dans le café ou l'Acétonitrile a été le solvant de base comme indiqué dans la norme EN : 16618:2015.

II.10.2 : Préparation de la solution mère :

- ✚ Dissoudre 0,1 gramme d'acrylamide dans 1L de solvant Acétonitrile et agiter pour obtenir une concentration 0,1g/l.
- ✚ Prélever 1 millilitre et le diluer dans 1 litre du solvant pour avoir une solution mère d'une concentration de 10 µg/ml.

II.10.3 : Préparation des solutions filles (étalons)

- ✚ De la solution mère on procède à la préparation des étalons par une dilution successive.
- ✚ À l'aide d'une micropipette on prélève 6 µl dans 100 ml du solvant pour avoir un étalon de concentration de 600 ng/ml
- ✚ 4 µL dans 100 ml pour 400 ng/ml
- ✚ 2 µL dans 100 ml pour 200 ng/ml
- ✚ 1 µL dans 100 ml pour 100 ng/ml
- ✚ 1 µL dans 200 ml pour 50 ng/ml
- ✚ 1 µL dans 250 ml pour 40 ng/ml
- ✚ 1 µL dans 500 ml pour 20 ng/ml

Après avoir préparé toutes nos solutions étalon, on a procédé au réglage des paramètres opératoires des appareils.

L'équipement UPLC-ESI-MS-MS Shimadzu 8040 à ultra-haute sensibilité avec technologie a été utilisé. Elle est équipée d'un spectromètre Nexera XR LC-20AD à bosses binaires.

Phase mobile A : 2mmol de formiate d'ammonium + 0,002% d'acide formique eau ;

Phase mobile B : 2mmol de formiate d'ammonium + 0,002% d'acide formique Acétonitrile ;

Débit d'injection 0,5ml/min ;

Volume injecté 10 µl ;

Colonne : Restek allure Acrylamide 5µm 50x2,1 mm ;

Programme de gradient :**Tableau II. 2: Programme de gradient d'élution de l'HPLC**

Time (s)	mobile phase A %
0.1	98
2	98
4	2
6	2
6.1	98
8	Stop

II.10.4 : Les conditions ESI d'ionisation par électro-pulvérisation étaient les suivantes

- ✚ Gaz CID, 230 kPa
- ✚ Dynode de conversion, -6,00 kV
- ✚ Température DL, 250 °C
- ✚ Débit de gaz de nébulisation, 3,00 L/min
- ✚ Bloc chauffant, 400 °C
- ✚ Débit de gaz de séchage, 10 L/min

II.11 : Présentation des échantillons

Dans le cadre de ce projet fin d'études, un total de 37 échantillons ont été analysés afin d'évaluer les niveaux d'acrylamide liés à la sécurité alimentaire et à l'exposition humaine. Ces échantillons se répartissent en trois catégories distinctes :

- ❖ **12 échantillons de café préparés au laboratoire** selon des conditions contrôlées de torréfaction et de mouture, permettant une standardisation des paramètres d'analyse.
- ❖ **15 échantillons de café commercialisés sur le marché Algérien** collectés auprès de différents point de vente de la ville de Hassi-Messaoud.
- ❖ **10 échantillons d'urine** recueillis auprès des volontaires dans le but d'évaluer l'excrétion urinaire de l'Acrylamide et d'établir un lien potentiel entre la consommation de café et l'exposition métabolique à ce contaminant.

Cette approche combinée permet d'étudier à la fois la présence d'Acrylamide dans le café vert torréfié, dans le café compacté du marché Algérien et son impact potentiel sur la santé humaine.

Tableau II.3 : Les échantillons préparés au laboratoire

Numéro d'échantillon	Type de café	Température de torréfaction	Durée de torréfaction	Méthodes d'extraction	Analyse
De I à VI	Vert	(120-150–180–200 – 220 et 250) °C	20 minutes	QuEChERS	HPLC-MSMS
De VII à XII	Vert	(120-150–180–200 – 210 et 220) °C	40 minutes	QuEChERS	HPLC-MSMS

Tableau II.4 : Echantillons du marché Algérien

Numéro d'échantillon	Type de café	Mode de torréfaction	conditionnement	Lieu d'achat
De 1 à 10	100% Robusta +3% de sucre	industrielle	Sachet	Hassi-messaoud
De 11 à 15	Mélange Robusta + Arabica	industrielle	Sachet	Hassi-messaoud

Tableau II.5 : Echantillons d'urine

Numéro d'échantillons	Sexe	Age	Habitudes	Observations
01	Homme	Adulte	Consommateur fort	Fumeur
02	Homme	Adulte	Consommateur modéré	Fumeur
03	Homme	Adulte	Consommateur fort	Non-fumeur
04	Homme	Adulte	Consommateur modéré	Non-fumeur
05	homme	adulte	Non consommateur	Fumeur
06	Homme	Adulte	Non consommateur	Non-fumeur
07	Femme	adulte	Non consommatrice	Non fumeuse
08	Femme	adulte	Consommatrice modérée	Non fumeuse
09	Enfant	14 ans	Non consommateur	Non-fumeur
10	Enfant	03 ans	Non consommateur	Non-fumeur

II.12 : Conclusion

Dans cette étude, les méthodes HPLC-UV et LC-MS/MS jouent un rôle essentiel dans l'analyse qualitative et quantitative de l'acrylamide dans le café et l'urine. L'HPLC-UV, utilisée pour la détection initiale, a permis de confirmer la présence de l'acrylamide grâce à sa capacité à séparer et identifier les composés absorbant à 210 nm. Cependant, en raison de son manque de spécificité, la LC-MS/MS a été employée pour une quantification précise, offrant une meilleure sensibilité et sélectivité.

L'application de la norme européenne EN 16618/2015 pour la LC-MS/MS permis d'assurer la fiabilité des résultats et leur comparabilité avec les études internationales.

À l'avenir, l'amélioration des méthodes analytiques, notamment avec l'intégration des nouvelles techniques à haute résolution, pourrait affiner davantage la détection et favoriser le développement de mesures préventives dans l'industrie du café et la santé publique.

A large, solid brown L-shaped graphic element that frames the text 'Chapitre III' on its left and top sides.

Chapitre III

Résultats et Discussion

III. Introduction

Dans ce chapitre, nous présentons, la perte de masse des grains de café torréfiés à différentes températures et temps, la courbe d'étalonnage, les chromatogrammes, les spectromètres de masse et les résultats du dosage des différents types de café et l'urine étudiés. Le constituant de café qui a été dosé est: l'acrylamide, et la méthode analytique utilisée est HPLC –UV-Vis et LC-MS/MS.

III.1 : Détermination de perte de masse dans le café vert Robusta

Les échantillons du café vert torréfiés ont été pesés avant leur mouture afin de déterminer la quantité d'eau contenue dans le café vert et les pertes de masse due à la chaleur, les résultats de la pesée sont rapportées dans les tableaux **(III.1, et III.2)**.

Lors de la torréfaction du café vert, une partie de son poids est perdue en raison de plusieurs transformations physiques et chimiques :

✓ **Évaporation de l'eau**

- Les grains de café vert contiennent environ 10 à 12 % d'humidité.
- Pendant la torréfaction, cette eau s'évapore, entraînant une perte de poids significative.

✓ **Dégradation des composés organiques**

- Certains composants volatils, comme les acides chlorogéniques, se décomposent sous l'effet de la chaleur.
- Des gaz comme le CO₂ sont libérés, contribuant à la réduction du poids.
- La peau d'argent, une fine membrane entourant le grain, se détache et est éliminée.
- Cela représente une petite fraction de la perte de poids totale. **(Houessou et al., 2007)**.

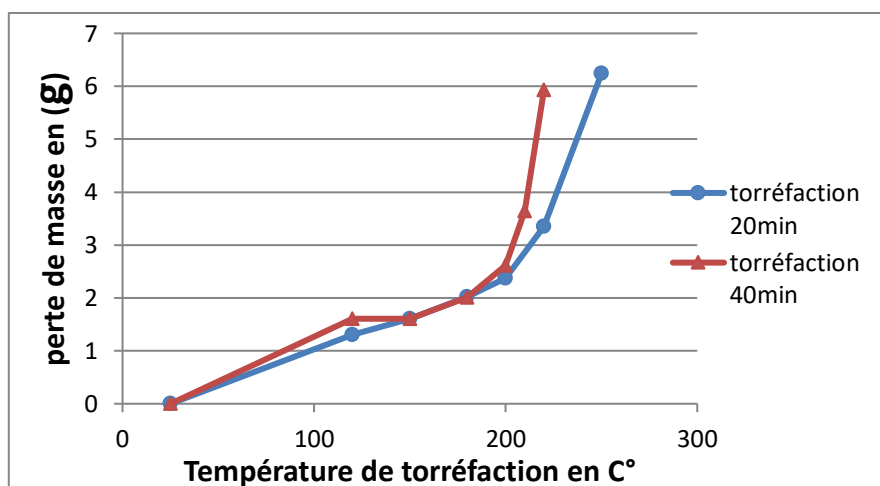
Généralement l'humidité est éliminée totalement lors de torréfaction à une température de 120 C °.

Tableau III. 1: Variation du poids des grains de café en fonction de la température pendant 20 minutes

N°	Code de l'échantillon	Torréfaction du café vert				masse éliminée (g)
		Pi (g)	T (C°)	t (min)	Pf (g)	
1	I	20 ,001	120	20	18,695	1,306
2	II	20 ,000	150	20	18,395	1,605
3	III	20 ,001	180	20	17,983	2,018
4	IV	20 ,000	200	20	17 ,623	2,377
5	V	20 ,000	220	20	16,653	3,347
6	VI	2 0,004	250	20	13,764	6,240

Tableau III. 2: Variation du poids des grains de café en fonction de la température pendant 40 minutes

N°	Code de l'échantillon	Torréfaction du café vert				masse éliminée (g)
		Pi (g)	T (C°)	t (min)	Pf (g)	
7	VII	19,998	150	40	18,405	1,603
8	VIII	19,999	150	40	18,405	1,604
9	IX	20 ,004	180	40	17,991	2,013
10	X	20 ,000	200	40	17,485	2,615
11	XI	20 ,005	210	40	16,362	3,643
12	XII	20 ,001	220	40	16,968	5,931

**Figure III. 1: Perte de masse du café torréfié en fonction du temps et température**

L'analyse des tendances met en évidence plusieurs observations clés :

Effet de la température : À des températures élevées, la perte de masse est plus importante, ce qui est logique puisque l'évaporation des composés volatils et la dégradation des composants organiques s'accroissent.

Influence du temps : Plus le temps de torréfaction est long, plus la perte de masse est significative. Cela suggère une élimination progressive de l'eau et de certains constituants organiques sous l'effet de la chaleur prolongée.

Interaction entre température et durée : À haute température et longue durée, la perte de masse atteint son maximum, ce qui traduit une décomposition avancée des molécules.

III.2 : Résultats de pH des extraits de café et l'urine

III.2.1 : Mesure de pH du café de marché Algérien

Tableau III. 3: pH des échantillons de café Robusta avec 3% de sucre ajouté

Ech	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
pH	5.72	5.62	5.85	5.68	5.64	5.79	5.81	5.66	5.71	5.76

Tableau III. 4: pH des échantillons mélange de café Arabica et Robusta sans sucre ajouté

Ech	A	B	C	D	E
pH	5.39	5.51	5.35	5.26	5.43

Tableau III. 5: pH du café torréfié à différentes températures et temps

Ech	Torréfaction 20 min						Torréfaction 40 min					
	120C°	150C°	180C°	200C°	220C°	250C°	120C°	150C°	180C°	200C°	210C°	220C°
pH	5.95	6.02	6.36	6.23	6.49	6.02	6.07	6.46	6.08	6.44	6.51	6.39

Tableau III. 6: Le pH des échantillons d'urine

Ech	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
-----	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

pH	5.89	5.57	5.18	5.40	5.54	5.61	5.56	5.63	5.85	5.91
----	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Tableau III. 7: Les caractéristiques de différentes sources d'échantillons d'urine

N°	Echantillons	Caractéristiques
1	Homme Adulte	Consommateur de café et fumeur
2	Homme adulte	Consommateur de café modérément et fumeur
3	Homme adulte	Consommateur de café et non-fumeur
4	Homme adulte	Consommateur de café modérément et non-fumeur
5	Homme adulte	Non consommateur de café mais fumeur
6	Homme adulte	Non consommateur de café et non-fumeur
7	Femme adulte	Non consommatrice de café
8	Femme adulte	Consommatrice modérément
9	Enfant de 14 ans	Non-consommateur et non-fumeur
10	Enfant de 3 ans	Non-consommateur et non-fumeur

Observations :

- ✚ Robusta avec 3 % de sucre ajouté : Les échantillons de café Robusta contenant 3 % de sucre ajouté présentent des valeurs de pH comprises entre 5,5 et 5,8. Cela indique une légère acidité.
- ✚ Les mélanges de Robusta avec de l'Arabica ont donné des valeurs de pH variant entre 5 et 5,5 ; ce qui traduit une acidité légèrement plus élevée. Cette augmentation est en lien avec les caractéristiques plus acides de l'Arabica.
- ✚ Effet de la torréfaction (20 et 40 minutes à différentes températures) : Les cafés soumis à des temps de torréfaction de 20 et 40 minutes, à différentes températures, présentent des valeurs de pH situées entre 6 et 6,5. Cette torréfaction poussée a

engendré une décomposition des acides organiques augmentant ainsi le pH et réduisant l'acidité.

III.3 : Analyse qualitative de l'acrylamide par HPLC-UV

Avant de réaliser les analyses quantitatives par une méthode plus précise, nous avons effectué une analyse qualitative de l'élément (Acrylamide) par la méthode HPLC-UV-Vis afin de confirmer sa présence dans le café et l'urine.

La technique d'analyse de l'Acrylamide par HPLC-UV repose sur une analyse par chromatographie en phase liquide (dite HPLC) qui est combinée à un détecteur d'absorbance UV. la longueurs d'ondes d'absorption de l'Acrylamide est fixée à 210 nm d'après la littérature (**Boukadida et al., 2023**). Les résultats expérimentaux sont représentés sur les figures suivantes :

Le chromatogramme de l'étalon Acrylamide figure III.2, le café Figure III.3 et l'échantillon de l'urine sur la figure III.3.

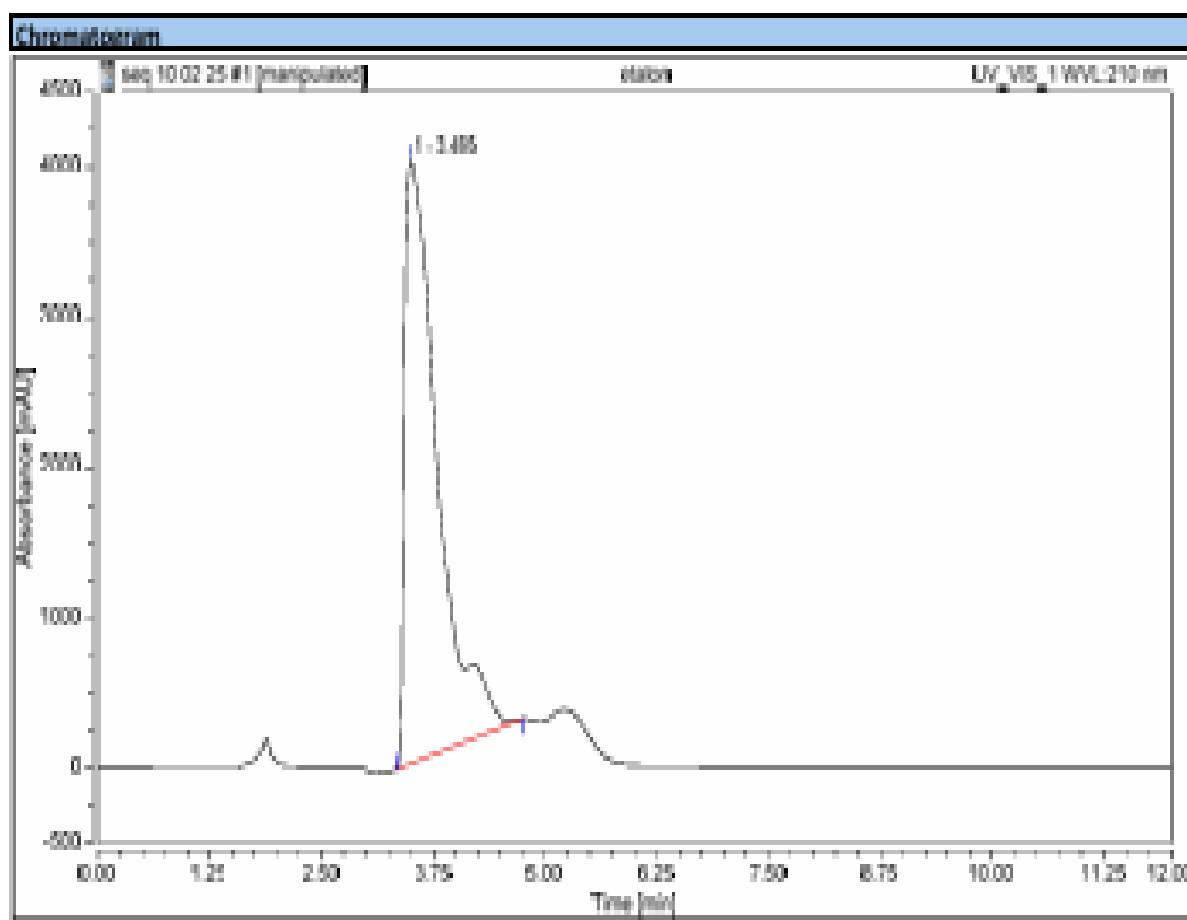


Figure III. 2: Chromatogramme HPLC-UV de l'étalon Acrylamide

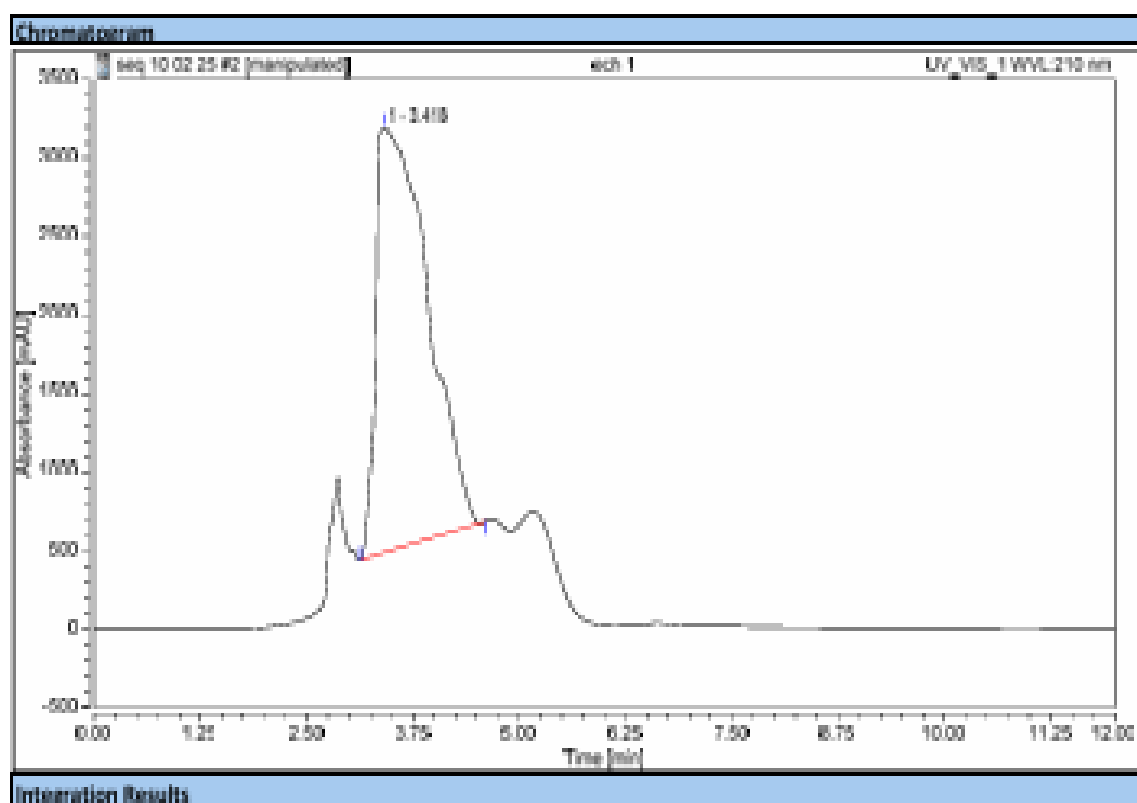


Figure III. 3: Chromatogramme HPLC-UV du café

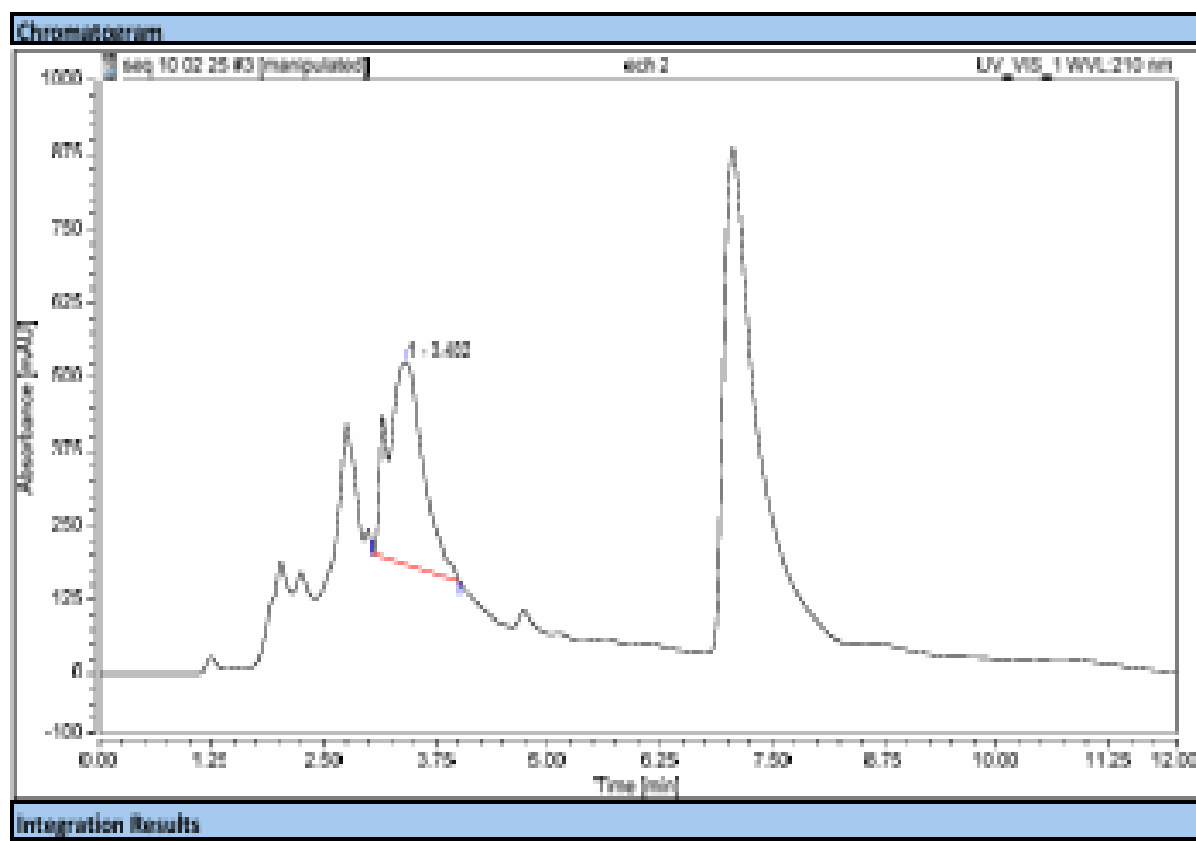


Figure III. 4: Chromatogramme HPLC-UV de l'urine

Le chromatogramme de l'étalon acrylamide sert de référence pour identifier la position du pic de l'acrylamide, notamment son temps de rétention qui est de 3.495 minutes et ses caractéristiques d'absorption à 210 nm. Il permet d'identifier le pic de l'Acrylamide sur les deux chromatogrammes de café et de l'urine au même temps de rétention.

On observe sur le chromatogramme de l'échantillon de café un pic à un temps de rétention de 3,418 minutes, et sur le chromatogramme de l'urine un pic apparaît à un temps de rétention de 3,402 minutes. Par ailleurs, les deux chromatogrammes de café et de l'urine montrent un pic au même temps de rétention du pic de l'étalon Acrylamide ce qui confirme la présence de cette molécule dans le café et l'urine. Une très légère variation du temps de rétention a été constatée, ceci peut s'expliquer par la présence des interférences dans les matrices complexes du café. Une confirmation par LC-MS/MS est essentielle pour garantir la sélectivité de l'analyse.

L'analyse comparative des chromatogrammes montre que l'acrylamide est bien présent dans le café et se retrouve dans l'urine cela signifie une excrétion de l'acrylamide par voie urinaire, indiquant une exposition récente de la personne.

III.4 : Analyse quantitative des échantillons de café par LC-MS/MS

Après la préparation des échantillons (extraction et purification du café), ainsi que des étalons à partir de l'acrylamide pur, l'optimisation des paramètres de la spectrométrie de masse est une étape cruciale.

III.4.1 : Paramètres optimaux de l'analyse par spectromètre de masse

Pour cela, un balayage de l'intervalle des énergies potentielles des trois quadripôles est effectué afin de :

- a. Déterminer l'énergie de collision optimale permettant une fragmentation efficace des ions.
- b. Optimiser le voltage des quadripôles pour une meilleure transmission des ions vers le détecteur.
- c. Améliorer la sensibilité et la résolution en ajustant les paramètres du Q1 (sélection des ions), du Q2 (chambre de collision) et du Q3 (détection des fragments).

Ces ajustements garantissent une quantification précise de l'acrylamide tout en minimisant les interférences. Les résultats obtenus sont portés dans le tableau III.8

Tableau III. 8: Résultat d'optimisation d'acrylamide en mode MRM

Name	MRM (m/z) (g)	Collision-Induced Dissociation Voltage		
		CID voltage (volt)		
		Q1	CE	Q3
Acrylamide	72.1----55.00	-17	-17	-24
	72.1----27.05	-17	-26	-30
	72.1---44.00	-17	-25	-24

Ces grandeurs de voltages réglées pour chaque quadripôle ont été fixées suite au balayage de l'échantillon d'acrylamide sur un intervalle de tension (-50v à -10v) et elles sont les valeurs optimales. Le spectromètre de masse de l'Acrylamide à un potentiel de -50 v est présenté sur la figure III.5.

*Les autres spectres de (-45v à -10v) seront rapportés dans l'annexe.

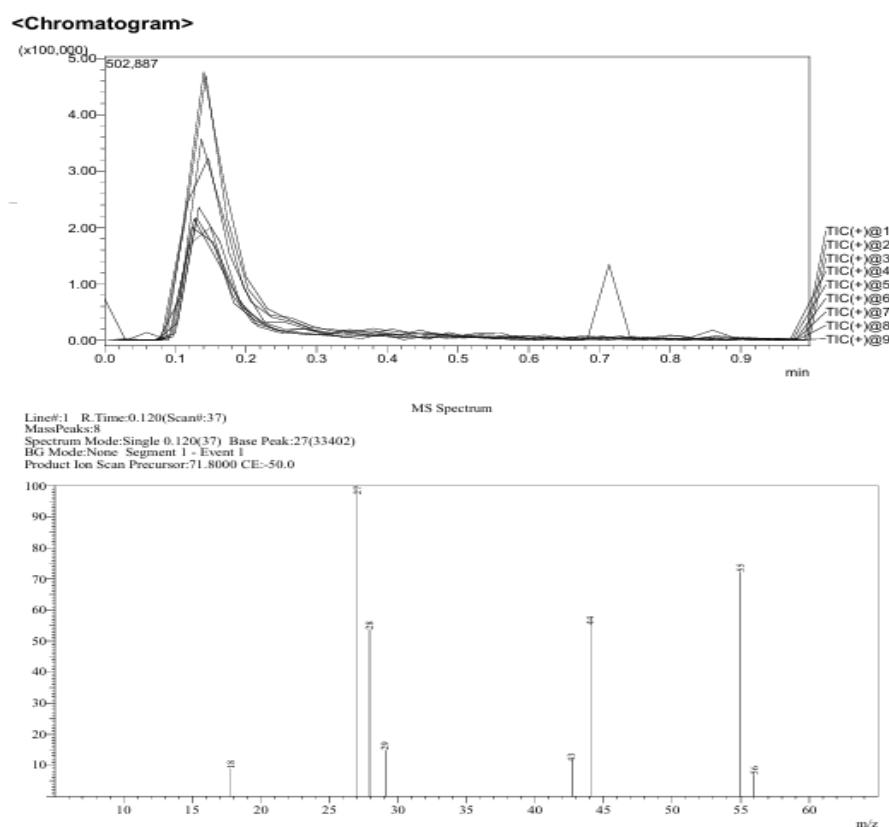


Figure III. 5: Spectromètre de masse de l'acrylamide à un potentiel de -50V lors du balayage

III.4.2 : Courbe d'étalonnage :

Après vérifications des concentrations réelles des étalons par analyse LC-MS/MS, on a éliminé le premier étalon de concentration 20 µg/ml car la valeur réelle est de 15,782 très loin de la valeur préparée, cela est dû à la difficulté de préparer par précision les concentrations d'ordre des ppb, et les résultats obtenus sont portés sur le tableau III.9 et la figure III.6

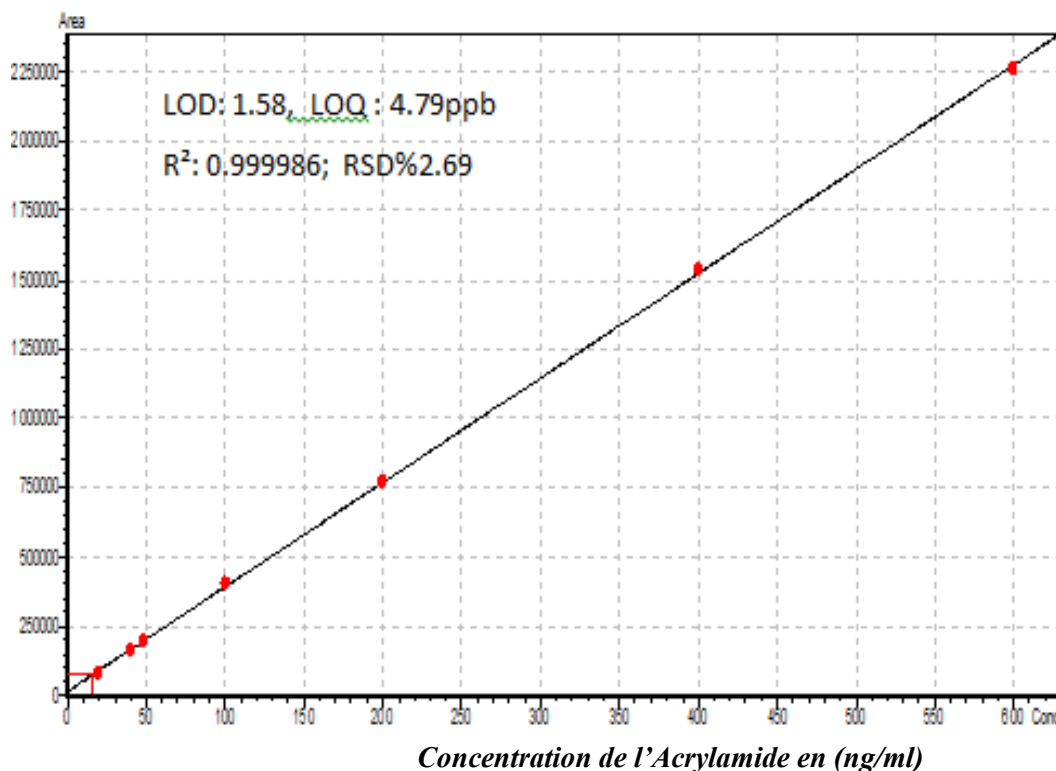


Figure III. 6: Courbe d'étalonnage de l'Acrylamide par LC-MS/MS

La courbe d'étalonnage indiquée par l'équation $Y = 3761.25x + 18299.3$ présente des caractéristiques qui témoignent d'une très bonne fiabilité analytique.

- Le coefficient de détermination ($R^2 = 0.999986$) est très proche de 1, indiquant une excellente corrélation entre les valeurs expérimentales et le modèle linéaire. Cela signifie que les points de calibration sont presque parfaitement alignés sur la courbe.
- La pente 3761.25 montre la sensibilité du signal par rapport à la concentration de l'analyte.
- La RSD% (Relative Standard Deviation) de 2.69% reflète une bonne répétabilité des mesures. Une faible variation entre les analyses indique un protocole analytique robuste.

- La LOD (Limite de Détection) de 1.58 ppb et la LOQ (Limite de Quantification) de 4.79 ppb confirment une capacité à détecter et quantifier des concentrations très faibles d'acrylamide, ce qui est crucial pour une analyse de contaminants.
- Une LOD faible permet de détecter la présence d'acrylamide même à des concentrations infimes.
- Une LOQ faible garantit que les résultats sont quantifiables avec précision à partir de 4.79 ppb, ce qui est essentiel pour la surveillance des seuils réglementaires.
- Avec un R^2 aussi élevé, la méthode est adaptée aux applications de quantification fiable en toxicologie alimentaire.

En résumé, cette courbe présente une excellente linéarité, une bonne sensibilité et une répétabilité robuste, ce qui indique une méthode analytique parfaitement optimisée.

La figure III.7 représente les spectres de masse des différents fragments de l'ion père de l'Acrylamide en fonction du temps de passage dans les trois quadripôles de la MS/MS.

Le m/z 72 (ion moléculaire père) ; m/z 55 (perte de NH_3) ; m/z 27 (perte de NH_3 et de $C=O$) ; m/z 44 (perte du groupement vinylique) et m/z 55 (CH_2NO^+) le pic le plus intense qui va servir de référence pour la quantification de l'Acrylamide.

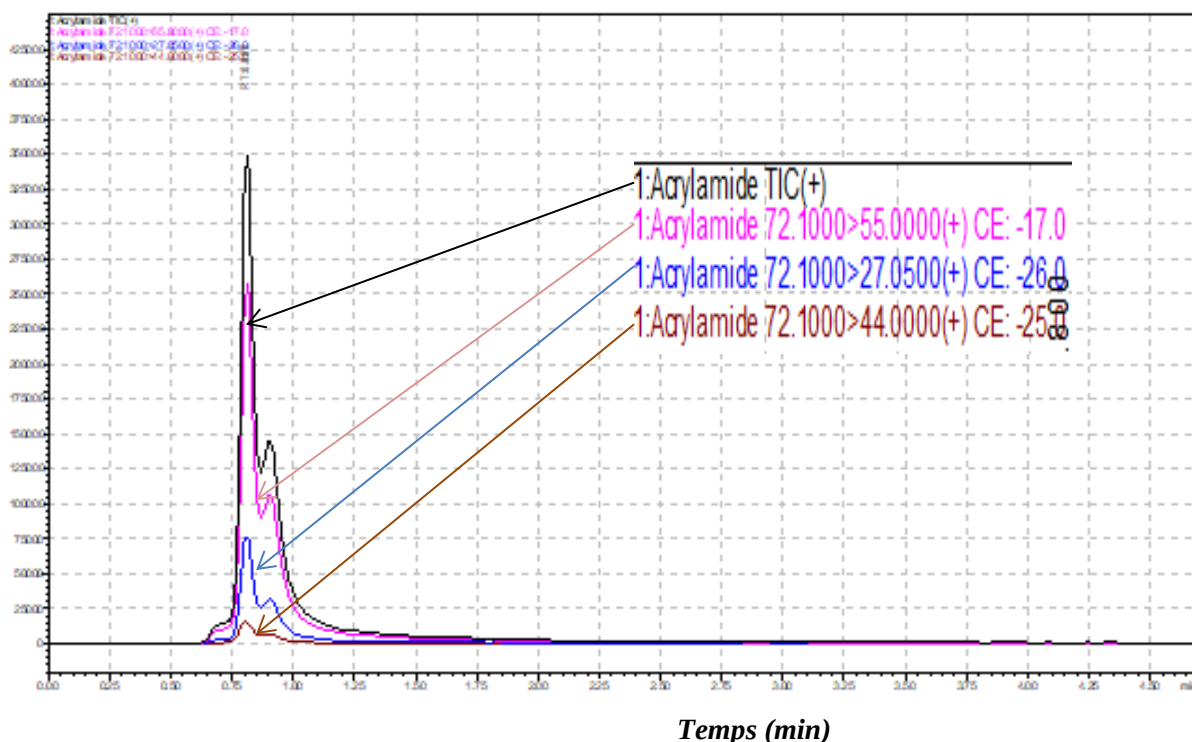


Figure III. 7 : spectre de masse MRM de l'Acrylamide par LC-MS/MS

Tableau III. 9: Concentrations (ng/ml) de l'acrylamide dans les échantillons étalons

Data#	Data Filename	Sample Type	Level#	m/z	Ret. Time	Area	Conc. (ng/ml)	Std. Conc.	Accuracy[%]	Cal. Point	Quant. Limit(QL)	Detect. Limit(DL)
1	data20 ppb.lcd	Standard(Calc.Point)	1	TIC	0,808	77660	15,782	20	78,9	0	3,38	1,12
2	data40 ppb.lcd	Standard(Calc.Point)	2	TIC	0,814	158584	37,297	40	93,2	1	2,79	0,92
3	data48ppb.lcd	Standard(Calc.Point)	3	TIC	0,796	195601	47,139	48	98,2	1	3,18	1,05
4	data100 ppb.lcd	Standard(Calc.Point)	4	TIC	0,806	400214	101,539	100	101,5	1	4,42	1,46
5	data200 ppb.lcd	Standard(Calc.Point)	5	TIC	0,811	774868	201,148	200	100,6	1	6,36	2,1
6	data400 ppb.lcd	Standard(Calc.Point)	6	TIC	0,805	1537089	403,799	400	100,9	1	6,17	2,04
7	data600 ppb.lcd	Standard(Calc.Point)	7	TIC	0,81	2264056	597,077	600	99,5	1	7,24	2,39
	Average	/		TIC	0,807	772582	200,54	/	96,1	/	4,79	1,58
	%RSD	/		TIC	0,7298	107,52352	110,132226	/	8,416841	/	37,233837	37,233837
	Maximum	/		TIC	0,814	2264056	597,077	/	101,5	/	7,24	2,39
	Minimum	/		TIC	0,796	77660	15,782	/	78,9	/	2,79	0,92
	Std. Dev.	/		TIC	0,005889	830706,903	220,859323	/	8,091428	/	1,783961	0,588707

III.5 : Analyse des échantillons de café du marché Algérien

Les échantillons de café du marché Algérien sont divisés en deux familles :

- a- 5 échantillons de mélange Arabica + Robusta sans sucre ajouté
- b- 10 échantillons de Robusta 100% avec 3% de sucre ajouté

Après avoir réalisé l'extraction et purification de l'acrylamide dans le café en respectant la norme EN 16618-2015, les échantillons sont portés dans les Vials en utilisant des filtres à seringue de 0,22µm. Afin d'assurer la fiabilité et la reproductibilité des résultats, chaque échantillon de café provenant du marché algérien a été analysé à travers trois essais distincts. Les données obtenues ont ensuite été consolidées et sont présentées dans le tableau ci-dessous, offrant une vision précise des variations et tendances observées.

Tableau III. 10: Concentration en Acrylamide dans différents échantillons du café de marché algérien (%Robusta avec 3% sucre ajouté)

Echantillon	essai 1 (conc;ng/ml)	essai 2 (conc;ng/ml)	essai 3 (conc;ng/ml)	Ret Time	moyenne (conc;ng/ml)	écart type Standard
1	169,39	171,35	166,7	0.811	169,146667	2,3345306
2	240,23	230,012	230,19	0.811	233,477333	5,8486580
3	168,44	169,21	167,42	0.808	168,356667	0,89790499
4	170,78	178,93	177,03	0.802	175,58	4,2640942
5	280,36	292,21	285,72	0.801	286,096667	5,9339728
6	189,55	187,82	195,2	0.834	190,856667	3,8596156
7	109,79	114,21	111,28	0,796	111,76	2,2487552
8	239,88	238,04	242,63	0,806	240,183333	2,3099855
9	348,7	354,92	350,59	0,811	351,403333	3,1887667
10	314,71	308,27	309,63	0,805	310,87	3,3943482

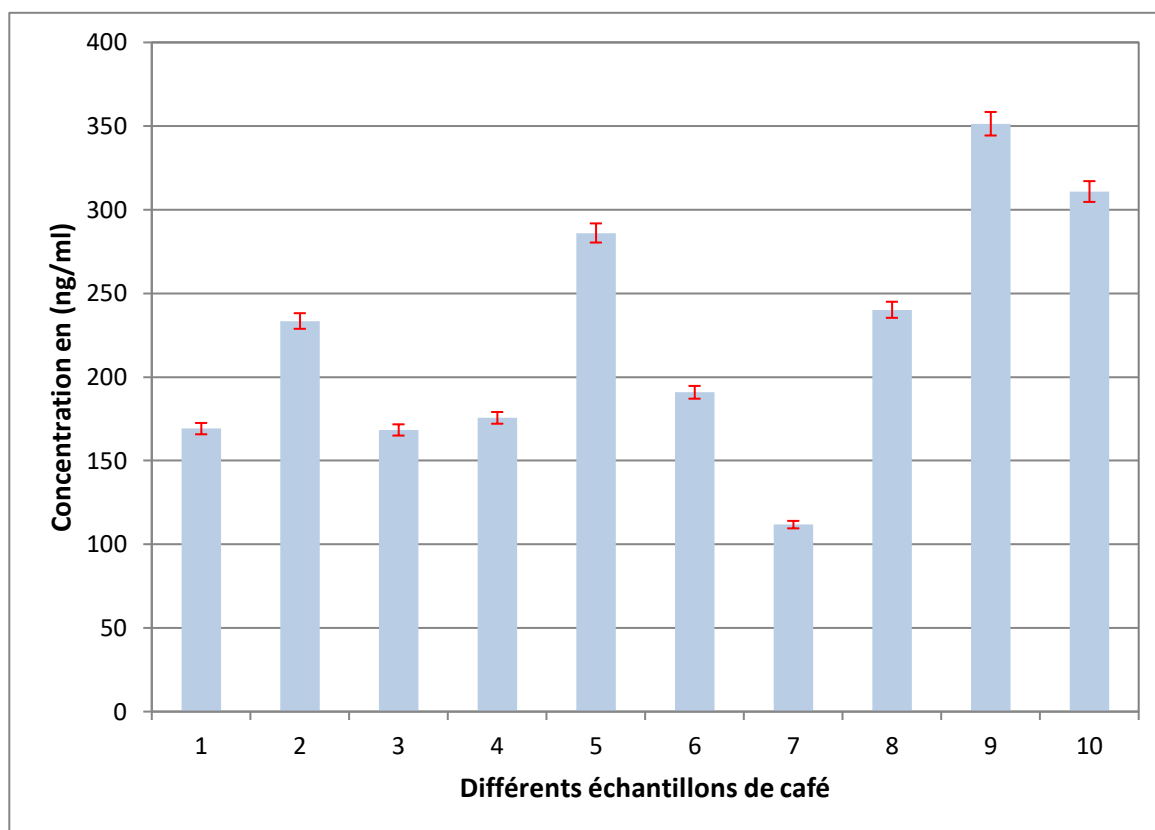


Figure III. 8: Teneurs en acrylamide des différents échantillons de café (Robusta avec 3% sucre ajouté).

Tableau III. 11: Concentration en Acrylamide dans différents échantillons du café de marché algérien (Mélange Arabica + Robusta sans sucre ajouté)

échantillon	essai1 (conc;ng/ml)	essai2 (conc;ng/ml)	essai3 (conc;ng/ml)	Ret Time	moyenne (conc;ng/ml)	écart type Standard
1	32,03	16,91	17,67	0.815	22,2033333	8,5186227
2	66,34	60,23	61,74	0.806	62,77	3,1825618
3	113,45	113,72	118,93	0.807	115,366667	3,0888886
4	49,9	48,31	53,08	0.855	50,43	2,4287651
5	183,61	178,32	177,67	0.805	179,866667	3,2580720

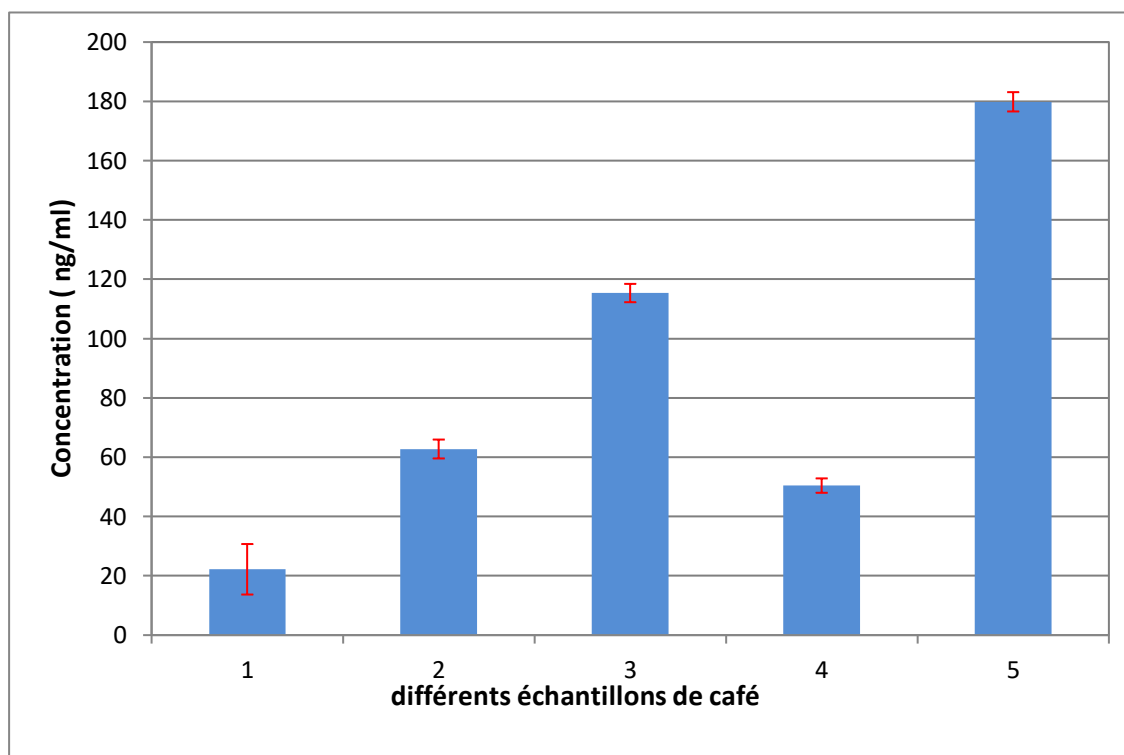


Figure III. 9: Teneurs en acrylamide des différents échantillons de café (Mélange Arabica + Robusta sans sucre ajouté)

L'histogramme III.8 et le tableau III.10 montrent des teneurs moyennes en acrylamide des différentes marques de café Algérien composé de café vert robusta 100% avec 3% de sucre ajouté. On constate une variation de la teneur en Acrylamide allant de 111,76 ng/ml à 351,40 ng/ml. Ceci est probablement dû au taux réel de sucre ajouté qui contribue à la formation de l'acrylamide selon la réaction de Maillard (**Houessou et al., 2007**), en outre le temps et la température de torréfaction de différentes marques de café étudiés.

Les histogrammes montrent que le café Robusta présente une teneur en acrylamide plus élevée par rapport au mélange Robusta-Arabica.

Cette différence peut s'expliquer par la composition chimique propre à chaque variété de café.

- Une baisse progressive de la teneur en acrylamide dans les mélanges indique une interaction entre les deux variétés qui modifie la chimie de la réaction de Maillard.
- La tendance observée peut être liée à la proportion de café Robusta dans le mélange : plus la quantité d'Arabica est élevée, plus la teneur en acrylamide diminue.
- Le café Robusta contient généralement plus d'acrylamide que l'Arabica, en raison de sa teneur plus élevée en précurseurs de la réaction de Maillard, comme l'asparagine.

- En intégrant de l'Arabica dans le mélange, on réduit ces précurseurs, ce qui limite la formation d'acrylamide
- En intégrant de l'Arabica dans le mélange, on réduit ces précurseurs, ce qui limite la formation d'acrylamide.

L'utilisation d'un mélange Robusta-Arabica est une approche efficace pour réduire la teneur en acrylamide dans le café, tout en conservant un bon équilibre de saveur et d'arôme.

III.6 : Analyse des échantillons de café à différentes températures et temps de torréfaction:

a) - Les six (06) échantillons du café vert robusta qui ont été torréfiés à différentes température pendant 20 minutes ont subi la même extraction et purification selon la norme EN 16618-2015, puis analysés, les résultats obtenus sont dans le tableau III.12

Tableau III. 12: Teneur en Acrylamide dans le café torréfié à différentes températures pendant 20 minutes

échantillons Torré 20min	essai 1 (conc;ng/ml)	essai 2 (conc;ng/ml)	essai 3 (conc;ng/ml)	Ret Time	moyenne (conc;ng/ml)	ecart type Standard
120C°	11,6	12,6	12,3	0.855	12,1666667	0,513160144
150C°	93,08	92,2	93,1	0,796	92,7933333	0,513939037
180C°	207,53	206,41	208,01	0,806	207,316667	0,82105623
200C°	360,14	363,27	362,96	0,811	362,123333	1,724596571
220C°	308,5	308,59	305,34	0,805	307,476667	1,850954709
250C°	127,22	127,41	124,37	0,81	126,333333	1,702948424

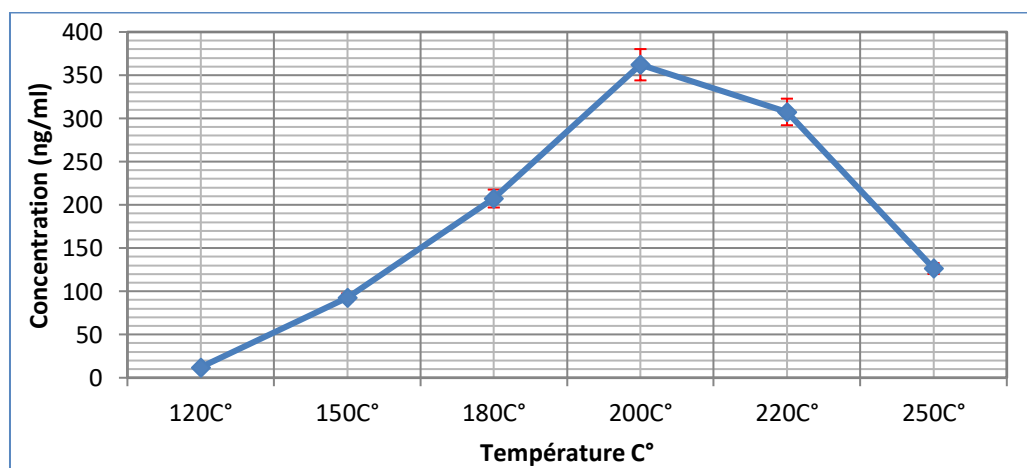


Figure III. 10: Evolution de la teneur de l'acrylamide en fonction de la température de torréfaction pendant 20 minutes

Dans ce travail, l'effet de la température de torréfaction sur la teneur en acrylamide a été étudié; comme il a déjà été mentionné, le café vert a été soumis à différentes températures 120 °C, 150 °C, 180 °C, 200 °C, 220 °C et 250 °C pendant 20 minutes, respectivement des couleurs claires, moyennes et foncées ont été obtenues pour les différents échantillons. Le degré de torréfaction constitue un facteur clé dans la teneur en l'acrylamide

La concentration en acrylamide augmente progressivement avec la température.

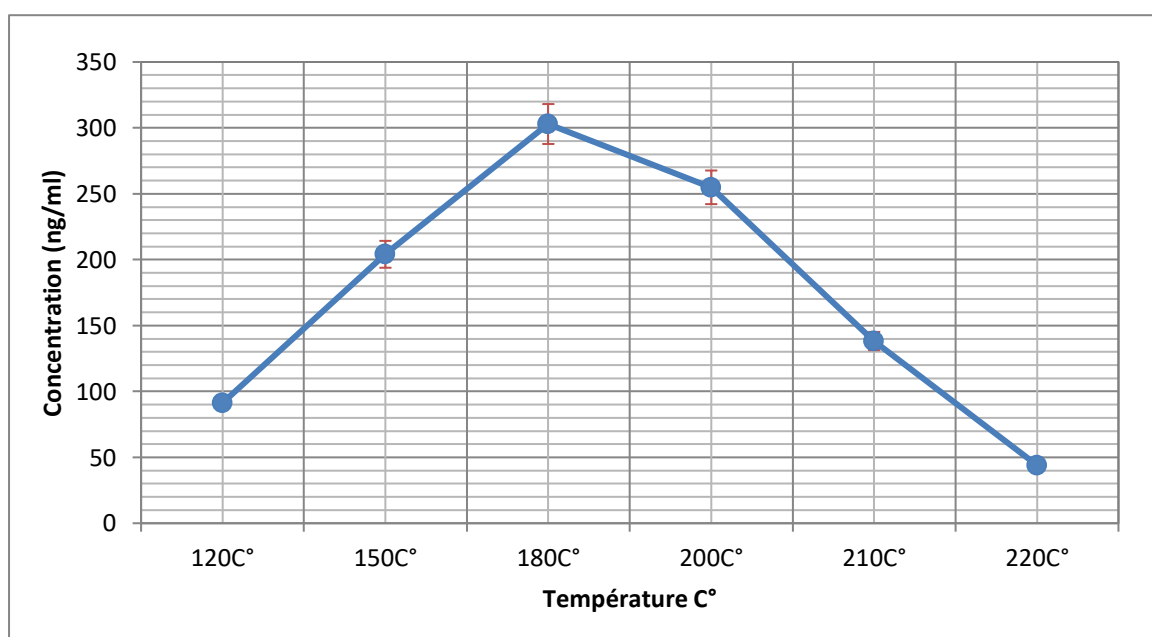
- Cette hausse est due à la réaction entre l'asparagine et les sucres réducteurs, qui génèrent l'acrylamide.
- Le pic de concentration est observé autour de 200°C, où la formation de l'Acrylamide est maximale.
- Au-delà de 200°C, la concentration en acrylamide commence à diminuer.
- La chaleur entraîne la décomposition de l'acrylamide en sous-produits volatils. les Aldéhydes, les cétones, les nitriles et imides et amine(Cladière and Camel, 2017).
- Une torréfaction plus poussée réduit la teneur en acrylamide, mais peut altérer les propriétés organoleptiques du café.

On remarque que le graphe de la concentration de l'acrylamide en fonction de la température de torréfaction montre une tendance caractéristique liée à la réaction de Maillard et à la dégradation thermique de l'acrylamide. Ces résultats expérimentaux obtenus sont bien illustrés sur la figure suivante:

b) - Les six (06) échantillons du café vert robusta qui ont été torréfiés à différentes température pendant 40 minutes ont subi la même extraction et purification selon la norme EN 16618-2015 et ont été analysés. Les résultats obtenus sont dans le **tableau III.13 et la Figure III.1**

Tableau III. 13: Teneur en Acrylamide dans le café torréfié à différentes températures pendant 40 minutes

échantillons Torré 20min	essai 1 (conc;ng/ml)	essai 2 (conc;ng/ml)	essai 3 (conc;ng/ml)	Ret Time	moyenne (conc;ng/ml)	ecart type Standard
120C°	91,56	90,83	91,49	0.855	91,2933333	0,402781992
150C°	203,71	206,79	201,73	0,796	204,076667	2,549849669
180C°	302,93	300,81	305,08	0,806	302,94	2,135017564
200C°	251,22	256,29	257,21	0,811	254,906667	3,225714391
210C°	138,45	138,39	137,9	0,805	138,246667	0,301717307
220C°	42,39	44,34	45,37	0,81	44,0333333	1,51348384

**Figure III. 11: Evolution de la teneur de l'acrylamide en fonction de la température de torréfaction pendant 40 minutes**

Une même procédure suivie pour le temps de torréfaction du café de 20 minutes à différentes températures pour étudier l'influence du temps de torréfaction de 40 minutes (sauf qu'on a remarqué que les grains de café commencent à se calciner à la température de 250 C°. Le café vert cette fois ci a été soumis à différentes températures 120 °C, 150 °C, 180 °C, 200 °C, 210 °C et 220 °C pendant 40 minutes,

La concentration en acrylamide augmente progressivement avec la température.

- Cette hausse est due à la réaction entre l'asparagine et les sucres réducteurs, qui génèrent l'acrylamide.

-
- Le pic de concentration est observé autour de 180°C, où la formation de l'Acrylamide est maximale.
 - Au-delà de 180°C, la concentration en acrylamide commence à diminuer.
 - La chaleur entraîne la décomposition de l'acrylamide en sous-produits volatils. tel que les Aldéhydes, les cétones, les nitriles et imides et amine (**Cladière and Camel, 2017**)
 - Au-delà d'un certain temps, la concentration en acrylamide diminue progressivement.
 - Une torréfaction prolongée réduit la teneur en acrylamide, mais peut altérer les propriétés organoleptiques du café.

La comparaison des résultats obtenus lors de l'étude de l'évolution de la teneur en Acrylamide en fonction de la température et le temps de torréfaction pendant 20 et 40 minutes nous permet de déduire que la torréfaction du café vert Robusta à 120 C° pendant 40 minutes présente des teneur environ 08 fois plus que celle torréfié à la même température pendant 20 minutes. Ceci est dû à la progression de la réaction de formation de l'Acrylamide selon les réactions de Maillard.

III.7 : Dosage de l'acrylamide dans les échantillons d'urine

En l'absence d'une méthode normalisée pour le dosage de l'acrylamide dans les urines, une approche classique d'extraction et de purification a été mise en œuvre. Cette stratégie repose sur des techniques d'extraction liquide/liquide éprouvées, permettant de séparer et purifier l'acrylamide avant son analyse.

Après l'extraction par un solvant polaire (l'Acétonitrile), on a procédé à l'élimination des protéines par précipitation à l'acétone.

Puisque l'acrylamide se métabolise dans le corps humain, en formant des métabolites différents, dont la majorité est le glycidamide de masse moléculaire de 87,08 g/mol, alors on procède au dosage de ce composé et l'acrylamide en question ensemble dans l'échantillon.

En absence des étalons du produit glycidamide et la courbe d'étalonnage de glycidamide on est passé de l'analyse de mode MS/MS au mode MS et on quantifie approximativement les deux composés à la fois, en paramétrant le spectromètre pour qu'il suit les deux masses m/z spécifique (88,08 et 72,1) les ions père des deux composés ionisés. Les résultats d'analyse sont mentionnés dans la figure suivante :

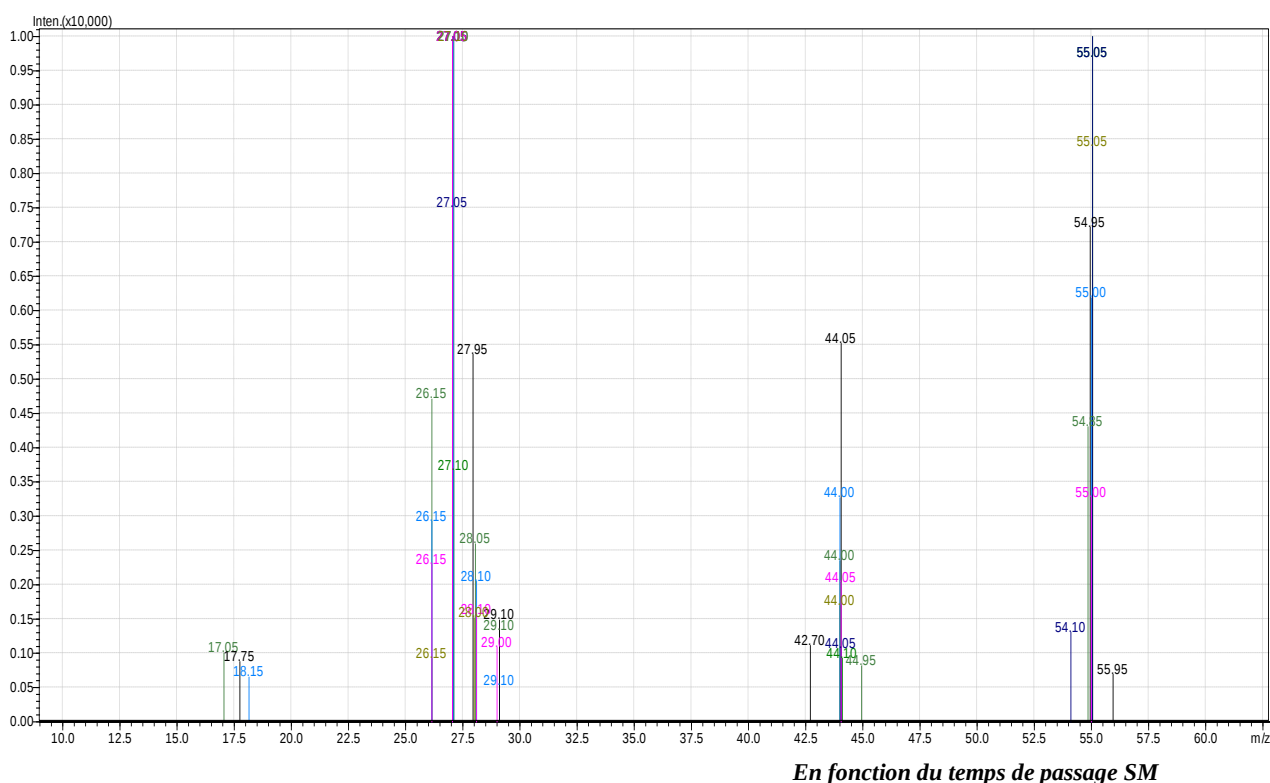


Figure III. 12: Spectromètre de masse de l'urine après fragmentation

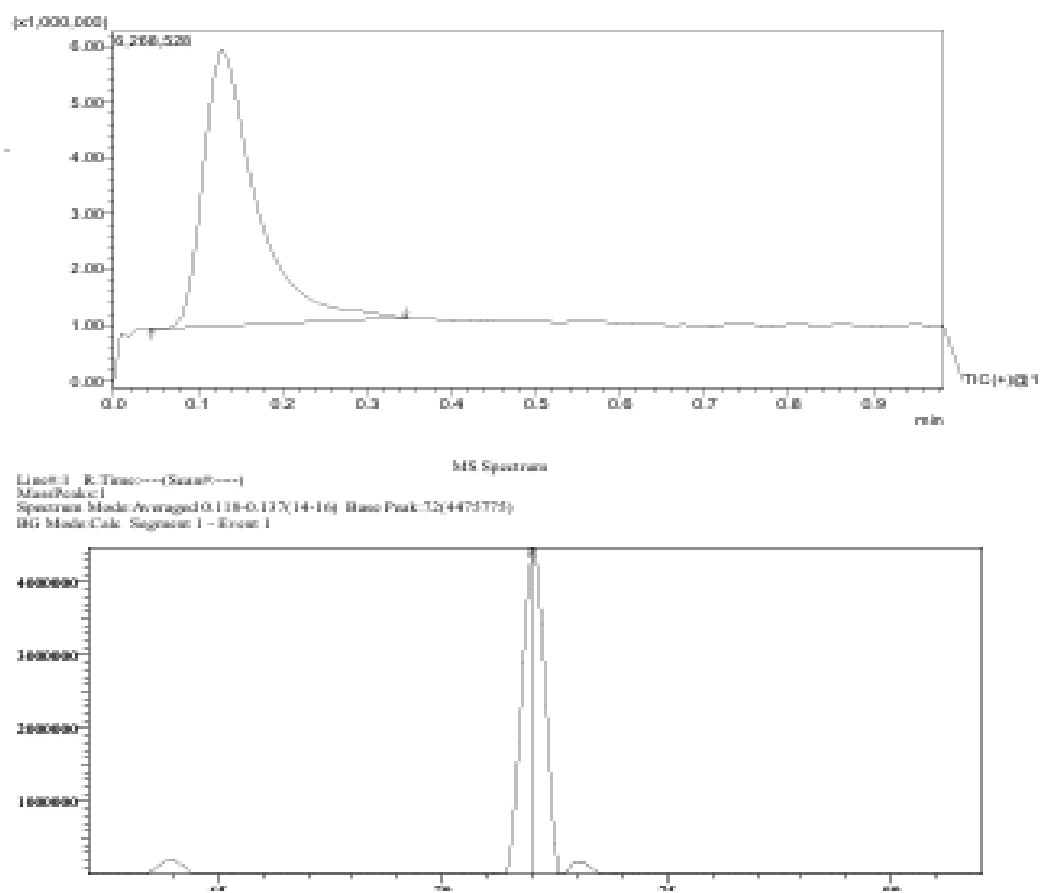


Figure III. 13: Chromatogramme de l'urine après fragmentation

Remarque :

Bien que les résultats d'analyse de l'acrylamide dans les urines ne soient pas d'une précision absolue en raison des limites méthodologiques et analytiques, ils offrent néanmoins une estimation pertinente de l'exposition réelle. Cette approche permet de mieux comprendre les niveaux d'acrylamide présents dans l'organisme et d'évaluer les risques associés, tout en mettant en évidence la nécessité d'améliorer les techniques de détection et de quantification pour une meilleure fiabilité des données.

Tableau III. 14: Concentration de l'acrylamide dans les différents échantillons d'urines

Data Filename	Sample Type	Level#	m/z	Ret. Time	Area	Conc. (ng/ml)	M,Conc.(ng/ml)
ECHANTILLON 1	first meas	1	TIC	0.808	1843257,8	485,2	485,016667
	second meas	2	TIC	0.814	1833967,5	482,73	
	third meas	3	TIC	0.796	1850479,4	487,12	
ECHANTILLON 2	first meas	4	TIC	0.806	1583994,8	416,27	416,646667
	second meas	5	TIC	0.811	1591103,6	418,16	
	third meas	6	TIC	0.805	1581136,3	415,51	
ECHANTILLON 3	first meas	7	TIC	0.815	1425571	374,15	373,406667
	second meas	8	TIC	0.806	1419515,4	372,54	
	third meas	9	TIC	0.807	1423239	373,53	
ECHANTILLON 4	first meas	10	TIC	0.811	1149984,2	300,88	302,006667
	second meas	11	TIC	0.808	1158033,3	303,02	
	third meas	12	TIC	0.802	1154648,2	302,12	
ECHANTILLON 5	first meas	13	TIC	0.801	976552,96	254,77	254,253333
	second meas	14	TIC	0.834	973769,64	254,03	
	third meas	15	TIC	0.855	973506,35	253,96	
ECHANTILLON 6	first meas	16	TIC	0,796	961846,48	250,86	250,61
	second meas	17	TIC	0,806	962561,11	251,05	
	third meas	18	TIC	0,811	958310,9	249,92	
ECHANTILLON 7	first meas	19	TIC	0,805	790596,76	205,33	205,106667
	second meas	20	TIC	0,81	789242,71	204,97	
	third meas	21	TIC	0.808	789430,78	205,02	
ECHANTILLON 8	first meas	22	TIC	0.814	760243,48	197,26	196,776667
	second meas	23	TIC	0.796	756369,39	196,23	
	third meas	24	TIC	0.806	758663,75	196,84	
ECHANTILLON 9	first meas	25	TIC	0.811	499438,4	127,92	127,796667
	second meas	26	TIC	0.805	497520,16	127,41	
	third meas	27	TIC	0.807	499964,98	128,06	
ECHANTILLON 10	first meas	28	TIC	0.811	471567,54	120,51	120,276667
	second meas	29	TIC	0.808	469122,73	119,86	
	third meas	30	TIC	0.802	471379,48	120,46	

Les prélèvements urinaires sont réalisés sur divers groupes de personnes, incluant des adultes et des enfants consommant du café et des fumeurs, ainsi que des enfants non-consommateurs et non-fumeurs, en plus de femmes adultes, Les résultats des analyses sont reportés sur la figure *III.14*.

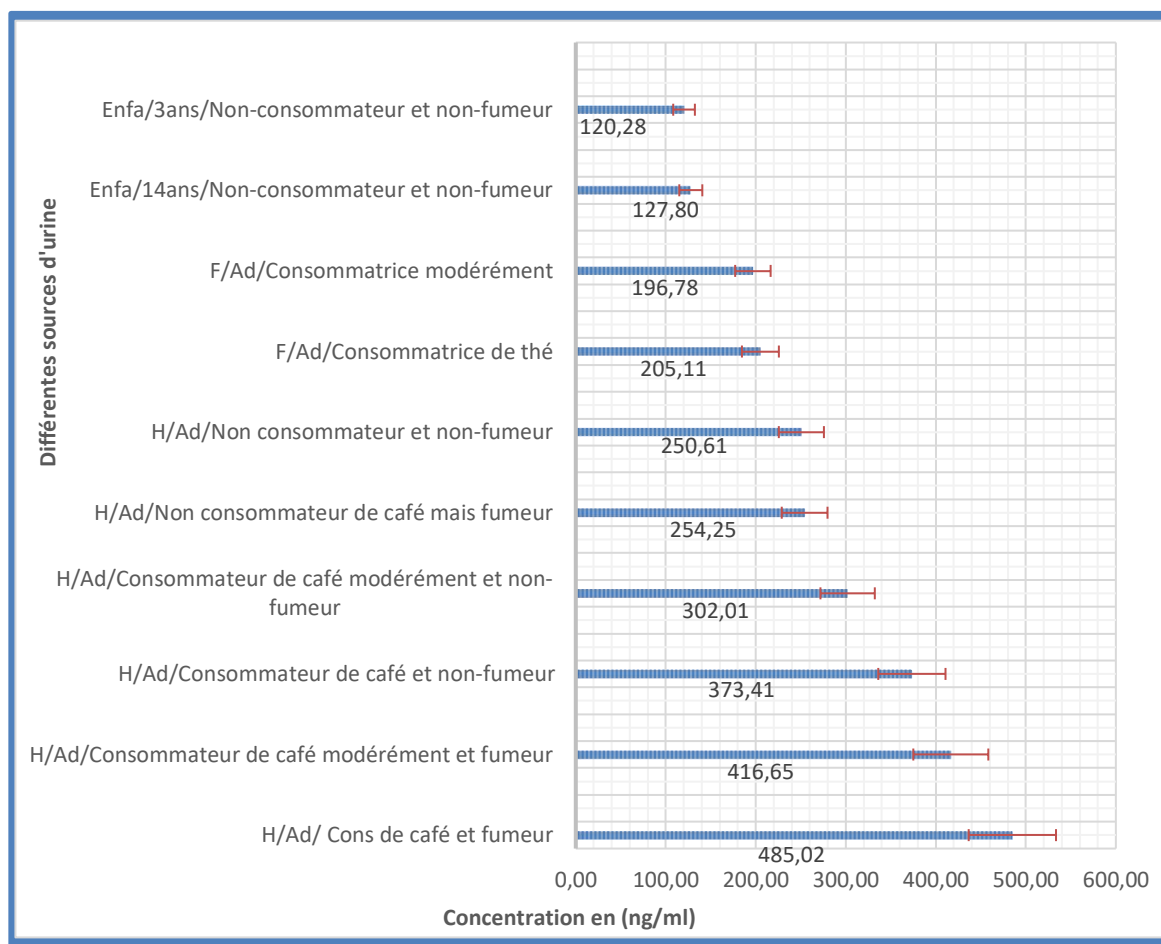


Figure III. 14: Evolution de la teneur de glycidamide et l'acrylamide dans les différents échantillons d'urine de différente source

L'analyse de cet histogramme révèle une relation claire entre la consommation de café, le tabagisme et les niveaux glycidamide et d'acrylamide détectés dans l'urine. Voici les principaux points à retenir :

1. Les concentrations les plus élevées en acrylamide sont observées chez les hommes adultes consommateurs de café et fumeurs, avec une valeur avoisinant 500 ng/ml. Cette tendance suggère que le tabagisme et la consommation de café contribuent significativement à l'augmentation des niveaux d'acrylamide.
2. La consommation modérée de café combinée au tabagisme entraîne une légère baisse de la concentration, à environ 450 ng/ml.
3. Les non-fumeurs montrent des niveaux d'acrylamide plus faibles que leurs homologues fumeurs, même lorsqu'ils consomment du café. Un homme adulte consommateur de café non-fumeur présente une concentration d'environ 400 ng/ml, tandis que celui qui consomme modérément du café et ne fume pas atteint 350 ng/ml.

4. Les fumeurs non-consommateurs de café affichent une concentration de 300 ng/ml, ce qui confirme l'impact du tabac sur l'exposition à l'acrylamide.
5. Les individus non-consommateurs de café et non-fumeurs présentent les concentrations en acrylamide les plus faibles chez les adultes, environ 250 ng/ml.
6. Les femmes adultes consommant modérément du café ont des niveaux encore plus bas, de l'ordre de 180-200 ng/ml.
7. Les enfants non-consommateurs de café et non-fumeurs ont les concentrations les plus faibles, les valeurs étant autour de 150 ng/ml pour un enfant de 14 ans et 100 ng/ml pour un enfant de 3 ans.

De ces résultats expérimentaux on peut déduire :

- La forte présence d'acrylamide dans l'urine des fumeurs et des consommateurs de café indique une possible contribution de ces deux facteurs à l'exposition systémique.
- Les enfants présentent les concentrations les plus faibles, ce qui peut être attribué à leur absence de consommation de café et de tabac.
- Les femmes adultes ayant un régime d'une consommation modérée de café présentent des concentrations relativement faibles, soulignant une différence liée aux habitudes de consommation.

III.8 : conclusion

Les résultats obtenus confirment la présence et la variabilité des concentrations de l'acrylamide dans le café en fonction des conditions de torréfaction. La température et la durée du processus influencent significativement la formation et la dégradation de ce composé, avec des pics observés à 180 °C et 200 °C, selon le temps de torréfaction. L'analyse des cafés commercialisés en Algérie montre que le robusta, notamment avec l'ajout de sucre, présente des niveaux plus élevés d'acrylamide que le mélange robusta-arabica sans ajout de sucre.

L'évaluation de l'excrétion urinaire met en évidence une corrélation entre la consommation de café et l'élimination de l'acrylamide, avec des variations selon les groupes de consommateurs.

A brown decorative shape, resembling a stylized 'L' or a corner bracket, is positioned to the left of the word 'Conclusion'.

Conclusion

et

Perspectives

IV.1: Conclusion Générale

Ce travail consiste à l'évaluation des teneurs en Acrylamide dans différentes marque du café moulu du marché Algérien d'une part, et d'autre part d'étudier sa corrélation avec la température et le temps de torréfaction du café vert Robusta, ainsi que sa quantification dans les urinaires humaines

Cette étude a permis de confirmer la présence d'acrylamide dans le café et l'urine grâce à des analyses HPLC-UV et LC-MS/MS selon la norme EN 16618:2015. Les résultats ont montré que sa concentration varie selon la température et la durée de torréfaction, avec un pic observé autour de 180–200 °C, suivi d'une dégradation à plus haute température. L'analyse de cafés du marché algérien a révélé des niveaux plus élevés dans les robustas sucrés comparés aux mélanges robusta-arabica, confirmant l'effet du type de grain et des additifs.

Ces observations sont en accord avec les études internationales qui ont été faites par **(Rita C. Alves, C. Soares, Susana Casal, J.O. Fernandes, M. Beatriz P.P.Oliveira)** qui rapportent une accumulation maximale de l'acrylamide à des températures intermédiaires, suivie d'une dégradation à mesure que la torréfaction progresse.

Les analyses urinaires ont mis en évidence une excrétion accrue chez les amateurs de café, les fumeurs, et des différences selon l'âge et le sexe. Ces résultats appuient l'importance de maîtriser les paramètres de torréfaction et de mieux comprendre les voies métaboliques de l'acrylamide. Ils ouvrent la voie à des stratégies et approches industrielles visant à réduire la présence d'Acrylamide, un composé néoformé préoccupant, et à améliorer la gestion des risques pour la santé des consommateurs.

Perspectives

À la lumière de ces résultats, cette étude préliminaire nécessite d'autres recherches approfondies et plus accomplies incluant :

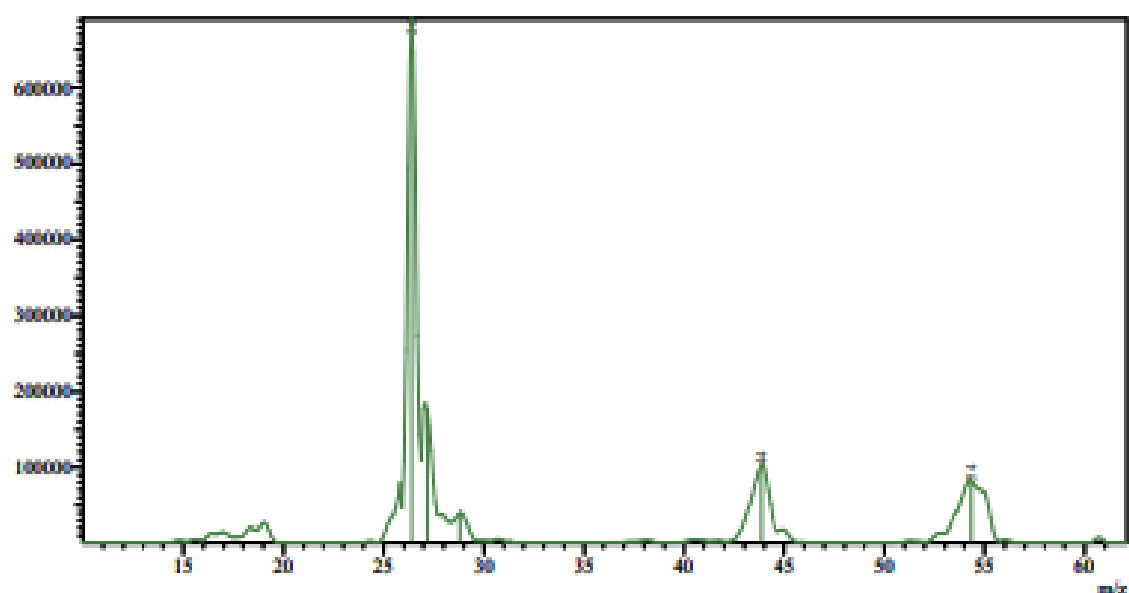
- ✓ Test des profils de température-temps alternatifs pour réduire significativement la formation d'acrylamide tout en conservant les arômes du café.
- ✓ l'utilisation de variétés de café à faible teneur en asparagine ou à fort potentiel antioxydant pour limiter les précurseurs d'acrylamide.
- ✓ Exploration des traitements physiques ou enzymatiques après torréfaction pour diminuer les résidus d'acrylamide.
- ✓ Étendre l'analyse urinaire à des populations plus larges ou à long terme pour évaluer l'exposition chronique selon les habitudes de consommation.
- ✓ Sensibilisation des industriels et consommateurs à la problématique de l'acrylamide, et proposer des recommandations basées sur l'approche ALARA. (Aussi bas que raisonnablement possible)

A stylized brown graphic element consisting of a vertical rectangle on the left and a horizontal bar extending to the right, with a diagonal cut on the right side.

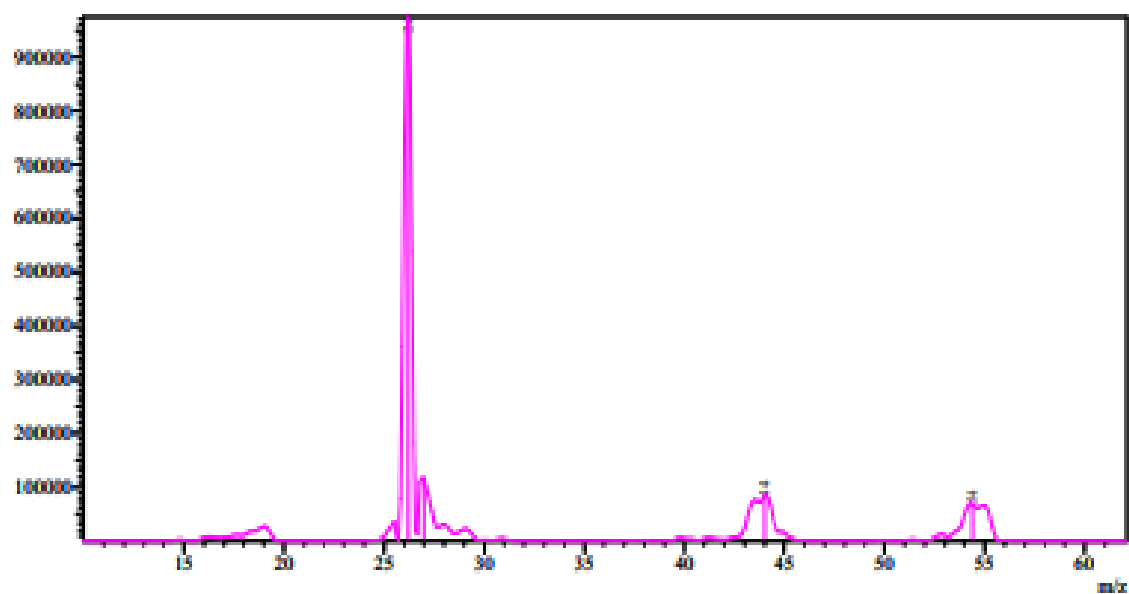
ANNEXES

5/11/2025 4:31:35 PM Page 2 / 5

Line#2 R.Time:0.093(Scan#29)
MassPeak:5
Spectrum Mode:Single 0.093(29) Base Peak:26(691138)
BG Mode:None Segment 1 - Event 2
Product Ion Scan Precursor:72.1000 CE:-45.0



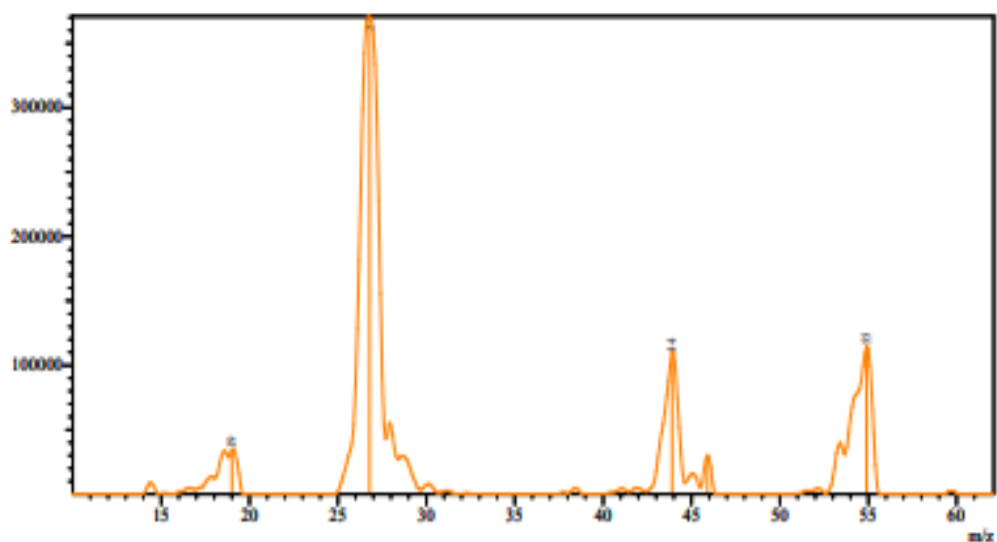
Line#3 R.Time:0.097(Scan#30)
MassPeak:4
Spectrum Mode:Single 0.097(30) Base Peak:26(974830)
BG Mode:None Segment 1 - Event 3
Product Ion Scan Precursor:72.1000 CE:-40.0



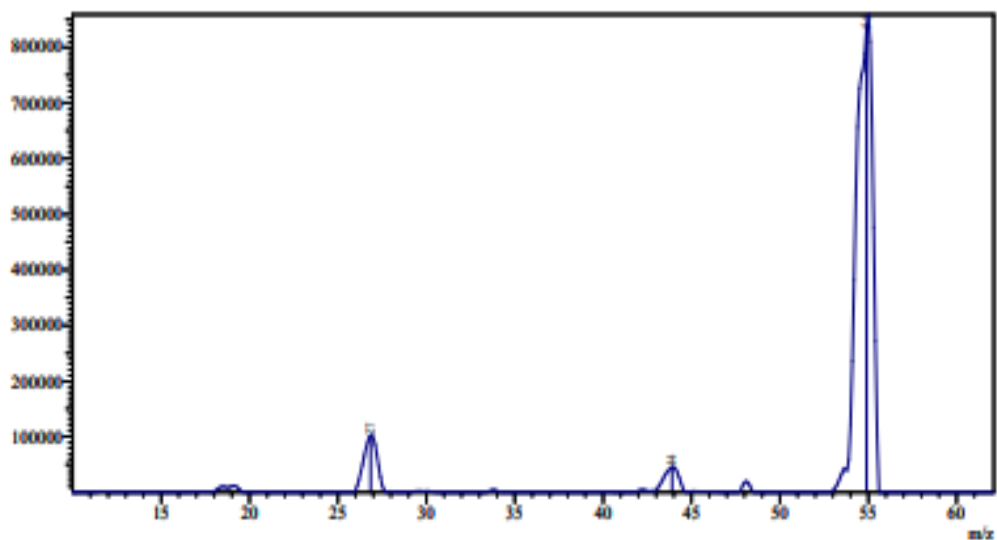
Annexe 1 : spectromètres de masse de l'acrylamide à CE - 45 et -40v

5/11/2025 4:31:35 PM Page 3 / 5

Line#4 R.Time:0.100(Scan#31)
MassPeak:5
Spectrum Mode:Single 0.100(31) Base Peak:27(370592)
BG Mode:None Segment 1 - Event 4
Product Ion Scan Precursor:72.1000 CE:-35.0

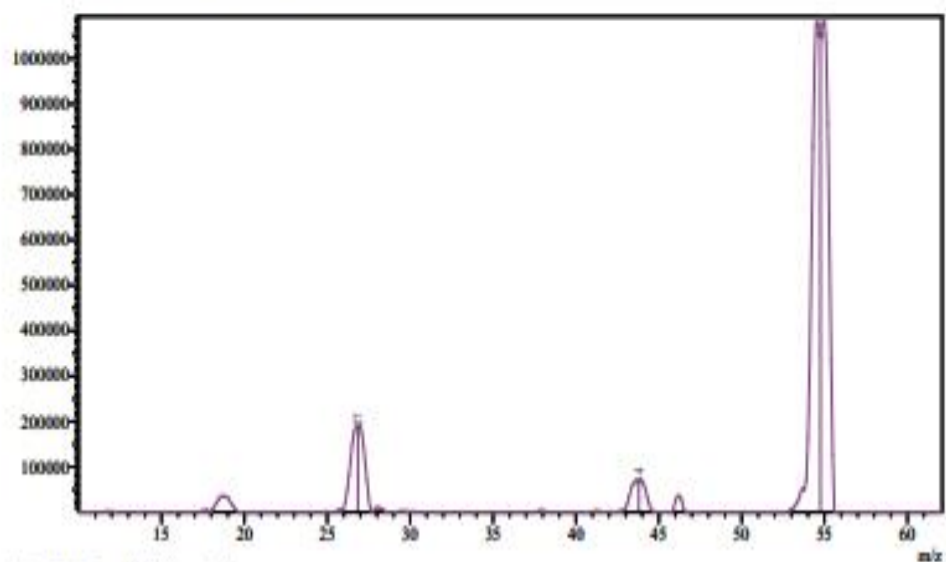


Line#5 R.Time:0.117(Scan#36)
MassPeak:3
Spectrum Mode:Single 0.117(36) Base Peak:55(836978)
BG Mode:None Segment 1 - Event 9
Product Ion Scan Precursor:72.1000 CE:-10.0

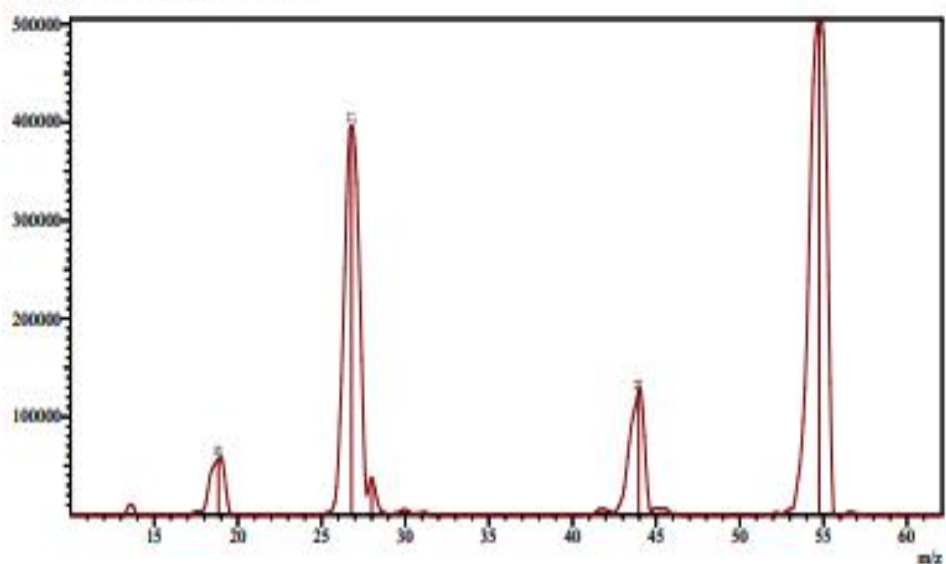


Annexe 2 : spectromètres de masse de l'acrylamide à CE - 35 et -10v

Line# 6 R-Time:0.113(Scan#35)
MassPeak:3
Spectrum Mode:Single 0.113(35) Base Peak:55(1048375)
BG Mode:None Segment 1 - Event 8
Product Ion Scan Precursor:72.1000 CE:-15.0

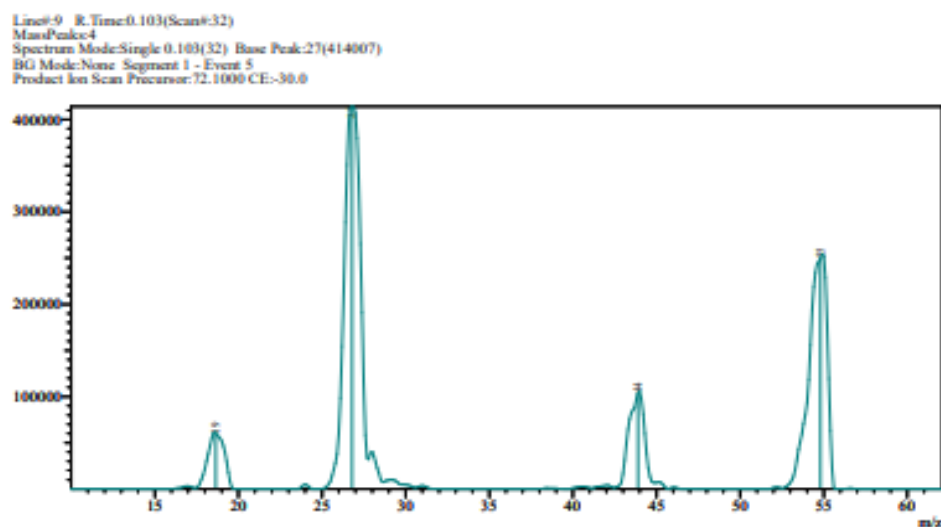


Line# 7 R-Time:0.107(Scan#33)
MassPeak:5
Spectrum Mode:Single 0.107(33) Base Peak:55(502867)
BG Mode:None Segment 1 - Event 6
Product Ion Scan Precursor:72.1000 CE:-25.0



Annexe 3 : spectromètres de masse de l'acrylamide à CE - 15 et -25v

5/11/2025 4:31:35 PM Page 5 / 5



Annexe 4: spectromètre de masse de l'acrylamide à CE -30v

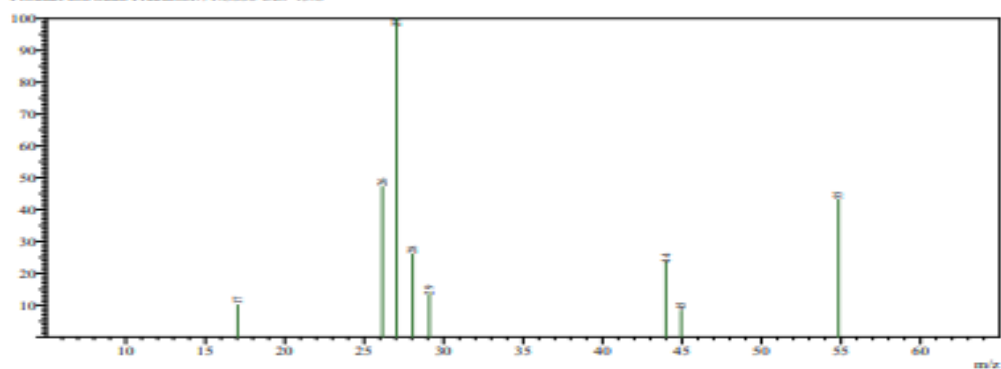
Line#2 R.Time:0.123(Scan#:38)

MassPeak:8

Spectrum Mode:Single 0.123(38) Base Peak:27(57804)

RG Mode:None Segment 1 - Event 2

Product Ion Scan Precursor:71.8000 CE:-45.0



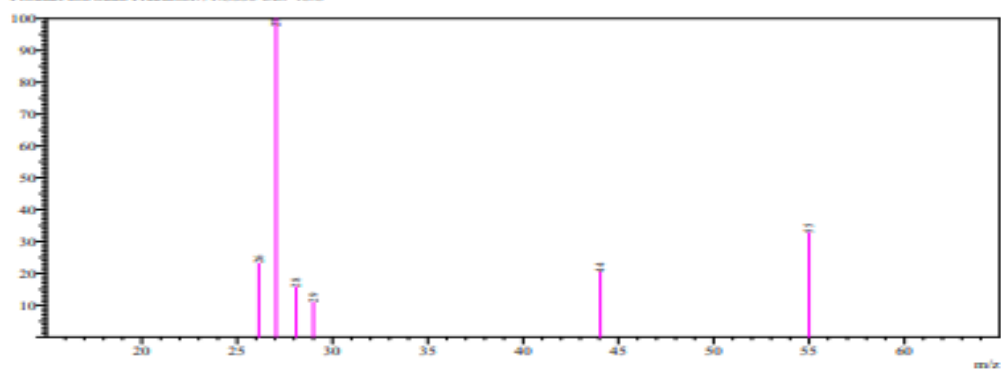
Line#3 R.Time:0.127(Scan#:39)

MassPeak:6

Spectrum Mode:Single 0.127(39) Base Peak:27(86195)

RG Mode:None Segment 1 - Event 3

Product Ion Scan Precursor:71.8000 CE:-40.0



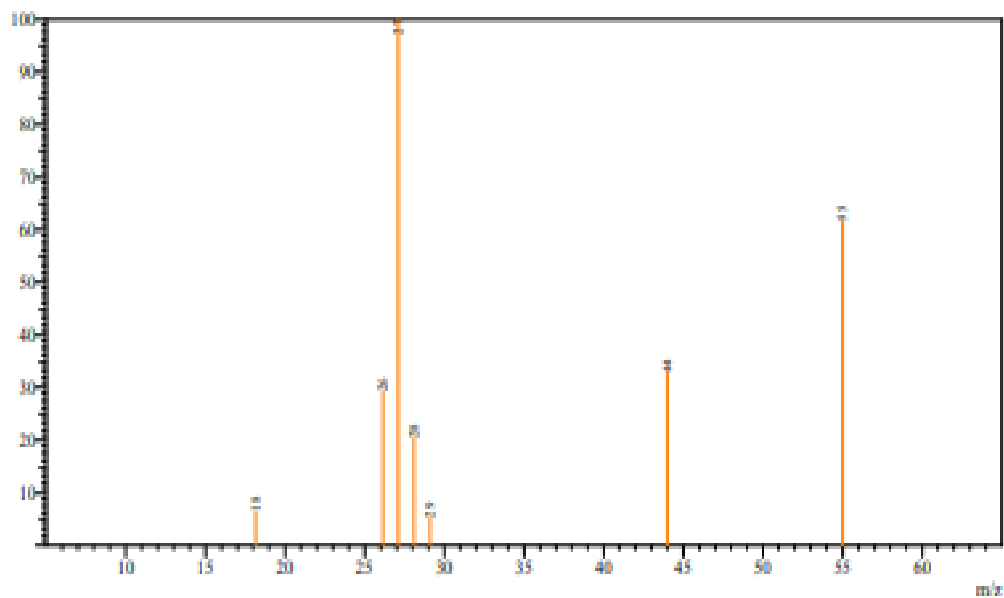
Line#4 R.Time:0.130(Scan#:40)

MassPeak:7

Spectrum Mode:Single 0.130(40) Base Peak:27(76596)

BQ Mode:None Segment 1 - Event 4

Product Ion Scan Precursor:71.8000 CE:-33.0



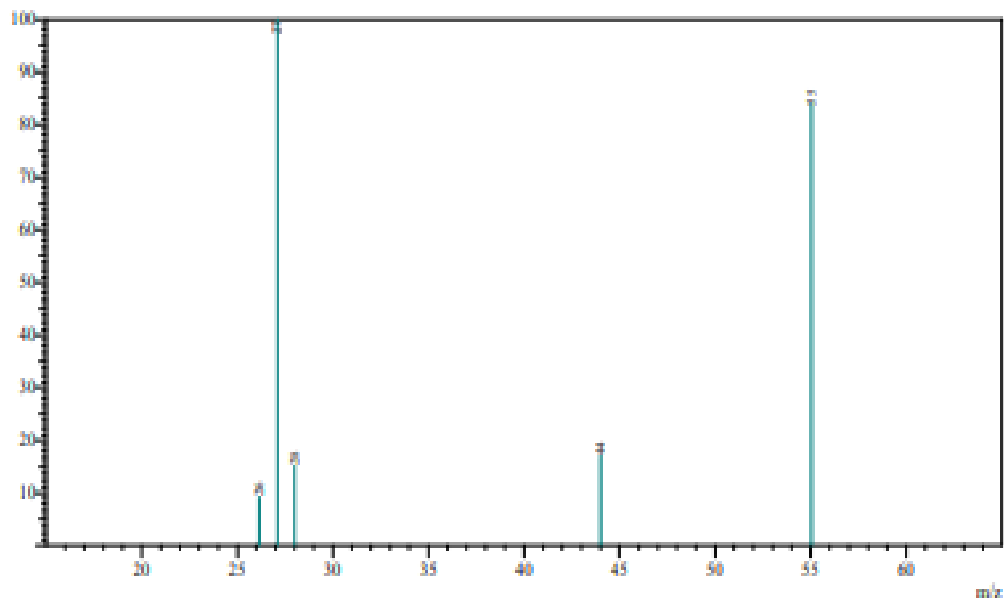
Line#5 R.Time:0.133(Scan#:41)

MassPeak:5

Spectrum Mode:Single 0.133(41) Base Peak:27(99667)

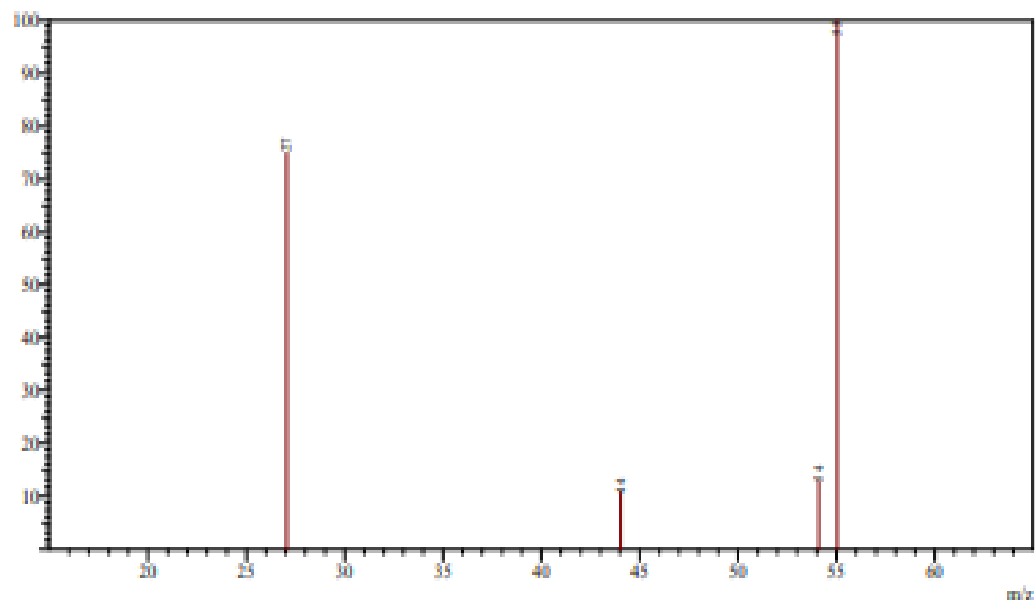
BQ Mode:None Segment 1 - Event 5

Product Ion Scan Precursor:71.8000 CE:-30.0

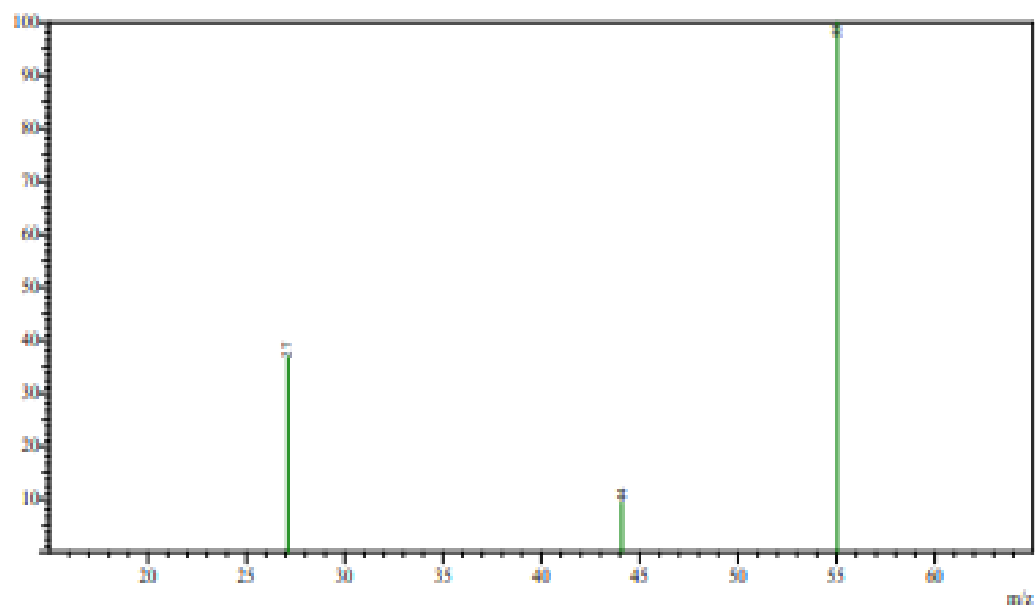


Annexes 5 : Spectrogrammes Ion Scan Precursor:71.8000 CE:-30v et -35v

Line#6 R.Time:0.137(Scan#:42)
MassPeak:4
Spectrum Mode:Single 0.137(42) Base Peak:55(195328)
BG Mode:None Segment 1 - Event 6
Product Ion Scan Precursor:71.8000 CE:-25.0

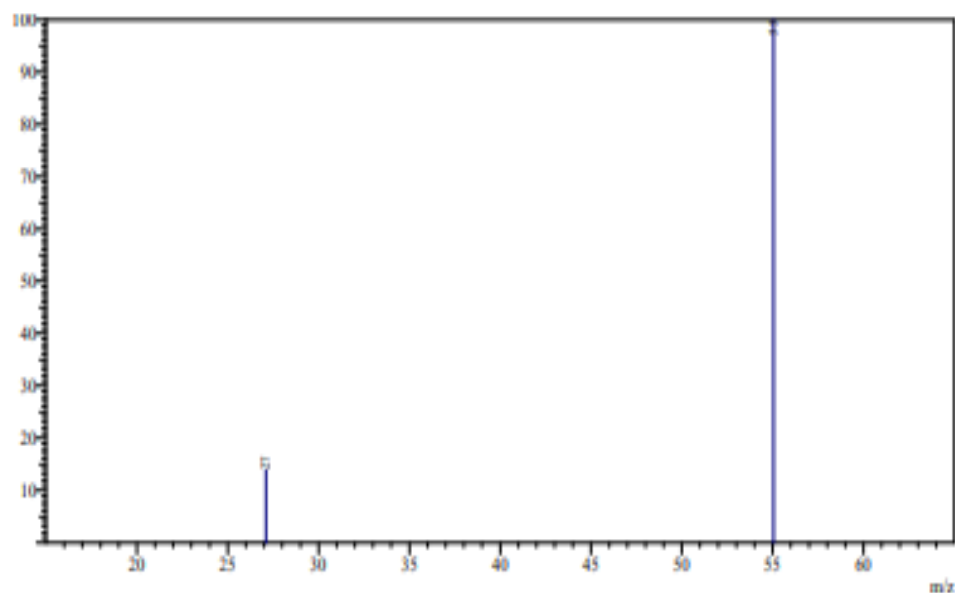


Line#7 R.Time:0.140(Scan#:43)
MassPeak:3
Spectrum Mode:Single 0.140(43) Base Peak:55(350491)
BG Mode:None Segment 1 - Event 7
Product Ion Scan Precursor:71.8000 CE:-20.0

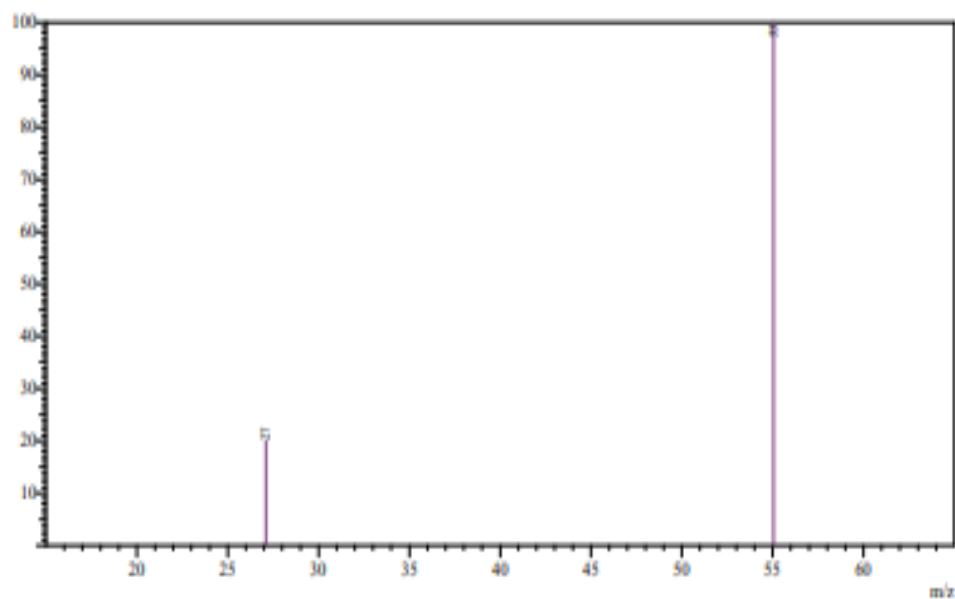


Annexes 6 : Spectrogrammes Ion Scan Precursor:71.8000 CE:-25v et -20v

Line#3 R.Time:0.147(Scan#45)
MassPeak:2
Spectrum Mode:Single 0.147(45) Base Peak:55(309503)
BG Mode:None Segment 1 - Event 9
Product Ion Scan Precursor:71.8000 CE:-10.0



Line#9 R.Time:0.143(Scan#44)
MassPeak:2
Spectrum Mode:Single 0.143(44) Base Peak:55(434877)
BG Mode:None Segment 1 - Event 8
Product Ion Scan Precursor:71.8000 CE:-15.0



Annexes 7 : Spectrogrammes Ion Scan Precursor:71.8000 CE:-40v et -15v

MS Spectrum

Line#1 R.Time:0.120(Scan#37)
 MassPeak#8
 Spectrum Mode:Single 0.120(37) Base Peak:27(33402)
 BG Mode:None Segment 1 - Event 1
 Product Ion Scan Processor:71.8000 CE:-50.0

#	m/z	Relative Intensity	Intensity
1	17.05	2937	8.79
2	27.05	33402	100.00
3	27.05	17918	53.64
4	29.10	4962	14.86
5	42.70	3720	11.14
6	44.05	18440	55.21
7	54.95	24113	72.19
8	55.05	2319	6.94

Line#2 R.Time:0.123(Scan#38)
 MassPeak#8
 Spectrum Mode:Single 0.123(38) Base Peak:27(57804)
 BG Mode:None Segment 1 - Event 2
 Product Ion Scan Processor:71.8000 CE:-45.0

#	m/z	Relative Intensity	Intensity
1	17.05	5799	10.03
2	26.15	27223	47.10
3	27.05	57804	100.00
4	28.10	15024	25.99
5	29.10	7698	13.32
6	44.00	13566	23.47
7	44.95	4126	8.18
8	54.85	24888	43.06

Line#3 R.Time:0.127(Scan#39)
 MassPeak#6
 Spectrum Mode:Single 0.127(39) Base Peak:27(86195)
 BG Mode:None Segment 1 - Event 3
 Product Ion Scan Processor:71.8000 CE:-40.0

#	m/z	Relative Intensity	Intensity
1	26.15	19823	23.00
2	27.05	86195	100.00
3	28.10	13500	15.66
4	29.00	9191	10.60
5	44.05	17519	20.32
6	55.00	28210	32.73

Line#4 R.Time:0.130(Scan#40)
 MassPeak#7
 Spectrum Mode:Single 0.130(40) Base Peak:27(76596)
 BG Mode:None Segment 1 - Event 4
 Product Ion Scan Processor:71.8000 CE:-35.0

#	m/z	Relative Intensity	Intensity
1	18.15	4999	6.53
2	26.15	23431	29.28
3	27.10	76596	100.00
4	28.10	15700	20.50
5	29.10	4089	5.34
6	44.00	25041	32.69
7	55.00	47388	61.87

Line#5 R.Time:0.133(Scan#41)
 MassPeak#5
 Spectrum Mode:Single 0.133(41) Base Peak:27(99667)
 BG Mode:None Segment 1 - Event 5
 Product Ion Scan Processor:71.8000 CE:-30.0

#	m/z	Relative Intensity	Intensity
1	26.15	9185	9.20
2	27.10	99667	100.00
3	28.10	15133	15.18
4	44.00	16913	16.97
5	55.05	83828	83.97

Line#6 R.Time:0.137(Scan#42)
 MassPeak#4
 Spectrum Mode:Single 0.137(42) Base Peak:55(195328)
 BG Mode:None Segment 1 - Event 6
 Product Ion Scan Processor:71.8000 CE:-25.0

#	m/z	Relative Intensity	Intensity
1	27.05	14851	24.96
2	44.05	20459	10.73
3	54.10	25553	13.06
4	55.05	195328	100.00

Line#7 R.Time:0.140(Scan#43)
 MassPeak#3
 Spectrum Mode:Single 0.140(43) Base Peak:55(350491)
 BG Mode:None Segment 1 - Event 7
 Product Ion Scan Processor:71.8000 CE:-20.0

#	m/z	Relative Intensity	Intensity
1	27.10	128731	36.73

#	m/z	Relative Intensity	Intensity
2	44.10	32549	9.29
3	55.05	350491	100.00

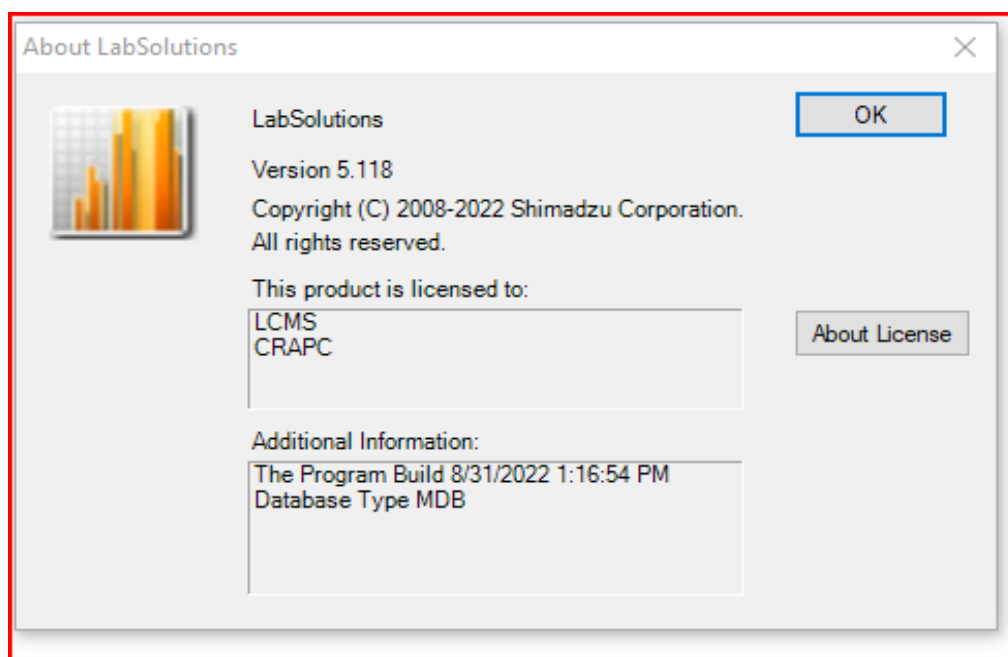
Line#8 R.Time:0.147(Scan#45)
 MassPeak#2
 Spectrum Mode:Single 0.147(45) Base Peak:55(309503)
 BG Mode:None Segment 1 - Event 9
 Product Ion Scan Processor:71.8000 CE:-10.0

#	m/z	Relative Intensity	Intensity
1	27.10	43055	13.91
2	55.05	309503	100.00

Line#9 R.Time:0.143(Scan#44)
 MassPeak#2
 Spectrum Mode:Single 0.143(44) Base Peak:55(434877)
 BG Mode:None Segment 1 - Event 8
 Product Ion Scan Processor:71.8000 CE:-15.0

#	m/z	Relative Intensity	Intensity
1	27.10	86928	19.99
2	55.05	434877	100.00

Annexes 8 : Intensité et stabilité des pics des fragments à différent de l'Ion Précurseur



Annexes 9 : Logiciel utilisé pour LCMS

Art. 20. — La dénomination "café moulu torréfié au sucre", est réservée au produit obtenu par mouture du café torréfié au sucre, tel que défini à l'article 19 ci-dessus.

Art. 21. — Sont autorisées, pour les cafés torréfiés, décaféinés ou non, les opérations ci-après :

— le mélange de cafés d'espèces ou de provenances différentes, la proportion de chaque espèce doit être précisée sur l'emballage ;

— le mélange de cafés avec les succédanés du café, dans ce cas, la dénomination du produit ne doit pas contenir le mot "café" et celui-ci ne peut figurer sur l'emballage ou sur tout support d'information que dans la partie réservée à la composition du produit ;

— le mélange d'extraits de café et de succédanés, dans ce cas, la dénomination du produit ne doit pas contenir le mot "café" celui-ci ne peut figurer sur l'emballage ou sur tout support d'information que dans la partie réservée à la composition du produit ;

— les ingrédients du mélange d'extraits doivent être indiqués par ordre décroissant ;

— l'enrobage du café, au cours de la torréfaction avec une matière inoffensive, non hygroscopique, à condition que la dénomination du café soit suivie d'une mention faisant connaître cet enrobage au consommateur, ainsi que la nature et la proportion de la matière étrangère au café constituant ledit enrobage.

Art. 22. — Il peut être ajouté dans l'opération d'enrobage du café, le beurre et autres corps gras comestibles, ainsi que les additifs alimentaires autorisés par la réglementation en vigueur.

La liste des produits d'enrobage autorisés, cités ci-dessus, peut être actualisée par arrêté des ministres chargés de la protection du consommateur, de l'industrie, de l'agriculture et de la santé.

Art. 23. — Les cafés et les succédanés de café, commercialisés, contenant la substance toxique "acrylamide" dépassant les taux tolérés, cités ci-dessous, ne doivent pas être mis à la consommation.

Les taux tolérés de l'acrylamide sont fixés comme suit :

- café torréfié 450 µg/kg ;
- café instantané (soluble) 900 µg/kg ;

Succédanés de café :

- a) succédanés de café principalement à base de céréales 2000 µg/kg ;
- b) autres succédanés de café 4000 µg/kg.

La liste des taux tolérés d'acrylamide, peut être actualisée par arrêté des ministres chargés de la protection du consommateur, de l'industrie, de l'agriculture et de la santé.

Art. 24. — Les taux tolérés de cette substance sont mesurés par des méthodes d'analyses fixées par la réglementation en vigueur ou, à défaut, issues des normes reconnues au plan international.

Art. 25. — Les emballages employés pour les cafés torréfiés en grains et moulus, doivent être inertes vis-à-vis du produit emballé, étanches, propres et secs.

Ces emballages doivent être conformes aux dispositions réglementaires en vigueur.

Art. 26. — Outre les dispositions prévues par le décret exécutif n° 13-378 du 5 Moharram 1435 correspondant au 9 novembre 2013, survenu, notamment son article 12, l'étiquetage des cafés définis au présent décret, doit comporter :

A-) Pour les cafés aromatisés et les cafés épicés, la dénomination de vente doit être complétée, selon le cas, par le nom de la matière aromatique ou le nom de l'(des) épice(s) utilisée(s).

B-) La dénomination de vente "café torréfié au sucre", "café moulu torréfié au sucre", doit être complétée par l'indication du taux de type de sucre ajouté avec le même caractère et la même taille d'écriture, de manière visible, lisible et indélébile et doivent figurer dans le même champ visuel principal de l'emballage du produit.

C-) Pour les extraits de café, les mentions suivantes :

1. les dénominations de vente "extrait de café", "extrait de café soluble", "café soluble" ou "café instantané", telles que définies à l'article 12 ci-dessus, sont complétées, le cas échéant, par les termes :

▪ "en pâte" ou "sous forme de pâte", "liquide" ou "sous forme liquide".

Les dénominations peuvent être complétées par le terme "concentré" pour l'extrait de café liquide, à condition que la teneur en matière sèche provenant du café soit, en poids, supérieure à 25% ;

▪ la mention "décaféiné" pour autant que la teneur en caféine anhydre ne dépasse pas, en poids, 0,3% de la matière sèche provenant du café. Le qualificatif et la dénomination de vente doivent figurer sur le même champ visuel principal ;

▪ pour l'extrait de café liquide la mention : "avec ... " ou "conservé à ... " ou "conservé au ... " ou "avec ... ajouté" ou "torréfié à ... " ou "torréfié au ... " suivie de la (des) dénomination (s) du (des) type(s) de sucre (s) utilisée (s).

Ces mentions et la dénomination de vente doivent être regroupées dans le même champ visuel principal.

2. la teneur minimale en matière sèche provenant du café pour l'extrait de café en pâte ou liquide. Cette teneur est exprimée en pourcentage du poids du produit fini.

Annexes 10 : Journal officiel de la république Algérien sur le Café

Références Bibliographiques

- Aguilar, M.E., Ortiz, J.L., Mesén, F., Jiménez, L.D., Altmann, F., 2018. Cafe Arabica Coffea arabica L., in: Jain, S.M., Gupta, P. (Eds.), Step Wise Protocols for Somatic Embryogenesis of Important Woody Plants, Forestry Sciences. Springer International Publishing, Cham, pp. 39–62. https://doi.org/10.1007/978-3-319-79087-9_3
- Bastian, C., 2006. Extraction, concentration et caractérisation des composés polyphénoliques du café vert.
- Bouchoux, G., Sablier, M., 2005. Spectrométrie de masse: principe et appareillage. Techniques de l'ingénieur.
- Boukadida, M., Jaoued-Grayaa, N., Anene, A., Chevalier, Y., Hbaieb, S., 2023. Effect of cross-linking agents on the adsorption of histamine on molecularly imprinted polyacrylamide. Polymer 268, 125724.
- Brisson-Gauthier, B., 2012. Relation entre l'exposition à l'acrylamide par l'alimentation, les marqueurs de dose interne et les cassures à l'ADN lymphocytaire chez des adolescents montréalais.
- Carrara, E., 2018. Toxicité de L'acrylamide: Les lactobacilles, Possible Rôle Protecteur (PhD Thesis). Thèse de doctorat: Pharmacie. Université de Lille, p 89.
- Cladière, M., Camel, V., 2017a. Réaction de Maillard et sécurité des aliments: focus sur l'acrylamide. Environ. Risques Santé 16.
- Cladière, M., Camel, V., 2017b. Réaction de Maillard et sécurité des aliments: focus sur l'acrylamide. Environ. Risques Santé 16.
- Cladière, M., Camel, V., 2017c. Réaction de Maillard et sécurité des aliments: focus sur l'acrylamide. Environ. Risques Santé 16.
- de Kaffa, R., le Chien, P., n.d. Botanique: caféiers.
- DeArmond, P.D., DiGoregorio, A.L., 2013. Characterization of liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of acrylamide in complex environmental samples. Anal. Bioanal. Chem. 405, 4159–4166. <https://doi.org/10.1007/s00216-013-6822-4>
- Fillatre, Y., 2011. Produits phytosanitaires: Développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem (PhD Thesis). Université d'Angers.
- Haler, P.N.G., 2013. Le café: les effets bénéfiques et néfastes sur la santé. Thèse Dr. En Pharm. Univ. Lorraine 171.
- Hanichi, M., Hamel, M., 2013. Etude et mise en marche d'un appareil de mesure spectroscopique par HPLC (PhD Thesis). Ghardaia.
- Hernández Pérez, J.A., Trystram, G., Heyd, B., 2002. Etude de la torréfaction: modélisation et détermination du degré de torréfaction du café en temps réel.
- Hesse, A.-M., Pflieger, D., Vinh, J., n.d. CHAPITRE II. Protéomique Spectrométrie Masse Anal. Mult.
- Houessou, J.K., Maloug, S., Leveque, A.-S., Delteil, C., Heyd, B., Camel, V., 2007. Effect of Roasting Conditions on the Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Content in Ground Arabica Coffee and Coffee Brew. J. Agric. Food Chem. 55, 9719–9726. <https://doi.org/10.1021/jf071745s>
- <https://www.facebook.com> > recettemaro > posts > les-bienfaits de café
- <http://www.nlm.nih.gov>. { cite web | title = Caffeine (Systemic) | publisher
- <https://www.analyticaltoxicology.com>: Spectrométrie de masse en Tandem MS/MS :analyticaltoxicology.com

- Ibtisam, B., 2017. Etude de l'influence de degrés de torréfaction du café sur la formation de l'acrylamide par chromatographie.
- Klein, C., 2007. L'acrylamide, contaminant alimentaire cancérigène méconnu? (PhD Thesis). UHP-Université Henri Poincaré.
- Lambert, P.-H., Bertin, S., Volland, J.-P., 2000. Contribution de la spectrométrie de masse au développement de la chimie combinatoire. *Actual. Chim.* 25–28.
- Le café : du fruit à la tasse, n.d. . Café Bun. URL <https://cafebun.fr/du-fruit-a-la-tasse-histoire-du-grain-de-cafe/> (accessed 5.21.25).
- Leblanc, Y., 2022. Caractérisation de protéines thérapeutiques par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (PhD Thesis). Université Paris-Saclay.
- Leduc-Savard, N., 2022. Après combien de café c'est trop de café? mars 2022, 0.
- López-Galilea, I., Andueza, S., di Leonardo, I., de Peña, M.P., Cid, C., 2006. Influence of torrefacto roast on antioxidant and pro-oxidant activity of coffee. *Food Chem.* 94, 75–80.
- Ludwig, I.A., Bravo, J., De Peña, M.P., Cid, C., 2013. Effect of sugar addition (torrefacto) during roasting process on antioxidant capacity and phenolics of coffee. *LWT-Food Sci. Technol.* 51, 553–559.
- Luong-Marquis, K.A., 2011. Élaboration de standards objectifs dans l'évaluation des arômes du café en complément aux méthodes subjectives de dégustation.
- Menet, M.-C., 2025. La spectrométrie de masse au service de la santé en 2025. *Rev. Francoph. Lab.* 2025, 16–33.
- Monneret, C., 2016. Acrylamide alimentaire et cancer. *Actual Chim* 411, 10–12.
- Parent-Massin, P.D., 2009. Principes d'évaluation du risque chimique en sécurité alimentaire.
- Ranarivelo, N D, 2011. Variabilité de la composition chimique des caféiers spontanés de la région malgache (*Mascarocoffea Chev.*) : cas de *Coffea homollei*, *C. kianjavatensis*, *C. lancifolia* de la série *Verae*.
- Ranarivelo, N. D., 2011. Variabilité de la composition chimique des caféiers spontanés de la région malgache (*Mascarocoffea Chev.*): cas de *Coffea homollei*, *C. kianjavatensis*, *C. lancifolia* de la série *Verae*. Univ. D'Antananarivo Ecole Supér. Sci. Agron. Dep. Eaux Forêts Antananarivo.
- Rouessac, F., Rouessac, A., 2004. Analyse chimique «Méthodes et techniques instrumentales modernes» Éditions DUNOD. ChapI Chromatogr. Asp. Gén. 7–33.
- Roy-Lachapelle, A., 2016. Nouvelles stratégies pour l'analyse des cyanotoxines par spectrométrie de masse.
- Schlienger, J.-L., 2022. La longue marche vers les produits de la glycation des protéines. *Médecine Mal. Métaboliques* 16, 567–572.
- Szternfeld, P., Van Leeuw, V., Andjelkovic, M., n.d. Acrylamide in other foods.
- Tessier, F.J., 2019. Les AGE exogènes et autres produits de Maillard. *Médecine Mal. Métaboliques* 13, 582–587.
- Tessier, F.J., Niquet, C., 2007. État des connaissances sur la biodisponibilité et la toxicité des produits de Maillard issus de l'alimentation. *J. Société Biol.* 201, 199–207.
- Ting, Z.W.E., Chew, Y.L., Ng, J.C., Xing, J., Zhan, Z., n.d. High Sensitivity Analysis of Acrylamide in Potato Chips by LC/MS/MS with Modified QuEChERS Sample Pre-treatment Procedure.
- TRIBOI, A., 2024. L'impact de la torréfaction du café sur ses propriétés bioactives.
- Wang, X., Lim, L.-T., 2015. Physicochemical characteristics of roasted coffee, in: *Coffee in Health and Disease Prevention*. Elsevier, pp. 247–254.